بررسی کارایی تثبیت نیتروژن برخی جدایه‌های *ازتوباکتر* در مایه‌زنی ذرت

مهدیه لیلاسی مرند[1]، محمدرضا ساریخانی[2]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
*مسئول مکاتبه: Email: rsarikhani@yahoo.com

چکیده

توانایی تثبیت نیتروژن در حالت آزادزی ویژگی گروه خاصی از باکتری‌های دی‌آزوتروف می‌باشد که ازتوباکترها از جنس‌های شناخته شده آن‌هاست. ارزیابی کارایی تثبیت نیتروژن به روش‌های مختلف از جمله روش اختلاف و کشت در حضور گیاه قابل انجام است. بر این اساس آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت و توانایی تثبیت نیتروژن ۱۸ جدایه باکتری از جمله، *ازتوباکتر* بررسی شد. زادمایه‌های میکروبی با استفاده از حامل باگاس و پرلیت در بذور ضدعفونی‌شده ذرت رقم سینکل کراس ۷۰٤ تلقیح شد. تیمارهای آزمایش شامل کنترل‌های منفی (بدون افزودن حامل و حامل فاقد باکتری)، کنترل‌های مثبت (کاربرد کود اوره به میزان ۵۰٪ و ۱۰۰٪ توصیه کودی) و گلدان‌های تلقیح شده با جدایه‌ها بود. نتایج نشان داد به جز وزن تر و غلظت نیتروژن ریشه، تمام پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطح احتمال ۱٪ متاثر از تیمارهای آزمایش بوده است. بالاترین میانگین وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن تر و خشک کل، ارتفاع گیاه، قطر ساقه و شاخص کلروفیل در تیمارهای کودی ۱۰۰٪ و ۵۰٪ حاصل شد و در بین تیمارهای باکتریایی 14SP-I، 16SP-2 (*ازتوباکترکروکوکوم*) و 34SP-III (*سودوموناس*) مؤثر واقع شدند. بیش‌ترین مقدار کل نتیروژن و فاکتور انتقال آن به ترتیب با افزایش ۳۲٪ و ۱٤۸٪ نسبت به شاهد منفی در جدایه **16SP-2** مشاهده شد. بیش‌ترین کارایی تثبیت نیتروژن نیز بر اساس اختلاف مقدار نیتروژن در جدایه 16SP-2 برابر با ۳۹/٤۷٪ به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: *ازتوباکترکروکوکوم*، باکتری‌های آزادزی، تثبیت بیولوژیک نیتروژن، ذرت، *سودوموناس*

Investigation of Nitrogen Fixation Efficiency of Some *Azotobacter* Isolates by Maize Inoculation

Mahdiyeh Leylasi Marand[1], Mohammad Reza Sarikhani[2*]

Received: March 11, 2017 Accepted: May 22, 2017
1-MSc Student of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2-Assoc. Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author: Email: rsarikhani@yahoo.com

Abstract

Nitrogen fixation ability in free-living condition is one of the properties of diazotrophic bacteria that *Azotobacter* is one of the famous genera of diazotrophs. Evaluation of nitrogen fixation efficiency can be measured by different methods, such as difference method and plant inoculation. Thus, N_2 fixation ability of 18 bacterial isolates such as *Azotobacter* was measured using completely randomized design with three replications. Bacterial liquid culture was added to bagasse- perlite as a carrier and disinfected seeds were inoculated with prepared inoculants. Treatments were included, negative controls (including carrier without bacteria and without carrier), positive controls (using urea equal to 50% and 100% of fertilizer recommendation) and pots inoculated with bacterial inoculants. Results showed that expect wet weight and nitrogen concentration of root, all measured parameters were significantly influenced by treatments. Other measured parameters such as shoot wet and dry weight, root dry weight, total wet and dry weight, height, diameter and chlorophyll index, were significantly influenced by 50% and 100% fertilizer treatment and highest mean was recorded in these treatments, while among bacterial treatments *A. chroococcum* 14SP-I, *A. chroococcum* 16SP-2 and *Pseudomonas* sp. 34SP-III were effective. The highest total nitrogen content and nitrogen translocation factor were observed in plants which inoculated by *A. chroococcum* 16SP-2 that caused an increasing of 32% and 148% compared to negative control (without carrier and bacteria). Also, the highest nitrogen fixation efficiency was measured in 16SP-2 isolate equal to 39.47% by difference method.

Keywords: *Azotobacter chroococcum*, Biological Nitrogen fixation, Free-living bacteria, Maize, *Pseudomonas*

مقدمه

امروزه با توجه به مشکلاتی که مصرف بی‌رویه‌ی کودهای شیمیایی به وجود آورده است، استفاده از کودهای زیستی علاوه بر اثرات مثبت که بر کلیه ویژگی‌ها خاک دارد، از جنبه‌های اقتصادی، زیست-محیطی و اجتماعی نیز مثمر ثمر واقع شده و می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب و مطلوب برای کودهای شیمیایی باشد. یکی از شیوه‌های زیستی برای افزایش تولید در کشاورزی، استفاده‌ی بالقوه از ریزجانداران خاکزی است. از جمله این موجودات می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه اشاره کرد (فلاح قزاآنی و همکاران ۲۰۱۲ و کانیموژی و

پانیرسلوام۲۰۱۰). گاز نیتروژن، ۷۹ درصد اتمسفر را تشکیل می‌دهد ولی نیتروژن اتمسفر یا نیتروژن موجود در مواد آلی خاک، هیچ‌کدام قابل استفاده مستقیم برای رشد گیاه نیستند. فقط اشکال اکسید شده (مثل نیترات) و احیا شده (مثل آمونیوم) نیتروژن قابل استفاده هستند (ریوس گونزالز و همکاران ۲۰۰۲ و دوبرینر ۱۹۹۷ و دیکسون و ویلر ۱۹۸٦). این عنصر برای گیاهان از طریق تثبیت زیستی قابل دسترس می‌شود که توسط برخی از باکتری‌های دی‌آزوتروف انجام می‌گیرد (دوبرینر و بلدانی ۱۹۹۸). چودری و کابی (۲۰۰۲) گزارش نمودند که برخی باکتری‌های دی‌آزوتروف از جمله *ازتوباکتر*، *آزوسپیریلوم* و *هرباسپیریلوم* می‌توانند جایگزین خوبی برای کود شیمیایی نیتروژن باشند و همچنین با تولید مواد تحریک‌کننده‌ی رشد، سبب بهبود مرفولوژی و رشد ریشه شوند. بین باکتری‌های آزادزی تثبیت‌کننده نیتروژن آن‌هایی که متعلق به جنس *ازتوباکتر* هستند، نقش قابل توجهی ایفا می‌کنند و به طور گسترده در مکان-های مختلف مانند خاک، آب و رسوبات پراکنده شده‌اند (پالرونی ۱۹۸٤). ازتوباکترها به دلیل فراوانی و وسعت انتشار بیش از سایر انواع تثبیت‌کننده‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند و در خاک‌های مناطق معتدله نیز بیش‌ترین فراوانی را دارند. گفته می‌شود در خاک‌های زراعی با زهکشی خوب بیش‌ترین مقدار تثبیت نیتروژن به صورت آزاد توسط این باکتری‌ها انجام می‌گیرد (حاجی بلند و همکاران ۲۰۰٤). رییِد و همکاران (۲۰۱۱) کل نیتروژن تثبیت شده روی زمین را در حدود ۲۵۰ میلیون تن در سال برآورد کردند که در حدود ۱۹۵ میلیون تن (۷۰ درصد) آن مربوط به تثبیت زیستی نیتروژن است. باکتری‌هایی همانند *ازتوباکتر* در اکوسیستم‌هایی که تثبیت نیتروژن به شیوه همزیستی وجود ندارد دارای اهمیت قابل توجه هستند. در اکوسیستم‌های جنگلی نقش *ازتوباکتر* در تثبیت نیتروژن بیش‌تر از انواع همزیستی است و برآورد شده است که مقدار تثبیت بیش‌تر از ۱۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در سال باشد. *ازتوباکتر* هوازی و هتروتروف است و ویژگی اصلی آن‌ها توانایی تثبیت نیتروژن در حالت غیرهمزیستی یا آزادزی می‌باشد (جیمنز و همکاران ۲۰۱۱). اهمیت زراعی آن‌ها به علت توانایی سنتز مواد محرک رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکینین (گونزالز-لوپز و همکاران ۱۹۹۱ ، مارتین و همکاران ۱۹۸۹ و مارتینز-تولدو و همکاران ۱۹۸۸)، اگزوپلی‌ساکاریدها، رنگدانه، توانایی انحلال فسفات و تولید سایدروفور است (جیمنز و همکاران ۲۰۱۱ و ساریخانی و مرادی ۲۰۱۵). افزون بر موارد یاد شده، اثرات آنتاگونیستی آن‌ها در برابر پاتوژن‌ها، سنتز آنتی‌بیوتیک و سنتز مواد ضد قارچی برای مقابله با عوامل بیماری‌زای قارچی همانند *فوزاریوم*، *اسکلروتیوم* در *رایزوکتونیا سولانی* (مزینانی و همکاران ۲۰۱۲؛ استادی جعفری و همکاران ۲۰۱۲ و کندی و همکاران ۲۰۰٤)، تولید انواع ویتامین‌ها به‌ویژه ویتامین‌های گروه B، پانتوتنیک اسید و نیکوتنیک اسید (مارتینز-تولدو و همکاران ۱۹۹٦) از امتیازات دیگر این باکتری‌ها می‌باشد. هم‌چنین ازتوباکترها قادر به ساختن اسیدهای آمینه مانند آرژینین، لیزین، تریپتوفان، هیستیدین، سیستئین و پالمتیک اسید می‌باشند (گونزالز-لوپز و همکاران ۱۹۸۳).

با توجه به موارد بالا و همچنین اهمیت گیاه ذرت (*Zea mays* L.) در شرایط اقلیمی کشور و جهان که یکی از گیاهان استراتژیک بوده و پس از گندم بزرگ‌ترین سطح زیر کشت را دارا می‌باشد و تولید محصول آن پس از گندم و برنج در رتبه سوم قرار دارد از طرف دیگر تنوع ژنتیکی، سازگاری بالا و ارزش غذایی فراوان ذرت، باعث شده است که گیاه ذرت در ردیف مهم‌ترین گیاهان زراعی ایران و جهان قرار گیرد (امیری و همکاران ۲۰۱۰ و نورمحمدی و همکاران ۲۰۰۵)، از سویی به دلیل هدفی که کشاورزی پایدار دنبال می‌کند، به ریزجانداران کارآمد و مفید خاک توجه ویژه‌ای می‌شود و مهم‌ترین مسأله در استفاده حداکثر از مزایای این فنآوری، انتخاب سویه موثر می‌باشد (فائو ۲۰۰۵).

جداسازی و دستیابی به جدایه‌های جدید میکروبی و سپس ارزیابی کارایی آن‌ها در آزمایشات درون شیشه‌ای، گلدانی و مزرعه‌ای، پیمودن همین مسیر برای استفاده بیش‌تر از این پتانسیل در کشاورزی پایدار است، به همین خاطر در این پژوهش ۱۸ جدایه میکروبی که شامل جنس‌های مختلف از جمله ازتوباکترها بود و تاکنون تلقیح این باکتری‌ها در حضور گیاه و بررسی کارایی تثبیت نیتروژن و اثر محرک رشدی آن‌ها مورد ارزیابی قرار نگرفته بود مورد آزمون قرار گرفتند. به علت اهمیت نیتروژن در تغذیه گیاه ذرت، همچنین به جهت جدی بودن خطرات مصرف کودهای شیمیایی به‌ویژه نیتروژنی برای محیط زیست، استفاده از روش‌های بیولوژیک برای تأمین نیاز غذایی گیاهان و در عین حال حفظ عملکرد قابل قبول از دلایل پرداختن به این مطالعه بوده است. کارایی تثبیت نیتروژن این جدایه‌ها به روش اختلاف[1] (مقدار نیتروژن بافت گیاهی) با در نظر گرفتن تیمارهای کنترل مثبت و منفی مشخص شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی جدایه‌ها، خاک و بذور مورد استفاده

کشت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز انجام شد. ابتدا خاکی دارای کمبود نیتروژن از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان نمونه‌برداری شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ آورده شده است. در این آزمایش از بذور ذرت رقم سینکل کراس ۷۰٤ استفاده شد که پس از ضدعفونی با اتانول (۳۰ ثانیه) و هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ (۱۰ دقیقه) (ارزانش و همکاران ۲۰۱۱) مورد استفاده قرار گرفت. خاک مورد استفاده نیز در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و در فشار ۱ اتمسفر استریل شده و سپس به مقدار ۳ کیلوگرم در گلدان‌ها استفاده شد. با توجه به اینکه درصد کربن آلی خاک ۰/۱٦٪ بوده، برای تأمین ماده آلی مورد نیاز باکتری از کود دامی استفاده شد تا درصد کربن آلی خاک گلدان‌ها به ۱٪ برسد. در این شرایط، خاک همچنان در حالت کمبود نیتروژن می‌باشد. کود دامی لازم برای هر گلدان پس از توزین (در شرایط اتوکلاو با شیر فشار نیمه باز) استریل شد. جدایه‌های مورد استفاده از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز تهیه شد و شامل ۱۸ جدایه با نام‌های 2SP-5، 4A-1، 12A-3، 14A-4، 14SP-I، 14SP-III، 14SP2-1، 16SP-2، 16SP7-2، 22SP-1، 24A-1، 34A-2، 34SP-III، 35A، 35SP-2، 36A-2L، 37SP، 44A-4s و 44SP-2 بودند. به منظور انجام تلقیح میکروبی، کشت شبانه جدایه‌ها در ۳۰ میلی‌لیتر محیط NB مایع انجام گرفت و سپس با افزودن به ۱۰ گرم حامل باگاس و پرلیت (۱:۱) با رطوبت وزنی اولیه ۱۵٪، بین ۳ تکرار هر تیمار تقسیم شد. کشت بذور در عمق ۳-٤ سانتی‌متری زیر سطح خاک انجام گرفت و تمام عناصر غذایی گیاهان غیر از نیتروژن بر اساس آزمون خاک از طریق افزودن کود شیمیایی تأمین شد. اما در مورد عنصر نیتروژن که هدف اصلی این آزمایش بود در تیمارهای باکتریایی و تیمار شاهد منفی (تیمار بدون افزودن حامل حاوی باکتری و تیمار حامل عاری از باکتری) هیچ مقدار کود اوره استفاده نشد، اما در تیمارهای کودی (کنترل‌های مثبت) بر اساس آزمون خاک به مقدار ۵۰٪ و ۱۰۰٪ مقدار توصیه شده (معادل ۰/٤ و ۰/۸ گرم در هر گلدان) (ملکوتی و غیبی **1997**) به صورت سرک و در دو تکرار استفاده شد. در طول آزمایش رطوبت **FC** ۰/۸ برای گلدان‌ها ثابت نگه داشته شد.

[1] Difference method

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

pH گل اشباع	EC (dS/m)	فسفر قابل جذب (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	%OC	٪رس	٪سیلت	٪شن	کلاس بافت	CCE (%)	FC(درصد وزنی)
۷/۵۶	۱/۴	۳	۱۹۸/۰۷	۰/۱۶۶	۱۸	۱۳	۶۹	Sandy Loam	۲/۵۸۵	۱۲/۵۷

پارامترهای مورد اندازه‌گیری

در طول رشد و قبل از برداشت گیاه پارامترهای قطر (در حدود ۲ سانتی‌متری ابتدای ساقه با استفاده از کولیس)، ارتفاع (از محل طوقه تا انتهای بلندترین برگ با استفاده از خط کش) و شاخص کلروفیل (با استفاده از کلروفیل‌سنج در پهن‌ترین بخش برگ و در چهار برگ سالم و شاداب از هر گلدان) اندازه‌گیری شدند. پس از برداشت گیاه نیز پارامترهای وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه (در پاکت‌های کاغذی در آون به مدت ۳ روز در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) و غلظت نیتروژن در عصاره‌های گیاهی مورد اندازه‌گیری گرفت. برای اندازه‌گیری نیتروژن در نمونه‌های گیاهی، پس از خشک شدن و آسیاب نمودن، از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شدند. نیتروژن نمونه‌ها به روش کجلدال اندازه‌گیری شد (والینگ و همکاران ۱۹۸۹ و راول ۱۹۹٤). مقدار نیتروژن گیاه نیز از حاصل‌ضرب غلظت در وزن ماده خشک و بر حسب (mg/plant) محاسبه گردید.

طرح آزمایشی: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با در نظر گرفتن ۳ تکرار و اعمال ۱۸ تیمار تلقیح باکتریایی، تیمارهای کنترل منفی (شامل حامل فاقد باکتری و بدون حامل) و کنترل‌های مثبت (کاربرد کود اوره به میزان ۵۰٪ و ۱۰۰٪ توصیه کودی) بودند. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت.

نتایج

شاخص کلروفیل

اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص کلروفیل در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که بیش‌ترین شاخص کلروفیل مربوط به تیمارهای کودی ۵۰٪ و ۱۰۰٪ بوده است که افزایش ۵۰ درصدی نسبت به شاهد منفی داشته‌اند. اما بین تیمارهای باکتری، جدایه‌های 14SP-I و 16SP-2 که متعلق به گونه *ازتوباکتر کروکوکوم* بودند شاخص کلروفیل بیش‌تری داشتند. نتایج مشابه در تحقیق حاجی‌بلند و همکاران (۲۰۰٤) گزارش شده است که افزایش مقدار کلروفیل با *ازتوباکتر* را به اثر احتمالی هورمونی مانند سیتوکنین نسبت دادند که ضمن تحریک رشد ریشه، پس از انتقال به اندام هوایی عامل افزایش کلروفیل و نیز هدایت یون‌های ضروری به اندام هوایی است. احتمالاً طبق گفته مارشنر (۱۹۹۵)، غلظت کلروفیل بستگی به مقدار نیتروژن برگ دارد، چون علایم کمبود نیتروژن با پیری برگ‌ها و کلروز آغاز می‌شود.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس ارتفاع گیاه، قطر ساقه و شاخص کلروفیل

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		شاخص کلروفیل	ارتفاع گیاه	قطر
تیمار	۲۱	۰/۰۲۱**	۱۹۶/٤٤۲**	٤/۳٥٤**
خطای آزمایشی	٤٤	۰/۰۰٥	۲۸/۰٤۷	۱/۳۱۲
ضریب تغییرات (٪)		۱۰/۱۲	٦/۳٤	۷/۰۲

**معنی‌دار در سطح ۱٪ می باشد.

ارتفاع گیاه و قطر ساقه

نتایج تجزیه واریانس اثر تلقیح جدایه‌های باکتری و تیمارهای کودی بر ارتفاع و قطر گیاه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول۲). بیش‌ترین ارتفاع گیاه ۱۰۲/٤ سانتی‌متر و مربوط به تیمار کودی ۱۰۰٪ بوده که افزایش ۱۱٪ نسبت به شاهد منفی داشته و از نظر آماری معنی‌دار بود. پس از آن، تیمار شاهد منفی (حامل عاری از باکتری)، 34SP-III و 14SP-I بیش‌ترین ارتفاع گیاه را به خود اختصاص دادند که همگی در یک گروه آماری قرار می‌گیرند. نتایج قطر ساقه نیز نشان داد بیش‌ترین قطر مربوط به تیمار ۱۰۰٪ توصیه کودی با افزایش ١٤٪ نسبت به شاهد منفی بوده است. پس از آن تیمار باکتری *ازتوباکتر کروکوکوم* 16SP-2 و تیمار کودی ٥۰٪ بیش‌ترین قطر را داشتند که همگی با شاهد منفی در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ٥). ارتفاع گیاه و قطر ساقه شاخص‌هایی از رشد رویشی گیاه هستند که افزایش هر کدام از این شاخص‌ها در اثر تلقیح با باکتری نشان از مؤثر بودن تلقیح می‌باشد. نتایج آزمایشات امیری و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که ارتفاع بوته تحت تأثیر تیمار *ازتوباکتر* قرار نگرفت اما کادر و همکاران (۲۰۰۲) افزایش ارتفاع در گندم، زیید و همکاران (۲۰۰۷) افزایش ارتفاع در کلزا را در تلقیح گیاهان با *ازتوباکتر* و زهیر و همکاران (۲۰۰۰)، افزایش ۸/٥٪ ارتفاع بوته ذرت را در اثر تلقیح با *ازتوباکتر* و *سودوموناس* گزارش دادند. احتمالاً دسترسی به نیتروژن بیش‌تر در خاک، افزایش جذب، افزایش آماس سلول، تقسیم سلولی، تأثیر افزاینده در جذب سایر عناصر غذایی و فتوسنتز بیش‌تر توسط گیاه باعث خواهند شد که این مواد شرایط مناسبی را برای طویل شدن ساقه فراهم کند (مقصودی و همکاران، ۲۰۱۳ و نورمحمدی و همکاران، ۲۰۰۰). نیتروژن به واسطه نقشی که در تولید و صدور هورمون سیتوکینین از ریشه به اندام هوایی دارد، موجب افزایش سرعت تقسیم سلولی و رشد و ارتفاع گیاه می‌شود (کاراوزوگلو و همکاران، ۲۰۰٥). اصغر و همکاران (۲۰۰٤) چنین گزارش کردند که تلقیح با سویه‌های انتخابی باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش قطر ساقه در گیاه کلزا شده است. به نظر می‌رسد که این باکتری‌ها با تولید هورمون-های محرک رشد گیاه از جمله اکسین به طور مستقیم سبب افزایش رشد ساقه شده و با تولید سیتوکینین بر روی آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز اثر منفی گذاشته و مانع تجزیه پروتئین در محیط داخلی سلول شده که به این وسیله باعث تقسیم سلولی گشته و از این طریق به طور غیرمستقیم در افزایش قطر ساقه موثر گردیده‌است (اشفق و همکاران ۲۰۱۱).

وزن تر و خشک اندام هوایی

وزن تر و خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۱٪ متأثر از تیمارهای آزمایشی بود (جدول ۳) و در هر دو مورد بعد از تیمارهای کودی ۱۰۰٪ و ٥۰٪، تیمارهای باکتریایی 14SP-I و 16SP-2 که *ازتوباکتر کروکوکوم* بودند، بیش‌ترین وزن را به خود اختصاص دادند. کمترین وزن تر و خشک اندام هوایی نیز مربوط به تیمار باکتری

سیتروباکتر 44A-4s بود (جدول ٦). طبق نتیجه به دست آمده با افزایش میزان نیتروژن در دسترس گیاه، وزن اندام هوایی افزایش یافته است، به‌طوری‌که در تیمارهای کودی بیش‌ترین وزن اندام هوایی و در تیمارهای باکتریایی، جدایه‌های با توان تثبیت بالا، وزن اندام هوایی بالایی داشته‌اند. احتمالاً از مهم‌ترین عواملی که بر وزن تر اندام هوایی تأثیرگذار است می‌توان به نیتروژن اشاره کرد که با استناد به قانون لیبیک، عامل تعیین‌کننده در عملکرد شاخ و برگ گیاه زراعی می‌باشد. رحیمی و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند باکتری *ازتوباکتر کروکوکوم* با تأمین نیتروژن گیاه و احتمالاً تولید برخی متابولیت‌ها مانند تولید سیدروفور و مواد محرک رشد سبب افزایش رشد گیاه و به‌ویژه افزایش وزن خشک بخش هوایی گیاه شده است. استادی جعفری و همکاران (۲۰۱۲) تأیید کردند با افزایش سطوح کودی بر میزان وزن خشک اندام هوایی به میزان معنی‌داری افزوده می‌شود. نارولا و همکاران (۲۰۰۵) طی یک آزمایش دو ساله بر روی گندم و پنبه، مشاهده نمودند که سویه انتخاب شده *ازتوباکتر کروکوکوم*، موجب افزایش پارامترهای رشد، از قبیل وزن خشک بوته و ارتفاع نسبت به شاهد شدند.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و وزن تر وخشک کل

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن تر کل	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک کل
تیمار	۲۱	۰/۰۰۲۵**	۵۰۸/۲۵٤ns	۳٤۲۲/٦۱۱**	۸۳/۵۸۱**	۳۸/۱۹۹**	۱۹۹/۷٦۳**
خطای آزمایشی	٤٤	۰/۰۰۲	۳۵۹/٦۸۵	۳۵۹/۲٤۰	٤/۹۲۸	٦/۳٦۲	۸/٦۱۲
ضریب تغییرات (٪)		۰/۲٤	۱۵/۷٦	۷/٤۹	۹/۵٤	۱۳/۰۷	٦/۸۹

ns، **معنی‌دار در سطح ۱٪ و غیرمعنی‌دار می باشد.

وزن تر و خشک ریشه

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن تر ریشه غیرمعنی‌دار اما بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳). بیش‌ترین میانگین وزن خشک ریشه در تیمارهای کودی ۱۰۰٪ به دست آمد که با افزایش ۷٤٪ نسبت به شاهد منفی، اختلاف آماری معنی‌دار با آن دارد. اما بین تیمارهای باکتریایی تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد (جدول ٦). وزن تر و خشک بالاتر ریشه هر چند نشان از بهتر بودن شرایط لنگرگاهی گیاه است اما دلیل قطعی بر تغذیه بهتر گیاه نخواهد بود. چون ریشه‌های مویی‌تر در عین جذب بهتر، وزن کمتری را به خود اختصاص می‌دهند. همانطور که در نتایج آزمایش نیز دیده شد *ازتوباکتر کروکوکوم* سویه 16SP-2 و 14SP-I از نظر جذب مواد غذایی شرایط مساعدتری را ایجاد کرده‌اند، اما وزن ریشه کمتری داشتند که احتمالاً به ساختار و نوع توسعه ریشه‌هایشان مربوط است. طبق نظر بروگتون و اولر (۱۹۸٦)، احتمالاً هورمون‌های رشد، تراکم ریشه و ریشه‌های مویین را زیاد کرده و از این طریق بر جذب بیش‌تر عناصر غذایی اثر می‌گذارند. اما در تعدادی از مطالعات افزایش وزن ریشه نیز گزارش شده است. اشفق و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تلقیح با باکتری‌های محرک رشد بیش از ۲۵٪ باعث افزایش وزن خشک ریشه ماش شد.

وزن تر و خشک کل

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد وزن تر و خشک کل در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر تیمارهای

آزمایشی قرار گرفته‌اند (جدول ۳) و مشابه با نتایج قبلی تیمارهای ۱۰۰٪ و ۵۰٪ توصیه کودی در اولویت بوده اما بین تیمارهای باکتریایی، 34SP-III و 14SP-I بهتر از بقیه از تیمارها بوده‌اند که به ترتیب *سودوموناس* و *ازتوباکتر کروکوکوم* هستند. این دو تیمار باکتری در عین افزایش وزن نسبت به شاهد منفی، اختلاف آماری معنی‌دار با آن ندارند (جدول ٦). باکتری‌ها، با انواع مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم، به‌ویژه تولید فیتوهورمون‌های گیاهی می‌توانند در افزایش رشد و عملکرد گیاهان مؤثر باشند (ردی و همکاران ۲۰۰۲). صادقی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که وزن خشک کل ذرت در تیمارهایی که کود زیستی به کار رفته بود، افزایش یافت. شاهارونا و همکاران (۲۰۰٦) و ویولنت و پرتگال (۲۰۰۷) در نتایج مطالعات خود بیان کردند که *آزوسپیریلوم* و *ازتوباکتر* که از ریزجانداران تثبیت‌کننده نیتروژن مولکولی محسوب می‌شوند، در همیاری با ریشه گیاهان، رشد آن‌ها را بهبود می‌بخشند. احتمالاً باکتری‌ها با تأمین نیتروژن گیاه یا تولید برخی متابولیت‌ها مانند سیدروفور و مواد محرک رشد، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (رحیمی و همکاران ۲۰۱۲).

غلظت و مقدار نیتروژن اندام هوایی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ٤) مشاهده شد این صفات در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده‌اند. نتایج غلظت نیتروژن اندام هوایی نشان داد بیش‌ترین غلظت ۰/٦٤٪ در تیمار *ازتوباکتر کروکوکوم* 16SP-2 به دست آمد که با افزایش ٦٤٪ نسبت به شاهد منفی، اختلاف آماری معنی‌دار با آن دارد. پس از آن تیمار کودی ۵۰٪ و 14SP2-1 (*ازتوباکتر کروکوکوم*) بهتر از بقیه بوده‌اند. در مورد مقدار نیتروژن اندام هوایی نیز بیش‌ترین مقدار در تیمار باکتری 16SP-2 برابر با ۱۷۵/۸ میلی‌گرم در اندام هوایی با افزایش ٦٨٪ نسبت به شاهد منفی و سپس تیمارهای کودی ۱۰۰٪ و ۵۰٪ بوده است که با هم در یک گروه آماری بوده ولی با شاهد منفی دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (جدول ۷). نتیجه آزمایش نشان از بالا بودن غلظت و مقدار نیتروژن در تیمارهایی دارد که جز تثبیت‌کنندگان نیتروژن هستند. در آزمایش کنعانی الوار و همکاران (۲۰۱۳)، تیمار *ازتوباکتر* با میانگین ۲/٦۲٪ بالاترین میانگین نیتروژن اندام هوایی را نسبت به تیمار شاهد منفی با ۱/٤٦٪ دارا بود. اساساً انتقال کاتیون‌ها می‌تواند توسط اسیدهای آمینه کربوکسیلی و یا اسیدهای آلی تسهیل شود. *ازتوباکتر* توانایی ساخت ویتامین‌های B1، B2، B6 **و** B12 ، پانتوتنیک اسید، نیکوتینیک اسید، و اسیدهای آلی مانند اسید مالیک و اسید سیتریک را دارد (مارتینز-تولدو و همکاران ۱۹۹٦). هم‌چنین قادر به ساختن اسیدهای آمینه مانند آرژینین، لیزین، تریپتوفان، هیستیدین، سیستئین، پالمتیک اسید، گلوتامیک اسید می‌باشد (گونزارلز-لوپز و همکاران، ۱۹۸۳). می‌توان تصور نمود که مقدار این مواد در ریشه‌های تلقیح شده با *ازتوباکتر* افزایش و در نتیجه به دلیل انتقال بیش‌تر این مواد به بخش‌های هوایی گیاه، یون‌ها نیز به همراه آن‌ها انتقال می‌یابند. همچنین انتقال بیش‌تر عناصر به بخش‌های هوایی در گیاهان تلقیح شده با *ازتوباکتر* به اثر احتمالی هورمونی نظیر سیتوکینین و نیز اثر سیدرفور به عنوان عوامل محرک رشد گیاه نسبت داده می‌شود که ضمن تحریک رشد، سبب هدایت یون‌های ضروری به بخش‌های هوایی می‌شود (گونزارلز-لوپز و همکاران ۱۹۹۱ و سونژا و همکاران ۱۹۹٦).

غلظت و مقدار نیتروژن ریشه

اثر تیمارهای آزمایش بر غلظت نیتروژن ریشه غیرمعنی‌دار بود (جدول ٤). اما در مورد مقدار نیتروژن ریشه که در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. بیش‌ترین میانگین پس از تیمار ۱۰۰٪ توصیه کودی (برابر با ۱۲٦ میلی‌گرم در ریشه با اختلاف آماری معنی‌دار و افزایش ۱۰۳٪ نسبت به شاهد منفی)، مربوط به تیمار باکتری‌های 44A-4s و 44SP-2 بود. که به ترتیب *سیتروباکتر* و *ازتوباکتر*

کروکوکوم بوده‌اند اما این تیمارهای باکتریایی نسبت به شاهد منفی دارای اختلاف آماری معنی‌دار نیستند (جدول ۷). بالا بودن وزن گیاهی تأثیری مستقیم در به دست آمدن مقدار بالای نیتروژن دارد که این امر در تیمار *ازتوباکتر کروکوکوم* 16SP-2 و 14SP-I دیده می‌شود. این جدایه‌ها دارای کارایی نسبتاً بالای تثبیت نیتروژن بوده‌اند اما در مورد جذب نیتروژن در ریشه تیمارهای تلقیح‌یافته، کمترین وزن ریشه را داشته‌اند، کمترین میزان نیتروژن را نیز دارا بوده اند اما با این وجود جدایه 16SP-2 دارای توان بالا برای انتقال عناصر مخصوصاً نیتروژن هست.

مقدار نیتروژن کل بافت گیاهی

این پارامتر نیز با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ٤) در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده و بیش‌ترین میانگین مربوط به تیمارهای ۱۰۰٪ (۲۹۸ میلی‌گرم در گیاه و افزایش ۸۰٪ نسبت به شاهد منفی) و ۵۰٪ توصیه کودی بوده است. اما بین تیمارهای باکتریایی، باکتری *ازتوباکتر کروکوکوم* 16SP-2 (۱۹۳ میلی‌گرم در گیاه) بهتر از بقیه عمل کرده و با تیمار ۵۰٪ توصیه کودی در یک گروه آماری قرار گرفته اما با شاهد منفی دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (جدول ۷). سید و حسین (۲۰۱۱) نیز بیان کردند اثر مفید کاربرد کودهای زیستی نیتروژنی، توسعه و افزایش محتوای نیتروژن گیاه بوده و بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی محصول مؤثر است.

فاکتور انتقال نیتروژن

فاکتور انتقال نیتروژن که از نسبت غلظت نیتروژن اندام هوایی به ریشه به دست آمده است، در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده (جدول ٤) و برتری نسبی *ازتوباکتر کروکوکوم* را نشان می‌دهد. به صورتی‌که باکتری 16SP-2 با بیش‌ترین فاکتور انتقال (۲/۳۲)، افزایش ۹۹٪ نسبت به شاهد منفی و اختلاف آماری معنی‌دار در اولویت قرار می‌گیرد. پس از آن نیز تیمار ۵۰٪ توصیه کودی و 14SP2-1 (*ازتوباکتر کروکوکوم*)، افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد منفی داشته‌اند (جدول ۷). رحیمی و همکاران (۲۰۱۲)، عنوان کردند تلقیح باکتری اثر معنی‌داری بر انتقال عناصر نیتروژن و فسفر از ریشه به بخش هوایی گذاشت، بدین صورت که سویه‌های مؤثر در انتقال نیتروژن از ریشه به بخش هوایی از لحاظ تثبیت نیتروژن نیز سویه‌های برتر بودند. با توجه به مقدار پایین نیتروژن در حضور این سویه‌ها، آن‌ها با تثبیت نیتروژن و تولید مواد محرک رشد اطراف ریشه سبب انتقال بهتر این عناصر از ریشه به بخش هوایی شدند.

جدول ۴ – نتایج تجزیه واریانس غلظت و مقدار نیتروژن ریشه و اندام هوایی، مقدار نیتروژن کل و فاکتور انتقال نیتروژن

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		غلظت نیتروژن اندام هوایی	مقدارنیتروژن اندام هوایی	غلظت نیتروژن ریشه	مقدار نیتروژن ریشه	مقدار نیتروژن کل	فاکتور انتقال نیتروژن
تیمار	۲۱	۱۲۵۰٦٦٦/٦٦٧**	۰/۰٤۰**	٤٥٥۲۱۲/۱۲۱ ns	۰/۰۱۸**	۳٤٥۷/۹٤۱**	۰/۲٤۷**
خطای آزمایشی	۲۲	۱٦۳۹۲۷/۲۷۳	۰/۰۰۳	۲٥۱۲۳٦/۳٦٤	۰/۰۰۳	۲۰٦/۱۱۰	۰/۰۲۸
ضریب تغییرات (٪)		۱۰/۷۱	۲/۹۸	۱٤/٤٥	۳/۰۹	۹/۱۷	۱٤/۸

و **ns معنی‌دار در سطح ۱٪ و غیر معنی‌دار می باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص کلروفیل، ارتفاع گیاه و قطر ساقه

شماره	تیمارها	شاخص کلرفیل	قطر ساقه (mm)	ارتفاع گیاه (cm)
۱	2SP-5	٤/٨^{CDE}	١٧/٤$^{A-D}$	٧٣/١^{FG}
۲	4A-1	٤/٣^{CDE}	١٦/٢$^{B-F}$	٧٧/٨^{EFG}
۳	12A-3	٤/١^{CDE}	١٦/٧$^{A-F}$	٨٤/٧^{CDE}
٤	14A-4	٤/١^{CDE}	١٦/٦$^{A-F}$	٨٦/٣^{CDE}
٥	14SP-I	٥/٢^{BCD}	١٦/٧$^{A-F}$	٨٨/٦^{BCD}
٦	14SP-III	٤/٩^{CDE}	١٥/٩$^{B-F}$	٨٤/٢^{CDE}
٧	14SP2-1	٤/٢^{CDE}	١٥/٣$^{C-F}$	٨٤/٢^{CDE}
٨	16SP-2	٥/٥^{BCD}	١٨/٤^{AB}	٧٨/٣$^{D-G}$
٩	16SP7-2	٣/٧^{E}	١٦/٩$^{B-F}$	٧٣/٥^{FG}
١٠	22SP-1	٤/٤^{CDE}	١٥/٣$^{C-F}$	٧٧/٥^{EFG}
١١	24A-1	٤^{DE}	١٥/٣$^{C-F}$	٨٠/٥^{DEF}
١٢	34A-2	٤/٢^{CDE}	١٤/٥^{F}	٨٧/٦^{CDE}
١٣	34SP-III	٤^{DE}	١٥/٤$^{C-F}$	٩١/٤^{BC}
١٤	35SP-2	٣/٦^{E}	١٤/٥^{EF}	٨٤/٢^{CDE}
١٥	36A-2L	٤/٧^{CDE}	١٥^{DEF}	٨٣/٥^{CDE}
١٦	37SP	٥/١^{BCD}	١٦/٣$^{B-F}$	٨٠$^{D-G}$
١٧	44A-4s	٤/٢^{CDE}	١٧/١$^{A-E}$	٧٠/٢^{G}
١٨	44SP-2	٤/٢^{CDE}	١٦/٥$^{A-F}$	٧٢/٥^{FG}
١٩	B0N50	٧/٧^{A}	١٧/٩^{ABC}	٧٨/١^{CDE}
٢٠	B0N100	٦/٩^{AB}	١٩/١^{A}	١٠٢/٤^{A}
٢١	Control-	٥^{CD}	١٦/٧$^{A-F}$	٩١/٥^{BC}
٢٢	Carrier	٥/٧^{BC}	١٥/٣$^{C-F}$	٩٧/٧^{AB}

Control-: بدون باکتری و کود، Carrier: حامل بدون باکتری، B0N50: تیمار کودی ۵۰% توصیه کودی، B0N100: تیمار کودی ۱۰۰٪ توصیه کودی

جدول ۶- مقایسه میانگین وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و وزن تر و خشک کل

شماره	تیمارها	وزن تر اندام هوایی (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک ریشه (g)	وزن تر کل (g)	وزن خشک کل (g)
۱	2SP-5	١١٨/٧$^{D-I}$	١٩/٨^{FG}	١٢٢/٧	١٩/٨^{B}	٢٤١/٤^{CDE}	٣٩/٧$^{C-G}$
۲	4A-1	١٢١/٨$^{C-H}$	٢٠/٩$^{D-G}$	١٢٤/٤	١٦/٦^{B}	٢٤٦/٢^{CDE}	٣٧/٦^{EFG}
۳	12A-3	١٣٦/٦$^{C-F}$	٢٣/٥$^{C-G}$	١١٤/٣	١٨/٦^{B}	٢٥٠/٩^{CDE}	٤٢/٢$^{C-G}$
٤	14A-4	١٤٠/٣^{CDE}	٢٣/٦$^{C-G}$	١٢١/٣	١٨/٤^{B}	٢٦١/٥^{CD}	٤٢$^{C-G}$
٥	14SP-I	١٤٦/٤^{BCD}	٢٥/٧^{CDE}	١٢٢/٥	١٧/٥^{B}	٢٦٨/٩^{BC}	٤٣/٢^{CDE}
٦	14SP-III	١٢٧/٢$^{C-G}$	٢٢/١$^{C-G}$	١١٠/٦	١٨/٦٩^{B}	٢٣٧/٨^{CDE}	٤٠/٩$^{C-G}$
٧	14SP2-1	١٢٦/١$^{C-G}$	٢٢$^{C-G}$	١١١/٩	١٦/٩^{B}	٢٣٨^{CDE}	٣٨/٩$^{C-G}$
٨	16SP-2	١٤١/٩^{CDE}	٢٧^{C}	١٠٣/٢	١٥/١٩^{B}	٢٤٥/١^{CDE}	٤٢/٨$^{C-G}$
٩	16SP7-2	١٠٦/٢$^{F-I}$	١٨/٦^{G}	١٣٢/٢	١٩/٠٧^{B}	٢٣٨/٤^{CDE}	٣٧/٧^{EFG}
١٠	22SP-1	١١٤/٤$^{D-I}$	٢٠/٥^{EFG}	١٠٨/١	١٦/٦^{B}	٢٢٢/٤^{EF}	٣٧^{FG}
١١	24A-1	١١٤/٤$^{D-I}$	٢٠/٦^{EFG}	١٢٣/٩	١٨/٥^{B}	٢٣٨/٣^{CDE}	٣٩/١$^{D-G}$
١٢	34A-2	١٢٠/٦$^{D-I}$	٢١/٩$^{C-G}$	١٠٩/٦	١٧/٥^{B}	٢٣٠/٢^{DEF}	٣٩/٤$^{C-G}$
١٣	34SP-III	١٤٠/٩^{CDE}	٢٤/٧$^{C-F}$	١٣١/٩	١٩/٥^{B}	٢٧٢/٩^{BC}	٤٤/٣^{CD}
١٤	35SP-2	١٠٩/٢$^{E-I}$	١٩/٤^{FG}	١٣١/١	١٩/١٨^{B}	٢٤٠/٤^{CDE}	٣٨/٦$^{D-G}$
١٥	36A-2L	١٢٦/٦$^{C-G}$	٢١/٨$^{C-G}$	١١٧/٣	١٨/١^{B}	٢٤٣/٩^{CDE}	٣٩/٩$^{C-G}$
١٦	37SP	١٠٤/٤^{GHI}	١٨/٧^{G}	١٣٤/٦	١٩/٢^{B}	٢٣٩^{CDE}	٣٧/٩^{EFG}
١٧	44A-4s	٩٣/٤^{I}	١٧/٩^{G}	١٤٨/١	٢٢/٢^{AB}	٢٤١/٦^{CDE}	٤٠/٢$^{C-G}$
١٨	44SP-2	٩٥/١^{HI}	١٨/٢^{G}	١٠٦/٧	١٨/٥^{B}	٢٠١/٨^{F}	٣٦/٧^{G}
١٩	B0N50	١٨٢/١^{B}	٣٢/١٩^{B}	١١٨/٥	٢٥/٨^{AB}	٣٠٠/٦^{B}	٥٧/٩^{B}
٢٠	B0N100	٢٣٠/٣^{A}	٤١/٠٩^{A}	١٤٥/٩	٣٢/٢^{A}	٣٧٦/٢^{A}	٧٣/٢^{A}
٢١	Control-	١٥٦/٧^{BC}	٢٦/٥٦^{CD}	١٠١/٥	١٨/٤^{B}	٢٥٨/١^{CDE}	٤٤/٩^{C}
٢٢	Carrier	١٤٨/٦^{BCD}	٢٤/٧٨$^{C-F}$	١٠٦/٩	١٧/٩^{B}	٢٥٥/٥^{CDE}	٤٢/٧$^{C-G}$

Control-: بدون باکتری و کود، **Carrier**: حامل بدون باکتری، **B0N50**: تیمار کودی ۵۰٪ توصیه کودی، **B0N100**: تیمار کودی ۱۰۰٪ توصیه کودی

جدول ۷- مقایسه میانگین غلظت و مقدار نیتروژن اندام هوایی، غلظت و مقدار نیتروژن ریشه، مقدار کل و فاکتور انتقال نیتروژن

شماره	تیمارها	غلظت نیتروژن اندام هوایی (٪)	مقدار نیتروژن اندام هوایی(mg/Plant)	غلظت نیتروژن ریشه (٪)	مقدار نیتروژن ریشه(mg/Plant)	مقدار نیتروژن کل (mg/Plant)	فاکتور انتقال نیتروژن
۱	2SP-5	۰/۲٤ ^{F}	٤۷/۱^{F}	۰/۳۱	٦۱/۲^{BCD}	۱۰۸/۳^{E}	۰/۷٦^{GH}
۲	4A-1	۰/۳۲ ^{DEF}	٦۷/٦^{DE}	۰/٤٦	۷٦/۷^{BC}	۱٤٤/۳^{CD}	۰/۷٤^{H}
۳	12A-3	۰/۳٥ ^{DE}	۸۲/٤^{BCD}	۰/۳٤	٦۲/٦^{BCD}	۱٤٥/۱^{CD}	۱/۰٤$^{D-H}$
٤	14A-4	۰/۳۱^{EF}	۷۲/۸^{CDE}	۰/۳۲	٥۹/۲^{CD}	۱۳۱/۹^{CDE}	۰/۹٦$^{D-H}$
٥	14SP-I	۰/۳٤^{DE}	۸٦/٤^{BCD}	۰/۳۸	٦٦^{BCD}	۱٥۲/٥^{CD}	۰/۸۹$^{E-H}$
٦	14SP-III	۰/۳۹$^{B-E}$	۸٦/۸^{BCD}	۰/۳۹	۷۳/۲^{BC}	۱٦۰/۱^{CD}	۱/۰۲$^{D-H}$
۷	14SP2-1	۰/٤٥^{BC}	۹۸/۷^{BC}	۰/۲۹	٤۹/۷^{DE}	۱٤۸/٤^{CD}	۱/٥۳^{BC}
۸	16SP-2	۰/٦٤^{A}	۱۷٥/۸^{A}	۰/۲۸	٤۲/٥^{E}	۲۱۸/۳^{B}	۲/۳۲^{A}
۹	16SP7-2	۰/٤۲^{BCD}	۷۸/۱$^{B-E}$	۰/۳۱	٥۸/۷^{CD}	۱۳٦/۸^{CDE}	۱/۳٦^{BCD}
۱۰	22SP-1	۰/۳۹$^{B-E}$	۸۰/۳$^{B-E}$	۰/۳۱	٥۱/۲^{DE}	۱۳۱/٥^{CDE}	۱/۲۷^{BCDE}
۱۱	24A-1	۰/۳٤^{DE}	٦۹/۱^{DE}	۰/٤۱	۷٥/۲^{BC}	۱٤٤/٤^{CD}	۰/۸۳^{FGH}
۱۲	34A-2	۰/۳٦^{CDE}	۷۹/۷$^{B-E}$	۰/۳٤	٥۸/۸^{CD}	۱۳۸/٥^{CDE}	۱/۱۱^{DEFGH}
۱۳	34SP-III	۰/۳۱^{EF}	۷٥/۹^{CDE}	۰/۳٦	۷۱/٥^{BC}	۱٤۷/٤^{CD}	۰/۸٥^{FGH}
۱٤	35SP-2	۰/۳۸^{CDE}	۷۳/٤^{CDE}	۰/۳۱	٥۹/۱^{CD}	۱۳۲/٤^{CDE}	۱/۲۳^{CDEF}
۱٥	36A-2L	۰/۳٥^{DE}	۷٦/٤^{CDE}	۰/۳۲	٥۸/۱^{CD}	۱۳٤/٥^{CDE}	۱/۱۱$^{D-H}$
۱٦	37SP	۰/۳۲^{DEF}	٦۰/۳^{E}	۰/۳٥	٦۷/۱^{BCD}	۱۲۷/٤^{DE}	۰/۹۳$^{E-H}$
۱۷	44A-4s	۰/۳۹$^{B-E}$	۷۰/٤۳^{DE}	۰/۳٦	۸۰/۹^{B}	۱٥۱/۳^{CD}	۱/۰۸$^{D-H}$
۱۸	44SP-2	۰/۳۸^{CDE}	٦۸/۸^{DE}	۰/٤۳	۸۰/٥^{B}	۱٤۹/۳^{CD}	۰/۸۷$^{E-H}$
۱۹	B0N50	۰/٤۷^{B}	۱٥۳/۲^{A}	۰/۲۹	۷٥/۷^{BC}	۲۲۸/۹^{B}	۱/٦۱^{B}
۲۰	B0N100	۰/٤۲^{BCD}	۱۷۲/٦^{A}	۰/۳۹	۱۲٦/۱^{A}	۲۹۸/٦^{A}	۱/۰۷$^{D-H}$
۲۱	Control-	۰/۳۹$^{B-E}$	۱۰٤/۱^{B}	۰/۳٤	٦۱/۹^{BCD}	۱٦٥/۹^{C}	۱/۱۷$^{D-G}$
۲۲	Carrier	۰/۳٥^{DE}	۸٦/۷^{BCD}	۰/۳٤	٦۰/۱^{BCD}	۱٤٦/۸^{CD}	۱/۰٤$^{D-H}$

Control-: **بدون باکتری و کود**، Carrier: **حامل بدون باکتری**، B0N50: **تیمار کودی ۵۰٪ توصیه کودی**، B0N100: **تیمار کودی ۱۰۰٪ توصیه کودی**

نتیجه‌گیری

هر چند تمام جدایه‌های باکتری مورد استفاده در این آزمایش *ازتوباکتر* نبودند اما رقابت بین باکتری‌ها نشان از برتری نسبی ازتوباکترها دارد. هدف این آزمایش بررسی توان باکتری‌ها در حضور گیاه و مواجه با شرایط طبیعی بود. چون خاک مورد استفاده استریل شده بود، حضور باکتری‌های مد نظر در تیمارهای باکتریایی تنها منبع در دسترس گیاه برای تأمین نیتروژن بود از طرفی چون توان باکتری‌ها در توسعه اندام هوایی و بهبود شرایط تغذیه‌ای اندام هوایی بیش‌تر از ریشه اهمیت دارد لذا جدایه‌هایی که نتیجه مناسب‌تری به دست دادند عبارتند از 16SP-2، 14SP2-1، 14SP-I (*ازتوباکتر کروکوکوم*) و 34SP-III (*سودوموناس*). اما همه جدایه‌های *ازتوباکتر کروکوکوم* مورد استفاده یعنی 16SP-2، 14SP-I، 14SP2-1 و 44SP-2 شرایط یکسان و مشابهی در گیاه به دنبال نداشتند. یکی از دلایل این مسأله

می‌تواند تنوع در سویه باکتری باشد زیرا مایه تلقیح‌های مختلف به معنی سویه‌های مختلف است که ممکن است تشابه زیادی از نظر تأثیر بر رشد گیاه نداشته باشد. از میان باکتری‌ها جدایه 16SP-2 دارای بالاترین کارایی تثبیت نیتروژن شناخته شد و برای آزمایشات مزرعه‌ای پیشنهاد می‌شود

منابع مورد استفاده

Amiri A, Tohidi Nejad E , Javaheri MA and Mohamadi Nejad Q. 2010. Study the effect of planting time, cultivar and *Azotobacter* on wheat (*Triticum aesticum* L.) yield at Bardsir region. Journal of Crops Improvement, 12(1): 11-19. (In Persian).

Arzanesh MH, Alikhani HA, Khavazi K, Rahimian HA and Miransari M. 2011.Wheat growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27: 197-205.

Asghar HN, Zahir ZA, Arshad M and Khaliq A. 2004. Relationship between in-vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology and Fertility of Soils. 35: 231-237.

Ashfaq Anjum M, Zahir ZA, Ashraf M and Arshad M. 2011. Isolation and screening of rhizobia for auxin biosynthesis and growth promotion of mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings under axenic conditions. Soil Environment, 30(1): 18-26.

Broughton WJ and Ouler S. 1986. Nitrogen fixation. Volume 4: Mollecular biology. Clarendon press. Oxford.

Choudhury A and Kabi MC. 2002. Response of rice to inoculation with acomposite inoculums under graded levels of fertilizers nitrogen Hindu-Kohterai soils of West Bengal. Indian Agriculturist, 46 (3/4): 173 – 175.

Dixon ROD and Wheeler CT. 1986. Nitrogen Fixation in Plants. Chapman and Hall. NewYork.

Dobereiner J and Baldani VLD. 1998. New biotechnologies. Biotechnology Science. Dev. Bras. 1: 16- 17.

Dobereiner J. 1997. Biological nitrogen fixation in the tropics, social and economic contributions. Soil Biology and Biochemistry, 29: 771-774.

Fallah Qazaani M, Habibi D, Pazoki AR and Khavazi K.2012 .Effect of some *Azotobacter* spices and humic acid on auxin hormone production, yield and yield components of wheat under different nitrogen levels. Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding, 8(2): 97-109. (In Persian).

FAO. 2005. Fertilizer use by crop in the Islamic Republic of Iran. Rome.

Gonzalez-lopes J, Martinez-Toledo MW, Reina S and Slmern V. 1991. Root exudates of maize and production of auxins, gibberellins, cytokinins, amino acids and vitamins by *Azotobacter chroococcum* in chemically defined media and dialyzed-soil media. Technology and Environment Chemistry, 33:69-78.

Gonzalez-lopes J, Slmern V and Moreno J. 1983. Amino acid and vitamins produced by *Azotobacter vinelandii* in chemically- defined media and dialyzed soil media. Soil Biology and Biochemistry, 6: 711- 713.

Hajeeboland R, Aliasgharzadeh N, Mehrfar Z. 2004. Ecological Study of *Azotobacter* in Two pasture lands of the North-west Iran and its Inoculation Effect on Growth and Mineral Nutrition of Wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Omid) Plants. Journal of Water and soil Science, 8 (2):75-90. (In Persian)

Jimenez DJ, Salvador Montana J and Mercedes Martinez M. 2011. Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable grown Colombian soils. Brazilian Journal of Microbiology, 42: 846-858

Kader MA, Main MH and Hoque MS. 2002. Effect of *Azotobacter* inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. Biological Science, 2: 259-261.

Kanaani Alvar A, Raei Y, Zehtab Salmasi S and Nasrollahzadeh S. 2013. Study the Effects of Biological and Nitrogen Fertilizers on Yield and Some Morphological Traits of two Spring Barley (*Hodeum vulgare* L.) Varieties under Rainfed Conditions. Agricultural and Sustainable Production Knowledge, 23(1): 20-29. (In Persian).

Kanimozhi K and Panneerselvam A. 2010. Studies on isolation and nitrogen fixation ability of *Azospirillum* spp. isolated from Thanjavur district. Der Chemica Sinica, 1(3): 138-145.

Karaivazoglou NA, Papakosta DK and Divanidis S. 2005. Effect of chloride in irrigation water and form of nitrogen fertilizer on Virginia (flue-cured) tobacco. Field Crops Research, 92: 61-74.

Kennedy IR, Choudhury ATMA and Kecskes ML. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? Soil Biology and Biochemistry, 36:1229–1244.

Maghsoudi E, Ghalavand A, Alikhani MA. 2013. Effects of Organic, Chemical, Biological, and Integrated Nutritional Systems on Yield and Quality Traits of Maize Variety S.C.704. Iranian Journal of Field Crops Research, 12 (2): 273-282. (In Persian).

Malakouti MJ and Gheibi N. 1997. Determine the critical nutrients strategic and proper fertilizer recommendations in the country. Publication of agricultural education. Karaj. Iran. (In Persian).

Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plant. Academic press. London.

Martin P, Glatzle A, Kolb W, Omay H and Schmidt W. 1989. N_2-fixing bacteria in the rhizosphere: Quantification and hormonal effects on root development. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 152: 237-245.

Martinz-Toledo M V, Gonzalez-Lopez J, De La Rubia T and Moreno J. 1988. Effect of inoculation with *A. chroococcum* on nitrogenase activity of *Zea mays* roots grown in agricultural soil under aseptic and non-sterile conditions. Biology and Fertility of Soil, 6: 170-173.

Martinz-Toledo MV, Rofelas B, Salmeron V, Pozo C and Gonzalez-Lopez J. 1996. Production of pantothenic acid and thiamine by *Azotobacter vinelandii* in a chemically defined medium and a dialyzed soil medium. Biology and Fertility of Soil, 22: 131-135.

Mazinani Z, Aminafshar M, Asgharzadeh A and Chamani M. 2012. Effect of *Azotobacter* population on physico–chemical characteristics of some soil samples in Iran. Scholars Research Library Annals of Biological Research, 3(7):3120-3125.

Narula N, Kumar V, Singh B, Bhatia R and Lakshminarayana K. 2005. Impact of biofertilizers on grain yield in spring wheat under varying fertility conditions and wheat-cotton rotation. Archives of Agronomy and Soil Science, 51(1): 79 - 89.

Nourmohammadi G, Siyadat A and Kashani A, 2005 .A Kernel of Wheat. Publication of Shahid Chamran University of Ahvaz. Ahvaz. (In Persian).

Nourmohammadi G, Siyadat A and Kashani A. 2000 .A Kernel of Wheat. Poblication of Shahid Chamran University of Ahvaz. Ahvaz. (In Persian).

Ostadi Jaafari A, Rezvani Moghaddam P and Ghorbani R. 2012. Study of Beneficial Levels and Effect of *Azotobacter* spp. and *Azospirillium* spp.Iranian Journal of Field Crops Research, 10(2): 277-283 (In Persian).

Palleroni NJ. 1984. Gram negative aerobic rods and cocci. Pp. 140-199. In: Krieg, NR, (Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore.

Rahimi L, Aliasgharzad N and Oustan SH. 2012. Effect of Native *Azotobacter* c*hroococcum* Strains on Growth and Uptake of Nitrogen and Phosphorus by Wheat Plant in Greenhouse Conditions. Journal of Water and soil Science, 15 (58) :159-171. (In Persian).

Reddy GSN, Prakash JSS, Matsumoto GI, Stackebrandt E and Shivaji S. (2002). *Arthrobacter roseus* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from an Antarctic cyanobacterial mat sample. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52: 1017-1021.

Reed CS, Cleaveland CC and Towsend AR. 2011. Functional ecology of free living nitrogen fixation: A contemporary perspective. Annual Review of Ecology and Systematics, 42:489-512.

Rios-Gonzalez K, Erdei L and Lips SH. 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. Plant Science, 162: 923- 930.

Rowell DL. 1994. Soil Science: Method and Application. Longman Scientific and Technical, Soil and Plant Analysis, Wageningen Agriculture University. The Netherland, P. 350.

Sadeghi S, Heidari GHR, Sohrabi Y .2015. Effect of Biological Fertilizer and Fertilization Management on Some Growth Indices of Two Maize Varieties. Agricultural and Sustainable Production Knowledge, 25(3): p 43-60. (In Persian).

Sarikhani MR and Moradi Sh. 2015. Review on the Researches of Biofertilizers in Iran. The eighth national conference on agriculture research findings. University of Kurdistan, Sanandaj. Iran. (In Persian).

Sayed AV, Hossein AF. 2011. Investigation of biofertilizers influence on quantity and quality characteristics in Nigella sativa L. Horticulture,. 3 (3): 88–92.

Shaharoona B, Arshad M, Zahir Z A and Khalid A. 2006. Performance of *Pseudomonas* spp. containing Acc-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil Biology and Biochemistry, 38: 2971-2975.

Suneja S, Narula N, Anand RC and Lakshminarayana K. 1996. Relationship of *Azotobacter chroococcum* siderophores with nitrogen fixation. Folia Microbiology, 41: 154-158.

Violent HGM, and Portugal VO. 2007. Alternation of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobactria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. Scientia Horticulture, 113: 103-106.

Waling I, Vark WV, Houba VJG and Van der lee JJ, 1989. Soil and Plant Analysis, a series of syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, the Netherland.

Zahir AZ, Abbas SA, Khalid A, and Arshad M. 2000. Substrate depended microbial derived plant hormones for improving growth of maize seedling. Pakistan Journal of Biological Science, 3: 289-291.

Zaied KA, Abd-El-Hady AH, Sharief AE, Ashour EH and Nassef MA. 2007. Effect of horizontal DNA Transfer in *Azospirillum* and *Azotobacter* Strains on biological and biochemical traits of non-legume plants. Journal of Applied Sciences Research, 3(1): 73-86.