

Research Article

Inoculation Effect of Some Liquid Inocula of *Enterobacter cloacae* on Oil and Fatty Acids Percentage and Nutritional Indices of Rapeseed (*Brassica napus* L.)

A. Vasli Dizajeyekan¹, MR. Sarikhani^{*2} and N. Najafi³

Received: January 13, 2020

Revised: September 1, 2021

Accepted: February 8, 2023

Published online: June 21, 2024

1-Former MSc. Student of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran.

2-Assoc. Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran.

3- Prof. of Soil Chemistry and Fertility, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agric., Univ. of Tabriz, Iran

*Corresponding Author, Email: rsarikhani@yahoo.com

Abstract

Background and Objectives

Biofertilizers play major role in sustainable agriculture and are inoculants containing useful microorganisms which are used as solid, liquid and/or encapsulated formulations. Different materials can be used as liquid carriers. Increasing inoculant longevity by using different materials is the main purpose in production of liquid inocula. These additives are carbon-based materials and could reduce environmental stresses. In this study the effectiveness of liquid inocula of *Enterobacter cloacae* S16-3 on oil content, fatty acids composition and nutrient uptake of rapeseed in a sterile sandy loam soil were evaluated. Nine liquid inocula of S16-3 (F1-F9) were prepared using different amounts of materials including glycerol, polyethylene glycol (PEG), trehalose, carboxymethylcellulose (CMC), Arabic gum (AG), polyvinylpyrrolidone (PVP), glucose and starch, in different combinations. Then, the effect of liquid inocula on growth of rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivar Hyola 308 was investigated.

Methodology

The experiment was carried out in greenhouse conditions based on completely randomized design (CRD) with three replications. The treatments were 9 liquid inocula (F1-F9). In all treatments, 70% of NPK was added to the soil in each pot, since we assumed that S16-3 is able to supply only 30% of these elements, one control treatment without adding any bacteria and fertilizer (negative control), and two positive controls (using NPK equal to 70% and 100% of fertilizer recommendation). Germinated seedlings of rapeseed were planted and inoculated with inocula in each pot. Except for NPK elements, micronutrients were provided based on soil test; however, in the case of nitrogen, phosphorus and potassium that were the main objective of this experiment, no chemical fertilizer or bacteria were used in negative control treatment. In positive control



(100NPK), based on the soil test and previous experiments, 100% of the recommended amount of fertilizer, equivalent (56.5 mg N/kg soil, from Urea), (13 mg P/kg soil, from triple superphosphate) and (31.3 mg K/kg soil, from potassium sulfate) were used, moreover, for other positive control treatment (70NPK), 70% of the above values were added to the pots. During the growth period, irrigation was performed with sterile water and the moisture content of the pots was maintained by weighing in a moisture range 0.7 - 0.8 FC. At harvest, characteristics such as dry weight of roots, shoots and seed, seed oil percentage and fatty acids composition, uptake of nitrogen, phosphorus, potassium, iron, zinc, manganese and calcium by root and shoot were measured.

Findings

The results showed that the dry weight of root, shoot and seed, seed oil percentage and fatty acids, uptake of nitrogen, phosphorus, potassium, iron, zinc, manganese and calcium by root and shoot of rapeseed were significantly influenced by the presence of *E. cloacae* bacteria (in the form of nine inocula) and 100NPK and 70NPK treatments. The highest percentage of seed oil (47.02%) and the highest amount of oleic acid (53.1%) was obtained by F9 (glycerol, glucose, AG, PEG) treatment, and oil quality was affected by bacterial inoculation. The highest amount of saturated fatty acids, such as stearic acid (4.5%) and palmitic acid (5.6%) was recorded in negative control. Element analysis in dry tissue of plant showed that 100NPK treatment had the highest N, K, Fe, Zn and Ca uptake, and among liquid inocula treatments (F1-F9), the highest uptake of these elements belonged to the F5 (AG, starch, PEG). The highest amount of total P in F1 treatment (glycerol, trehalose, CMC) and F4 (trehalose, AG, PEG) and highest Mn uptake by plant were obtained in F5 treatment.

Conclusion

In most measured indices, the effects of liquid inocula had higher performance than without inoculation treatment (negative control). From the nutritional point of view, F5 (AG+ starch+ PEG) liquid inoculant was better than the other inocula. F9 treatment had a significant effect on quantitative and qualitative characteristics of rapeseed oil.

Key words: Biofertilizer, Microbial Inoculant, Uptake of Nutrients, Rapeseed cultivar Hyola 308.

مقاله پژوهشی

اثر تلقیح برخی زادمایه‌های مایع *انتروباکتر کلوآسه* بر درصد روغن، اسیدهای چرب و شاخص‌های تغذیه‌ای گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)

آی‌سان وصلی دیزجیکان^۱، محمدرضا ساریخانی^{۲*}، نصرت اله نجفی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳

تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۰

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- استاد شیمی و حاصلخیزی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Email: rsarikhani@yahoo.com

چکیده

کودهای زیستی به صورت زادمایه‌هایی به فرم‌های مایع، جامد و کپسوله شده عرضه می‌شوند. مواد مختلفی به عنوان حامل در ساخت کود زیستی مایع مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تحقیق اثربخشی زادمایه‌های مایع باکتری محرک رشد گیاه *Enterobacter cloacae* S16-3 بر مقدار روغن، اسیدهای چرب و جذب عناصر غذایی کلزا در خاک با بافت لوم شنی استریل مورد ارزیابی قرار گرفت. این باکتری در ترکیب‌های مختلف در قالب ۹ زادمایه مایع (F₁-F₉) با مقادیر مشخص و در حالت‌های تلفیقی مختلف شامل گلیسرول، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، ترهالوز، کربوکسی‌متیل سلولز (CMC)، صمغ عربی، پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP)، گلوکز و نشاسته تهیه شد. آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. فاکتورها شامل ۹ تیمار مربوط به زادمایه‌های مایع (F₁-F₉)، که در همه این تیمارها مقدار ۷۰ درصد NPK به خاک گلدان افزوده شده بود، یک تیمار شاهد بدون تلقیح و بدون کود (کنترل منفی) و دو تیمار کنترل مثبت (کاربرد کود NPK به میزان ۷۰ درصد و ۱۰۰ درصد توصیه کودی) بودند. نتایج به‌دست آمده از آزمایشات گلخانه‌ای نشان داد که کاربرد باکتری *E. cloacae* (در قالب زادمایه‌های نه‌گانه) و تیمارهای ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK، در گیاه کلزا رقم هایولا ۳۰۸، بر وزن خشک کل ریشه، بخش‌هوایی و دانه، درصد روغن و اسیدهای چرب، جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی، منگنز و کلسیم ریشه و بخش‌هوایی، تأثیر کاملاً معنی‌داری داشت. تیمار F₉ (گلیسرول، گلوکز، صمغ عربی، PEG) بیشترین درصد روغن دانه (۴۷/۰۲ درصد) و بیشترین مقدار اسید اولئیک (۵۳/۱ درصد) را در بین زادمایه‌ها به خود اختصاص داد و سبب افزایش کیفیت روغن گردید. آنالیز عناصر در بافت خشک گیاه نشان داد که تیمار ۱۰۰ درصد NPK، بیشترین جذب نیتروژن، پتاسیم، آهن، روی و کلسیم در گیاه را داشت و در بین زادمایه‌های مایع (F₁-F₉)، بیشترین جذب این عناصر متعلق به زادمایه F₅ (صمغ عربی، نشاسته، PEG) بود. بیشترین میزان جذب فسفر در تیمار F₁ (گلیسرول، ترهالوز، CMC) و F₄ (ترهالوز، صمغ عربی، PEG) و بیشترین منگنز جذب شده در گیاه نیز در تیمار F₅ به‌دست آمد. زادمایه‌های مایع در بیشتر شاخص‌های اندازه‌گیری شده دارای عملکرد بالاتری نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح بودند. زادمایه مایع F₅ (صمغ عربی، نشاسته، PEG) به لحاظ تغذیه‌ای نسبت به سایر زادمایه‌ها بهتر عمل کرد.

واژه‌های کلیدی: کود زیستی، زادمایه میکروبی، میزان جذب، کلزا رقم هایولا ۳۰۸

مقدمه

به منظور حفظ محیط زیست و نیل به کشاورزی پایدار، استفاده از پتانسیل‌های زیستی برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی ضروری است. وارد نمودن باکتری به صورت مستقیم و یا سوسپانسیون در خاک مقدور نبوده و اصولاً به همراه یک ماده حامل انجام می‌گیرد (مشهدی اصغری و علی‌اصغرزاد ۲۰۰۵). ماده حامل، ضمن حفظ جمعیت قابل قبول از باکتری، باید وسیله‌ای برای عرضه باکتری به سطح بذر یا ریزوسفر گیاه باشد. حامل به ماده جامد، مایع یا نیمه جامد نگهدارنده باکتری اطلاق می‌شود که قادر است جمعیت مشخصی از باکتری مورد نظر را در مدت معین، در خود حفظ کند (قاسمی و همکاران ۲۰۱۹، مشهدی اصغری و علی‌اصغرزاد ۲۰۰۵).

حامل‌های مایع از جدیدترین نوع حامل‌ها هستند که به دلیل مشکلات ناشی از تلقیح بذور با حامل‌های جامد عرضه شده‌اند، اما به دلایل اقتصادی، فرمولاسیون آن‌ها در انحصار تولیدکنندگان است (تیتابوتر ۲۰۰۵). در ترکیب زادمایه‌های مایع نه تنها عناصر غذایی تامین می‌شود، مواد محافظت‌کننده سلول و مواد اصلاحی نیز استفاده می‌شود که به بقا و زنده‌مانی باکتری کمک می‌کند. بعضی از پلیمرها و مواد شیمیایی که می‌توانند به عنوان مواد افزودنی و محافظ در زادمایه‌های مایع استفاده شوند عبارتند از: پلی وینیل پیرولیدین (PVP)^۱، کربوکسی‌متیل سلولز، صمغ عربی، ترهالوز، گلیسرول، پلی اتیلن گلیکول (PEG)^۲ و آلزینات سدیم (پانلادا و همکاران ۲۰۰۷). باکتری *انتروباکتر کلواسه* از جمله باکتری‌های PGPR^۳ است که در نظام‌های تولید گیاهی به عنوان کود زیستی مورد بررسی و استفاده قرار گرفته است (کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸).

ساریخانی و همکاران (۲۰۱۸). بعد از تهیه زادمایه‌های مختلف از این باکتری، می‌توان اثرهای مایه‌زنی آن را بر گیاهان مختلف سنجید، اما از این میان گیاه کلزا قابل توجه است زیرا که کلزا یکی از دانه‌های روغنی مهم دنیا بوده که بعد از سویا و نخل روغنی مقام سوم را در تأمین روغن نباتی و مقام پنجم را در تأمین پروتئین جهان به خود اختصاص داده است (محمدزاده ۲۰۱۵). میزان زیاد روغن در دانه کلزا (۳۵-۴۵ درصد) و ترکیب مناسب اسیدهای چرب غیراشباع آن (اسید اولئیک ۵۶ درصد، اسید لینولئیک ۲۱/۵ درصد و اسید لینولنیک ۸ درصد) سبب توجه اکثر کشورهای جهان به این دانه روغنی شده است. میزان و ترکیب روغن کلزا به طور عمده به صورت ژنتیکی تعیین می‌شود (فیلسند و همکاران ۱۹۹۱) ولی به مقدار قابل توجهی نیز می‌تواند متأثر از عواملی مانند شرایط تغذیه‌ای، شرایطی محیطی، شرایط خاک و غیره باشد که حضور ریزجانداران در ریزوسفر می‌تواند باعث افزایش درصد روغن و درصد اسیدهای چرب مفید در گیاه شود. باکتری *انتروباکتر کلواسه* از جمله این ریزجانداران است که رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. باکتری به طرق مختلف در جذب و انتقال عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌تواند موثر واقع شود، همچنین با ترشح هورمون اکسین، رشد و توسعه ریشه و بخش‌های هوایی گیاه را افزایش داده و در نتیجه موجب افزایش زیست‌توده و عملکرد دانه و درصد روغن و درصد اسیدهای چرب مفید در گیاه می‌شود (ساجدی و همکاران ۲۰۱۱). نتایج تحقیقات محمودری و همکاران (۲۰۱۱) نشان می‌دهد استفاده از باکتری‌های محرک رشد تأثیری مثبت بر درصد روغن داشته و سبب افزایش عملکرد روغن در گیاه آفتابگردان شده است. اکبری و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که در بذره‌ای تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد، درصد روغن نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت، ضمن آنکه عملکرد بیولوژیک نیز از افزایش ۸ درصدی در چنین حالتی نسبت به عدم تلقیح برخوردار

1-Polyvinyl Pyrrolidone

2-Polyethylene Glycol

3-Plant Growth Promoting Rhizobacteria

حامل مایع برای استفاده ز این باکتری را نیز مشخص ساخت.

مواد و روش‌ها

انتخاب باکتری

باکتری مورد استفاده در این تحقیق باکتری *Enterobacter cloacae* S16-3 می‌باشد که از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز تأمین شده است. *انتروباکتر* باتوجه به توان حل کردن فسفر، آزادسازی پتاسیم و توان رشد در محیط فاقد نیتروژن (توان تثبیت نیتروژن) به عنوان باکتری محرک رشد گیاه در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱)، که اثرهای مثبت آن در رشد گیاهان در آزمایش‌های پیشین مشخص شده بود (مرادی و ساریخانی ۲۰۱۶، ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸، کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸).

بود. شهابا و ال-خاواز (۲۰۰۳) در آفتابگردان و سیدشرفی (۲۰۱۶) در سویا گزارش کردند که باکتری‌های افزاینده رشد گیاه موجب کاهش اسیدهای چرب اشباع (اسید پالمیتیک و اسید استئاریک) و افزایش اسیدهای چرب غیراشباع (اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک) شد.

در کل با توجه به خصوصیات بارز و مهم گیاه کلزا و با نظر به اینکه در مورد تأثیر کودهای زیستی بر روی خصوصیات کیفی روغن این گیاه پژوهش‌های اندکی صورت گرفته است و همچنین در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار که یکی از جنبه‌های مهم آن کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی است، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر باکتری *انتروباکتر کلوآسه* بر جذب عناصر NPK در گیاه کلزا و بررسی اثر مایه زنی باکتری بر درصد روغن و نوع اسیدهای چرب دانه کلزا انجام شد. همچنین از اهداف دیگر این مطالعه سنجش کارایی حامل‌های مایع حاوی باکتری بر خصوصیات فوق‌الذکر بود تا بتوان بهترین فرمولاسیون

جدول ۱- برخی از خصوصیات محرک رشدی باکتری مورد استفاده در آزمایش (ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸).

واکنش	تثبیت نیتروژن	انحلال فسفر نامحلول*	آزادسازی پتاسیم*	تولید اکسین
بakteri	تثبیت نیتروژن	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(mg L ⁻¹)
<i>E. cloacae</i> S16-3	منفی	۵۱۰	۱۳	۳/۱۷
	قادر به رشد در محیط عاری از نیتروژن			

* به ترتیب منابع فسفر و پتاسیم مورد آزمایش، تری کلسیم فسفات و کانی موسکویت بوده است.

آماده‌سازی زادمایه‌ها

زادمایه مایع با به‌کارگیری موادی از قبیل گلیسرول، پلی اتیلن گلیکول، ترهالوز، کربوکسی متیل سلولز (CMC)، صمغ عربی، گلوکز، پلی ونیل پیرولیدین و نشاسته با مقادیر مشخص و در حالت‌های تلفیقی مختلف در تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند.

فرمولاسیون زادمایه‌های مایع مطابق جدول ۲ تهیه شدند (قاسمی ۲۰۱۸)، شایان ذکر است که انتخاب نوع مواد و همچنین غلظت مورد استفاده آنها بر اساس بررسی منابع صورت گرفته بوده است. تمام مواد آزمایشگاهی استفاده شده در این تحقیق از مواد با درجه آزمایشگاهی و تحقیقاتی از برندهای معتبر تهیه شدند.

جدول ۲- فرمولاسیون زادمایه‌های مایع (درصدهای وزنی- حجمی یا حجمی-حجمی).

F ₁	گلیسرول (۱ درصد)، ترهالوز (۰/۵ درصد)، کربوکسی متیل سلولز (CMC) (۱ درصد)
F ₂	گلیسرول (۱ درصد)، ترهالوز (۰/۵ درصد)، PVP (۲ درصد)
F ₃	گلیسرول (۱ درصد)، نشاسته (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F ₄	ترهالوز (۰/۵ درصد)، صمغ عربی (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F ₅	صمغ عربی (۱ درصد)، نشاسته (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F ₆	ترهالوز (۰/۵ درصد)، نشاسته (۱ درصد)، PVP (۲ درصد)
F ₇	گلیسرول (۱ درصد)، ترهالوز (۰/۵ درصد)، گلوکز (۰/۵ درصد)، صمغ عربی (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)
F ₈	x (ترکیب مورد استفاده در یک برند تجاری)
F ₉	گلیسرول (۱ درصد)، PEG (۲ درصد)، صمغ عربی (۱ درصد)، گلوکز (۰/۵ درصد)

برای تهیه زادمایه‌های مایع، ابتدا در لوله‌های سانتریفوژ مجزا برای هر تیمار حامل مایع، مواد در حجم ۵ میلی‌لیتر به صورت مخلوط تهیه شد و تحت شرایط اتوکلاو ضدعفونی گردید. اعمال غلظت‌های مواد مورد استفاده برای حجم نهایی که ۱۰ میلی‌لیتر بود محاسبه گردید. زیرا ۵ میلی‌لیتر از کشت باکتری نیز به آن افزوده شد. در واقع مخلوط اولیه با غلظت دو برابر تهیه شد که وقتی حجم از ۵ میلی‌لیتر به ۱۰ میلی‌لیتر برسد، غلظت واقعی برقرار باشد. فرمولاسیون زادمایه‌های مایع طبق شرایط ذکر شده تهیه شدند، برای مثال:

F₁: ۰/۱ گرم CMC درون فالكون‌ها ریخته و با کمک گرما و همزن مغناطیسی در آب حل شد. سپس ۰/۰۵ گرم ترهالوز به هر فالكون اضافه کرده و با گردابه‌ای^۱ حل شد. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر گلیسرول به هر فالكون افزوده و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد.

این فرمولاسیون‌ها پس از تهیه، توسط اتوکلاو استریل شدند. با توجه به تندرشد بودن /نتروباکتر، کشت شبانه آن در محیط NB² برای تلقیح آماده شد و برای استقرار جمعیت اولیه 10^6 CFU ml⁻¹، پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به هر فالكون افزوده شد.

برای هر زادمایه مایع سه نمونه مجزا (فالكون) تهیه و در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از گذشت ۶ ماه و بعد از انجام شمارش جمعیت باکتری، از زادمایه برای مایه‌زنی گیاه کلزا در کشت گلدانی استفاده شد.

آماده‌سازی خاک، کشت گیاه و اعمال تیمارهای باکتریایی

این بخش از تحقیق در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام گرفت. با توجه به اینکه آزمایشات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای معیاری برای اثربخشی کودهای زیستی هستند، آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار مربوط به زادمایه‌های مایع شامل F₁ تا F₉، یک تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) و دو تیمار کنترل مثبت ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK با سه تکرار انجام شد. تهیه خاک از خاک با بافت لوم شنی از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری انجام شد. خاک مورد استفاده پس از عبور از غربال ۴ میلی‌متری در فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت در اتوکلاو استریل شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۳ آورده شده است.

1-Vortex

2-Nutrient Broth

جدول ۳- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای.

بافت خاک	pH گل اشباع	ظرفیت مزرعه (درصد)	EC _e (dS m ⁻¹)	کربن آلی (درصد)	کربنات کلسیم معادل (درصد)	فسفر قابل جذب (mg kg ⁻¹)	پتاسیم قابل جذب (mg kg ⁻¹)	رس (درصد)	سیلت (درصد)	شن (درصد)
لوم شنی	۷/۵۶	۱۲/۶	۱/۴	۰/۱۷	۲/۵۶	۳	۱۹۸/۱	۱۸	۱۳	۶۹

در این آزمایش از بذر کلزا (*Brassica napus* L.)

رقم هایولا ۳۰۸ استفاده شد که پس از ضدعفونی در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه، مورد استفاده قرار گرفت. بذور مورد استفاده از جهاد کشاورزی تبریز دریافت شد. به هر گلدان به میزان ۳/۳ کیلوگرم خاک استریل اضافه شد، سپس با آب استریل اشباع شد و بعد از رسیدن به شرایط رطوبتی ظرفیت مزرعه، ۶ بذر جوانه‌دار شده کلزا در هر گلدان کشت شد، بعد از سبز شدن و اطمینان از استقرار آنها، تعداد بوته‌ها در هر گلدان به سه عدد کاهش یافت. در تمامی گلدان‌ها سایر نیازهای عناصر غذایی (عناصر میکرو شامل آهن، منگنز، روی، بر و مس) به جز NPK به مقدار لازم به صورت محلول و به طور یکنواخت به همه گلدان‌ها اضافه شد. اما در مورد عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، که هدف اصلی این آزمایش بود در تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) هیچ کود شیمیایی و باکتری استفاده نشد، در مورد تیمار شاهد مثبت ۱۰۰ درصد NPK، بر اساس آزمون خاک و تجربیات قبلی ۱۰۰ درصد مقدار کودی توصیه شده معادل (mg kg⁻¹) ۵۶/۵ نیتروژن از منبع اوره)، (۱۳ mg kg⁻¹) فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل) و (۳۱/۳ mg kg⁻¹) پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم) و در تیمار شاهد مثبت ۷۰ درصد NPK، ۷۰ درصد مقادیر فوق در هر گلدان استفاده شد. در زادمايه‌ها نیز، ۷۰ درصد مقدار NPK استفاده شد، زیرا فرض آزمایش این بود که باکتری بتواند ۳۰ درصد نیاز گیاه به این عناصر را تأمین کند. این نکته از آزمایشات قبلی استنتاج شد (ساریخانی و همکاران

۲۰۱۸، کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸). ۱۰ میلی‌لیتر از هر زادمايه باکتریایی به طور مساوی بین هر سه تکرار از تیمار یعنی در سه گلدان پخش شد. بعد از اینکه بذره‌های جوانه دار کشت شدند همزمان زادمايه‌های باکتریایی به گلدان‌ها اضافه شد. در طول دوره‌ی رشد گیاه از طریق توزین، رطوبت تمامی گلدان‌ها در دامنه رطوبتی ۰/۷ - ۰/۸ FC نگهداری شد.

پارامترهای مورد اندازه‌گیری

بعد از گذشت حدود ۲ ماه و پس از برداشت گیاهان، نمونه‌های گیاهی (بخش‌های، ریشه و دانه) به مدت ۲ روز در دمای ۷۰ درجه سلسیوس درون آون نگهداری شدند سپس وزن خشک آن‌ها تعیین شد (محمدزاده و یقبانی ۲۰۰۵). لازم به ذکر است که برای بررسی کیفیت روغن و اسیدهای چرب آن، مقدار مناسبی از دانه جداگانه در فریز نگهداری شد و در زمان آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب برقی کاملاً خرد شدند به طوری که به راحتی از الک ۰/۵ میلی‌متر عبور کنند. هضم نمونه‌های گیاهی و اندازه‌گیری میزان عناصر موجود در آن‌ها

از روش هضم خشک جهت تهیه عصاره بافت گیاهی برای اندازه‌گیری عناصر فسفر، پتاسیم، آهن، روی، منگنز و کلسیم استفاده شد (وسترمن ۱۹۹۰، کالرا ۱۹۹۸)، اما در مورد عنصر نیتروژن پس از هضم آن به کمک اسید سولفوریک، درصد نیتروژن با استفاده از روش تیتراسیون بعد از تقطیر و به کمک روش کج‌دال (جونز ۲۰۰۱) تعیین شد. درصد فسفر با استفاده از

روش رنگ‌سنجی (رنگ زرد وانادات-مولیبدات) و با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Hach DR/2000 ساخت آمریکا) (اولسن و سامرز ۱۹۸۲) و درصد پتاسیم با استفاده از روش نشر شعله‌ای و به کمک دستگاه فلیم‌فوتومتر مدل ۴۱۰، ساخت شرکت انگلستان (جونز ۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. میزان آهن، روی، منگنز و کلسیم موجود در عصاره‌های گیاهی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل AA-630، ساخت شرکت ژاپن (جونز ۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. پس از تعیین غلظت عناصر در بافت گیاهی، مقدار جذب عناصر به‌صورت میلی‌گرم در هر گیاه گزارش شد. جذب عناصر توسط

نتایج و بحث

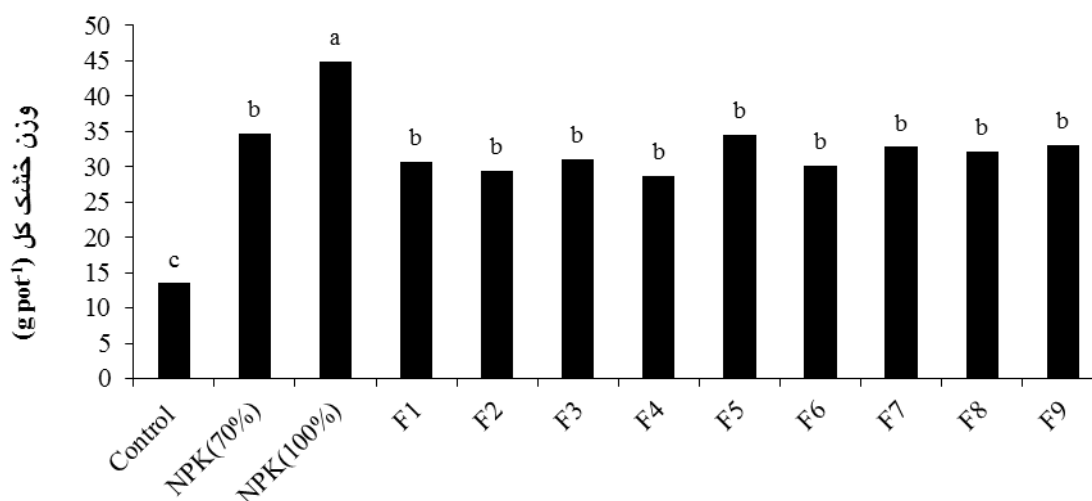
وزن خشک کل

وزن خشک کل (مجموع وزن خشک ریشه، بخش‌هوایی و دانه) در گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد متأثر از تیمارهای مورد استفاده بوده است. بالاترین میزان وزن خشک کل، ۱۴/۹۸ گرم در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK به‌دست آمد و با تمامی تیمارها تفاوت آماری معنادار نشان داد و کمترین میانگین مربوط به تیمار کنترل منفی بود. بالاترین میزان وزن خشک کل با میانگین ۱۱/۵۱ گرم در بین زادمایه‌های مایع، در زادمایه F_5 به‌دست آمد که نسبت به تیمار کنترل منفی افزایش چشمگیری داشت (شکل ۱). در آزمایش‌های گلخانه‌ای وزن خشک کل گیاه می‌تواند شاخص مهم و مناسب‌تری از شرایط رشد گیاه باشد. این افزایش وزن

گیاه (mg pot^{-1}) از حاصلضرب غلظت عنصر در گیاه (mg g^{-1}) در بیوماس خشک گیاهی (g plant^{-1}) محاسبه شد. توضیح اینکه این محاسبات برای تعداد بوته موجود در هر گلدان تصحیح و جذب عناصر به صورت mg plant^{-1} گزارش شد. استخراج روغن دانه کلزا با استفاده از روش سوکسله و درصد اسیدهای چرب موجود در آن با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد (آزادمرد دمیچی ۲۰۱۲).

تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK ناشی از نقش کلیدی نیتروژن در تغذیه معدنی گیاهان است و از این رو میزان رشد را تعیین می‌کند (بارکر و پیل بیم ۲۰۰۶). همچنین تیمار باکتری به کار رفته می‌تواند از طریق ترشح اسیدهای آلی و افزایش جذب عناصر غذایی، تولید و سنتز هورمون‌هایی چون اکسین، سیتوکینین، تولید سیدروفور و افزایش جذب نیتروژن و سایر عناصر ضروری به واسطه اثرات هم‌افزایی رشد گیاه را افزایش دهد (علی‌پور و سبحانی‌پور ۲۰۱۲). ساریخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش معناداری در وزن تر و خشک کل در گیاه ذرت بر اثر تلقیح با برخی کودهای میکروبی فسفات‌ها از جمله *E. cloacae* را گزارش کردند. شهیدی و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که بر اثر تلقیح آفتابگردان با *Enterobacter* sp. Fs-11 وزن خشک گیاهان در مقایسه با شاهد افزایش یافت.



شکل ۱- اثر تلقیح زادمایه های مایع انتروباکتر کلواسه بر وزن خشک کل در گیاه کلزا (F₁: گلیسرول، ترهالوز، کربوکسی متیل سلولز (CMC)، F₂: گلیسرول، ترهالوز، پلی وینیل پیرولیدین (PVP)، F₃: گلیسرول، نشاسته، پلی اتیلن گلیکول (PEG)، F₄: ترهالوز، صمغ عربی، PEG، F₅: صمغ عربی، نشاسته، PEG، F₆: ترهالوز، نشاسته، PVP، F₇: گلیسرول، ترهالوز، گلوکز، صمغ عربی، PEG، F₈: فرمولاسیون محرمانه، F₉: گلیسرول، PEG، صمغ عربی، گلوکز).

داشتند. بیشترین جذب نیتروژن شاخساره متعلق به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK (۲۴۴ میلی گرم در گیاه) بود و با تیمارهای F₅، F₇، F₈ و F₉ تفاوت آماری معنادار نداشت ولی با سایر تیمارها به ویژه با تیمار کنترل منفی تفاوت معنادار نشان داد. کمترین میزان آن ۱۱۵/۵ میلی گرم در گیاه بود و در تیمار کنترل منفی مشاهده شد. در بین زادمایه های مایع انتروباکتر کلواسه، زادمایه F₉ با میانگین ۳۱۳/۵ میلی گرم در گیاه بیشترین جذب نیتروژن شاخساره را به خود اختصاص داد (شکل ۲). بیشترین جذب نیتروژن ریشه، ۱۰۵/۶ میلی گرم در گیاه در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK مشاهده شد و با تمامی تیمارها تفاوت آماری معنادار داشت و کمترین جذب آن، ۷۳/۵۱ میلی گرم در گیاه) در تیمار کنترل منفی مشاهده شد. قابل ذکر است که در بین زادمایه های مایع انتروباکتر کلواسه، زادمایه F₁ با میانگین ۷۵/۹۵ میلی گرم در گیاه بیشترین جذب نیتروژن ریشه را به خود اختصاص داد که با افزایش ۱۰۲/۵ درصد نسبت به تیمار کنترل منفی تفاوت آماری معنادار با آن داشت (شکل ۲). بیشترین جذب نیتروژن دانه در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK به میزان ۳۱۸/۴

جذب عناصر غذایی

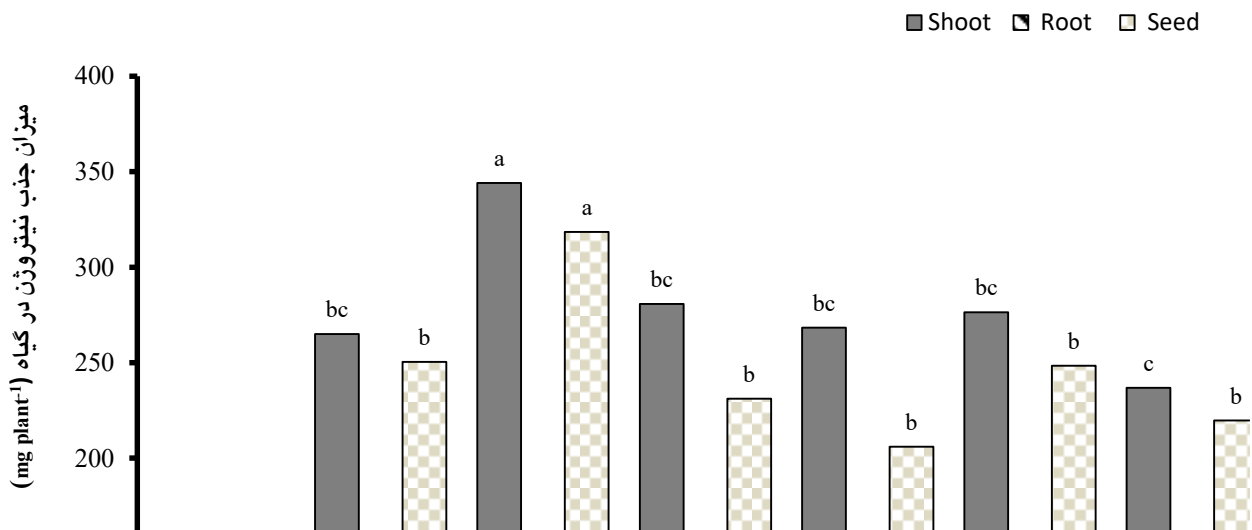
جذب عناصر غذایی در گیاه به غلظت عناصر و مقدار ماده خشک گیاه بستگی دارد. انتظار آن است که باکتری مورد استفاده از طریق افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود رشد عمومی گیاه در مجموع مقادیر بالاتری از جذب عناصر نیتروژن، پتاسیم، فسفر، آهن، روی، منگنز و کلسیم را در گیاهان تلقیح شده به دنبال داشته باشند. یکی از سازوکارهایی که باکتری می تواند مؤثر واقع شود افزایش دادن سطح جذب عناصر است. تلقیح باکتری در ابتدا به واسطه تولید هورمون اکسین باعث افزایش انشعابات ریشه و طول شدن آن می شود و در نهایت به صورت موثری مساحت سطح ریشه را جهت جذب عناصر غذایی افزایش می دهد. بر این اساس به نتایج به دست آمده از جذب این عناصر پرداخته می شود.

جذب نیتروژن در شاخساره، ریشه و دانه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تیمارهای آزمایش از نظر جذب نیتروژن در شاخساره، ریشه و دانه در سطح احتمال ۱ درصد باهم اختلاف معنادار

از جذب نیتروژن در دانه را نشان داد که از نظر آماری با تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۲).

میلی گرم در گیاه بود و با تیمار کنترل منفی تفاوت آماری معنادار داشت. تیمار کنترل منفی کمترین جذب نیتروژن دانه را داشت (۹۳/۸۲ میلی گرم در گیاه). تیمار F₅ با میانگین ۲۶۴/۸ میلی گرم در گیاه هم میزان بالایی



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تلقیح زادمایه های مایع/انتروباکتر کلوآسه بر جذب نیتروژن در گیاه کلزا (F₁: گلیسرول، ترهالوز، کربوکسی متیل سلولز (CMC)، F₂: گلیسرول، ترهالوز، پلی وینیل پیرولیدین (PVP)، F₃: گلیسرول، نشاسته، پلی اتیلن گلیکول (PEG)، F₄: ترهالوز، صمغ عربی، PEG، F₅: صمغ عربی، نشاسته، PEG، F₆: ترهالوز، نشاسته، PVP، F₇: گلیسرول، ترهالوز، گلوکز، صمغ عربی، PEG، F₈: فرمولاسیون محرمانه، F₉: گلیسرول، صمغ عربی، گلوکز).

سید و حسین (۲۰۱۱) نیز بیان کردند اثر مفید کاربرد کودهای زیستی نیتروژنی (ازتوباکتر)، توسعه و افزایش محتوای نیتروژن گیاه بوده و بر ویژگی های فیزیکی و شیمیایی محصول مؤثر است.

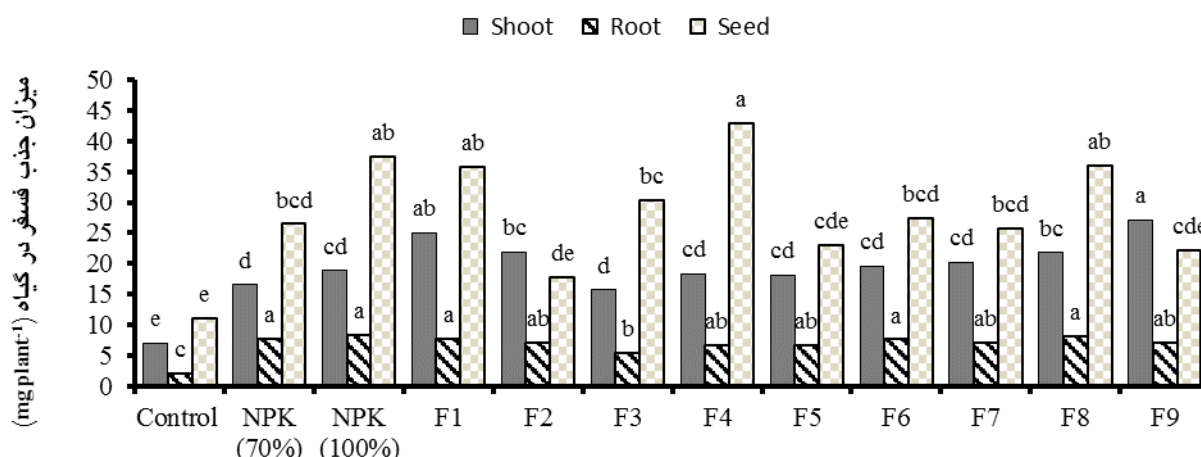
جذب فسفر در شاخساره، ریشه و دانه

براساس جدول تجزیه واریانس اثر اعمال تیمارهای آزمایشی بر جذب فسفر شاخساره، ریشه و دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود. بالاترین جذب فسفر شاخساره ۲۷/۱۶ میلی گرم در گیاه بود و در تیمار F₉ مشاهده شد و با تیمار کنترل منفی (۶/۹۸ میلی گرم در گیاه) تفاوت آماری معنادار داشت ولی با تیمار F₁ در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۳). بالاترین جذب فسفر ریشه ۸/۲۵ میلی گرم در گیاه در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK مشاهده شد که با تیمار

بالا بودن زیست توده گیاهی تأثیر مستقیمی در به دست آمدن میزان بالای نیتروژن دارد که این امر در تیمار ۱۰۰ درصد NPK و سپس تیمارهایی که در آنها باکتری/انتروباکتر کلوآسه استفاده شده، دیده می شود. به نظر افزایش جذب نیتروژن در تیمارهای تلقیحی به توان تثبیت نیتروژن این باکتری مربوط باشد و از آن به عنوان یکی از باکتری های تثبیت کننده نیتروژن نوع آزادی یاد می شود (پاول ۲۰۰۷)، هر چند در برخی از مطالعات درون شیشه ای نیز برخی از قابلیت های این سویه میکروبی به خوبی اثبات شده است (مرادی و ساریخانی ۲۰۱۶، ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸، کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸). شانکار و همکاران (۲۰۱۱) افزایش میزان جذب نیتروژن در نشاءهای برنج تلقیح شده با *E. cloacae* در مقایسه با شاهد را گزارش کردند.

معنادار داشت و نسبت به آن افزایش قابل توجهی داشت و کمترین میزان آن ۱۱/۱۳ میلی گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد. همچنین تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK، تیمار F_1 ، F_8 هم مقادیر بالایی از جذب فسفر در دانه نشان دادند که از نظر آماری با تیمار F_4 در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۳).

کنترل منفی (۲/۰۶ میلی گرم در گیاه) و تیمار F_3 تفاوت آماری معنادار داشت ولی با سایر تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفتند. در بین زادمايه های مایع/انتروباکتر کلوآسه، زادمايه F_8 (۸/۰۳ میلی گرم در گیاه) بیشترین جذب فسفر ریشه را به خود اختصاص داد (شکل ۳). بیشترین جذب فسفر دانه ۴۲/۹۷ میلی گرم در گیاه در تیمار F_4 مشاهده شد که با تیمار کنترل منفی تفاوت



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تلقیح زادمايه های مایع/انتروباکتر کلوآسه بر جذب فسفر در گیاه کلزا (F_1 : گلیسرول، ترهالوز، کربوکسی متیل سلولز (CMC)، F_2 : گلیسرول، ترهالوز، پلی وینیل پیرولیدین (PVP)، F_3 : گلیسرول، نشاسته، پلی اتیلن گلیکول (PEG)، F_4 : ترهالوز، صمغ عربی، PEG، F_5 : صمغ عربی، نشاسته، PEG، F_6 : ترهالوز، نشاسته، PVP، F_7 : گلیسرول، ترهالوز، گلوکز، صمغ عربی، PEG، F_8 : فرمولاسیون محرمانه، F_9 : گلیسرول، PEG، صمغ عربی، گلوکز).

تولید آنزیم فسفاتاز در انحلال فسفات معدنی و معدنی نمودن فسفر آلی نقش دارد، هر چند این موضوع نیاز به بررسیهای بیشتری دارد. علاوه بر آن اثربخشی مثبت این باکتری در بهبود تغذیه فسفوری گیاه در مطالعات مختلف مورد توجه قرار گرفته است (ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸، کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸). ساریخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش معناداری در میزان جذب فسفر در بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت بر اثر تلقیح با برخی کودهای میکروبی فسفاتاز از جمله *E. cloacae* را گزارش کردند. شهیدی و همکاران (۲۰۱۲) افزایش مقدار فسفر کل در آفتابگردان تلقیح شده با *Enterobacter* sp. Fs-11 در مقایسه با گیاهان شاهد را

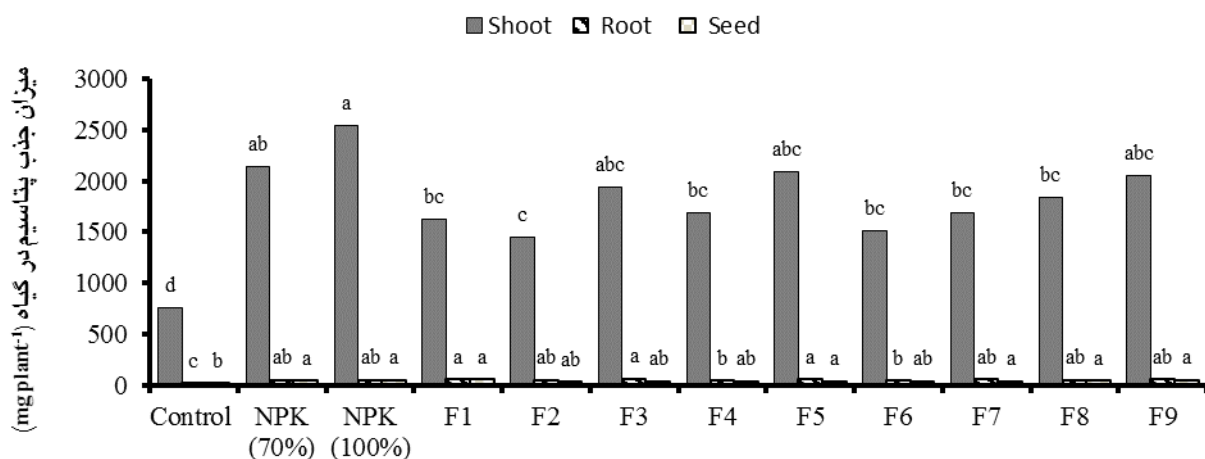
اگرچه کلزا عموماً به کمبود فسفر حساس است، اما رقم های مختلف از این نظر بسیار متفاوت هستند. افزایش فراهمی فسفر در خاک سبب افزایش معنادار عملکرد روغن و دانه، غلظت فسفر و روغن دانه ها و انتقال فسفر به دانه ها می شود (لیکفت و همکاران ۱۹۹۹). کارایی فسفر در کلزا مربوط به توسعه بهتر سیستم ریشه و جذب مؤثر فسفر است (هو و همکاران ۲۰۱۰). باکتری *E. cloacae* توانایی چشمگیری در حل کردن فسفات نامحلول دارد به صورتی که میزان انحلال فسفات معدنی آن در حضور تری کلسیم فسفات ۵۱۰ میل گرم بر لیتر گزارش شده است (مرادی و ساریخانی ۲۰۱۶)، به نظر ترشح اسیدهای آلی و معدنی و شاید

گزارش کردند. رامش و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایشی تأثیر *E. cloacae* بر افزایش غلظت فسفر در ریشه، ساقه و دانه گندم و سویا را در مقایسه با شاهد گزارش کردند.

جذب پتاسیم در شاخساره، ریشه و دانه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زادماهی‌های مایع/انتروباکتر کلواسه بر جذب پتاسیم شاخساره و ریشه در سطح احتمال ۱ درصد و بر جذب پتاسیم دانه در سطح احتمال ۵ درصد معنادار بود. بیشترین جذب پتاسیم شاخساره ۲۵۴۷ میلی‌گرم در گیاه تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK به دست آمد که با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK، تیمارهای F_3 ، F_5 ، F_9 تفاوت آماری معنادار نداشت ولی با سایر تیمارها به‌ویژه با تیمار کنترل منفی تفاوت معنادار داشت و کمترین میزان آن ۷۵۷/۱ میلی‌گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد. در بین زادماهی‌های مایع/انتروباکتر کلواسه، زادماهی F_5 با میانگین ۲۰۸۶

میلی‌گرم در گیاه بیشترین جذب پتاسیم شاخساره را به خود اختصاص داد که نسبت به تیمار کنترل منفی افزایش قابل‌توجهی نشان داد (شکل ۴). بیشترین جذب پتاسیم ریشه در تیمار F_3 ، تیمار F_5 و تیمار F_1 به میزان ۵۹/۰۵، ۵۴/۹۱ و ۵۴/۸۲ میلی‌گرم در گیاه بود که با تیمار کنترل منفی و تیمارهای F_4 و F_6 تفاوت آماری معنادار داشتند ولی با سایر تیمارها از نظری آماری در یک گروه قرار گرفتند و کمترین جذب آن ۱۵/۸ میلی‌گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (شکل ۴). بالاترین جذب پتاسیم دانه ۵۴/۵۷ میلی‌گرم در گیاه بود و در تیمار F_1 مشاهده شد که با تیمار شاهد بدون تلقیح تفاوت آماری معنادار داشت و نسبت به آن افزایش سه برابری نشان داد ولی با بقیه تیمارها از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند و کمترین میزان آن ۱۷/۲۳ میلی‌گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر تلقیح زادماهی‌های مایع/انتروباکتر کلواسه بر جذب پتاسیم در گیاه کلزا (F_1 : گلیسرول، ترهالوز، کربوکسی‌متیل سلولز (CMC)، F_2 : گلیسرول، ترهالوز، پلی‌ونیل‌پیرولیدین (PVP)، F_3 : گلیسرول، نشاسته، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، F_4 : ترهالوز، صمغ عربی، PEG، F_5 : صمغ عربی، نشاسته، PEG، F_6 : ترهالوز، نشاسته، PVP، F_7 : گلیسرول، ترهالوز، گلوکز، صمغ عربی، PEG، F_8 : فرمولاسیون محرمانه، F_9 : گلیسرول، PEG، صمغ عربی، گلوکز).

مطالعات درون شیشه‌ای و در کشت گیاه اثبات شده است (مرادی و ساریخانی ۲۰۱۶، ساریخانی و همکاران

توانایی آزادسازی پتاسیم از منابع کانی میکای موسکویت و بیوتیت توسط باکتری مورد استفاده در

۲۰۱۸). بالا بودن میزان جذب پتاسیم در تمام تیمارهایی که *انتروباکترکلوآسه* استفاده شده بود به تولید بیشتر زیست توده گیاهی، و همچنین حل کنندگی خود باکتری و افزایش زیست فراهمی پتاسیم مربوط می شود. حضور این باکتری به نظر توانسته باعث توسعه بیشتر ریشه شود و لنگرگاه مناسبی برای استقرار گیاه و جذب عناصر از بستر کشت باشد. ساریخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش معناداری در میزان جذب پتاسیم در بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت بر اثر تلقیح با برخی کودهای میکروبی فسفات از جمله *E. cloacae* را گزارش کردند. قدمخانی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که تلقیح گندم با *E. cloacae* مقدار پتاسیم را در ریشه ۴۰/۵ درصد، در ساقه ۵۰/۹ درصد و در دانه گندم در مقایسه با شاهد به طور قابل توجهی افزایش داد.

جذب آهن در شاخساره، ریشه و دانه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر تیمارهای آزمایش بر جذب آهن شاخساره، ریشه و دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود. بیشترین جذب آهن شاخساره در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK (۱۷/۵ میلی گرم در گیاه) بود که نسبت به تیمار کنترل منفی تفاوت آماری معنادار داشت و تیمار F_5 نیز با مقدار ۱۵ میلی گرم در گیاه با تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK در یک گروه آماری قرار گرفتند و کمترین میزان آن ۴ میلی گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین جذب آهن ریشه ۱۹/۲۹ میلی گرم در گیاه به دست آمد که در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK مشاهده شد که با تیمار کنترل منفی تفاوت آماری معنادار داشت و کمترین جذب آهن ریشه ۶/۴۶ میلی گرم در گیاه در تیمار F_3 مشاهده شد گرچه تفاوت آماری معنادار با تیمار کنترل منفی نداشت ولی ۱۲/۲ درصد کاهش نسبت به آن نشان داد. تیمارهای F_2 ، F_4 ، F_8 هم مقادیر کمتری از جذب آهن ریشه را نشان دادند که از نظر آماری با تیمار کنترل منفی در یک گروه قرار

گرفتند. در بین زادمایه های مایع *انتروباکترکلوآسه*، زادمایه F_1 با میانگین ۱۵/۲۸ میلی گرم در گیاه بیشترین جذب آهن ریشه را به خود اختصاص داد (جدول ۴). به نظر می رسد علت کاهش مقدار آهن در تیمارهای فوق در ریشه نسبت به شاخساره و دانه، به دلیل انتقال آهن از ریشه به شاخساره و دانه می باشد که بیشتر در دانه تجمع یافته است. بیشترین جذب آهن دانه ۱/۰۵ میلی گرم در گیاه متعلق به تیمار کودی ۷۰ درصد NPK بود و با تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK، تیمارهای F_3 ، F_4 ، F_5 ، F_8 تفاوت آماری معنادار نداشت ولی با تیمار کنترل منفی تفاوت معنادار نشان داد و کمترین میزان آن ۰/۳۸ میلی گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد. در بین زادمایه های مایع *انتروباکترکلوآسه*، زادمایه F_3 با میانگین ۰/۹۹ میلی گرم در گیاه بیشترین جذب آهن دانه را به خود اختصاص داد که نسبت به تیمار کنترل منفی افزایش قابل توجهی داشت (جدول ۴). پژوهشگران نشان دادند که باکتری *E. cloacae* توانایی تولید ترکیبی به نام سیدروفور را دارد. گیاهان می توانند از سیدروفورهای تولید شده توسط باکتری ها به عنوان عاملی برای تأمین آهن مورد نیاز خود استفاده کنند (احمد و همکاران ۲۰۰۸، دونگ ۲۰۱۰). ساریخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش معناداری در میزان جذب آهن در شاخساره و ریشه گیاه ذرت بر اثر تلقیح با برخی کودهای میکروبی فسفات (*Pantoea agglomerans* P5, *Pseudomonas fluorescens* Tabriz, *P. putida* Tabriz, *Pseudomonas* sp. C16-2O, *Enterobacter* sp. S16-3, *Bacillus megaterium* JK6 and *B. firmus*) را گزارش کردند. قدمخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش غلظت و جذب آهن در ریشه، ساقه و دانه در گندم های تلقیح شده با سویه های مختلف *E. cloacae* و ۵۰ درصد کود سولفات آهن را نسبت به تیمار کودی بدون باکتری گزارش کردند.

جذب روی در شاخساره، ریشه و دانه

تجزیه واریانس داده های آزمایش نشان داد که

جذب روی شاخساره، ریشه و دانه در گیاه کلزا بر اثر تلقیح با زادمایه‌های مایع/انتروباکتر کلواسه در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود. بیشترین جذب روی شاخساره ۲/۳۰ میلی‌گرم در گیاه در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK بود و با تیمار F_5 از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند ولی با تیمار کنترل منفی تفاوت معنادار داشت و کمترین میزان آن ۰/۳۳ میلی‌گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (جدول ۴). در مقایسه میانگین میزان جذب روی ریشه مشاهده شد، تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK با ۰/۸۳ میلی‌گرم در گیاه بالاترین جذب روی ریشه را داشت که با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK و تیمار F_5 از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند ولی با تیمار کنترل منفی تفاوت معنادار نشان داد و کمترین جذب روی ریشه ۰/۱۶ میلی‌گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین جذب روی دانه ۰/۵۷ میلی‌گرم در گیاه بود که در تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK مشاهده شد که با تفاوت معنادار با تیمار کنترل منفی در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفتند ولی با تیمار کودی ۷۰ درصد NPK، تیمارهای F_1 ، F_3 ، F_5 ، F_7 ، F_9 از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند و کمترین جذب آهن دانه ۰/۱۶ میلی‌گرم در گیاه در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (جدول ۴). به نظر می‌رسد باکتری از طریق تولید اکسین و گسترش سیستم ریشه‌ای، کاهش pH منجر به افزایش مقدار جذب روی در شاخساره و ریشه شده است. نتایج بدست آمده از این تحقیق با یافته‌های ساپین و همکاران (۲۰۰۸) که بیان کردند تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب تسهیل جذب عناصر کم‌مصرف می‌شود مطابقت دارد. ساریخانی و همکاران (۲۰۱۸) افزایش معناداری در جذب روی در شاخساره و ریشه گیاه ذرت بر اثر تلقیح با برخی کودهای میکروبی فسفات‌ها از جمله *E. cloacae* را گزارش کردند.

جذب منگنز در شاخساره و دانه

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر تلقیح زادمایه‌های مایع/انتروباکتر کلواسه بر جذب منگنز شاخساره و دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود. بیشترین جذب منگنز شاخساره ۲/۳ میلی‌گرم در گیاه بود و در تیمار F_5 مشاهده شد که با تیمار F_9 از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند ولی با تفاوت معنادار با تیمار کنترل منفی در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفتند و کمترین جذب منگنز شاخساره ۰/۷۳ میلی‌گرم در گیاه بود و در تیمار F_3 مشاهده شد گرچه تفاوت معنادار با تیمار کنترل منفی نداشت ولی ۲۰/۳ درصد کاهش نسبت به آن نشان داد (جدول ۴). در عین اینکه جذب منگنز در شاخساره در تیمار F_3 کمترین بوده ولی در دانه میزان بالایی را به خود اختصاص داده و این به معنی انتقال بیشتر به دانه است. مقایسه میانگین داده‌های آزمایش نشان داد که تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK، تیمارهای F_1 تا F_9 بیشترین جذب منگنز در دانه را نشان دادند که همگی از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند و کمترین جذب منگنز دانه ۰/۱۲ میلی‌گرم در گیاه بود که در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (جدول ۴). به نظر می‌رسد باکتری از طریق تولید هورمون اکسین و گسترش سیستم ریشه‌ای، ترشح اسیدهای آلی و کاهش pH منجر به افزایش جذب منگنز در گیاه شده است. رامش و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایشی تأثیر *E. cloacae* بر افزایش غلظت منگنز در ریشه، ساقه و دانه گندم و سویا را در مقایسه با شاهد گزارش کردند. بشارتی و همکاران (۲۰۱۷) افزایش غلظت منگنز در شاخساره گیاه سویا بر اثر تلقیح با برخی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد را گزارش کردند.

جذب کلسیم در شاخساره و دانه

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر زادمایه‌های مایع/انتروباکتر کلواسه بر جذب کلسیم شاخساره و دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود.

بالاترین جذب کلسیم ۸۰۰/۶ میلی گرم در گیاه بود و متعلق به تیمار کودی ۱۰۰ درصد NPK بود که با تمامی تیمارها به‌ویژه با تیمار کنترل منفی تفاوت معنادار داشت و پایین‌ترین میزان آن ۳۵۳/۶ میلی گرم در گیاه بود که در تیمار کنترل منفی مشاهده شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار کودی ۷۰ درصد و ۱۰۰ درصد NPK، تیمارهای F₁ تا F₉ بیشترین جذب کلسیم در دانه را نشان دادند که همگی از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند و کمترین میزان آن

۹/۶۶ میلی گرم در گیاه متعلق به تیمار کنترل منفی بود (جدول ۴). افزایش کلسیم می تواند ناشی از تأثیر باکتری در توسعه سیستم ریشه و متعاقب آن جذب بهتر کلسیم باشد. یائو و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که تلقیح بذر پنبه با *Pseudomonas* منجر به افزایش جذب کلسیم در این گیاه گردید. کارلیداگ و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند مقدار جذب کلسیم در برگ‌های سیب بر اثر تلقیح ریشه با باکتری‌های محرک رشد به‌طور معناداری افزایش یافت.

جدول ۴- مقایسه میانگین میزان جذب عناصر غذایی آهن، روی، منگنز و کلسیم در کلزا.

تیمار	جذب آهن		جذب روی		جذب منگنز		جذب کلسیم	
mg plant ⁻¹								
	شاخساره	ریشه	دانه	شاخساره	ریشه	دانه	شاخساره	دانه
F ₁	۸/۲۴ ^{de}	۱۵/۲۸ ^b	۰/۷۲ ^{bc}	۱/۸۳ ^{bc}	۰/۵۴ ^{bc}	۰/۴۲ ^{abc}	۱/۲۷ ^{def}	۰/۲۹ ^{ab}
F ₂	۸/۷۲ ^{de}	۶/۵۰ ^e	۰/۷۳ ^{bc}	۱/۳۱ ^d	۰/۳۹ ^c	۰/۳۶ ^{bc}	۰/۹۸ ^{efg}	۰/۲۹ ^{ab}
F ₃	۶/۸۱ ^{ef}	۶/۴۶ ^e	۰/۹۹ ^{ab}	۱/۴۵ ^{cd}	۰/۴۱ ^c	۰/۴۴ ^{abc}	۰/۷۳ ^g	۰/۲۸ ^{ab}
F ₄	۱۲/۶۹ ^{bc}	۶/۹۳ ^e	۰/۷۵ ^{abc}	۱/۵۸ ^{bcd}	۰/۳۹ ^c	۰/۳۹ ^{bc}	۱/۷۰ ^{bcd}	۰/۲۹ ^{ab}
F ₅	۱۵ ^{ab}	۱۰/۸۸ ^{cd}	۰/۸۹ ^{abc}	۱/۹۵ ^{ab}	۰/۶۷ ^{ab}	۰/۴۸ ^{abc}	۲/۳۰ ^a	۰/۳۴ ^a
F ₆	۹/۰۱ ^{de}	۱۱/۲۷ ^{cd}	۰/۶۶ ^c	۱/۴۵ ^{cd}	۰/۴۸ ^{bc}	۰/۳۹ ^{bc}	۱/۵۸ ^{cd}	۰/۳۱ ^a
F ₇	۶/۸۲ ^{ef}	۱۰/۰۳ ^{cde}	۰/۶۸ ^{bc}	۱/۳۵ ^d	۰/۵۶ ^{bc}	۰/۴۴ ^{abc}	۱/۳۸ ^{cde}	۰/۲۷ ^{ab}
F ₈	۹/۸۷ ^{cde}	۶/۵۹ ^e	۰/۷۵ ^{abc}	۱/۷۵ ^{bc}	۰/۴۴ ^c	۰/۳۲ ^c	۱/۸۱ ^{bc}	۰/۳۳ ^a
F ₉	۸/۹۸ ^{de}	۸/۷۷ ^{de}	۰/۶۹ ^{bc}	۱/۶۶ ^{bcd}	۰/۵۵ ^{bc}	۰/۴۷ ^{abc}	۲/۰۳ ^{ab}	۰/۳۱ ^{ab}
شاهد منفی	۴/۰۱ ^f	۷/۲۶ ^e	۰/۳۸ ^d	۰/۳۳ ^e	۰/۱۶ ^d	۰/۱۶ ^d	۰/۸۸ ^{fg}	۰/۱۲ ^c
NPK 70%	۱۱/۷۳ ^{bcd}	۱۳/۱۰ ^{bc}	۱/۰۵ ^a	۱/۵۵ ^{bcd}	۰/۶۷ ^{ab}	۰/۵۱ ^{ab}	۰/۸۶ ^{fg}	۰/۱۸ ^{bc}
NPK100%	۱۷/۵۰ ^a	۱۹/۲۹ ^a	۰/۹۳ ^{abc}	۲/۲۹ ^a	۰/۸۲ ^a	۰/۵۷ ^a	۱/۳۵ ^{de}	۰/۳۴ ^a

برای هر صفت، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند. (F₁: گلیسرول، ترهالوز، کربوکسی‌متیل سلولز (CMC)، F₂: گلیسرول، ترهالوز، پلی‌ونیل‌پیرولیدین (PVP)، F₃: گلیسرول، نشاسته، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، F₄: ترهالوز، صمغ‌عربی، PEG، F₅: صمغ‌عربی، نشاسته، PEG، F₆: ترهالوز، نشاسته، PVP، F₇: گلیسرول، ترهالوز، گلوکز، صمغ‌عربی، PEG، F₈: فرمولاسیون محرمانه، F₉: گلیسرول، PEG، صمغ‌عربی، گلوکز).

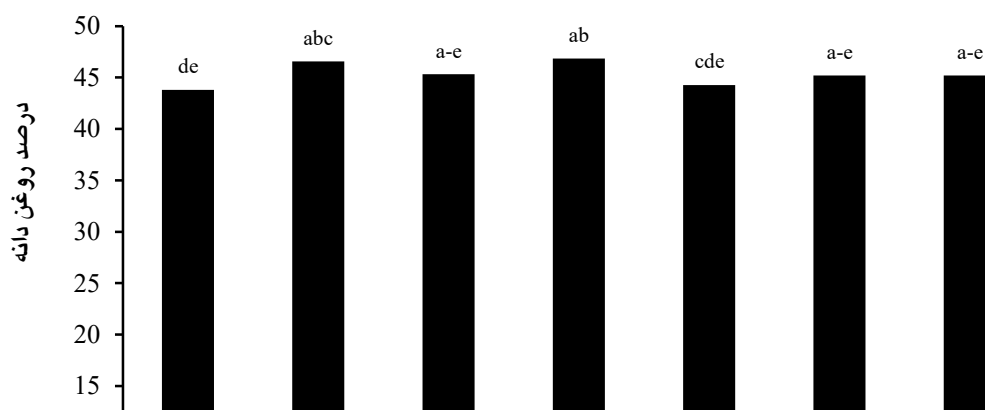
درصد روغن

روغن دانه در گیاه کلزا، در سطح احتمال ۵ درصد متأثر از تیمارهای مورد استفاده بوده است. بیشترین درصد

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد

روغن دانه (۴۷/۰۲ درصد) در تیمار F₉ مشاهده شد و با تیمارهای کودی ۷۰ درصد و ۱۰۰ درصد NPK، و تیمارهای F₁، F₃، F₄، F₈، تفاوت آماری معنادار نداشت ولی با تیمار شاهد بدون تلقیح تفاوت آماری معنادار داشت و ۷/۴ درصد نسبت به آن افزایش نشان داد و کمترین درصد روغن دانه نیز با میانگین ۴۳/۶ درصد در تیمار F₇ مشاهده شد گرچه تفاوت آماری معنادار با تیمار شاهد بدن تلقیح نداشت اما ۰/۳ درصد نسبت به آن کاهش نشان داد (شکل ۵). افزایش روغن از اهداف اصلی تولید دانه‌های روغنی است. درصد روغن تحت تأثیر تیمار /انتروباکتر کلواسه در قالب زادمایه‌های نه‌گانه آن قرار گرفته بود. افزایش درصد روغن در تیمارهای گفته شده می‌تواند به دلیل افزایش فراهمی عناصر غذایی برای گیاه باشد که موجب افزایش میزان روغن در دانه گردیده است. به نظر می‌رسد باکتری با تثبیت نیتروژن و انتقال آن به سیستم رشد گیاه موجب ایجاد تعادل در جذب عناصر مورد نیاز گیاه شده و همچنین با حل کردن فسفر نامحلول و در نتیجه قابل جذب شدن آن برای گیاه و با ترشح هورمون اکسین، رشد و توسعه ریشه و بخش‌های هوایی گیاه را افزایش

داده و در نتیجه موجب افزایش زیست‌توده و عملکرد دانه و درصد روغن می‌شود. تلقیح بذر با باکتری به دلیل کارایی بالایی که در جذب عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن و فسفر از خودش نشان می‌دهد باعث تداوم طول عمر برگ در مراحل رشد و نمو گیاه شده و لذا، مدت زمان انجام فتوسنتز در گیاه افزایش یافته و مواد فتوسنتزی بیشتری به دانه‌ها انتقال یافته که می‌تواند در مرحله پر شدن دانه برای گیاه مؤثر باشد و منجر به افزایش وزن دانه، عملکرد دانه و درصد روغن شود (ساجدی و همکاران ۲۰۱۱). نتایج تحقیقات محمودری و همکاران (۲۰۱۱) نشان می‌دهد استفاده از باکتری‌های محرک رشد تأثیری مثبت بر درصد روغن داشته و سبب افزایش عملکرد روغن در گیاه آفتابگردان شده است. اکبری و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که در بذره‌ای تلقیح شده آفتابگردان با باکتری‌های محرک رشد، درصد روغن نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت ضمن آنکه عملکرد بیولوژیک نیز از افزایش ۸ درصدی در چنین حالتی نسبت به عدم تلقیح برخوردار بود.



شکل ۵- مقایسه میانگین‌های اثر تلقیح زادمایه‌های مایع /انتروباکتر کلواسه بر درصد روغن دانه گیاه کلزا (F₁: گلیرول، ترهالوز، کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMC)، F₂: گلیرول، ترهالوز، پلی‌ونیل‌پیرولیدین (PVP)، F₃: گلیرول، نشاسته، پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG)، F₄: ترهالوز، صمغ عربی، PEG، F₅: صمغ عربی، نشاسته، PEG، F₆: ترهالوز، نشاسته، PVP، F₇: گلیرول، ترهالوز، گلوکز، صمغ عربی، PEG، F₈: فرمولاسیون محرمانه، F₉: گلیرول، PEG، صمغ عربی، گلوکز).

درصد اسیدهای چرب

نتایج مربوط به کروماتوگرافی گازی و آنالیز روغن دانه گیاه کلزا در جدول ۴ آمده است.

با آنالیز کروماتوگرافی گازی چهار اسیدچرب غیراشباع شامل اسید پالمیتولئیک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک و دو اسید چرب اشباع شامل اسید پالمیتیک و اسید استئاریک در روغن کلزا شناسایی و تعیین شدند (جدول ۴). در بین اسید چرب‌های کلزا، اسید اولئیک و لینولئیک بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی (جدول ۴ و شکل‌های ۶ و ۷)، تیمار F₉ بالاترین درصد اسید اولئیک را به خود اختصاص داده است. این اسید چرب جز اسیدهای چرب غیراشباع محسوب می‌شود. افزایش اسیدهای چرب غیراشباع نیز باعث افزایش کیفیت روغن کلزا می‌گردد (احمد و عابدین ۲۰۰۰). اعمال زادمايه F₉ باعث کاهش درصد اسید لینولئیک و اسید لینولنیک کلزا شدند. به‌طوریکه بیشترین درصد اسید لینولئیک (۱۵/۳ درصد) و اسید لینولنیک (۶/۶ درصد) در تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) مشاهده گردید (جدول ۴).

از نظر اسیدهای چرب اشباع نیز بیشترین مقدار اسید پالمیتیک و اسید استئاریک در تیمار شاهد بدون تلقیح مشاهده گردید (جدول ۴). از نظر تغذیه هرچه‌قدر مقدار این اسیدچرب‌های اشباع در دانه کلزا کم باشد بهتر است. هر دو تیمار فاقد اسید اروسیک بودند. این اسید چرب ۲۲ کربنه برای سلامتی انسان بسیار مضر است و روغنی که فاقد این اسید چرب باشد از نظر تغذیه‌ای در رده عالی قرار می‌گیرد (ناصری ۱۹۹۲).

اسید اولئیک با اسیدهای چرب لینولئیک، لینولنیک، استئاریک و پالمیتیک همبستگی منفی داشت. در این راستا نتایج مشابهی در آفتابگردان (فلاچلا و همکاران ۲۰۰۲) و کلزا (مولر و شیرهولت ۲۰۰۲، عبدل و فیاضول ۲۰۰۶) گزارش شده است. بنابراین، گزینش

برای افزایش اسید اولئیک سبب کاهش اسیدهای چرب مزبور می‌شود. به‌طور کلی افزایش درصد اسید اولئیک نشان‌دهنده پایداری به دما و کیفیت روغن جهت سرخ کردن مواد غذایی و نیز بالاتر بودن درصد اسید چرب لینولئیک حاکی از بهبود ارزش روغن در تغذیه مستقیم می‌باشد (خواجه‌پور ۲۰۰۵). از سوی دیگر، با افزایش درصد اسید لینولنیک در روغن‌های گیاهی، به‌دلیل افزایش سرعت اکسیده شدن و در نتیجه کاهش پایداری روغن و نیز افزایش طعم‌های غیر طبیعی در روغن، از ارزش مصرفی آن کاسته می‌شود (خواجه‌پور ۲۰۰۵، محمدی و همکاران ۲۰۰۷).

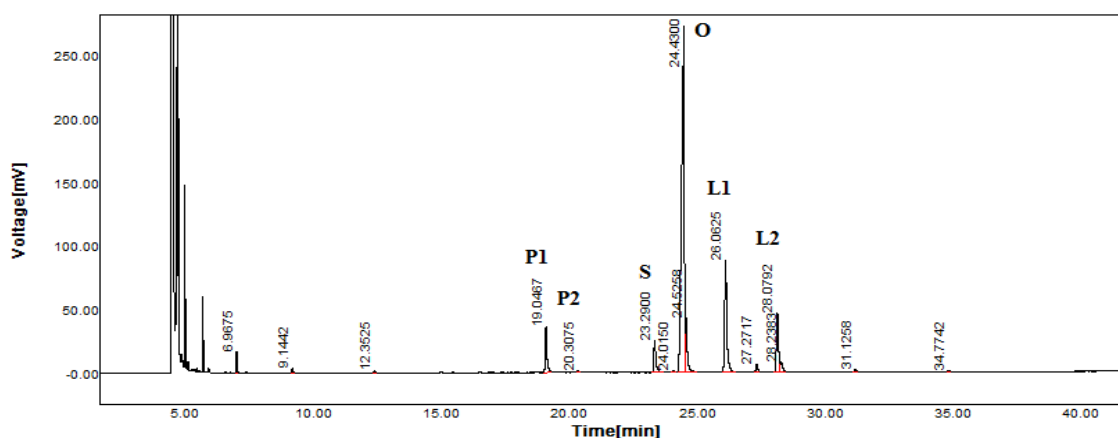
تلقیح بذور با باکتری /انتروباکتر باعث کاهش اسیدچرب‌های اشباع (اسید پالمیتیک و اسید استئاریک) و افزایش اسید چرب غیراشباع (اسید اولئیک) در مقایسه با تیمار کنترل منفی گردید. همچنین فراهمی هر چه بیشتر عناصر غذایی در خاک، ضمن افزایش عملکرد روغن، احتمالاً با کاهش درصد اسید لینولنیک و نیز افزایش درصد اسید اولئیک منجر به بهبود ارزش کیفی روغن می‌شود. گزارشات مختلفی از کاربرد سطوح مختلف کود نیتروژن و دیگر عناصر بر میزان روغن و حتی درصد اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع گیاه کلزا وجود دارد. در اغلب موارد با افزایش سطوح نیتروژن هرچند مقدار پروتئین افزایش یافته اما مقدار روغن کاهش یافته و سهم اسیدهای چرب اشباع افزایش یافته است. چنین گزارشاتی حتی در مورد کاربرد کودهای زیستی وجود دارد. استفاده کمتر کود NPK و بویژه نیتروژن در تیمارهای باکتریایی می‌تواند در تغییر سهم اسیدهای چرب غیراشباع موثر باشد. در واقع میزان اسیدهای چرب اشباع با افزایش میزان نیتروژن افزایش و میزان اسیدهای چرب غیراشباع کاهش می‌یابد (احمد و همکاران ۲۰۰۷، گائو و همکاران ۲۰۱۰). استیر و سیلور (۱۹۹۰) و خالیکو (۲۰۰۴) همچنین گزارش کردند میزان دسترسی به نیتروژن روی ترکیب اسیدهای چرب روغن آفتابگردان تاثیر می‌گذارد. سید

معناداری افزایش یافت. نوشین و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که باکتری *Azospirillum* میزان اسید اولئیک و اسید لینولنیک را در کلزا افزایش داد ولی میزان اسید اروسیک را کاهش داد.

شریفی (۲۰۱۶) گزارش کرد که اسیدهای چرب غیراشباع سویا با کاربرد کودهای زیستی (*Bradyrhizobium japonicum*, *B. japonicum* + *Azospirillum lipoferum* strain OF, *B. japonicum* + *Pseudomonas putida* strain 186 and *B. japonicum* + *A. lipoferum* strain OF + *P. putida* strain 186) به طور

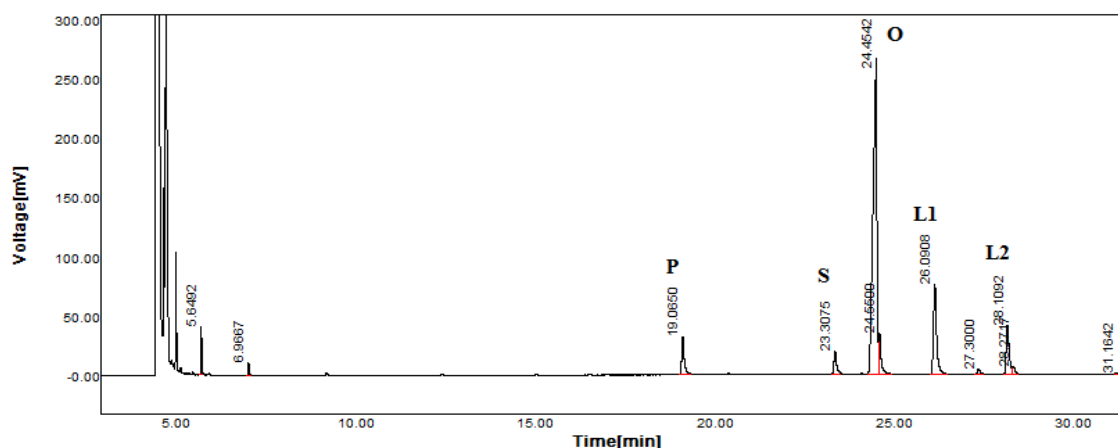
جدول ۵- درصد اسیدهای چرب روغن دانه در گیاه کلزا.

اسیدهای چرب اشباع (درصد وزنی)						اسیدهای چرب غیراشباع (درصد وزنی)
تیمار	اسید پالمیتیک	اسید استئاریک	اسید پالمیتولئیک	اسید اولئیک	اسید لینولئیک	اسید لینولنیک
شاهد منفی	۵/۵۷	۴/۴۵	۰/۱۸	۵۱/۰۲	۱۵/۳۲	۶/۵۶
F ₉	۵/۴۶	۳/۲۹	—	۵۳/۱۱	۱۴/۴۸	۶/۴۷



شکل ۶- کروماتوگرام گازی حاصل از متیل استرهای اسیدهای چرب روغن دانه گیاه کلزا (شاهد منفی)

P1: اسید پالمیتیک P2: اسید پالمیتولئیک S: اسید استئاریک
O: اسید اولئیک L1: اسید لینولئیک L2: اسید لینولنیک



شکل ۷- کروماتوگرام گازی حاصل از مقیل استرهای اسیدهای چرب روغن دانه در گیاه کلزا (زادمایه F₉)

O: اسید اولئیک

S: اسید استئاریک

P: اسید پالمیتیک

L2: اسید لینولنیک

L1: اسید لینولنیک

نتیجه‌گیری کلی

حامل‌های مایع می‌توانند کیفیت مایه‌تلقیح را بهبود بخشیده و با ایجاد چسبندگی بهتر به بذر و محافظت باکتری در برابر سموم مترشحه از بذر، مقابله با تنش‌های دمایی و ممانعت از خشک شدن سلول زنده، بقای باکتری را در مدت ذخیره‌سازی و پس از قرار گرفتن در شرایط زیست‌محیطی فراهم کنند. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که/انتروباکتر مورد استفاده در قالب زادمایه‌های مورد آزمایش اثرات مفید خود را نشان داده است و حداقل ۳۰٪ کارایی در مقایسه با تیمار کودهای شیمیایی داشته است. علاوه بر آن باعث بهبود خصوصیات کمی و کیفی روغن کلزا نیز شده است، به صورتی که بیشترین درصد روغن دانه (۴۷/۰۲ درصد) و بیشترین مقدار اسید اولئیک (۵۳/۱ درصد) در تیمار F₉ (گلیسرول، گلوکز، صمغ‌عربی، PEG) به‌دست آمد. در پایان باتوجه‌به‌مجموع

شاخص‌هایی که در این تحقیق اندازه‌گیری شد شاید بتوان زادمایه‌های F₅ و F₉ را برای انجام مطالعات تکمیلی و مزرعه‌ای پیشنهاد نمود، در این میان زادمایه F₅ در افزایش زنده‌مانی باکتری در مدت ذخیره‌سازی و در نهایت اثرهای مفید باکتری بر رشد گیاه و افزایش بیشتر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مقایسه با سایر زادمایه‌های مایع *E. cloacae* بهترین نتیجه را به همراه داشت. همچنین این تحقیق فقط توانایی چند ماده حامل را مقایسه کرده است و جهت تکمیل و کاربردی نمودن نتایج حاصل از این آزمایش، پیشنهاد می‌شود برای بررسی اثرهای این حامل‌ها بر رشد گیاهان، آزمایشاتی در شرایط واقعی‌تر یعنی در بستر خاک و در شرایط مزرعه برای یافتن اثرات تحریکی آن‌ها انجام گیرد.

منابع مورد استفاده

Abdul M and Fayyazul H, 2006. Effects of sulphur on fatty acid accumulation in *Brassica* cultivars. International Journal of Agricultural and Biological 5: 588-592.

- Ahmad A and Abdin MZ, 2000. Effect of sulphur application on lipid, RNA and fatty acid content in developing seeds of rapeseed (*Brassica campestris* L.). Plant Sciences 150: 71-76.
- Ahmad F, Ahmad I and Khan MS, 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research 163 (2):173-181.
- Ahmad G, Jan A, Arif M, Jan MT and Khattak RA, 2007. Influence of nitrogen and sulfur fertilization on quality of canola (*Brassica napus* L.) under rainfed conditions. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B 8 (10): 731-737.
- Akbari P, Ghalavand A and Modarres Sanavy SAM, 2010. Effects of different nutrition systems and biofertilizer (PGPR) on phenology period yield and yield components of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Journal of Crop Production. 2 (3): 119-134. (In Persian with English abstract).
- Alipour ZT and Sobhanipour A, 2012. The Effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescens* inoculation on maize growth and Fe uptake. Annals of Biological Research, 3: 1661-1666.
- Azadmard Damirchi S, 2012. Food Chemistry and Decomposition. Publication of Amidi. (In Persian with English abstract).
- Barker AV and Pilbeam DJ, 2006. Handbook of Plant Nutrition. CRC Press, 196 p.
- Besharati H, Pashapour S and Rezazadeh M, 2017. The evaluation of plant growth promoting rhizobacteria effect for improving soybean growth indices. Iranian Journal of Field Crop Science 47(4): 671-687. (In Persian with English abstract).
- Dong H, 2010. Mineral-microbe interactions: a review. Frontiers of Earth Science in China 4 (2):127-147.
- Fieldsend JK, Murray FE, Bilsborrow PE, Milford GFJ and Evans EJ, 1991. Glucosinolate accumulation during seed development in winter sown oilseed rape (*B. napus*). Proceedings of the Eighth International Rapeseed Congress, July 9 to 11, Saskatoon, Canada. 686-694.
- Flagella Z, Rotunnon T, Tarantino E, Di-Caterina R and Decaro A, 2002. Changes in seed yield and oil fatty acid composition of high oleic sunflower (*Helianthus annus* L.) hybrids in relation to sowing date and water regime. European Journal of Agronomy 17: 3. 221-230.
- Gao J, Thelen KD, Min DH, Smith S and Hao X, 2010. Effects of manure and fertilizer applications on canola oil content and fatty acid composition. Journal of Crop and Soil Science 102 (2): 790-797.
- Ghadamkhani A, Enayatizamir N and Norouzi Masir M, 2018. Effect of plant growth promoting bacteria on soil available iron and its uptake by wheat. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 28(2): 53-64. (In Persian with English abstract).
- Ghasemi Piranlo F, 2018. The efficiency of several solid and liquid carriers to increase the survival of *Enterobacter cloacae*, Iran. MSc. thesis Faculty of Agriculture, University of Tabriz. (In Persian with English abstract).
- Ghasemi Piranlo F, Sarikhani MR and Najafi N, 2019. Study the survival of *Enterobacter cloacae* bacterium in several solid carriers and effect of prepared inoculants on ggermination and growth of wheat. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 29 (3): 167-180. (In Persian with English abstract).
- Hu Y, Ye X, Shi L, Duan H and Xu F, 2010. Genotypic differences in root morphology and phosphorus uptake kinetics in *Brassica napus* under low phosphorus supply. Journal of Plant Nutrition. 33 (6): 889-901.
- Jones JR, 2001. Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis, CRC press.
- Kalra YP, 1998. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, USA.
- Karlidag H, Estiken A, Turan M and Sahin F, 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. Science Horticulturae 114: 16-20.
- Kazemi Oskuei B, Bandehagh A, Sarikhani MR and Komatsu S, 2018. Protein profiles underlying the effect of plant growth promoting rhizobacteria on Canola under osmotic stress. Journal of Plant Growth Regulation 37 (2): 560-574.
- Khajehpour MR, 2005. Industrial Crops. Jahade-e-Daneshghahi Isfahan Press. (In Persian).
- Khaliq A, 2004. Irrigation and nitrogen management effects on productivity of hybrid sunflower (*Helianthus annuus* L.). Ph.D. thesis, Department of Agronomy, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.
- Lickfett TB, Matthaus Velasco L and Mollers C, 1999. Seed yield, oil and phytate concentration in the seeds of two oilseed rape cultivars as affected by different phosphorus supply. European Journal of Agronomy 11: 293-299.

- Mashhadi Asghari S and Aliasgharzadeh N, 2005. Comparison of five carriers of *Sinorhizobium meliloti* to produce alfalfa inoculant. Water and Soil Sciences. 8(4): 63-75. (In Persian with English abstract).
- Mohamadvarzi R, Habibi D, Vazan S and Pazoki AR, 2011. Effect of plants growth promoting rhizobacteria and nitrogen fertilizer on yield and yield components of sunflower. Pp. 1-11. 5th National Conference on New Ideas in Agriculture 27-28 January, Esfahan, Iran. (In Persian with English abstract).
- Mohamadzadeh J, 2015. Investigation of the effect of enzymatic and solvent extraction methods on the quality characteristics of oilseed rape and protein. Journal of Iranian Oilseed Plants 4(1): 23-32. (In Persian with English abstract).
- Mohammadi T, Azizi MH and Taslimi A, 2007. Relation of fatty acids composition with stability of sunflower and canola oil blends. Journal of Food Science and Technology 4: 67-76.
- Mohammadzadeh J and Yaghbani M, 2005. Effect of harvest time moisture and drying temperature of rapeseed on the quality of extracted oil. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 12 (5): 119-127.
- Moller C and Schierholt A, 2002. Genetic variation of palmitate and oil content in a winter oilseed rape doubled haploid population segregating for oleat content. Crop Science 42: 379-384.
- Moradi Sh and Sarikhani MR, 2016. Comparison of dissolution of phosphate from sources of phosphate rock and Tricalcium phosphate by some phosphate solubilizing bacteria. Pp. 1-6. 2th National Congress for the Development of Agricultural Science and Natural Resources, 22 April, Gorgan, Iran. (In Persian with English abstract).
- Naseri F, 1991. Oil Seeds. Publication of Astan Qods Razavi, Mashhad. (In Persian).
- Nosheen A, Bano A and Ullah F, 2013. The role of plant growth promoting rhizobacteria on oil yield and biodiesel production of canola (*Brassica napus* L.). Energy Sources 35: 1574-1581.
- Olsen SR and Sommers LE, 1982. Phosphorus. In Klute A, (Ed.), Pp. 403-427. Methods of Soil Analysis Part.1 Chemical and Biological Properties. Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Panlada T, Payakapong PW and Boonkerd N, 2007. Growth, survival and field performance of Bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. Science Asia 33: 69-77.
- Paul EA, 2007. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry. 3rd Edition. Linacre House, Jordan Hill, Oxford OX2, 8DP, UK.
- Ramesh A, Sharma SK, Sharma MP, Yadav N and Joshi OP, 2014. Plant growth promoting traits in *Enterobacter cloacae subsp. dissolvens* MDSR9 isolated from soybean rhizosphere and its impact on growth and nutrition of soybean and wheat upon inoculation. Agricultural Research 31: 53-66.
- Sajedi NA, Madani H and Mirzakhani M, 2011. Evaluation of bio-chemical fertilizers on agronomical traits and oil percentage in sunflower. New Finding in Agriculture 5(4): 377-387. (In Persian with English abstract).
- Sarikhani MR, Aliasghar zad N and Khooshroo B, 2018. Effectiveness study of phosphate solubilizing bacteria in the formulation of phosphatic microbial fertilizers on corn. Iranian Journal of Soil and Water Research. 49(1): 71-81. (In Persian with English abstract).
- Sarikhani MR, Oustan S, Ebrahimi M and Aliasghar zad N, 2018. Isolation and identification of potassium releasing bacteria in soil and assessment of their ability to release potassium for plants. European Journal of Soil Science 69(6): 1078-1086.
- Sayed AV and Hossein AF, 2011. Investigation of biofertilizers influence on quantity and quality characteristics in *Nigella sativa* L. Horticulture 3(3): 88-92.
- Seyed Sharifi R, 2016. Application of biofertilizers and zinc increases yield, nodulation and unsaturated fatty acids of soybean. Zemdirbyste- Agriculture, 103 (3): 251-258.
- Shahidi M, Hameed S, Imran A, Ali S and Elsas JD, 2012. Root colonization and growth promotion of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by phosphate solubilizing *Enterobacter* sp. Fs-11. World Journal of Microbiology and Biotechnology 28:2749-2758.
- Shankar M, Ponraj P, Ilakkiam D and Gunasekaran P, 2011. Root colonization of a rice growth promoting strain of *Enterobacter cloacae*. Journal of Basic Microbiology 51: 523-530.
- Shehata MM and EL-Khawass SA, 2003. Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower yield. Pakistan Journal of Biological Sciences 6 (14): 1257-1268.
- Spaepen S, Dobbelaere S, Croonenborghs A and Vanderleyden J, 2008. Effects of *Azospirillum brasilense*

- indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. Plant and Soil 312: 15-23.
- Steer BT and Seiler GI, 1990. Changes in fatty acid composition of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds in response to time of nitrogen application, supply rates and defoliation. Journal of the Science of Food and Agriculture 51: 11-26.
- Tittabutr P, 2005. Development of rhizobial liquid inoculant production. Ph.D Dissertation in Biotechnology, Suranaree University of Technology, 228p.
- Westerman RL, 1990. Soil Testing and Plant Analysis. 3rd Edition, Book Series No. 3, SSSA, USA.
- Yao L, Wu Z, Zheng Y, Kaleem I and Li C, 2010. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. European Journal of Soil Biology 46: 49-54.