

تأثیر کود نیتروژن و کود زیستی آزوسپیریلوم برازیلنس روی برخی ویژگی‌های گندم در منطقه جوزان اصفهان

مهدی امیریوسفی^۱ و پیمان شریفی^{۲*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱)

چکیده

به منظور بررسی اثر کود زیستی آزوسپیریلوم و کود نیتروژنه بر عملکرد و رشد رقم گندم این مطالعه در منطقه جوزان اصفهان به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل باکتری آزوسپیریلوم در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح) و کود نیتروژنه در پنج سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص) بود. استفاده از آزوسپیریلوم منجر به افزایش عملکرد دانه و همچنین افزایش ویژگی‌های زراعی از جمله تعداد سنبله در مترمربع، وزن هزار دانه، درصد پروتئین دانه و قرائت کلروفیل متر شد. اثر متقابل دو فاکتور بر عملکرد دانه، تعداد سنبله در مترمربع، وزن هزار دانه و درصد پروتئین دانه در سطح احتمال ۵ درصد و ارتفاع بوته و قرائت کلروفیل متر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. مقادیر بالای عملکرد دانه (۴۶۰۷/۱۳ کیلوگرم در هکتار)، درصد پروتئین دانه (۱۲/۷۱ درصد) و قرائت کلروفیل متر (۵۳/۳۳) از گیاهان تلقیح شده با آزوسپیریلوم و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دست آمد. در صورتی که، بیشترین تعداد سنبله در مترمربع (۴۷۱/۴۲) و وزن هزار دانه (۴۸/۴ گرم) در شرایط تلقیح و مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار تولید شد. در مجموع، تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار برای دستیابی به حداکثر عملکرد دانه، کاهش اثرات مخرب زیست محیطی و صرفه جویی در مصرف کود نیتروژنه مناسب به نظر می‌رسد که توصیه قطعی آن نیازمند ادامه مطالعات است.

واژه‌های کلیدی: باکتری آزوسپیریلوم، شاخص سطح برگ، عملکرد دانه، محتوای کلروفیل، کود شیمیایی

۱ و ۲. به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sharifi@iaurasht.ac.ir

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) جزء مهم‌ترین غلات، از گیاهان گل‌دار تک‌لپه‌ای، یک‌ساله و از خانواده گرامینه است. فائو در جدیدترین گزارش خود اعلام کرد که با وجود کاهش ۳/۵ درصدی تولید گندم در ایران، این کشور همچنان دوازدهمین تولیدکننده بزرگ گندم جهان به‌شمار رفته و تولید این محصول در ایران در سال ۲۰۱۴ میلادی به ۱۳/۵ میلیون تن از کل گندم تولیدی جهان (۷۰۱ میلیون تن) رسید (۱۸).

روش‌های کشاورزی متداول با اتکای بیش از حد به نهاده‌های مصنوعی و انرژی‌های کمکی مانند کودها و سموم شیمیایی باعث ایجاد اکوسیستم‌های زراعی ناپایدار شده و آلودگی‌های زیست‌محیطی را به‌دنبال داشته است، که نگرانی‌هایی را در بخش کشاورزی، محیط زیست، صنعت و بهداشت به‌وجود آورده است (۳۰). نیتروژن اولین عنصر ضروری برای گیاهان است که علی‌رغم مقدار زیاد آن در اتمسفر این عنصر مستقیماً برای گیاه قابل جذب نیست. گیاهانی از قبیل ذرت، گندم، برنج و جو به‌مقدار بسیار زیادی از نیتروژن نیاز دارند (۱۴). این عنصر می‌تواند به‌صورت کوددهی شیمیایی و بیولوژیک در اختیار گیاه قرار گیرد. مصرف نامتناسب و بی‌رویه کودهای شیمیایی نیتروژن، نتیجه‌ای جز کاهش کیفیت محصول، افزایش هزینه تولید و افزایش آلودگی منابع آب زیرزمینی در بر نخواهد داشت (۲۸). از این‌رو، استفاده از کودهای زیستی با هدف حذف و یا کاهش کودهای شیمیایی به‌عنوان جایگزینی مناسب، یکی از ارکان اساسی و پراهمیت در کشاورزی محسوب می‌شود که در سال‌های اخیر با افزایش مشکلات زیست‌محیطی، هزینه‌های تولید، مصرف و همچنین اثرات مضر ناشی از کاربرد بی‌رویه کودهای شیمیایی بر چرخه‌های زیستی، پایداری سیستم‌های زراعی و همچنین پیامدهای زیانبار اقتصادی و زیست‌محیطی ناشی از مصرف این کودها، ضرورت استفاده از کودهای زیستی را سبب شده است (۲۶). کودهای زیستی در چرخه عناصر غذایی، تثبیت نیتروژن، فراهم کردن عناصر غذایی، افزایش مقاومت به آفات، بهبود

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک و استقرار گیاهچه نقش دارند (۳۰). با توجه به اثرات مثبت کودهای زیستی در تحریک رشد گیاهان، به‌عنوان رایزوباکتری‌های محرک رشد گیاه نام گرفته‌اند. باکتری‌های جنس *Azotobacter*، *Clostridium*، *Bacillus* sp، *Pseudomonas fluorescens* و *Azospirillum* توانایی همیاری با گیاهان را دارا هستند (۱۵ و ۳۸)، که از طریق روابط متقابل و همزیستی با ریشه گیاهان می‌توانند طی فرآیندهای بیولوژیکی عناصر غذایی اصلی را از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس تبدیل نموده و منجر به توسعه سیستم ریشه‌ای و جوانه‌زنی بهتر بذر نیز شوند (۱۱ و ۳۶).

در سال‌های اخیر و در مطالعات مختلف بر اهمیت استفاده از کودهای زیستی به‌منظور افزایش عملکرد محصولات کشاورزی بسیار تأکید شده است. کاپولینگ و همکاران (۲۷) در آزمایشی بر روی گندم و سورگوم دریافتند که باکتری آزوسپیریلوم می‌تواند موجب بهبود رشد و عملکرد گیاه گردد. حافظ و همکاران (۲۱) بیان کردند که تلقیح باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی و افزایش جذب نیتروژن در گیاه پنبه شده است. الیاس و باهو (۲۳) نشان دادند که تلقیح بذور گندم با باکتری آزوسپیریلوم منجر به افزایش معنی‌دار تعداد سنبله‌ها و تعداد پنجه‌های بارور شد. ارزانش و همکاران (۷) تأثیر باکتری آزوسپیریلوم را بر افزایش عملکرد گندم بررسی کردند و نشان دادند که تلقیح این باکتری‌ها باعث افزایش تعداد سنبله، تعداد دانه در هر سنبله و افزایش میزان کلروفیل برگ و پروتئین دانه گندم شد. نعیم و اطرشی (۳۰)، در مطالعه خود بر روی سه رقم سیب‌زمینی نشان دادند که کاربرد قارچ‌ها و باکتری‌های محرک رشد گیاه نقش مفید و مؤثری در رشد و افزایش عملکرد داشت. فلاح نصرت‌آباد و همکاران (۱۷) در بررسی تأثیر کودهای زیستی و نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم نشان دادند که برهمکنش کود زیستی حاوی ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس با کود نیتروژن خالص، به‌طور قابل توجهی منجر به افزایش عملکرد دانه شد. نتایج تحقیقات براسینی و همکاران (۱۰)، پی‌سینین و

مشخصات آزمایش

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار انجام پذیرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل کود زیستی آزوسپیریوم در دو سطح (تلقیح و عدم تلقیح با باکتری آزوسپیریوم) و کود نیتروژنه در ۵ سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار از منبع اوره) بود که ترکیبات تیماری حاصل در جدول ۲ ارائه شده است. میزان مطلوب کود نیتروژنه مصرفی، براساس نتایج آزمون تجزیه خاک، میزان نیتروژن کل خاک، درصد کربن آلی خاک، و در نهایت پتانسیل تولید محصول در منطقه برآورد گردید.

تهیه غلظت مطلوب از باکتری آزوسپیریوم و تلقیح بذور

مطالعه با استفاده از سویه استاندارد Sp7 (خریداری شده از کمپانی NCIMB) از باکتری آزوسپیریوم انجام شد. به منظور تهیه غلظت مناسب برای دانه‌های گندم ابتدا غلظت‌های 10^7 از باکتری آزوسپیریوم برازیلنس تهیه شد. برای این منظور، باکتری‌ها از یک کلونی منفرد از روی محیط کشت اختصاصی Nfb برداشته و در محیط کشت مایع Nfb غنی شده با یک گرم در لیتر کلرور آمونیوم در انکوباتور رشد داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت سلول‌های باکتری از طریق سانتریفیوژ (۵۰۰۰ rpm) به مدت ۲۰ دقیقه برداشت شدند. محلول رویی حذف و توده باکتری با بافر فسفات نمکی شامل ۰/۲ گرم KH_2PO_4 ، ۱/۱۵ گرم K_2HPO_4 و ۷/۵ گرم NaCl در یک لیتر آب دو بار شسته شدند و برای بار دوم توده باکتری با سانتریفیوژ برداشت شد. در نهایت با اضافه کردن بافر فسفات به توده باکتری، جذب نوری محلول در طول موج 540 نانومتر برابر $1/05$ تنظیم شد. در این حالت غلظت 10^9 cfu/ml است با رقیق کردن پی در پی این محیط و براساس معیار مک فارلند غلظت 10^7 به دست آمد (۶). برای تلقیح ابتدا بذور در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد استریل به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته و سپس چندین بار با آب مقطر استریل شست‌وشو داده شدند. سپس به

همکاران (۳۳)، زوریتا و کانی جیا (۴۵)، وو و همکاران (۴۴)، دی و همکاران (۱۳) نیز تأیید کرد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد موجب بهبود عملکرد رشد در گیاهان زراعی شده است.

از آنجا که تلقیح باکتری آزوسپیریوم در گیاهان زراعی می‌تواند راهکار مناسبی جهت تعیین اهمیت استفاده از کودهای زیستی برای توسعه و بهبود تولید گندم باشد، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر کود نیتروژن و کود زیستی آزوسپیریوم برازیلنس، بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم رقم روشن در منطقه اصفهان انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

مطالعه حاضر در زمین زراعی واقع در منطقه جوزان استان اصفهان با مختصات طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۹ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۸ دقیقه و با ارتفاع ۱۵۸۰ متر از سطح دریا انجام شد. براساس آمار هواشناسی و با توجه به منحنی آمبروترمیک، منطقه مورد نظر با داشتن 150 تا 200 روز خشک، جزء مناطق با آب‌وهوایی مدیترانه‌ای گرم و خشک محسوب می‌شود. متوسط بارندگی سالانه آن 123 میلی‌متر است که عمده بارندگی در اواخر پائیز و اوایل بهار است. مطالعه روی رقم روشن گندم انجام شد که این رقم در سال ۱۳۳۷ از بین ارقام بومی منطقه اصفهان معرفی شده است. رقم روشن یک رقم بهاره، نیمه‌زودرس، با ارتفاع بوته بلند، نیمه‌حساس به خوابیدگی، دارای سنبله سفید کرک‌دار، بدون ریشک، مقاوم به ریزش، دانه سفید، دانه درشت با وزن هزار دانه 52 گرم، نیمه‌حساس به سرما، کاملاً حساس به زنگ‌ها و مقاوم به خشکی و شوری است. به منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، قبل از آماده‌سازی زمین، نمونه‌هایی از خاک از عمق $30 - 0$ سانتی متری تهیه شد. نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام شده در جدول ۱ نشان داده شد.

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه قبل از اعمال تیمارها

pH	نیترژن (%)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	کربن (%)	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	بافت
۷/۶	۰/۰۷	۲۲	۶۴۰	۰/۸	۱۷	۶۰	۲۳	سیلتی لوم

جدول ۲. ترکیبات تیماری اعمال شده در این مطالعه

N ₂ S ₅	N ₂ S ₄	N ₂ S ₃	N ₂ S ₂	N ₂ S ₁	N ₁ S ₅	N ₁ S ₄	N ₁ S ₃	N ₁ S ₂	N ₁ S ₁	تیمارها
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	تلقیح
۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	-	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	-	کود نیترژن (kg ha ⁻¹)

سانتی متر انجام گرفت. اولین مرحله آبیاری بلافاصله پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی هر ۷ روز یکبار تا پایان فصل رشد ادامه یافت. عملیات برداشت کرت‌ها با زرد شدن کامل سنبله‌ها، به‌منظور تعیین عملکرد نهایی و فاکتورهای مرتبط با عملکرد، در تاریخ ۲۰ تیرماه ۱۳۹۳ صورت پذیرفت. از ۴ خط مرکزی هر کرت و با در نظر گرفتن حاشیه و به مقدار ۱۰ سانتی‌متر بر روی ردیف با کفبر نمودن بوته (به‌طور تصادفی) اقدام به نمونه‌برداری گردید.

شاخص‌های اندازه‌گیری شده

برای محاسبه عملکرد دانه، محصول ۳ مترمربع از زمین مورد کاشت با رعایت حاشیه از طرفین برداشت شد و پس از جداسازی دانه‌ها، محصول دانه توزین و براساس ۱۴ درصد رطوبت تنظیم گردید. جهت اندازه‌گیری ارتفاع بوته و نیز طول سنبله در هر بوته، در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی تعداد ۱۰ بوته به‌صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از خط‌کش با دقت میلی‌متری اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری شاخص سطح برگ (LAI)، که بیان‌کننده نسبت سطح برگ به سطح زمین اشغال‌شده توسط گیاه است، ابتدا سطح برگ در زمان گل‌دهی محاسبه شد. برای این منظور، تمام برگ‌های بوته‌های انتخابی جدا و سپس طول و عرض هر برگ (در پهن‌ترین نقطه) برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری و از رابطه طول برگ × عرض برگ × ۰/۷۵، سطح برگ محاسبه شد (۳۵). شاخص سطح برگ

محلول بافر فسفات شامل 10^7 cfu ml⁻¹ از باکتری منتقل و به‌مدت یک ساعت در خلأ ایجاد شده به‌وسیله پمپ کوچک قرار داده شده تا باکتری‌ها به داخل شیارها و پوست دانه نفوذ کنند. برای بذور شاهد مراحل آماده‌سازی انجام شد ولی از سوسپانسیون باکتری استفاده نشد (۶).

عملیات زراعی

آماده‌سازی زمین

آزمایش در زمین زراعی صورت گرفت که در سال قبل نیز گندم کشت شده بود. ابتدا زمین آبیاری و شخم پائیزه زده شد. عملیات آبیاری به‌صورت کرتی، مطابق نیاز گندم صورت گرفت. طول هر کرت ۵ و عرض آن ۱/۲ متر در نظر گرفته شد. هر کرت شامل ۶ خط کاشت به فاصله ۲۰ سانتی‌متر بود که دو خط کناری به‌عنوان حاشیه و ۴ خط میانی آن برای اندازه‌گیری کلیه مراحل فنولوژیکی گیاه و صفات مختلف مورد استفاده قرار گرفت. برای جلوگیری از تداخل اثرات تیمارهای کودی مختلف بین کرت یک متر فاصله در نظر گرفته شد. جوی آبیاری هر بلوک به‌طور جداگانه احداث گردید.

مراحل کاشت، داشت و برداشت گندم

به‌منظور هم‌اندازه بودن بذور، قبل از کاشت غربال شدند. سپس در تاریخ ۲۵ مهر ۱۳۹۲ با تراکم کشت ۴۰۰ بذر در مترمربع کاشت شدند. کشت بذرها به‌وسیله دست و در عمق حدود سه

با استفاده از رابطه (۱) برآورد شد (۴۳):

$$LAI = \frac{LA}{GA} \quad (1)$$

که در آن، LA و GA به ترتیب بیانگر سطح برگ بوته‌ها و سطح زمین اشغال شده توسط برگ‌ها است.

بعد از مرحله سنبله رفتن، عدد کلروفیل متر (SPAD) به عنوان شاخصی از میزان کلروفیل برگ پرچم با دستگاه SPAD-502 در ساعت ۱۱ - ۱۳ اندازه‌گیری شد. تعداد سنبله در واحد سطح از طریق شمارش تعداد کل سنبله‌های برداشت شده از یک مترمربع در برداشت نهایی و با رعایت حاشیه اندازه‌گیری شد. تعداد دانه در سنبله با شمارش تصادفی میانگین تعداد دانه در ۲۰ سنبله از هر کرت محاسبه شد. وزن هزار دانه با نمونه‌گیری از محصول دانه هر کرت و شمارش هزار دانه گندم و وزن کردن بذرها و محاسبه براساس وزن خشک صورت پذیرفت. در نهایت، از آنجا که میزان نیتروژن دانه گندم شاخص مناسبی از درصد پروتئین دانه می‌باشد، میزان کل نیتروژن دانه با استفاده از دستگاه کج‌دال اندازه‌گیری شد. برای تبدیل میزان نیتروژن به میزان پروتئین دانه از رابطه (۲) استفاده شد (۲۵).

(۲) غلظت پروتئین دانه = غلظت نیتروژن دانه $\times 7/5$
تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها با روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد و همبستگی بین صفات با نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کود زیستی آزوسپیریولوم بر عملکرد دانه معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$). همچنین اثر متقابل کود شیمیایی نیتروژن و کود زیستی آزوسپیریولوم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد، اما اثر کود نیتروژن بر عملکرد دانه معنی‌دار نبود (جدول ۳). از مقایسه میانگین عملکرد دانه در شرایط تلقیح و عدم تلقیح با کود زیستی آزوسپیریولوم ملاحظه

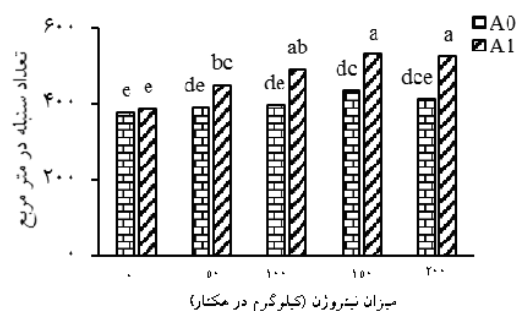
شد که در هر دو شرایط مصرف ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار سبب افزایش عملکرد دانه شد، حال آنکه در سطح ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار عملکرد دانه کاهش یافت. کمترین مقدار عملکرد دانه (۳۹۶۴/۲۹) کیلوگرم در هکتار) به ترکیب تیماری عدم تلقیح بذور و عدم استفاده از کود نیتروژن تعلق داشت. با وجود آنکه، ترکیب تیماری عدم تلقیح و استفاده از ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بیشترین مقدار عملکرد دانه را به خود اختصاص داد (۴۹۲۸/۵۷) کیلوگرم در هکتار)، اختلاف معنی‌داری بین مصرف مقادیر ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در شرایط تلقیح و عدم تلقیح وجود نداشت. از نکات حائز اهمیت دیگر در این مطالعه این بود که در شرایط تلقیح با کود زیستی و استفاده از ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار عملکردی معادل ۴۶۰۷/۱۳ کیلوگرم در هکتار حاصل شد که با سطوح ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و شرایط تلقیح و سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و شرایط عدم تلقیح در یک گروه آماری قرار داشت و با آنها اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۱-الف). این نشان می‌دهد که استفاده از باکتری آزوسپیریولوم و مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار (۲۵٪ مقدار توصیه شده) برای دستیابی به پتانسیل عملکرد و از طرفی کاهش اثرات مخرب زیست‌محیطی کودهای شیمیایی مناسب باشد و بنابراین می‌توان این ترکیب تیماری را به عنوان یک ترکیب مناسب با توجه به مزایای آن از لحاظ کاهش مصرف کود نیتروژن استفاده نمود.

اثر متقابل دو فاکتور در سطح احتمال ۵ درصد بر تعداد سنبله در مترمربع معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تمام سطوح کود نیتروژن، بیشترین تعداد سنبله در مترمربع به بذور تلقیح شده با آزوسپیریولوم تعلق داشت. در بین تمام ترکیبات تیماری، بذور تلقیح شده با استفاده از ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بیشترین تعداد سنبله‌ها (به ترتیب ۵۳۰ و ۵۲۵/۳) و تیمار شاهد کمترین تعداد سنبله‌ها (۲۷۸/۵۷) را به خود اختصاص دادند. از آنجا که تعداد سنبله

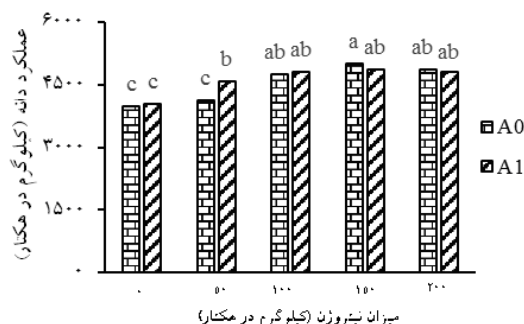
جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس تیمار کود شیمیایی و کود زیستی بر پروتئین دانه، وزن هزار دانه، تعداد دانه در هر سنبله، تعداد سنبله در مترمربع، کلروفیل برگ، شاخص سطح برگ، عملکرد دانه و ارتفاع بوته‌ها گندم رقم روشن

منابع تغییرات	df	عملکرد دانه	تعداد سنبله در مترمربع	تعداد دانه در سنبله	ارتفاع بوته	وزن هزار دانه	شاخص سطح برگ	پروتئین دانه	قرانت کلروفیل متر
تکرار	۲	۱۳۳۸۲۴ ^{ns}	۴/۱ ^{ns}	۲۲/۹۳ ^{ns}	۱۳۹/۰۷ ^{ns}	۲۲/۵۳ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}	۱/۶۱۷ ^{ns}	۲/۸۵ ^{ns}
کود زیستی	۱	۹۱۲۴۰/۲ ^{**}	۴۲۱۱۲/۵ ^{**}	۱۷/۶۳ ^{ns}	۱۲/۴۲ ^{ns}	۹۳/۶۳ ^{**}	۰/۰۱۹ ^{ns}	۱۱/۸۸ ^{**}	۲۹/۴ ^{**}
کود نیتروژنه	۴	۴۲۷۱۴ ^{ns}	۹۳۴۵/۲ ^{**}	۲/۵۵ ^{ns}	۵۵۱۱/۱۹ ^{**}	۳۰/۸۸ ^{**}	۰/۰۵۱ ^{**}	۰/۶۱۵ ^{ns}	۸/۱۲۰ ^{ns}
کود زیستی × کود نیتروژنه	۴	۳۳۱۴۹۴*	۲۴۱۲/۵*	۱۰/۲۱ ^{ns}	۶۵/۹۷ ^{**}	۴/۸۸*	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۵۲۰*	۰/۸۸۷ ^{**}
خطا	۱۸	۴۹۱۸۱	۶۹۸/۵	۱۳/۶	۱۹۴/۲۴	۴/۲	۰/۰۰۹	۰/۶۷۳	۵/۴۲
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۸۴	۶	۹/۶۵	۱۱/۵۷	۴/۶۵	۲/۳۰	۶/۵۰	۴/۴۴

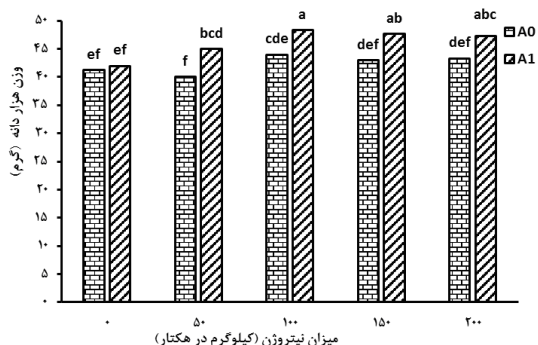
ns نشان‌دهنده عدم معنی دار، * معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



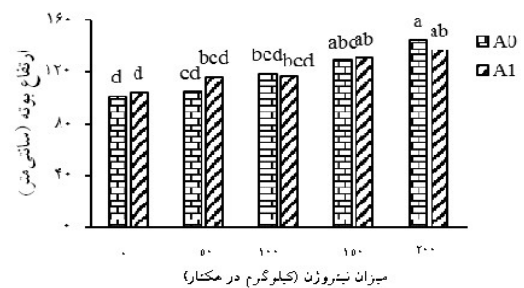
(ب)



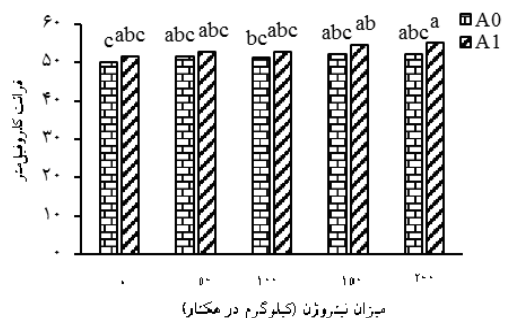
(الف)



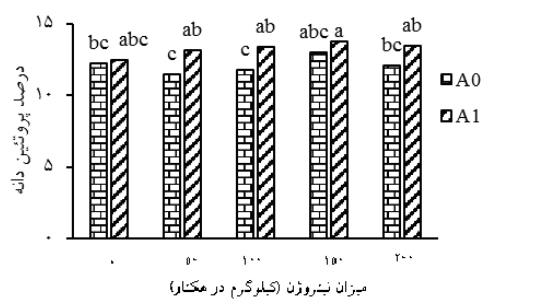
(د)



(ج)



(و)



(ه)

شکل ۱. اثر متقابل تلقیح با کود زیستی آزوسپیریولوم و کود شیمیایی نیتروژنه بر الف- عملکرد دانه؛ ب- تعداد سنبله در مترمربع؛ ج- ارتفاع بوته؛ د- وزن هزار دانه؛ ه- درصد پروتئین دانه؛ و- میزان کلروفیل برگ. A0: عدم مصرف کود زیستی، A1: مصرف کود زیستی. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین ترکیبات تیماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) است.

تیماری برای حصول مقدار مناسبی از تعداد سنبله در مترمربع قابل توصیه است (شکل ۱-ب). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کود زیستی، کود نیتروژنه و اثر متقابل دو فاکتور بر صفت تعداد دانه در سنبله معنی‌دار نبود (جدول ۳).

در مترمربع (۴۷۱/۴۲) با استفاده از ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و تلقیح بذور با باکتری تفاوت معنی‌داری با ترکیبات تیماری تلقیح و مصرف ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار نداشت و با آنها در یک گروه آماری قرار داشت، این ترکیب

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کود نیتروژنه و اثر متقابل دو فاکتور کود زیستی و کود نیتروژنه بر ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، درحالی‌که کود زیستی آزوسپیریلوم بر ارتفاع بوته‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط عدم استفاده از کود نیتروژنه و ۵۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص، تلقیح بذور با باکتری آزوسپیریلوم سبب افزایش ارتفاع بوته گردید. در شرایط تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم و استفاده از کود نیتروژنه به میزان ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار، ارتفاع بوته به ترتیب برابر با ۱۳۰/۶ و ۱۳۷/۳ سانتی‌متر بود. بیشترین میزان ارتفاع بوته با استفاده از کود نیتروژنه به میزان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار (۱۴۴/۷ سانتی‌متر) و در شرایط عدم تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم حاصل شد (شکل ۱-ج).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر باکتری آزوسپیریلوم و کود نیتروژنه در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل دو فاکتور در سطح احتمال ۵ درصد بر وزن هزار دانه معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های وزن هزار دانه در شرایط تلقیح و عدم تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم نشان داد که در تمام سطوح کود نیتروژنه، تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم سبب افزایش وزن هزار دانه شد، به طوری‌که بیشترین میزان وزن هزار دانه (۴۸/۴ گرم) در شرایط تلقیح با باکتری و مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن حاصل شد. این نتایج همچنین نشان داد که در شرایط تلقیح بذور با باکتری آزوسپیریلوم، با افزایش کود نیتروژنه تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار بر میزان وزن هزار دانه افزوده شد و افزایش بیشتر کود نیتروژنه سبب کاهش وزن هزار دانه شد. در شرایط عدم تلقیح نیز بیشترین میزان وزن هزار دانه با استفاده از ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دست آمد. همچنین در این شرایط نیز مصرف کود نیتروژنه تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سبب افزایش وزن هزار دانه شد (شکل ۱-د).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کود زیستی در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل دو فاکتور در سطح احتمال ۵

درصد بر پروتئین دانه معنی‌دار بود، درحالی‌که تفاوت محتوای نیتروژن خاک تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد در تمام سطوح کود نیتروژنه، بیشترین میزان پروتئین دانه در بذور تلقیح‌یافته با آزوسپیریلوم به دست آمد. همچنین این نتایج نشان داد که بذور تلقیح‌شده‌ای که در معرض مقادیر کافی کود نیتروژنه قرار گرفتند، در مقایسه با بذور تلقیح‌نشده‌ای که در برابر مقادیر پائین کود نیتروژنه قرار گرفتند، محتوای پروتئین بالاتری داشتند. بیشترین میزان پروتئین دانه مربوط به تیمار تلقیح‌شده با ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه (۱۳/۸ درصد) بود و محتوای پروتئین دانه در تمام سطوح کود نیتروژنه و تلقیح با باکتری در یک گروه آماری قرار داشتند. استفاده از کود زیستی و کود نیتروژنه به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار سبب حصول مقدار پروتئین دانه بیشتر (۱۲/۷۱ درصد) در مقایسه با تمام سطوح کود نیتروژنه و در شرایط عدم تلقیح شد و می‌تواند به عنوان یک ترکیب تیماری مناسب در نظر گرفته شود (شکل ۱-ه).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که استفاده از کود زیستی و استفاده توأم از کود زیستی و کود نیتروژنه روی قرائت کلروفیل متر برگ به‌طور معنی‌داری اثرگذار بود ($P \leq 0.01$)، درحالی‌که اثر کود نیتروژنه بر این صفت غیر معنی‌دار بود (جدول ۳). بذور تلقیح‌یافته در مقایسه با بذور تلقیح نیافته با افزایش غلظت کود نیتروژنه، افزایش بیشتری را در قرائت کلروفیل متر نشان دادند که بیشترین مقدار این شاخص در بذور تلقیح‌یافته و استفاده از ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دست آمد. از آنجا که قرائت کلروفیل متر در ترکیب تیماری تلقیح با کود زیستی و مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار (۵۳/۳۳) تفاوت معنی‌داری با سایر سطوح مصرف کود نیتروژنه و تلقیح بذور نداشت، این ترکیب تیماری می‌تواند ترکیب مناسبی برای حصول حداکثر مقدار قرائت کلروفیل متر باشد (شکل ۱-ز).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کود نیتروژنه در سطح احتمال ۱ درصد بر شاخص سطح برگ معنی‌دار بود، درحالی‌که اثر کود زیستی و همچنین اثر متقابل دو فاکتور بر آن معنی‌دار

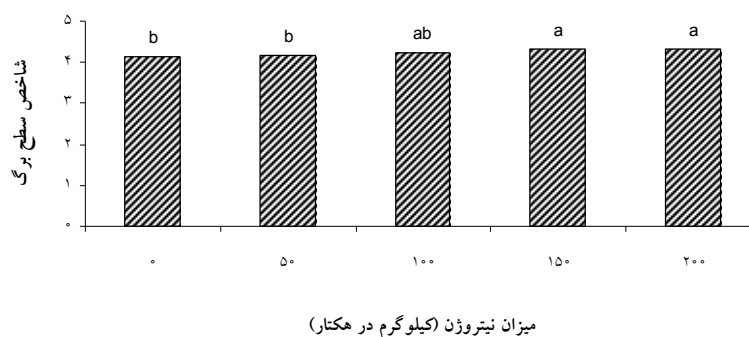
نمود (جدول ۳). بنابراین فقط اثر اصلی کود نیتروژنه بر شاخص سطح برگ مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که با افزایش مقدار کود نیتروژنه، شاخص سطح برگ افزایش یافت و بیشترین میزان این صفت به مقادیر ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم کود نیتروژنه (۴/۳۴ سانتی متر مربع) تعلق داشت و کمترین مقدار این صفت در شرایط عدم استفاده از کود نیتروژنه (۴/۱۵ سانتی متر مربع) به دست آمد (شکل ۲).

نتایج حاصل از تجزیه همبستگی پیرسون بین صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که درصد پروتئین با مقدار ۰/۶۰۷ همبستگی معنی‌داری با تعداد سنبله در مترمربع در سطح احتمال ۱ درصد داشت. همچنین همبستگی بین درصد پروتئین با وزن هزار دانه و تعداد دانه در هر سنبله نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. وزن هزار دانه بالاترین همبستگی را با تعداد سنبله با مقدار ۰/۷۷۵ نشان داد که در احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همبستگی این صفت با عملکرد دانه نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. تعداد سنبله در مترمربع با عملکرد دانه در سطح احتمال ۱ درصد همبستگی معنی‌داری داشت. در ارتباط با شاخص سطح برگ همبستگی معنی‌داری با ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. همچنین همبستگی این صفت با عملکرد دانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

بحث

افزایش عملکرد دانه در بذور تلقیح شده با باکتری آزوسپیریولوم را می‌توان ناشی از تأثیر باکتری بر رشد ریشه و افزایش سطح آن در جذب عناصر غذایی، همچنین افزایش توانایی سنتز ویتامین‌ها، آمینواسیدها و هورمون‌های محرک رشد از جمله اکسین و جیبرلین، بهبود تراکم ریشه‌های موئین و افزایش جذب بیشتر عناصر غذایی دانست (۱ و ۱۷). نتایج آزمایش‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای در سراسر دنیا حاکی از افزایش ۵ تا ۳۰ درصدی محصول در اثر استفاده از باکتری آزوسپیریولوم و تلقیح بذور گیاهان با آن می‌باشد (۱۳، ۱۴ و ۴۴). نتایج حاصل از

همبستگی پیرسون نشان داد که عملکرد دانه همبستگی معنی‌داری را با تعداد سنبله در مترمربع، تعداد دانه در هر سنبله و وزن هزار دانه داشت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از باکتری آزوسپیریولوم سبب حصول مقادیر مناسبی از عملکرد دانه، مقدار پروتئین دانه و عدد کلروفیل متر در شرایط استفاده از ۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و تعداد سنبله در مترمربع و وزن هزار دانه با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن شد که با نتایج بیاری و همکاران (۹) مطابقت دارد. این نتایج نشان می‌دهد که با مصرف ۲۵ درصد مقدار نیتروژن توصیه‌شده می‌توان به عملکرد مناسبی در رقم گندم روشن دست یافت. روستی و همکاران (۳۷) علت افزایش عملکرد توسط باکتری‌های محرک رشد به‌همراه کود نیتروژنه را، به نقش مثبت باکتری در تنظیم، تولید هورمون‌های محرک رشد و توسعه بهتر ریشه گیاه نسبت دادند که با فراهم‌سازی امکان جذب بیشتر به بهبود عملکرد کمک می‌نماید. کودهای نیتروژنه با اثرات خود بر روی فعل و انفعالات شیمیایی، فتوسنتز، افزایش طول دوره رویش و تجمع ماده خشک بر روی عملکرد دانه اثرات قابل توجهی داشته، به‌طوری‌که در تطابق با نتایج تحقیق حاضر، شهنساری و صفاری (۴۱) نیز گزارش دادند که با افزایش مقدار کود نیتروژنه از ۵۰ تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، عملکرد دانه ۲۰ درصد افزایش یافت. با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر ملاحظه شد که افزایش کود نیتروژنه تا حدی که گیاه به آن نیاز داشته باشد، باعث افزایش قابل توجه عملکرد محصول خواهد شد، اما پس از تأمین نیاز اصلی گیاه، افزایش میزان کود اثر قابل توجهی را بر عملکرد گیاه نشان نمی‌دهد. برتری عملکرد گندم در تیمار توأم تلقیح بذور با کود زیستی و کود نیتروژنه را می‌توان به فعالیت باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و اثر بخشی بر جذب مناسب کود شیمیایی نیتروژنه نسبت داد که با نتایج مطالعات گوادرا و همکاران (۱۹) مطابقت دارد. اثر افزایشی تعداد سنبله‌ها در واحد سطح در شرایط استفاده توأم از کود زیستی و کود نیتروژنه به‌میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار را در مقایسه با شاهد را می‌توان به تأثیر



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر سطوح کود نیتروژنه بر شاخص سطح برگ در بوته‌های گندم رقم روشن. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین ترکیبات تیماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) است.

جدول ۴. ضرایب همبستگی پیرسون برای صفات پروتئین دانه، وزن هزار دانه، تعداد دانه در هر سنبله، تعداد سنبله در مترمربع، کلروفیل برگ، شاخص سطح برگ، عملکرد دانه و ارتفاع بوته‌های مورد اندازه‌گیری

صفات	پروتئین دانه	وزن هزار دانه	تعداد دانه در هر سنبله	تعداد سنبله در مترمربع	کلروفیل برگ	شاخص سطح برگ	عملکرد دانه
وزن هزار دانه	۰/۴۳۵*						
تعداد دانه در هر سنبله	۰/۴۵۳*	۰/۲					
تعداد سنبله در مترمربع	۰/۶۰۷**	۰/۷۵۵**	۰/۲				
کلروفیل برگ	۰/۹	-/۰۱	۰/۰۰۷	-/۰۷			
شاخص سطح برگ	۰/۳	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲	۰/۳۸۴*		
عملکرد دانه	۰/۲	۰/۵۴۹**	۰/۱	۰/۵۳۶**	-/۰۵۳	۰/۳۹۳*	
ارتفاع بوته	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۲	۰/۰۸	۰/۰۲۶	۰/۷۲۴**	۰/۳۸۱*

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

با استفاده از کودهای نیتروژنه اثرات قابل توجهی بر تعداد سنبله‌ها داشت. ال‌کولی و همکاران (۱۶) در مطالعه خود تأثیر ترکیب توأم باکتری آزوسپیریوم و کودهای شیمیایی را بر تعداد دانه در گیاه ذرت معنی‌دار گزارش کردند که با نتایج این مطالعه مطابقت ندارد. وزن هزار دانه یکی از صفات مهم تعیین‌کننده در میزان عملکرد گیاه است. نتایج نشان داد که تلقیح بذور با باکتری منجر به افزایش وزن هزار دانه شد. نقش مثبت و قابل توجه باکتری‌های محرک رشد از جمله آزوسپیریوم در افزایش سطح و عمق ریشه، منجر به افزایش جذب آب و عناصر غذایی

باکتری‌های آزوسپیریوم بر افزایش تثبیت نیتروژنی و در دسترس قرار دادن مواد غذایی برای گیاه نسبت داد که سبب افزایش تعداد سنبله و در نهایت تعداد دانه در سنبله شده است (۵ و ۹). بیشترین اثرات باکتری‌های محرک رشد از جمله آزوسپیریوم در مرحله گل‌دهی بروز پیدا می‌کند که می‌تواند شرایط مناسبی را از نظر تولید هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد برای گیاه فراهم کرده و در نهایت منجر به افزایش تعداد گل‌های بارور و تعداد دانه نیز می‌گردد (۸). علیزاده و همکاران (۳) نیز نشان دادند که تلقیح بذور با باکتری آزوسپیریوم همراه

کود نیتروژنه تعلق دارد که می‌تواند ناشی از اثرات مثبت کود نیتروژن بر توسعه سطح برگ، تولید پنجه و افزایش دوام فعالیت فتوسنتزی برگ‌ها باشد (۱۴ و ۳۲). در تطابق با این نتیجه مصدق و اسمیت (۲۹) گزارش کردند که مصرف نیتروژن موجب تحریک توسعه سطح برگ شده و ظرفیت فتوسنتزی را افزایش خواهد داد. همچنین ملاحظه گردید که بذور تلقیح‌یافته در مقایسه با بذور تلقیح‌نیافته با افزایش غلظت کود نیتروژنه، افزایش بیشتری را در کلروفیل برگ‌های پرچم نشان دادند. میزان نیتروژنی که در ابتدای فصل رشد در اختیار بوته گندم قرار می‌گیرد، تأثیر چندانی بر میزان کلروفیل برگ ندارد. لذا از آنجایی که باکتری آزوسپیریلوم قادر به تأمین مداوم نیتروژن در طول فصل رشد برای گیاه می‌باشد، کاربرد یا عدم کاربرد آن نقش به‌سزایی بر میزان کلروفیل برگ پرچم دارد (۲۴). اگامبردیوا (۱۵) اظهار داشت که بذور تلقیح شده با باکتری محرک رشد از جمله آزوسپیریلوم باعث افزایش جذب نیتروژن می‌شود. در ارتباط با افزایش کلروفیل برگ پرچم تحت افزایش غلظت کود نیتروژنه می‌توان بیان کرد که مصرف نیتروژن در طول دوره رشد به ویژه دوره پر شدن دانه موجب بالا نگه‌داشتن میزان کلروفیل برگ‌های بالایی می‌شود (۲۴).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه در خصوص تلقیح بذور گندم با باکتری آزوسپیریلوم حاکی از افزایش شاخص‌های رویشی و زایشی می‌باشد. پاسخ ارقام گندم به تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم به‌صورت افزایش عملکرد دانه، وزن هزار دانه، تعداد سنبله‌ها، ارتفاع بوته، درصد پروتئین دانه و قرائت کلروفیل متر بود. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که مصرف تلفیقی کود شیمیایی نیتروژن به‌همراه کود زیستی حاوی باکتری آزوسپیریلوم به‌عنوان باکتری محرک رشد، تأثیر معنی‌داری بر صفات مورد مطالعه داشت و جهت حصول حداکثر عملکرد دانه مصرف کودهای شیمیایی توأم با استفاده از کودهای زیستی توصیه می‌شود. مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به‌همراه

و تعداد سنبله می‌شود که در نهایت سبب بهبود رشد، افزایش فتوسنتز و تجمع مواد فتوسنتزی در داخل دانه خواهد شد (۲۰ و ۲۸). همبستگی بالا و معنی‌دار تعداد سنبله و وزن هزار دانه نیز تأیید کننده این نتیجه می‌باشد. همچنین استفاده از کود نیتروژنه به‌دلیل افزایش دوام سطح برگ و تولید ماده خشک بیشتر، مواد فتوسنتزی بیشتری را به دانه‌ها منتقل ساخته و منجر به افزایش وزن هزار دانه می‌شود (۲). همچنین در تطابق با نتیجه تحقیق حاضر، داودی‌فرد (۱۲) نیز بیان کرد که تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد وزن هزار دانه گندم را به‌طور قابل توجهی افزایش داد. در این مطالعه با توجه به اینکه نیتروژن به‌طور یکجا قبل از کاشت به خاک اضافه شده بود، تنها زمانی مقادیر بالای نیتروژن توانست بر وزن هزار دانه مؤثر باشد که بذور از طریق باکتری‌های محرک رشد تلقیح شده بودند. تلقیح بذور تأثیر قابل توجهی بر درصد پروتئین دانه‌ها داشت. باکتری‌های محرک رشد از جمله آزوسپیریلوم جزو باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن هستند و احتمالاً یکی از دلایل افزایش درصد پروتئین با کاربرد این باکتری‌ها، تثبیت نیتروژن توسط این باکتری می‌باشد (۴). سلیمانی‌فرد و همکاران (۴۲) در مطالعه خود مشخص کردند که اثرات باکتری‌های محرک رشد بر درصد پروتئین دانه معنی‌دار بود و مقدار پروتئین دانه با کاربرد تیمارهای مناسب از تلقیح افزایش یافت. کاربرد باکتری به‌دلیل رابطه همزیستی با ریشه گندم و عمل تثبیت نیتروژن در مراحل انتهایی فصل رشد منجر به افزایش نیتروژن دانه خواهد شد. تغییرات در محتوای نیتروژن خاک و یا اثر متقابل آن با کود زیستی در این مطالعه تأثیر معنی‌داری بر روی این صفت نشان داد که با نتایج امیری و همکاران (۵) مطابقت دارد. سطوح بالای کود نیتروژنه بیشترین تأثیر را روی ارتفاع بوته داشت، که در تطابق با نتیجه حسین و همکاران (۲۲) است. در مطالعات مختلف نیز اثرات میکروارگانسیم‌های محرک رشد بر افزایش ارتفاع بوته‌ها از طریق تولید مواد تحریک‌کننده رشد اثبات شده است (۳۹ و ۴۲) که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. بیشترین مقدار شاخص سطح برگ به تیمارهای ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم

کودهای زیستی برخلاف کودهای شیمیایی سازگار با محیط زیست هستند پیشنهاد می شود تا از کودهای زیستی به عنوان مکمل برای جایگزینی بخشی از کودهای شیمیایی از جمله نیتروژن جهت بهبود حاصلخیزی خاک ها و کاهش آلودگی زیست محیطی در مزارع گندم رقم روشن استفاده گردد. بنابراین در این منطقه از استان اصفهان، این امکان وجود خواهد داشت که از کودهای زیستی و به صورت تلفیقی برای کاهش مصرف کود شیمیایی نیتروژنه سود جست.

تلقیح بذور با استفاده از کود زیستی آزوسپیریلوم منجر به حصول پتانسیل عملکرد گردید. این نتایج نشان می دهد که کاربرد کود آزوسپیریلوم زمانی مؤثر است که به همراه آن در حد نیاز کود شیمیایی نیتروژنه نیز مصرف شود. جایگزینی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی و کاهش مصرف کودهای شیمیایی با استفاده از کودهای زیستی، نویدبخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی های زیست محیطی در آینده می باشد. با در نظر گرفتن اینکه کودهای شیمیایی به عنوان عامل اصلی تخریب محیط زیست و خاک شناخته شده اند و از آنجا که

منابع مورد استفاده

1. Adesemoye, A. O., H. A. Torbert and J. W. Kloepper. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology* 58: 921-929.
2. Akintoye, H. A., J. G. Kling and E. O. Lucas. 1999. N-use efficiency of single, double and synthetic maize lines grown at four N levels in three ecological zones of West Africa. *Field Crops Research* 60: 189-199.
3. Alizadeh, A. and A. Alizadeh. 2007. Effects of mycorrhiza in different conditions of soil humidity on nutrient absorption in corn. *Research in Agricultural Sciences* 3 (1): 101-108. (In Farsi).
4. Altman, D. W., W. L. McCuiston and W. E. Kronstad. 1983. Grain Protein Percentage, Kernel Hardness and Grain Yield of Winter Wheat with Foliar Applied Ureal. *Agronomy Journal* 75: 87-91.
5. Amiri, A., A. Towhidi, M. Javaheri and GH. Mohamadinejad. 2010. Effect of planting date, variety and *Azetobacter* on wheat in the Bardsir region. *Journal of Crops Improvement* 12 (1): 11-19. (In Farsi).
6. Amooaghaie, R., A. Mostajeran and G. Emtizi. 2003. Effect of *azospirillum* bacteria on some growth indices and yield of wheat cultivars. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 7 (2): 139-127. (In Farsi).
7. Arzanesh, M. H., H. A. Alikhani, K. Khavazi, H. A. Rahimian and M. Miransari. 2010. Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. Under drought stress. *World Journal of Biotechnology* 26: 101-109.
8. Asghar, H. N., Z. A. Zahir and M. Arshad. 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield and oil content of canola (*Brassica napus* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 45(2): 135-143.
9. Biari, A., A. Gholami and H. A. Rahmani. 2008. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of Iran." *Journal of Biological Sciences* 8: 1015-1020.
10. Braccini, A. L., L. G. M. Dan, G. G. Piccinin, L. P. Albrecht, M. C. Barbosa and A. H. T. Ortiz. 2012. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. *Reviesta Caatinga* 25 (2): 58.
11. Chen, J. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. In: Proceeding of the International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use, Thailand. pp. 11-21.
12. Davoodi fard, M. 2011. Effect of plant growth promoting bacteria *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas* and salislic acid and amino acid sprayed on wheat drought resistance. MSc. Thesis, Islamic Azad University Roodehen. Iran.
13. Dey, R., K. Pal, K. D. M. Bhatt and S. M. Chauhan. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 159: 371-394.

14. Ebrahimi, H., J. Daneshian and A. Azarpour. 2011. Effect of nitrogen and bacteria *azospirillum* on some growth indices of rice. *Journal of Biological Sciences of Lahijan* 5 (3):1-13. (In Farsi).
15. Egamberdiyeba, D. 2005. Plant-growth-promoting rhizobacteria isolated from a calcisol in a semi-arid region of Uzbekistan: Biochemical characterization and effectiveness. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168(11): 94-99.
16. El-Kholy, M. A. and A. M. Gomaa. 2000. Biofertilizers and their impact on forage yield and N-content of millet under low level of mineral fertilizers. *Annals of Agricultural Science* 38 (2): 813– 822.
17. Falah Nosrat Abad, A., S. Momeni and SH. Shariati. 2014. The effect of bio-fertilizers and nitrogen on yield and yield components in greenhouse conditions. *Agricultural Engineering* 37 (2): 86-74. (In Farsi).
18. FAO. 2008. FAO Land and plant nutrition management service. Available online at: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/> . Accessed 25 April 2008.
19. Guarda, G., S. Padovan and G. Delogu. 2004. Grain yield, nitrogen-use efficiency and baking quality of old and modern Italian bread-wheat cultivars grown at different nitrogen levels. *European Journal of Agronomy* 21:181-192.
20. Habibi, D., D. Taleghani Fathallah, M. DavodiFard., S. Vazan and F. Chamani. 2012. Effect of salinity on biochemical biomarkers in plants inoculated with growth promoting bacteria (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum*, *Pseudomonas putida*) and humic acid. *Agronomy Journal* 8(2): 45-60. (In Farsi).
21. Hafeez, F. Y., M. E. Safdar, A. U. Chaudry and K. A. Malik. 2004. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44: 617-622.
22. Hussain, I., M. A. Khan and E. A. Khan. 2006. Bread wheat varieties as influenced by different nitrogen levels. *Journal of Zhejiang University Science* 7(1):70-78.
23. Ilyas, N. and A. Baho. 2010. *Azospirillum* strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. *Biology and Fertility of Soils* 46: 393-406.
24. James, E. H., and G. M. Paulsen. 2004. Nitrogen assimilation and protein synthesis in wheat seedlings as affected by mineral nutrition. *Plant Physiology* 44(5): 636-640.
25. Julian McClements, D. 2007. Analysis of proteins. University of Massachusetts Amherst. Retrieved. *Food Science* 581.
26. Kannayan, S. 2002. Biofertilizers for sustainable crop production. pp. 9-49, In: N. Kannayan, (Ed.), *Biotechnology of Biofertilizers*. Publishing House, New Delhi, India
27. Kapulink, Y., N. I. Sarig and Y. Okon. 1983. Effects of *Azospirillum* inoculation on yield of field grown wheat. *Canadian Journal of Microbiology* 20: 895-899.
28. Mohammedvarzi, R. 2010. The effect of microbial fertilizers (nitroxin and biospher) and nitrogen on the qualitative and quantitative characteristics of sunflower, MSc. Thesis, Islamic Azad University of Karaj, Iran.
29. Mossedaq, F. and D. H. Smith. 1994. Timing nitrogen application to enhance spring wheat yields in a Mediterranean climate. *Agronomy Journal* 86: 221-226.
30. Naim, A. H. and M. Atreshy. 2014. Effect of plant growth promoting bacteria and fungi on increasing yield and some growth parameters of three varieties of potato (*Solanum tuberosum*). *Journal of Crop Production and Processing* 4 (13): 48-37. (In Farsi).
31. Nemati, A. A. Golchin and H. Besharati. 2015. Effects of biological fertilizers on tomato yield and yield components in a contaminated cadmium soil. *Journal of Soil Research (Soil and Water)* 29 (1): 36- 23. (In Farsi).
32. Ntanos, D. A. and S. D. Koutroubas. 2002. Dry matter and N accumulation and translocation for indica and japonica rice under mediterranean conditions. *Field Crops Research* 74: 93 -101.
33. Piccinin, G. G., L. G. M. Dan, A. L. BracciniMariano, R. S. Okumura, G. Bazo and T. T. Ricci. 2011. Agronomic efficiency of *Azospirillum brasilense* in physiological parameters and yield components in wheat crop. *Journal of Agronomy* 10 (4): 132–135.
34. Premsekhar, M. and V. Rajashree. 2009. Influence of bio-fertilizers on the growth characters, yield attributes, yield and quality of tomato. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 3(1): 68-70.
35. Quarrie, S. A. and H. G. Jones. 1977. Effect of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *Journal of Experimental Botany* 28: 192-203.
36. Rajendran, K. and P. Devaraj. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass and Bioenergy* 26: 235-249.
37. Roesty, D., R. Gaur and B. N. Johri. 2006. Plant growth stage, fertilizer management and bioinoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 1111-1120.

38. Selosse, M. A., E. Baudoin and P. Vandenkoornhyse. 2004. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *Comptes Rendus Biologies* 327: 639– 648.
39. Shaalan, M. N. 2005. Influence of bio fertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) plants. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 83: 811-828.
40. Shaharoon, B., M. Arshad, Z. A. Zahir and A. Khalid. 2006. Performance of *pseudomonas* spp. containing acceaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2971-2975.
41. Shahsavari, N. and M. Safari. 2005. Effect of Nitrogen rates on yield and yield components of wheat cultivars in Kerman, *Research and Development* 66: 82-87. (In Farsi).
42. Soleimani Fard, A., H. Naseri Rad Naseri and A. Piri. 2013. Effect of plant growth promoting bacteria on phenology, yield and yield components of corn hybrids (*Zea mays* L.). *Journal of Ecophysiology Crops* 25 (7): 90-71. (In Farsi).
43. Watson, D. J. 1952. The physiological basis of variation in yield. *Annals of Botany* 4: 101-145.
44. Wu, S. C., Z. H. Caob, Z. G. Lib, K. C. Cheunga and M. H. Wong. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155–166.
45. Zorita, M. D. and M. V. F. Canigia. 2008. Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. *European Journal of Soil Biology* 30 (9): 1–10.

The Effect of Nitrogen Fertilizer and *Azospirillum brasilense* Bacterium on Some Properties of Wheat at Jozan, Isfahan

M. Amiryosefi¹ and P. Sharifi^{2*}

(Received: October 20-2016; Accepted: May 22-2017)

Abstract

In order to investigate the effect of nitrogen and *Azospirillum* biological fertilizers on the growth and yield of an Iranian bread wheat (Roshan cultivar) this study was carried out using a factorial experiment based on a randomized complete block design with three replications at a field in Jozan region, Isfahan, Iran in 2013. The experimental factors included *Azospirillum brasilense* bacterium at two levels (inoculated or non-inoculated), and nitrogen fertilizer at five levels (0, 50, 100, 150 and 200 kg ha⁻¹ of N). The application of *Azospirillum* increased grain yield and agronomic characteristics including the number of spikes m⁻², 100-seed weight, protein content and SPAD number. The interaction effects of the two factors were also significant on grain yield, number of spikes m⁻², 100-seed weight and grain protein content ($P \leq 0.05$) and plant height and SPAD number ($P \leq 0.01$). The greatest grain yield (4607 kg ha⁻¹), grain protein content (12.71%) and SPAD number (53.33) obtained from the plants treated with *Azospirillum* and N-fertilizer at 50 kg ha⁻¹. The highest number of spikes per m² (471.42) and 100-seed weight (48.4 g) were produced by *Azospirillum* inoculation and N-fertilizer at the rate of 100 kg ha⁻¹. Overall, the inoculation with *Azospirillum* bacteria and the application of 50 kg ha⁻¹ N seemed suitable to achieve maximum grain yield, to reduce the adverse environmental impacts and to maintain the N-fertilizer. Albeit, further recommendation warrants future studies.

Keywords: *Azospirillum* Bacterium, Leaf area index, Seed yield, Chlorophyll content, Chemical fertilizer

1, 2. MSc. Graduated and Associate Professor, Respectively, Department of Agronomy and Plant Breeding, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

*. Corresponding Author, Email: sharifi@iaurasht.ac.ir