نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۷۱۴-۷۰۰

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 4, Winter. 2016, p. 700-714

بررسی اثرات کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده غیرهمزیست نیتروژن و حل‌کننده فسفات بر روی صفات کمی و کیفی گندم (*Triticum aestivum*)

محمود مهتدی[1*]- محمد جواد میرهادی[2]- علی چراتی[3]- مجید بهادری[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۵/۲۷

چکیده

حفظ محیط زیست و دستیابی به توسعه فراگیر از اهداف مهم کشاورزی پایدار محسوب می‌شود بنابراین روشی که بتواند از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی بکاهد ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف این پژوهش ارزیابی تأثیر ریز جانداران محرک رشد گیاه و اثر سیستم‌های تغذیه تلفیقی- شیمیایی و باکتریایی بر عملکرد، اجزای عملکرد و درصد پروتئین دانه گندم لاین N8019 بود. آزمایش طی سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه پژوهشی ایستگاه تحقیقات زراعی بایع کلا وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران اجرا شد. این بررسی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و به‌صورت کرت‌های خرد شده با ۱۲ تیمار و در سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل کود شیمیایی (نیتروژن و فسفر) به‌عنوان عامل اصلی در سه سطح: ۱- بدون مصرف (C_0) ۲- برابر ۵۰٪ توصیه کودی (C_1) ۳- معادل ۱۰۰٪ توصیه کودی (C_2) و دو نوع کود بیولوژیک هرکدام حاوی ریزجانداران حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن به‌عنوان عامل فرعی در چهار سطح ۱- بدون تلقیح (B_0) ۲- بذور تلقیح شده با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (B_1) ۳- بذور تلقیح شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات (B_2) ۴- مصرف توأم کودهای زیستی (B_3). نتایج حاصل از تجزیه واریانس آزمایش نشان داد که اثر تیمارهای مختلف شامل مصرف ۱۰۰درصد کود شیمیایی و کودهای بیولوژیک بر عملکرد و میزان پروتئین دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اما بیشترین تأثیر بر روی اجزای یادشده در تیمار ترکیبی (۱۰۰درصد کود شیمیایی+کودهای بیولوژیک) و اثرات متقابل آنها با میزان عملکرد ۵۵۰۶ کیلوگرم در هکتار حاصل شد که این افزایش عملکرد حاصل افزایش اجزای عملکرد نظیر تعداد سنبله در هر بوته، تعداد دانه در هر سنبله و وزن هزاردانه بود. بنابراین خصوصیات کمی و کیفی گندم در سیستم تلفیقی (کود زیستی و شیمیایی) نسبت به زمانی‌که به تنهایی استفاده می‌شود نتیجه بهتری داشته است.

واژه‌های کلیدی: پروتئین دانه، عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه، کودهای بیولوژیک، کود شیمیایی

مقدمه

گندم معمولی (*Triticum aestivum*) در محدوده وسیعی از شرایط آب و هوایی جهان رشد می‌کند و در حقیقت این گیاه سازگارترین گونه‌های غلات است. اراضی زیادی در سرتاسر جهان در مقایسه با سایر گیاهان زراعی به کشت آن اختصاص داده شده است زیرا گندم غذای اصلی انسان است که به‌طور مستقیم مورد مصرف قرار می‌گیرد (۲۴). براساس نقش تغذیه‌ای گندم در سلامت افراد علاوه برکمیت، کیفیت آن نیز مهم می‌باشد و اگر میزان پروتئین دانه گندم به‌طور متوسط ۱۲درصد درنظر گرفته شود میزان پروتئین گیاهی حاصل از ۱۵ میلیون تن مصرف سالانه کشور ۱/۸ میلیون تن در سال خواهد شد که این مقدار پروتئین از طریق مصرف نان می‌تواند در تأمین پروتئین مورد نیاز مردم نقش اساسی داشته باشد (۲۱). به همین دلیل گندم به‌عنوان یکی از محصولات اساسی کشاورزی دارای اهمیت ویژه‌ای بوده و تأمین این محصول برای جوامعی مانند ایران که جایگاه خاصی در الگوی تغذیه دارد به معنی ایجاد امنیت غذایی می‌باشد (۲۳). در این رابطه توجه جدی به بوم نظام‌های زراعی از اهداف اصلی مدیریت پایدار است در کشاورزی تجاری تمرکز براساس افزایش تولید در واحد سطح و افزایش انرژی وارده به مزرعه از طریق کودهای شیمیایی و سموم آفات نباتی بدون توجه به روابط پیچیده جانداران با یکدیگر و با محیط می‌باشد. در مقابل دیدگاه کشاورزی پایدار مبتنی بر نگرش سیستمی و تأکید اساسی و توأم ضمن حفظ

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
(*- نویسنده مسئول: Email: m.mohtadi.263@gmail.com)
۲- دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
۳- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران
۴- محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران

پایداری بوم نظام‌های زراعی به حداکثر رساندن عملکرد و افزایش محصول با هدف تولید غذای سالم و فرآوری شده شناسه‌دار می‌باشد (۱۰). سینگ و کاپور (۳۳) اظهار داشتند جهت افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح عملیات زراعی متعددی نظیر مصرف کودهای شیمیایی صورت می‌گیرد که نتیجه این فعالیت‌ها طی سالیان اخیر بحران آلودگی‌های زیست محیطی به‌ویژه آلودگی منابع خاک و آب بوده که زنجیره‌وار به منابع غذایی انسان‌ها راه یافته و سلامت جامعه بشری را مورد تهدید قرار داده است. به همین منظور تلاش‌های گسترده‌ای با هدف یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک، محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها آغاز شده است که امروزه با عنوان مدیریت پایدار در بوم نظام‌های زراعی (کشاورزی پایدار) مطرح می‌باشد (۳). در بین ریز جانداران خاک که توانایی تبدیل شدن به کود زیستی را دارند می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری اشاره کرد باکتری‌های منطقه ریزوسفر را اصطلاحاً ریزوباکتر می‌نامند انواع ریزوباکترهایی که برروی رشد و عملکرد گیاه اثرات مثبت دارند اصطلاحاً ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR) اطلاق می‌شود که شامل جنس‌های (*Bacillus –Azospirillum –Aztobacter –SerrtiaArthrobacter –Clostridum –Enterobacter Pseudomonas*) می‌باشد (۱۱). سازوکارهای متعددی برای توضیح چگونگی تأثیر باکتری‌های افزاینده رشد گیاه بر رشد و نمو گیاهان شناخته شده‌اند که این سازوکارها را به‌طور کلی می‌توان شامل دو گروه مستقیم و غیرمستقیم دانست (۳۷). در حالت مستقیم انواع PGPR با استفاده از مکانیزم‌های تثبیت زیستی نیتروژن، افزایش جذب و فراهمی یا محلول کردن عناصرغذایی، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، تولید سیدروفورهای کلاته‌کننده آهن و محلول ساختن فسفات باعث تحریک و افزایش رشد گیاهان می‌شوند (۳۱). در حالت غیرمستقیم با استفاده از مکانیسم‌های مختلف آنتاگونیستی اثرات مضر بیمارگرهای گیاهی را خنثی یا تعدیل نموده و بدین طریق موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند. رقابت برای جذب مواد و اشغال جایگاه‌های مناسب برای فعالیت پاتوژن‌ها، تولید آنتی بیوتیک، آنزیم‌های لیتیک و تولید سیانید هیدروژن (HCN) از مهمترین مکانیزم‌های مورد استفاده در این روش می‌باشد (۱۸).

براساس نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده و با شرایط انتخابی مانند تعداد باکتری‌های موجود در مایه تلقیح، مقدار ماده آلی و معدنی خاک، مخلوط کردن سویه‌های مختلف و نوع گیاه میزبان، افزایش عملکردی از ۱۰ تا ۳۰ درصد در عملکرد دانه و وزن خشک گیاهان گندم، ذرت (*Zea mays*) و سورگوم (*Sorghum bicolor*) در نتیجه تلقیح با *آزوسپیریلوم* گزارش شده است (۱۶). با تلقیح بذر توسط *آزوسپیریلیوم برازیلنس*، عملکرد دانه برنج به میزان ۱۶/۷، گندم ۲۱/۸، جو ۲۶/۶، سورگوم ۲۶/۸ تا ۸۱/۳، یولاف ۴۳/۸ و ارزن ۶۶/۲۵ درصد افزایش یافته است (۱۶). تلقیح گندم بهاره با *آزوسپیریلیوم* و *ازتوباکتر* در شرایط گلخانه و مزرعه، عملکرد دانه را از ۸ تا ۳۲ درصد، نیتروژن کل دانه را از ۱۰ تا ۱۵ درصد و وزن هزار دانه را از ۱۳ تا ۲۳ درصد افزایش داده ولی نیتروژن کل اندام هوایی افزایش نیافته و میزان صرفه‌جویی در مصرف کود نیتروژنه در نتیجه تلقیح با *آزوسپیریلیوم*، به میزان ۳۰ درصد گزارش شده است (۱۶). در تحقیق دیگر اثر سویه‌های بومی ازتوباکتر بر رشد گندم مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق غیر از تثبیت نیتروژن، سنتز تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در این امر مؤثر شناخته شده است (۱۷). نتایج تاها و همکاران (۳۴) نشان داد که تلقیح حل‌کنندگان فسفات با خاک‌های استریل، وزن خشک محصول، جذب فسفر و غلظت فسفر محلول خاک را افزایش می‌دهد. بانیک و دی (۴) گزارش کردند که اگرچه اضافه کردن این ریزموجودات لزوما فسفر خاک را افزایش نمی‌دهند ولی استفاده از آنها به همراه کود دامی بسیار سودمند است. مولا و چادری (۲۲) پس از جداسازی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از ریزوسفر گندم و چاودار (*Secale cereale*) نشان دادند که باکتری باسیلوس به‌طور معنی‌داری pH خاک را در شرایط استریل و غیراستریل کاهش می‌دهد و همچنین لینهوس و نچک (۱۹) تولیداکسین را یکی از مکانیسم‌های مؤثر باکتری‌های حل‌کننده فسفات در بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاه ذکر کردند. هدف اصلی از این بررسی، مطالعه امکان کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفره و نیتروژنه با استفاده ازکودهای بیولوژیک به‌عنوان مکمل در تغذیه زراعت گندم برای نیل به توسعه پایدار دربخش تولید محصولات کشاورزی در کشور بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش طی سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه تحقیقات زراعی بابع کلا وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران واقع در شرق استان از توابع شهرستان نکاء با مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۸ دقیقه عرض شمالی و ۵۳ درجه و ۱۳ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار گرینویچ و در ارتفاع ۱۶ متری از سطح دریا اجرا شد. براساس داده‌های هواشناسی اداره کل هواشناسی استان مازندران، ایستگاه تحقیقات زراعی بابع کلا دارای تابستان‌های گرم و مرطوب و زمستان‌های نسبتاً سرد و مرطوب و دارای مجموع بارندگی سالانه ۹۵۹ میلی‌متر می‌باشد. قبل از شروع آزمایش به‌منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک از محل اجرای طرح به عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر نمونه‌برداری شد که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- نتایج فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای طرح

Table 1- Results of soil physicochemical site plan

بافت Textur	K (available)	P (available)	O.C (%)	O.M (%)	N (%)	T.N.V (%)	EC ds m^{-1}	pH
	mg kg^{-1}							
رسی ـ سیلتی Cilty-Clay	377	8.3	1.06	1.83	0.127	28	0.84	7.8

O.C= Organic Carbon T.N.V=Total Neutralizing Value
O.M= Organic Material EC= Electrical Conductivity

نوع طرح مورد استفاده کرت‌های یک بار خرد شده (اسپلیت پلات)[1] در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار و ۱۲ تیمار بود. در این آزمایش عامل کود شیمیایی با ۳ سطح به‌عنوان کرت اصلی با نماد (C) و عامل کود بیولوژیک با چهار سطح به‌عنوان کرت فرعی با نماد (B) در نظر گرفته شده است. عامل اصلی کود شیمیایی در ۳ سطح شامل: C_0: بدون مصرف کود شیمیایی، C_1: برابر نصف توصیه کودی براساس نتایج آزمون خاک (0.5R)، C_2: برابر توصیه کامل کودی براساس نتایج آزمون خاک (R). میزان مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر براساس نتایج آزمون خاک و حد بحرانی توصیه شده برای گیاه توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شامل نیتروژن از منبع اوره به مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و سوپر فسفات تریپل به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار بوده است (به‌دلیل بالا بودن پتاسیم خاک، کود پتاسیم مصرف نگردید) کل کود شیمیایی فسفر و ۱/۳کود نیتروژن قبل از کاشت مصرف شد و سپس به‌وسیله دیسک با خاک مخلوط گردید. مابقی کود نیتروژن به‌صورت سرک در دو مرحله (۱/۳در زمان ظهور ساقه و ۱/۳ در مرحله قبل از گلدهی) مصرف شد. عامل فرعی کود بیولوژیک در چهار سطح شامل: B_0: بدون مصرف کود بیولوژیک، B_1: باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (NFB)[2] B_2: باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB)[3]، B_3: تلقیح توأم باکتری‌های (NFB) و (PSB) بود براساس دستورالعمل شرکت سازنده میزان مصرف کود زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (NFB) یک لیتر و میزان مصرف کود زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB)۱۰۰ گرم برای۲۰۰ کیلوگرم بذر گندم در هکتار می‌باشد. مصرف کلیه کودهای زیستی به‌صورت بذرمال قبل از کاشت بود. پس از انجام نمونه‌برداری و تجزیه خاک و شخم و دیسک زمین محل اجرای آزمایش، اقدام به اجرای نقشه طرح شد مساحت هر کرت ۱۰ مترمربع به ابعاد ۴×۲/۵ متر شامل ۱۲ خط کاشت که فاصله ردیف‌ها ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شده است. برای کاشت از گندم لاین N-80-19 به میزان ۱۵۰ کیلوگرم (بذور تلقیح شده) در هکتار و متوسط ۵۰۰ بذر در مترمربع استفاده شد. کلیه عملیات داشت از قبیل وجین و مبارزه با علف‌های هرز و بیماری‌ها به‌طور یکنواخت در کلیه کرت صورت گرفت. صفات اندازه‌گیری شده قبل از برداشت شامل سطح برگ در دو مرحله شروع و خاتمه پر شدن دانه و برای محاسبه سطح برگ با جدا کردن برگ نمونه‌های برداشت شده و اندازه‌گیری سطح برگ توسط دستگاه تعیین سطح برگ (Leaf Area Meter LI-31000, LI-COR, Lincoln, NE) انجام شد و مساحت سطح برگ در واحد سطح زمین (متر مربع) محاسبه گردید. برای محاسبه شاخص سطح برگ از معادله $LAI= ([LAI_1/A_1]+[LAI_2/A_2])/2$ استفاده گردید.

(LAI_1: میزان سطح برگ نمونه اول، LAI_2: میزان سطح برگ نمونه دوم، A_1: سطح نمونه‌برداری در مرحله اول، A_2: سطح نمونه‌برداری در مرحله دوم). برای محاسبه شاخص سطح برگ با استفاده از فرمول فوق از میانگین دو مرحله استفاده شده است. بعد از برداشت شامل ارتفاع بوته، تعداد سنبله در هربوته، تعداد بوته در مترمربع، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیک، عملکرد اقتصادی، شاخص برداشت و میزان نیتروژن و پروتئین دانه بود. برای تعیین تعداد بوته در مترمربع سطحی معادل دو مترمربع از وسط کرت انتخاب و تعداد بوته در دو مترمربع شمارش و سپس میانگین آن برای یک مترمربع محاسبه گردید. برای شمارش تعداد بوته، در مرحله رسیدگی کامل به‌منظور تعیین وزن هزاردانه و سایر عوامل، بوته را کف بر کرده و تعداد بوته را پس از هر مرحله کف بر کردن از ناحیه طوقه، شمارش و سپس مجموع آنها را در پایان در سطح دو مترمربع شمارش می‌کنیم برای اندازه‌گیری عملکرد بیولوژیک و اقتصادی از هر کرت با حذف حاشیه‌ها از چهار طرف و انتخاب دو مترمربع از وسط کرت تعداد کل بوته‌های باقیمانده کف بر شده و با احتساب رطوبت ۱۴درصد دانه‌ها، وزن کل بوته‌ها توزین و عملکرد آن محاسبه گردید. سپس، دانه‌ها از سنبله‌ها جدا و با محاسبه رطوبت ۱۴درصد دانه‌های به‌دست آمده توزین و میزان عملکرد آن در هکتار محاسبه گردید. تجزیه آماری داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم افزار MSTATC صورت گرفت و برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد و یک درصد استفاده شد.

1- Split Plot
2- Nitrogen Fixing Bacteria
3- Phosphate Solubilizing Bacteria

جدول ۲- مشخصات کودهای بیولوژیک مورد استفاده

Table 2- Specifications biofertilizers used

نوع کود زیستی Kind of biological fertilizer	باکتری‌های فعال در کود Bacteria active in fertilizer	جمعیت تقریبی زنده و فعال Approximate population alive and active
باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن Nitrogen fixing bacteria	*ازتوباکترکروکوکوم Aztobacter chroococum* *آزوسپریلیومبرازیلنس Azospirillium brasilense*	10^8 در هر میلی‌لیتر CFU/ml
باکتری‌های حل‌کننده فسفات Phosphate solubilizing bacteria	*سودوموناسپوتیدا Pseudomonas Potida Strain P13* *پانتوآگلومرانس Pantoea agglomerace Strain P5**	10^8در هر میلی‌گرم CFU/mg

*(لازم به توضیح است جنس *پانتوآگلومرانس Pantoea agglomerace* قبلاً به‌نام *Enterobacter agglomerans* بوده است).

نتایج و بحث

عملکرد دانه

عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کود شیمیایی و بیولوژیک قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که بیشترین عملکرد دانه با مصرف توصیه کودی (۵۰۵۵ کیلوگرم در هکتار) در تیمار C_2 و کمترین آن مربوط به تیمار بدون مصرف کود شیمیایی (۳۲۰۵ کیلوگرم در هکتار) در تیمار C_0 به‌دست آمده است (جدول ۴). با بررسی جدول ۵ مشاهده می‌شود که عملکرد دانه شدیداً تحت تأثیر اثرات متقابل کودهای شیمیایی و بیولوژیکی بوده است به‌طوری‌که بیشترین تأثیر در افزایش عملکرد دانه به مقدار ۵۵۰۶ کیلوگرم در تیمار (C_2B_3) کاربرد توأم کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیک (PSB+NFB) به‌دست آمد که اختلاف آماری معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد (C_0B_0) داشته است.

ریزجانداران خاک مثل باکتری‌های حل‌کننده فسفات در فرآیند تنفس خود با ساخت اسیدهای آلی مانند (فرمیک، استیک، پروپیونیک، لاکتیک، گلیکولیک، فوماریک، سوکسینیک و سیتریک) و به‌ویژه اسیدهای لاکتیک و سیتریک به دو طریق یکی از طریق کاهش pH در منطقه ریزوسفر و دیگری از طریق کلاته کردن یون‌های کلسیم در خاک‌های قلیایی مثل خاک محل آزمایش، باعث حلالیت کانی‌های فسفات کلسیم و متعاقب آن آزادسازی عناصر میکرو مانند روی، بر، آهن، منگنز می‌شوند که همین امر موجب افزایش جذب و گسترش رشد ریشه و افزایش ضریب تلقیح گل‌ها و پرشدن دانه شده و رشد کمی و کیفی گندم را تقویت می‌کند که نتیجه آن به‌صورت افزایش عملکرد نمایان می‌گردد.

عملکرد در گندم تابع عواملی مانند طول دوره رشد، سرعت و ارتباط بسیاری از فرآیندهای حیاتی در مراحل نمو گیاهی است و هیچ فرآیندی به تنهایی کلید دسترسی به حداکثر پتانسیل عملکرد را در اختیار نمی‌گذارد با این حال فرآیند رشد و نمو نظیر سیستم ریشه‌ای گسترده، سرعت رشد بالا در طول مرحله رویشی، تشکیل مخزن با بهره‌وری بهتر، اندازه مخزن بیشتر، انتقال بیشتر کربوهیدرات‌ها از قسمت‌های رویشی گیاه به سنبله‌ها و شاخص سطح برگ بالاتر در طول پر شدن دانه باعث افزایش عملکرد بالای دانه در ارقام پر محصول و هیبرید محصولات زراعی می‌شود (۱، ۲ و ۳۶). به نظر می‌رسد افزایش تثبیت نیتروژن و ترشح فیتو هورمون‌ها و در نتیجه آن افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه به واسطه توسعه سیستم ریشه‌ای موجب افزایش عملکرد دانه شد (۳۵). باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا* و *پانتوا آگلومرانس*، *ازتوباکتر کروکوکوم* و *آزوسپیریلوم برازیلنس* به‌عنوان یک باکتری ترشح‌کنندهٔ مواد محرک رشد (PGPR) می‌تواند اثرات مفیدی علاوه بر قابلیت جذب فسفر و تثبیت نیتروژن در گیاه داشته باشند. این باکتری‌ها افزایش جذب و فراهمی یا محلول کردن عناصر غذایی در محیط خاک اطراف ریشه، تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه، افزایش مقاومت نسبت به تنش‌ها، فعالیت از طریق مجموعه‌ای از سازوکارها، همین‌طور ترشح اسیدهای آلی، افزایش غلظت عناصری مثل آهن، روی و سایر ریز مغذی‌ها، نیاز گیاه به آنها را تأمین نموده و نهایتاً در افزایش عملکرد دانه گیاه مؤثر باشد (۴ و ۱۴). نتایج آزمایش‌های مزرعه‌ای انجام شده در تلقیح بذر گندم باعث افزایش تعداد سنبلچه‌ها در سنبله گردید. تلقیح بذر گندم با سویه nir *آزوسپیریلیوم لیپوفروم* و *ازتوباکتر* و *سودوموناس* همراه با کاربرد ۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار باعث افزایش عملکرد دانه به میزان ۳۰ درصد شده است و با کاربرد ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار افزایش عملکرد دانه به ۳۶ درصد رسیده است (۱۶).

ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ

ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کود شیمیایی و بیولوژیک قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان می‌دهد که بیشترین ارتفاع و بالاترین شاخص سطح برگ در عامل اصلی یعنی مصرف کودهای شیمیایی مربوط به تیمار برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی و کمترین آن مربوط به بدون مصرف کود شیمیایی و همچنین بیشترین ارتفاع و بیشترین شاخص سطح برگ مربوط به مصرف توأم

باکتری‌های PSB+NFB و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (بدون مصرف کودهای بیولوژیک) بود (جدول ۴). بررسی اثرات متقابل کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیک نشان داد با مصرف برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی به همراه کودهای بیولوژیک (PSB+NFB) افزایش معنی‌داری را در ارتفاع بوته و شاخص سطح برگ در مقایسه با شاهد داشته‌اند (جدول ۵). در غلات مصرف نیتروژن باعث طویل شدن ساقه و ارتفاع گیاه و به دنبال آن افزایش حجم و کانوپی گیاه و نهایتاً عملکرد می‌شود. این تغییر در شکل ظاهری اندام هوایی در شرایط تغذیه گیاه با نیترات شدیدتر از آمونیوم است. علت این امر تغییر در توازن هورمونی در گیاه است (۷). همچنین به نظر می‌رسد تأثیر هورمونی القاء شده در گیاه به‌وسیله *آزوسپیریلوم* و *ازتوباکتر* مستقیماً باعث تغییرات مشخص در مرفولوژی ساقه و برگ نیز می‌شود (۵، ۲۶ و ۲۹). داسیلوا و استات (۶) طی آزمایشی نتیجه گرفتند که با افزایش مقدار نیتروژن، سطح برگ نیز افزایش می‌یابد. نتایج مشابهی توسط سایر محققین از جمله اشنایر و همکاران (۳۰)؛ صدر زاده و همکاران (۲۸) نیز گزارش شده است.

همچنین تلقیح گیاه با NFB, PSB باعث افزایش جذب k، NO_3^- و H_2PO_4 می‌شود بنابراین به نظر می‌رسد نسبت ریشه به ساقه افزایش پیدا می‌کند. این امر موجب می‌شود گیاه بهتر در خاک مستقر شده و به منابع محدود آب و عناصر غذایی ضروری دسترسی پیدا کند. افزایش جذب یون‌ها در اثر تلقیح گیاه می‌تواند نقش مهمی در افزایش رشد برگ‌ها داشته باشد. همچنین ترشح فیتوهورمون‌های مختلف مانند اکسین، سیتوکنین، جیبرلین و ترکیبات ناشناخته توسط سویه‌های این باکتری‌ها سبب افزایش رشد طولی سلول‌ها و تقسیمات سلولی می‌شوند و بدین ترتیب افزایش شاخص سطح برگ قابل توجیه می‌گردد (۱۵)

اجزاء عملکرد

اجزای عملکرد (تعداد سنبله در بوته، تعداد دانه در سنبله، تعداد بوته در مترمربع و وزن هزاردانه) در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کود شیمیایی و بیولوژیک قرار گرفتند (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان می‌دهد که بالاترین مقادیر اجزای عملکرد در تیمارهای برابر توصیه کودی و کودهای بیولوژیک و کمترین آن مربوط به تیمار بدون مصرف کودهای شیمیایی و بیولوژیک (شاهد) بوده است (جدول ۴). بررسی اثرات متقابل کودهای بیولوژیک و شیمیایی نشان داد با مصرف ۱۰۰درصد توصیه کودی به همراه کودهای بیولوژیک (PSB+NFB) در تیمار C_2B_3 اختلاف آماری معنی‌داری در اجزاء عملکرد در مقایسه با سایر تیمار و شاهد داشته‌اند (جدول ۵). بنابراین چنین استنباط می‌شود که میزان نیتروژن فراهمی برای گیاه از طریق کودهای شیمیایی و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن دارای اثرات هم افزایی بوده و افزایش تعداد سنبله در بوته، تعداد دانه در سنبله، تعداد بوته در مترمربع و وزن هزاردانه را به‌دنبال دارد که بیانگر یک نوع ارتباط مستدل فیزیولوژی است. در این رابطه گستل و نلسون (۹)؛ مک آدام و همکاران (۲۰) گزارش دادند افزایش تعداد پنجه‌های بارور و سنبله در بوته به شاخص جذب نیتروژن[1] (NNI) گیاه و افزایش سطح برگ و تاج پوشش بستگی دارد که باعث گسترش برگ‌های منفرد و پنجه‌دهی در گندم می‌شود و همچنین میزان ظهور برگ‌ها و عمر برگ‌ها افزایش می‌یابد و با افزایش میزان نیتروژن در گیاه، تجمع کربوهیدرات‌های ساختمانی در برگ‌ها و ساقه‌ها افزایش و نهایتاً پنجه‌دهی و ظهور سنبله‌های بارور در گیاه را موجب می‌شود و نیز برخی پژوهندگان معتقدند اثرات هم افزایی و یا سینرژیستی به‌وسیله ریزوباکترهای محرک رشد مستقیماً باعث تغییرات مشخص در مورفولوژی ساقه، نظیر افزایش پنجه‌زنی و تعداد پنجه‌های بارور و تعداد دانه در سنبله و نهایتاً عملکرد می‌شوند (۲۵).

وزن کاه و عملکرد بیولوژیک

وزن کاه و عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کود شیمیایی و بیولوژیک قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان می‌دهد که بیشترین وزن کاه و عملکرد بیولوژیک در عامل اصلی یعنی مصرف کودهای شیمیایی مربوط به تیمار برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی و کمترین آن مربوط به عدم مصرف کود شیمیایی و همچنین بیشترین وزن کاه و عملکرد بیولوژیک مربوط به مصرف توأم باکتری‌های PSB+NFB و پایین‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد (بدون مصرف کودهای بیولوژیک) بود (جدول ۴). بررسی اثرات متقابل کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیک نشان داد با مصرف برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی به همراه کودهای بیولوژیک (PSB+NFB) افزایش معنی‌داری را در وزن کاه و عملکرد بیولوژیک در مقایسه با شاهد داشته‌اند (جدول ۵). این مسئله اختصاص بیشتر نیتروژن و فسفر به کل زیست توده (کاه وکلش + عملکرد اقتصادی) موجود در سطح زمین بوده است و افزایش زیست توده ارتباط مستقیم با کارایی مصرف نیتروژن (NUE) دارد از دیدگاه هایرل و همکاران (۱۲) کارایی مصرف نیتروژن و واکنش گیاه به نیتروژن کل (N_{tot}) شامل کود نیتروژن دار (N_{fert}) و نیتروژن خاک (N_{soil}) می‌باشد که از سه فرآیند تشکیل شده است ۱- ظرفیت گیاه برای استفاده از نیتروژن خاک ۲- ظرفیت گیاه برای استفاده از نیتروژن در تولید زیست توده ۳- توانایی گیاه برای تخصیص کربن و نیتروژن به دانه. هایروس و

1- Nitrogen Nutrition Index

بازاز (۱۳) نیز تخصیص بیشتر نیتروژن و کربن به ساقه و برگ و یا قسمت فوقانی تاج پوشش را مرتبط با مبادله بین RUE[1] و NUE[2] می‌دانند که موجب افزایش وزن خشک به‌ازای هر واحد نیتروژن جذب شده می‌گردد. در شرایط مزرعه‌ای، تلقیح گیاه گندم با *آزوسپیریلیوم* و *ازتوباکتر* باعث افزایش کاه از ۱/۵ تا ۱/۷ برابر، عملکرد دانه از ۱/۸ تا ۲/۷ برابر و نیتروژن کل از ۱/۲ تا ۱/۳ برابر شده است (۲۷).

شاخص برداشت

شاخص برداشت در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کود شیمیایی و بیولوژیک قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان می‌دهد که بالاترین شاخص برداشت در عامل اصلی یعنی مصرف کودهای شیمیایی مربوط به تیمار برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی و کمترین آن مربوط به بدون مصرف کود شیمیایی و همچنین بالاترین شاخص برداشت مربوط به مصرف توأم باکتری‌های PSB+NFB و پایین‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد (بدون مصرف کودهای بیولوژیک) بود (جدول ۴). بررسی اثرات متقابل کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیک نشان داد با مصرف برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی به همراه کودهای بیولوژیک (PSB+NFB) در تیمار C_2B_3، شاخص برداشت برابر ۴۴/۲ درصد افزایش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد داشته‌اند (جدول ۵). شاخص برداشت نسبتی از عملکرد بیولوژیک است که عملکرد اقتصادی را نشان می‌دهد و یا به‌عبارت دیگر HI منبع تغییر در عملکرد دانه در هر واحد جذب نیتروژن است و با افزایش تسهیم ماده خشک برای عمکرد اقتصادی، شاخص برداشت نیز افزایش پیدا می‌کند (۳۲). به بیان دیگر شاخص برداشت به‌عنوان یک صفت در صورتی می‌تواند معیار خوبی برای مقایسه تیمارها مدنظر قرار گیرد که عملکرد بیولوژیک گیاه ثابت بوده و کاهش نیافته باشد و در واقع افزایش آن به دلیل افزایش عملکرد دانه باشد، نه کاهش عملکرد بیولوژیک (۸). در مجموع افزایش تعداد سنبله در هر بوته، تعداد دانه در هر سنبله، تعداد بوته در مترمربع و وزن هزاردانه موجب افزایش شاخص برداشت شده است.

درصد نیتروژن و پروتئین دانه

درصد نیتروژن و پروتئین دانه در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کود شیمیایی و بیولوژیک قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات اصلی نشان می‌دهد که بیشترین درصد نیتروژن و پروتئین دانه در عامل اصلی یعنی مصرف کودهای شیمیایی مربوط به تیمار برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی و کمترین آن مربوط به بدون مصرف کود شیمیایی و همچنین بالاترین درصد نیتروژن و پروتئین دانه مربوط به مصرف توأم باکتری‌های PSB+NFB و پایین‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۴). بررسی اثرات متقابل کودهای شیمیایی و کودهای بیولوژیک نشان داد با مصرف برابر ۱۰۰درصد توصیه کودی به همراه کودهای بیولوژیک (PSB+NFB) در تیمار C_2B_3، درصد نیتروژن برابر ۲/۴۸ و پروتئین دانه برابر ۱۴/۱ درصد بوده است که افزایش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد داشته‌اند (جدول ۵). این مسئله نشان می‌دهدکه با کاربرد کودهای بیولوژیک به‌ویژه وجود باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات و اثرات متقابل آنها باعث تثبیت بیشتر نیتروژن در محیط ریزوسفر خاک و افزایش جذب نیتروژن فراهمی توسط گیاه و اختصاص بیشتر آن به دانه شده است. این نتیجه می‌تواند بیانگر رابطه تقویت‌کنندگی[3] ترکیب باکتری‌های مذکور با یکدیگر در جهت افزایش رشد ریشه و جذب موادغذایی توسط بوته‌های گندم باشد (۳۷). در آزمایشی تلقیح گندم بهاره با *آزوسپیریلیوم لیپوفروم* و *ازتوباکتر کروکوکوم* در شرایط گلخانه و مزرعه، عملکرد دانه را از ۸ تا ۳۲ درصد، نیتروژن کل دانه را از ۱۰ تا ۱۵ درصد و وزن هزار دانه را از ۱۳ تا ۲۳ درصد افزایش داده و میزان صرفه‌جویی در مصرف کود نیتروژنه در نتیجه تلقیح با *آزوسپیریلیوم* و *ازتوباکتر*، به میزان ۳۰ درصد گزارش شده است (۱۶). اثر نیتروژن روی شاخص برداشت محصولات زراعی (HI)[4] مشخص می‌کند که HI منبع تغییر در عملکرد دانه در هر واحد جذب نیتروژن است. علاوه برکارایی مصرف نیتروژن زراعی، شاخص برداشت نیتروژن (NHI[5]) نیز در گیاهان دانه‌ای اهمیت زیادی دارد. NHI نشان‌دهنده میزان پروتئین است که در کیفیت تغذیه دانه اهمیت زیادی دارد (۳۲). بنابراین میانگین صفات مورد بررسی فوق نشان می‌دهد با افزایش راندمان مصرف نیتروژن، NHI نیز افزایش یافته که متعاقب آن افزایش معنی‌دار پروتئین دانه در تیمار (PSB+NFB) در ترکیب با کود شیمیایی بوده است. در یک حالت کلی نشان می‌دهد هرچه میزان عملکرد دانه افزایش داشته باشد میزان پروتئین دانه نیز افزایش داشته است. این مقدار با توجه به افزایش ذخیره نیتروژن در دانه یک رابطه مستقیم کمی نیز با افزایش عملکرد دانه دارد.

1- Radiation Use Efficiency
2- Nitrogen Use Efficiency
3- Synergisti
4- Harvest Index
5- Nitrogen Harvest Index

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی گندم تحت تأثیر مقدار کود شیمیایی و کود بیولوژیک

Table 3- Analysing of variance the traits of wheat under the influence of chemical and biological fertilizer

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares						
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد سنبله در بوته Number of spikes per plant	تعداد بوته در متر مربع Number of plants per square meter	شاخص سطح برگ Leaf area index	طول سنبله Spike length	تعداد دانه در سنبله Number of grains per spike	وزن هزار دانه Thousand grain weight
بلوک Block	2	42^{ns}	0.003^{ns}	708^{ns}	0.027^{ns}	0.502^{ns}	216^{ns}	1.82^{ns}
کود شیمیایی Chemical fertilizer	2	88.4^{**}	1.06^{**}	171500^{**}	11.2^{**}	13.4^{**}	174^{**}	131^{**}
خطا Error	4	1.45	0.01	121	0.007	0.014	5.36	0.112
کود بیولوِیک Biological fertilizer	3	64.2^{**}	0.173^{**}	15059^{**}	0.465^{**}	0.745^{**}	21.1^{**}	9.64^{**}
کود بیولوژیک×شیمیایی Biological × Chemical	6	2.97	0.013^{*}	3157^{**}	0.016^{*}	0.027^{*}	9.74^{ns}	1.17^{**}
خطا Error	18	11.5	0.004	128	0.005	0.007	3.96	0.05
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)	-	4.34	3.15	1.81	1.71	1.91	5.9	1.57

ns، ** و * مطابق آزمون F به‌ترتیب عدم معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد

ns, ** ،and * According F test are nonsignificant and significant at 1 and 5% respectively

ادامه جدول۳- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی گندم تحت تأثیر مقدارکود شیمیایی و کود بیولوژیک

Continuing Table 3- Analysing of variance the traits of wheat under the influence of chemical and biological fertilizer

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares					
		عملکرد دانه Grain yield	وزن کاه Straw weight	عملکرد بیولوژیک Biological yield	شاخص برداشت Harvest index	درصد نیتروژن دانه Grain Nitrogen%	درصد پروتئین دانه Grain Protein%
بلوک Block	2	1837652^{ns}	746141^{ns}	1738135^{ns}	0.132^{ns}	0.007^{ns}	0.199^{ns}
کود شیمیایی Chemical fertilizer	2	10466993**	1668155**	14918443**	131**	0.867**	27.5**
خطا Error	4	284999	40317	35507	0.112	0.003	0.083
کود بیولوِیک Biological fertilizer	3	3161472**	3385813**	12488768**	13**	0.668**	21.2**
کود بیولوژیک × شیمیایی Biological × Chemical	6	62989**	251976**	560708**	1.51**	0.083*	2.61**
خطا Error	18	120367	249714	563262	1.08	0.002	0.065
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)	-	8.25	8.15	7.16	1.69	2.30	2.23

ns، ** و * مطابق آزمون F به‌ترتیب عدم معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد

ns, **، and * According F test are nonsignificant and significant at 1 and 5% respectively

جدول ٤- بررسی اثرات ساده کودهای شیمیایی و بیولوژیک بر شاخص سطح برگ، اجزای عملکرد و عملکرد گندم

Table 4- Simple effects of chemical fertilizers and biological on Leaf area index, yield components and yield of wheat

سطح کود شیمیایی Level of chemical fertilizer	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	تعداد سنبله در بوته number of spikes per plant	تعداد بوته در متر مربع Number of plants per square meter	شاخص سطح برگ Leaf area index	طول سنبله (سانتی‌متر) Spike length (cm)	تعداد دانه در سنبله Number of grains per spike	وزن هزار دانه (گرم) Thousand grain weight (g)
C_0	76.3c	1.67c	492c	3.09	8.1c	29.8c	36c
C_1	77.4b	2.06b	675b	4.31b	9.4b	33.8b	40.5b
C_2	81.5a	2.25a	716a	5a	10.1a	37.5a	42.5a
کود بیولوژیک Biological fertilizer							
B_0	74.6d	1.83d	571c	3.83d	8.97d	32.5b	38.6d
B_1	78.5c	1.94c	641b	4.11c	9.08c	33.1b	39c
B_2	79.7b	2.07b	631b	4.23b	9.28b	33.3b	40.2b
B_3	80.8a	2.14a	669a	4.36a	9.63a	36a	40.8a

در هر ستون و به‌طور جداگانه برای هر یک از اثرات اصلی کود شیمیایی و کود بیولوژیک، حروف لاتین مشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column, and separately for each of the main effects of fertilizer and biofertilizer, similar Latin letters according to Duncan test at 5% difference is not significant.

C_0، C_1 و C_2 به‌ترتیب بدون مصرف کود شیمیایی، 0.5R و R (مصرف کود شیمیایی براساس آزمون خاک)

C_0 , C_1 and C_2, respectively, without the use of chemical fertilizers, 0.5R and R (fertilizer based on soil test)

B_0، B_1، B_2 و B_3 به‌ترتیب بدون کاربرد کود بیولوژیک، مصرف باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (NFB)، مصرف باکتری‌های آزادکننده فسفات (PSB) و تیمار ترکیبی PSB+NFB

B_1, B_2 and B_3, respectively, without the use of biofertilizer, the use nitrogen-fixing bacteria (NFB), the use of Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) and combined treatment PSB + NFB

ادامه جدول ٤- بررسی اثرات ساده کودهای شیمیایی و بیولوژیک بر شاخص سطح برگ، اجزای عملکرد و عملکرد گندم

Continuing Table4- Simple effects of chemical fertilizers and biological on Leaf area index, yield components and yield of wheat

سطح کود شیمیایی Level of chemical fertilizer	عملکرد دانه (کیلوگرم درهکتار) Grain yield (kg ha^{-1})	وزن کاه (کیلوگرم درهکتار) Straw weight (kg ha^{-1})	عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) Biological yield (kg ha^{-1})	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	درصد نیتروژن دانه Grain Nitrogen (%)	درصد پروتیین دانه Grain Protein (%)
C_0	3205c	5770c	9275c	37.31c	1.76c	10c
C_1	4348b	6114b	10713b	42.17b	1.96b	11.2b
C_2	5055a	6515a	11471a	43.6a	2.29a	13a
کودبیولوژیک Biological fertilizer						
B_0	3420d	5267c	8843d	39.4c	1.67d	9.55d
B_1	4094c	6331b	10448c	41b	2.14b	12.2b
B_2	4521b	6540a	11173b	41.2b	1.9c	10.8c
B_3	4776a	6594a	11481a	42.3a	2.29a	13a

در هر ستون و به‌طور جداگانه برای هر یک از اثرات اصلی کود شیمیایی و کود بیولوژیک، حروف لاتین مشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column, and separately for each of the main effects of fertilizer and biofertilizer, similar Latin letters according to Duncan test at 5% difference is not significant.

C_0، C_1 و C_2 به‌ترتیب بدون مصرف کود شیمیایی، 0.5R و R (مصرف کود شیمیایی براساس آزمون خاک)

C_0 , C_1 and C_2, respectively, without the use of chemical fertilizers, 0.5R and R (fertilizer based on soil test)

B_0، B_1، B_2و B_3 به‌ترتیب بدون کاربرد کود بیولوژیک، مصرف باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (NFB)، مصرف باکتری‌های آزادکننده فسفات (PSB) و تیمارترکیبی PSB+NFB

B_1, B_2 and B_3, respectively, without the use of biofertilizer, the use nitrogen-fixing bacteria (NFB), the use of Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) and combined treatment PSB + NFB

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن به‌صورت توأم و یا جداگانه باعث افزایش زیست توده کل گیاه، میزان نیتروژن و پروتئین دانه، اجزای عملکرد و درنتیجه عملکرد دانه گندم گردید ولیکن کاربرد توأم باکتری‌های حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن نسبت به کاربرد جداگانه این ریزموجودات از کارایی بیشتری برخوردار است چرا که نقش باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن صرفاً تثبیت ازت اتمسفری می‌باشد که این فرآیند در شرایط متعادل نیتروژن در خاک اتفاق می‌افتد و مقادیر بالای نیتروژن نسبت به کربن در خاک یا در هر محیط کشت دیگر باعث کاهش فعایت آنزیم نیتروژناز و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن می‌شود و تثبیت نیتروژن به‌وسیله مقدار نیتروژن قابل جذب موجود محدود می‌شود. در ضمن NH_3 موجود در خاک تثبیت را در موجودات غیر همزیست به‌طور کامل متوقف می‌کند. به همین دلیل استفاده به تنهایی از باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروزن در خاک پاسخگوی مناسبی نبوده و تلفیق توأم آن با باکتری‌های آزادکننده فسفر گزینه مناسب‌تری است و درصورت استفاده ترکیبی کودهای بیولوژیک با کودهای شیمیایی براساس نتایج آزمون خاک، راندمان تولید افزایش یافته که احتمالاً به دلیل وجود یک اثر هم افزایی مثبت بین ریزجانداران و کودهای شیمیایی است ازاین رو کودهای زیستی موجود به تنهایی نمی‌توانند جایگزین کودهای شیمیایی شوند و از سوی دیگر با توجه به هزینه بالای کودهای شیمیایی و خطرات زیست محیطی ناشی از مصرف زیاد این کودها استفاده از ریزموجودات حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن در تلفیق با مقدار متعادل و بهینه کودهای شیمیایی گزینه مناسبی به منظور دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار می‌باشند.

جدول ۵- بررسی اثرات متقابل کودهای شیمیایی و بیولوژیک بر شاخص سطح برگ، اجزاء عملکرد و عملکرد گندم

Table 5- Interaction effects of chemical fertilizers and biological on Leaf area index, yield components and yield of wheat

تیمارها Treatments		ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد سنبله در بوته Nnumber of spikes per plant	تعداد بوته در متر مربع Number of plants per square meter	شاخص سطح برگ Leaf area index	طول سنبله (سانتی‌متر) Spike length (cm)	تعداد دانه در سنبله Number of grains per spike	وزن هزار دانه (گرم) Thousand grain weight (g)
کود شیمیایی Chemical fertilizer	کود بیولوژیک Biological fertilizer							
C_0	B_0	74.1h	1.46g	450g	2.8h	7.9h	30.7d	35.2g
	B_1	75.9h	1.63f	494f	3.1g	7.9h	29.3d	35.9f
	B_2	76.7g	1.8e	485f	3.1g	8.1h	29.3d	36.2f
	B_3	78.5e	1.8e	539e	3.3f	8.5g	30.2d	36.8e
C_1	B_0	73.3g	1.86e	566d	4e	9.1f	31.6cd	39d
	B_1	77.4f	2d	707bc	4.3d	9.3e	32.6cd	39.2d
	B_2	79.4d	2.1cd	695c	4.3d	9.5d	32.5cd	41.6c
	B_3	79.8d	2.3ab	733a	4.6c	9.9c	38.6ab	42.4b
C_2	B_0	76.6c	2.16c	698c	4.7c	9.3c	53.3bc	41.8c
	B_1	82.3c	2.2bc	722ab	4.9b	10c	37.5ab	41.9c
	B_2	83b	2.3a	712bc	5.2a	10.3b	38.1ab	43a
	B_3	84a	2.3a	734a	5.1a	10.5a	39.1a	43.3a

در هر ستون و به‌طور جداگانه برای هر یک از اثرات متقابل کود شیمیایی و کود بیولوژیک، حروف لاتین مشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column, and separately for each of the Interaction effects of fertilizer and biofertilizer, similar Latin letters according to Duncan test at 5% difference is not significant.

C_0، C_1 و C_2 به‌ترتیب بدون مصرف کود شیمیایی، 0.5R و R (مصرف کود شیمیایی براساس آزمون خاک)

C_0 , C_1 and C_2, respectively, without the use of chemical fertilizers, 0.5R and R (fertilizer based on soil test)

B_0، B_1، B_2 و B_3 به‌ترتیب بدون کاربرد کود بیولوژیک، مصرف باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (NFB)، مصرف باکتری‌های آزادکننده فسفات (PSB) و تیمارترکیبی PSB+NFB

B_1, B_2 and B_3, respectively, without the use of biofertilizer, the use nitrogen-fixing bacteria (NFB), the use of Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) and combined treatment PSB + NFB

ادامه جدول ۵- بررسی اثرات متقابل کودهای شیمیایی و بیولوژیک بر شاخص سطح برگ، اجزاء عملکرد و عملکرد گندم

Continuing Table 5- Interaction effects of chemical fertilizers and biological on Leaf area index, yield components and yield of wheat

تیمارها Treatments		عملکرد دانه (کیلوگرم درهکتار) Grain yield (kg ha^{-1})	وزن کاه (کیلوگرم درهکتار) Straw weight (kg ha^{-1})	عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم درهکتار) Biological yield (kg ha^{-1})	شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	درصد نیتروژن دانه Grain nitrogen (%)	درصد پروتئین دانه Grain protein (%)
کود شیمیایی Chemical fertilizer	کود بیولوژیک Biological fertilizer						
C_0	B_0	2292i	4438f	6931h	34.8i	1.22f	7.01f
	B_1	3121h	5846e	9303g	37.1h	1.84d	10.4d
	B_2	3598g	6465bc	10396ef	37.7g	1.85d	10.5d
	B_3	3808f	6330c	10472e	39.5f	2.11c	12c
C_1	B_0	3482f	5377d	9525f	40.6e	1.66e	9.46e
	B_1	4276e	6134d	10644e	42.3d	2.19c	12.4c
	B_2	4721d	6406bc	11127d	42.4d	1.72e	9.85e
	B_3	5014c	6541b	11555c	43.3bc	2.28b	13b
C_2	B_0	4488d	5985c	10073d	42.9c	2.14c	12.2c
	B_1	4984c	6413bc	11398c	43.6b	2.41a	13.6a
	B_2	5245b	6749a	11994b	43.6b	2.13c	12.1
	B_3	5506a	6911a	12417a	44.2a	2.48a	14.1a

در هر ستون و به‌طور جداگانه برای هریک از اثرات متقابل کود شیمیایی و کود بیولوژیک، حروف لاتین مشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column, and separately for each of the Interaction effects of fertilizer and biofertilizer, similar Latin letters according to Duncan test at 5% difference is not significant.

C_0، C_1 و C_2 به‌ترتیب بدون مصرف کود شیمیایی، 0.5R و R (مصرف کود شیمیایی براساس آزمون خاک)

C_0 , C_1 and C_2, respectively, without the use of chemical fertilizers, 0.5R and R (fertilizer based on soil test)

B_0، B_1، B_2 و B_3 به‌ترتیب بدون کاربرد کود بیولوژیک، مصرف باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (NFB)، مصرف باکتری‌های آزادکننده فسفات (PSB) و تیمار ترکیبی PSB+NFB

B_1, B_2 and B_3, respectively, without the use of biofertilizer, the use nitrogen-fixing bacteria (NFB), the use of Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) and combined treatment PSB + NFB

References

1. Agata, W. 1990. Mechanism of high yielding an achievement in Chinese F1 rice compared with cultivated rice varieties. Japan Journal of Crop Science and Biotechnology 59: 270-273.
2. Amano, T., Zhu, Q., Wan, Y., Inou, N., and Tanake, H. 1993. Case studies on high yields of paddy rice in Jiangsu Province, China. I. Characteristic of grain production. Japan Journal of Crop Science and Biotechnology 62: 267-274.
3. Asadi Rahmani, H., Khavazy, K., Asgharzadeh, A., Rajalee, F., and Afshari, M. 2010. Biofertilizersin Iran. Opportunities and Challenges. First Challenges Congress fertilizer in Iran. Half a century of fertilizer consumption (Key Articles).
4. Banik, S., and Dey, B. K., 1982. Available phosphate content of an alluvial soil is influenced by inoculation of some isolated phosphate solubilizing microorganisms. Plant Soil 69: 353-364.
5. Cohen, E., Okon, Y., Kigel, J., Nur, I., and Henis, Y. 1980. Increase in dry weight and total nitrogen content in *Zea mays* and *Serariaitalica* associated with nitrogenfixing Azospirillum. Plant Physiology 66: 746-749.
6. Dasilva, P., and Stutte, C. 1981. Nitrogen loss in conjunction with translocation from leaves as influenced by growth stage, leaf position and N supply. Journal of Agronomy and Crop Science 73: 38-42.
7. Engel, A. J., Bird, A., Hil, J. E., Horwath, W. R., and Kessel, C. V. 2001. Nitrogen dynamics and fertilizer use efficiency in rice following straw in corporation and winter flooding. Journal of Agronomy and Crop Science 93: 1346-1354.
8. Falah Nosratabad, A., and Khavazy, K. 2001. Role of phosphate solubilizing bacteria in agriculture. Necessity in the industrial production of biological fertilizers (Total articles). Publication Agricultural Education commissioned by the Institute of Soil and Water.
9. Gastal, F., and Nelson, C. J. 1994. Nitrogen use within the growing leaf blade of tall fescue. Plant Physiology 105-119.
10. Ghalavand, A., Shirvani, A., Dehganshoar, M., Malakoti, M., Asgharzadeh, A., and Chokan, D. 2009. Application of biofertilizers (Biological), Strategy for ecologically sustainable management of agricultural ecosystems, Iranian agronomy and Breeding Sciences Ninth congress (Key Articles). p. 200-224.
11. Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by freeliving bacteria. Canadian Journal of Microbioly 41:

109-117.
12. Hirel, B., Gouis, J., Ney, B., and Gallais, A. 2007. The Challenger of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role of genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. J. Exp. Bot. 58: 2369-2387.
13. Hirose, T., and Bazzaz, F. A. 1995. Trade off between lightand nitrogen use efficiency in canopy photosynthesis. Ann. Bot 82: 195-202.
14. Jones, D. L. 1998. Organic acids in the rhizospherea critical review. Plant Soil 205: 25-44.
15. Jones, D. G., and Lewis, D. M. 1993. Rhizobium inoculation of crops plants. In: Exploitation of micro-organisms. Jones, D. G. (Eds.). Chapman and Hall, London. 112: 197-224.
16. Kapulnik, Y., Sarige, S., Nur, I., and Henis, Y. 1981. Effect of *Azospirillum Inculation* on some growth parameters and N content of wheat, sorghum and panicum. Plant Soil 61: 65-77.
17. Khosravi, H. 1997. Study of frequency of and release of *azotobacter chroococcum* In gricultural soils of Tehran province and Some physiological characteristics of the research, MSc thesis, Faculty of agriculture, University of Tehran.
18. Klopper, H. J. W., Lifshitz, R., and Zablotowicx, R. M. 1989. Freeliving bacterial inoculators enhancing crop productivity. Trends in Biotechnology 7: 39-44.
19. Leinhos, V., and Nacek, O. 1994. Biosynthesis of auxins by PSMs from Wheat and Rye. Microbiol. Res. 149: 31-35.
20. Mac Adam, J. W., Volenec, J. J., and Nelson, C. J. 1989. Effects of nitrogen on mesophyll cell division and epidermal cell elongation intall fescue leaf blades. Plant Physiology 89: 549-556.
21. Malakoti, M. j., Khademi, Z., and Golchin, Z. 2009. Ways to increase wheat protein and actions to improve the quality while buying bread. Balanced nutrition of wheat (Key Articles) Second edition. p 39-46.
22. Molla, M. A. Z., and Chodhury, A. A. 1984. Microbial mineralization, of organic phosphate in soil, Plant Soil 78 (3): 393-399.
23. Mousavi, S. H. 2010. an analysis of self sufficiency in wheat production. PhD thesis, Agricultural Economics, Shiraz University.
24. Noor Mohammad, G., Syadat, A., and Kashani, A. 2010. The first volume of cereal crops. Shahid Chamran University Publications. p. 25-33.
25. Patriquin, D. G., and Dobereiner, J. 1978. Light microscopy observation of tetrazolium reducing in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. Canadian Journal of Microbioly 24: 734-742.
26. Rai, R. 1988. High temperature adapted *A. brasilense* strain: growth and interaction response on associative nitrogen fixation, mineral uptake and yield of cheem (*Panicum miliaceum L.*) genotypes in calcareous soil. J. Agric. Sci. 110: 321-329.
27. Rai, S. N., and Gaur, A. C. 1988. A characterization of *Azotobacter spp*, and effect of *Azotobacterization* in presence of fertilizer nitrogen in the yield of wheat. Indian Soc. Soi. Sci. 33: 424-426.
28. Sadrzadeh, S. M. 2004. Research of nitrogen and potassium Fertilizer on yield and yield components and index of rice growing Khazar varieties. MSc thesis Agronomy, College of Agricultural Sciences University of Guilan.
29. Sarige, S., Blum, A., and Okon, Y. 1992. Improvement of the water status and yield of fieldgrown grain sorghum by inoculation with *Azospirillum brasillense*. J. Agric. Sci. 110: 271-277.
30. Schnier, H. F., Dingkuhu, M., Dedatta, S., Mengel, K., and Faronilo, J. 1990. Nitrogen fertilization of direct seeded flooded transplanted rice: Nitrogen uptake, photosynthesis, growth and yield. Crop Science 30:1276-1284.
31. Shimon, M., Trosh, H., and Glick. B. R. 2004. Plant growth promoting bacteria confer resistance tomato plant to salt stress. Plant Physiol. Biochem. 42: 565-572.
32. Sinclair, T. R. 1998. Historical changes in harvest index crop Sci: 38: 638-643.
33. Singh, S., and Kapoor, K. K. 1998. Inoculation with phosphate solubilizing microorganisms and a vesicular *arbuscula rmycorrhizal* fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. Biol. Fertil. Soils. 95: 373-397.
34. Taha, S. M., Mahmoud, S. A. Z., Halim, A., Damaty. E. L., and Abd Elhafez, A. M. 1969. Activity of phosphate dissolving bacteria in Egyptian soils. Plant and Soil 113: 149-159.
35. Tilak, K. V. B., Singh, C. S., Roy, V. K., and Rao, N. S. S. 1982. *Azosprillum brasilense* and *azotobacter chroococcum* inoculum: effect of maize and sorghum. Soil Biol. Biochem.14: 417-418.
36. Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., Liu, L., and Zhu, Q. 2003. Post anthesis water deficits enhance grain filling in tow line hybrid rice. Crop Science 43: 2099-2108.
37. Zahir, A. Z., Arshad, M., and Franend berger, W. F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture. Adv. Agron, 81: 97-168.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 4, Winter. 2016, p. 700-714

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۷۱۴-۷۰۰

Evaluation of the Effects of Bio Fertilizers Containing non Symbiotic Nitrogen Fixing and Phosphate Solubilizing Bacteria on Quantitative and Qualitative Traits of Wheat

M. Mohtadi[1*] - M. J. MirHadi[2] - A. Chraty[3] - M. Bahadori[4]

Received: 22-01-2014
Accepted: 18-08-2015

Introduction

Wheat crop plays an important role in food security in a country such as Iran. Therefore, serious attention has been paid to ecological farming systems and sustainable management of wheat. For this purpose extensive efforts is done to find proper strategies to improve the quality of soil, agricultural products and started removal pollutants. One of the factors to achieve sustainable agriculture is to use natural agents such as biofertilizers. Several mechanisms are proposed to explain how effective plant growth promoting rhizobacteria is for growth and development of plants. These mechanisms include two groups, direct and indirect in general. Indirect mechanism is to increase absorption and availability of the nutrient elements soluble, producing plant growth regulators, siderophore production of iron chelator, and the phosphate soluble. Through indirect mechanisms such as antagonistic relation, PGPRs moderate the harmful effects of of plant pathogens and thereby lead to increase plant growth. The main goal of this study was to investigate the effect of biofertilizers containing non-symbiotic nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria on quantitative and qualitative traits of wheat.

Materials and Methods

This Experiment was conducted in the research farm of Baykola agricultural research stations affiliated by agriculture and natural resources research center of Mazandaran during 2011-12 cropping season. In order to determine physical and chemical properties of the soil samples were taken from the depth of 0-30 cm,. Experimental design was split plots arrangement based on randomized complete block design with three replications. In this experiment chemical fertilizer was assumed as the main plot in 3 levels include: 1- noconsumption (C0), 2- equivalent to 50% of the fertilizer recommendations (C1), 3- equivalent to 100% of the fertilizer recommendations(C2) and two types of biological fertilizers was applied in the sub plot in 4 levels: 1- noinoculation (B0), 2- Seeds inoculated with nitrogen fixing bacteria (B1), 3-Seed inoculation with phosphate solubilizing bacteria (B2), 4- Combined application of bio-fertilizers (B3).

Results and Discussion

Analysis of variance showed that grain yield, plant height, leaf area index, yield components, straw weight, biological yield, harvest index, percent of nitrogen and grain protein were influenced by different levels of biological and chemical fertilizers (Table 3). The highest grain yield was obtained using C_2B_3, combination treatments using chemical fertilizers and biofertilizers (PSB+NFB). The results of interactions between chemical fertilizers and biofertilizers showed the using 100% of the recommendations fertilizer along with biofertilizers (PSB+NFB) significantly increased grain yield (Table 5), compared with control. Due to increasing activity of bacteria *Aztobacter chroococum*, *Azospirillium brasilense* enhanced nitrogen fixation and released phyto hormones and thereby increased nutrient uptake by the roots. In addition, *Pseudomonas Potida* and *Pantoea agglomerace* had beneficial effects beside phosphorus uptake. These bacteria increased absorption and dissolved nutrients in the soil around the roots. PGPRs produced the plant growth regulator, organic acids and increased the ability to absorb elements such as iron, zinc and other micro elements and ultimately were effective in increasing crop yield and percent of nitrogen and grain protein.

1- M.Sc. Graduate, Depart agronomy of Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran
2- Associate Professor of Islamic Azad University, Science and Research Branch
3- Member of the Scientific Board of Agricultural and Natural Resources Research Center of Mazandaran
4- Scholar Agriculture and Natural Resources Research Center of Mazandaran
(*- Corresponding Authors Email: m.mohtadi.263@gmail.com)

Conclusions

Results of the experiment showed that using phosphate solubilizing bacteria and nitrogen fixing simultaneously or individually increased total plant biomass, grain nitrogen, protein content, yield components and crop yield. However, the combined use of phosphate solubilizing bacteria and nitrogen fixing compared to use of individually was more s effective. A synergic effect was found between chemical fertilizers and biological fertilizers. It is recommended to apply chemical fertilizers along with biological fertilizers to achieve highest possible yield.

Keywords: Bio fertilizers, Biological yield, Chemical fertilizer, Grain protein, Ggrain yield