بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت

پایان نامه کارشناسی ارشد

مطالعه تاثیر رایزوبیوم ژاپونیکوم و تیوباسیلوس در سطوح مختلف گوگرد گرانوله آلی بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا

کامیار فرخی سعدآبادی

اساتید راهنما:

دکتر محمد رضا عامریان

دکتر حمید عباس دخت

اساتید مشاور:

دکتر احمد غلامی

مهندس مهدی رحیمی

بهمن ۱۳۹۳

سرآغاز حمد و سپاس پروردگار کریم که یاری بخش این بنده حقیر بود

تقدیم به پدرم که عالمانه به من آموخت تا چگونه در عرصه زندگی، ایستادگی را تجربه نمایم

تقدیم به مادرم، دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر

تقدیم به همسرم، اسطوره زندگیم، پناه خستگیم و امید بودنم.

تقدیم به برادرم که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بود و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات، و وجودش مایه

دلگرمی من می باشد

پروردگار سبحان، تو را سپاس می گویم که همواره دست اعجاز و نوازش الطافت مرا در رسیدن به آرزوهایم یاری داده. ندای درونم می گوید که همواره در تمام مراحل حیات که هدیه مسلم توست با توکل به تو خواهم توانست به قله های رفیع تر دانش صعود کنم.

از پدر و مادر عزیزم و همچنین همسر مهربانم که همواره حامی و پشتیبانم بودند و زحمات فراوانی را متحمل شده اند کمال سپاسگزاری را دارم.

محضر اساتید راهنمای محترم، جناب آقای دکتر محمد رضا عامریان و جناب آقای دکتر حمید عباس دخت که در طول دوران تحصیل در دانشگاه راهنمایم بودند، مراتب سپاس گزاری خود را تقدیم می دارم.

از اساتید مشاور ارجمندم جناب آقای دکتر احمد غلامی و جناب آقای مهندس مهدی رحیمی به دلیل مشاوره های ارزنده آنها صمیمانه تشکر می کنم.

با تشکر

کامیار فرخی سعدآبادی

بهمن ۱۳۹۳

تعهدنامه

اینجانب کامیار فرخی سعدآبادی دانشجوی دوره‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی کشاورزی، گرایش اگرواکولوژی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه شاهرود نویسنده‌ی پایان‌نامه‌ی مطالعه تاثیر رایزوبیوم ژاپونیکوم و تیوباسیلوس در سطوح مختلف گوگرد گرانوله آلی بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا تحت راهنمایی دکتر محمد رضا عامریان متعهد می‌شوم.

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام‌شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورداستفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه شاهرود» و یا « Shahrood University» به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در بهدست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از پایان‌نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه‌ی مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت‌های آن‌ها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه‌ی مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه‌ی اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه‌ی حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌هایرایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه شاهرود می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

چکیده

با توجه به ضرورت استفاده از کودهای زیستی، مضرات کودهای شیمیایی و نیاز مبرم به افزایش بهره‌وری از سطح زمین در دسترس، آزمایشی به صورت فاکتوریل با هدف بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک شامل باکتری‌های رایزوبیوم (در ۲ سطح تلقیح و عدم تلقیح) و تیوباسیلوس (در ۲ سطح تلقیح و عدم تلقیح) و کود گرانوله‌ی گوگرد (در ۳ سطح صفر، ٦٥ و ۱۳۰ کیلوگرم در هکتار) بر اجزای عملکرد و برخی صفات کمی و کیفی سویا رقم M9 طراحی و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. بر اساس نتایج، بیشترین تعداد دانه در بوته (۸۳/۷۵) در تیمار کاربرد همزمان رایزوبیوم و تیوباسیلوس بدست آمد. مقدار کلروفیل کل در تیمار تلقیح با رایزوبیوم (۰/۲٦ میلی‌گرم در گرم برگ تازه) نسبت به شاهد (۰/۲ میلی‌گرم در گرم) تفاوت معنی‌داری نشان داد. مقدار کلروفیل کل در نمونه‌های تلقیح شده با تیوباسیلوس (۰/۲۲ میلی‌گرم) دارای اختلاف معنی دار با شاهد (۰/۲) بود. در مورد درصد پروتئین سویا رقم M9 نیز اثرات اصلی استفاده از باکتری رایزوبیوم و تیوباسیلوس و کاربرد گوگرد، معنی دار شدند. مقدار روغن تحت تیمارهای به کاربرده شده معنی‌دار نشد. تلقیح سویا رقم M9 با رایزوبیوم سبب افزایش معنی‌دار شاخص سطح برگ (۳/۹) نسبت به شاهد (۳/۷) به میزان ۵/۱۲ درصد شد. تلقیح تیوباسیلوس نیز سبب افزایش ۹/۱ درصدی مقدار شاخص سطح برگ نسبت به شاهد شد. عملکرد و اجزای اصلی عملکرد سویا شامل تعداد غلاف در بوته، وزن هزاردانه، تعداد دانه و عملکرد بیولوژیک کل در اثر تلقیح هردو باکتری رایزوبیوم و تیوباسیلوس و استفاده از ۱۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار، بیشترین مقدار را در بین سایر تیمارهای مورد استفاده در این مطالعه داشتند و این نتایج مناسب بودن این تیمارها را برای رشد سویا نشان می‌دهند. در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده و بهبود اکثر صفات مورد

بررسی، بهترین تیمار برای تولید سویا رقم M9 در منطقه شاهرود، استفاده همزمان از باکتری‌های تیوباسیلوس و رایزوبیوم و نیز مصرف ٦٥ کیلوگرم گوگرد در هکتار، می‌باشد.

کلمات کلیدی: پروتئین، سویا رقم M9، عملکرد بیولوژیک، کودهای میکروبی، گوگرد گرانوله

فهرست مطالب

مطلب **صفحه**

فصل اول..... ۱

۱-۱- مقدمه..... ۲

فصل دوم..... ۹

۲-۱- سویا..... ۱۰

۲-۱-۱- تاریخچه سویا..... ۱۱

۲-۱-۲- گیاهشناسی سویا..... ۱۱

۲-۱-۳- ارزش غذایی سویا..... ۱۳

۲-۱-٤- تاثیر محیط بر رشد سویا..... ۱٤

۲-۱-٥- مراحل رشد و نمو سویا..... ۱٦

۲-۱-٦- اهمیت سویا..... ۱۷

۲-۲- تغذیه تلفیقی..... ۱۸

۲-۳- کودهای زیستی..... ۱۹

۲-۳-۱- تاریخچه کودهای زیستی..... ۲۰

۲-۳-۲- تولید کودهای زیستی در ایران..... ۲۱

۲-۳-۳- استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی ارگانیک..... ۲۳
۲-۳-٤- مزایای کودهای میکروبی..... ۲٤
۲-۳-٥- انواع کودهای بیولوژیک..... ۲٤
۲-۳-٥-۱- تثبیت کننده های ازت..... ۲٤
۲-۳-٥-۲- قارچ های میکوریزی..... ۲۷
۲-۳-٥-۳- میکروارگانیسم های حل کننده فسفات..... ۲۸
۲-۳-٥-٤- اکسید کننده های گوگرد (تیوباسیلوس)..... ۲۹
۲-۳-٥-٥- کرم های خاکی..... ۳۱
۲-٤- انواع باکتری های افزاینده رشد گیاه..... ۳۲
۲-٤-۱- ازتوباکتر..... ۳۳
۲-٤-۲- ریزوبیوم..... ۳۳
۲-٤-۳- تیوباسیلوس ها..... ۳٥
۲-٤-٤- سودوموناس..... ۳٦
۲-٥- باکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) و ACC- دآمیناز..... ۳۷
۲-٦- مرور منابع مربوط به استفاده از باکتریهای محرک رشد در انواع گیاهان..... ۳۸
۲-۷- مطالعات انجام شده روی PGPR در ایران..... ٤۰
۲-۸- تاثیر گوگرد بر خصوصیات فیزیولوژیک سویا..... ٤٦
۲-۸-۱- مقدار گوگرد مورد نیاز..... ٤۷

۲-۸-۲- نقش تیوباسیلوس در تامین گوگرد.....٤٨
۲-۹- مرور مطالعات مربوط به تاثیر تیوباسیلوس و گوگرد بر رشد سویا.....٤٨
۲-۱۰- همزیستی سویا و رایزوبیوم.....٥١
۲-۱۰-۱- تاثیر رایزوبیوم در رشد سویا.....٥٣
۲-۱۱- مرور مطالعات مربوط به تاثیر ریزوبیوم بر رشد و عملکرد سویا.....٥٤
۲-۱۲- تاثیر توام رایزوبیوم و تیوباسیلوس بر سویا.....٥٨
فصل سوم: مواد و روش ها.....٦١
۳-۱- زمان و محل اجرای آزمایش.....٦٢
۳-۲- ویژگی های آب و هوایی.....٦٢
۳-۳- مشخصات خاک مزرعه.....٦٢
۳-٤- شرح آزمایش.....٦٣
۳-٥- مواد آزمایش.....٦٣
۳-٦-نقشه آزمایش.....٦٤
۳-۷- آماده سازی زمین.....٦٥
۳-۸- روش استفاده از باکتری ها.....٦٥
۳-۹- کود گوگرد.....٦٦
۳-۱۰- کاشت.....٦٦
۳-۱۱- داشت.....٦٦

۳-۱۲- نمونه برداری..... ٦٧
۳-۱۳- صفات مورد مطالعه..... ٦٧
۳-۱۳-۱- اندازه گیری درصد پروتئین و روغن..... ٦٧
۳-۱۳-۲- اندازه گیری کلروفیل..... ٦٨
۳-۱۳-۳- شاخص سطح برگ..... ٦٩
۳-۱٤- تجزیه آماری داده ها..... ۷۰
فصل چهارم: نتایج و بحث..... ۷۱
٤-۱- نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها..... ۷۲
٤-۱-۱- تعداد غلاف در بوته..... ۷۲
٤-۱-۲- تعداد دانه در غلاف..... ۷۵
٤-۱-۳- تعداد دانه در بوته..... ۷۷
٤-۱-٤- وزن هزار دانه..... ۸۰
٤-۱-۵- ارتفاع بوته..... ۸٤
٤-۱-٦- کلروفیل..... ۸۷
٤-۱-٦-۱- مقدار کلروفیل کل..... ۸۷
٤-۱-٦-۲- کلروفیل a..... ۹۰
٤-۱-٦-۳- کلروفیل b..... ۹۱
٤-۱-۷- عملکرد دانه..... ۹۲

٤-١-٨- درصد روغن دانه..... ٩٧
٤-١-٩- درصد پروتئین دانه..... ٩٧
٤-١-١٠- عملکرد بیولوژیک..... ١٠١
٤-١-١١- شاخص برداشت..... ١٠٤
٤-١-١٢- شاخص سطح برگ..... ١٠٥
نتیجه گیری ١١١
پیشنهادات..... ١١٢
منابع..... ١١٥

فهرست اشکال

شکل صفحه

شکل ٤-١- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته، تحت تاثیر رایزوبیوم در سویا رقم M9.....٧٤

شکل ٤-٢- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته، تحت تاثیر تیوباسیلوس در سویا رقم M9.....٧٤

شکل ٤-٣- مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف، تحت تاثیر رایزوبیوم در سویا رقم M9.....٧٦

شکل ٤-٤- مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف ، تحت تاثیر گوگرد در سویا رقم M9.....٧٧

شکل ٤-٥- مقایسه میانگین تعداد دانه در بوته، تحت تاثیر گوگرد در سویا رقم M9.....٧٩

شکل ٤-٦- مقایسه میانگین اثر متقابل رایزوبیوم و تیوباسیلوس بر تعداد دانه در بوته در سویا رقم M9.....٨٠

شکل ٤-٧- مقایسه میانگین مقدار وزن هزار دانه، تحت تاثیر رایزوبیوم در سویا رقم M9.....٨٣

شکل ٤-٨- مقایسه میانگین مقدار وزن هزار دانه، تحت تاثیر تیوباسیلوس در سویا رقم M9.....٨٣

شکل ٤-٩- مقایسه میانگین مقدار وزن هزار دانه، تحت تاثیر مقدار گوگرد در سویا رقم M9.....٨٤

شکل ٤-١٠- مقایسه میانگین ارتفاع بوته، تحت تاثیر تیوباسیلوس در سویا رقم M9.....٨٦

شکل ٤-١١- مقایسه میانگین اثر متقابل گوگرد و رایزوبیوم روی ارتفاع بوته در سویا رقم M9.....٨٦

شکل ٤-١٢- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل کل، تحت تاثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9.....٨٩

شکل ٤-١٣- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل کل، تحت تاثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9...٨٩

شکل ٤-١٤- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل a، تحت تاثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9.....٩١

شکل ٤-١٥- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل b، تحت تاثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9.....٩٢

شکل ٤-١٦- مقایسه میانگین مقدار عملکرد دانه، تحت تاثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9.....٩٥

شکل ٤-١٧- مقایسه میانگین مقدار عملکرد دانه، تحت تاثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9..٩٥

شکل ٤-١٨- مقایسه میانگین مقدار عملکرد دانه، تحت تاثیر سطوح به کار رفته گوگرد در سویا رقم M9.....٩٦

شکل ٤-١٩- مقایسه میانگین مقدار درصد پروتئین، تحت تاثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9....٩٩

شکل ٤-٢٠- مقایسه میانگین مقدار درصد پروتئین، تحت تاثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9.....١٠٠

شکل ٤-٢١- مقایسه میانگین مقدار درصد پروتئین، تحت تاثیر سطوح به کار رفته گوگرد در سویا رقم M9.....١٠٠

شکل ٤-٢٢- مقایسه میانگین مقدار عملکرد بیولوژیک، تحت تاثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9.....١٠٢

شکل ٤-٢٣- مقایسه میانگین مقدار عملکرد بیولوژیک، تحت تاثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9.....١٠٣

شکل ٤-٢٤- مقایسه میانگین مقدار عملکرد بیولوژیک، تحت تاثیر گوگرد در سویا رقم M9.....١٠٣

شکل ٤-٢٥- مقایسه میانگین مقدار شاخص سطح برگ ، تحت تاثیر تلقیح رایزوبیوم در سویا رقم M9.....١٠٦

شکل ٤-٢٦- مقایسه میانگین مقدار شاخص سطح برگ ، تحت تاثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم

M9..... ١٠٧

شكل ٤-٢٧- مقايسه ميانگين مقدار شاخص سطح برگ ، تحت تاثير كاربرد سطوح مختلف گوگرد در سويا رقم M9..... ١٠٧

فهرست جداول

جدول صفحه

جدول ۳-۱- خصوصیات خاک مزرعه..... ٦٣

جدول ۳-۲- نقشه آزمایش..... ٦٤

جدول ٤-۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی (تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، تعداد دانه در بوته، وزن هزار دانه و عملکرد دانه) در سویا رقم M9..... ۱۰۸

جدول٤-۲ تجزیه واریانس صفات مورد بررسی (ارتفاع بوته، کلروفیل کل، کلروفیلa، کلروفیل b، درصد روغن، درصد پروتئین و عملکرد بیولوژیک) در سویا رقم M9..... ۱۰۹

جدول ٤-۳- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی (شاخص سطح برگ و شاخص برداشت) در سویا رقم M9..... ۱۱۰

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

گیاهان اصلی‌ترین منابع تأمین‌کننده‌ی روغن در دنیا محسوب می‌شوند. گیاه سویا در این بین از نقش بسیار مهم و حائز اهمیتی به عنوان یک گیاه صنعتی و استراتژیک برخوردار است. برای افزایش کمیت و کیفیت روغن تولیدی گیاهان استفاده از کودها و عناصر معدنی و بهینه‌سازی شرایط رشد گیاه امری ضروری است. کودهای بیولوژیک امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند و کاربرد آنها در زراعت سویا مخصوصا با توجه به اهمیت این گیاه، می‌تواند بسیار مثمر ثمر باشد (هیرش و همکاران، ۱۹۹۷).

سویا با نام علمی (*Glycine max* (L.) Merrill) یک گیاه زراعی از خانواده بقولات، پربرگ و عمودی است که همراه با آفتابگردان، کلزا، پنبه دانه و بادام زمینی از جمله مهم ترین گیاهان روغنی یک ساله است که کاشت آن از دیرباز بخش مهمی از کشاورزی کشورهای شرقی را تشکیل داده است (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۹). آنچه که از ارزش غذائی این دانه ها مهم تر است این است که استفاده مکرر از سویا و محصولات آن باعث کاهش خطر ابتلا به بعضی از بیماریهای خطرناک و مهلک مثل بیماری های قلبی ـ عروقی، سرطان و پوکی استخوان می شود. بنظر می رسد خواص مفید سویا مرتبط با فیتو کمیکالی بنام ایزو فلاون است که تقریباً در تمامی محصولات سویا وجود دارد (نورقلی‌پور و همکاران، ۱۳۸۵). این گیاه به خاطر استفاده در تغذیه انسان و دام، مهم ترین گیاه دانه ای بقولات به حساب می‌آید و از لحاظ روغن و پروتئین از محصولات ارزشمند محسوب می‌گردد و با در نظر گرفتن وابستگی شدید کشور به روغن خوراکی، اهمیت توجه به توسعه کشت این گیاه مهم در کشور بیش از پیش مشخص می‌گردد (یادگاری و همکاران، ۱۳۸۳).

هدف اولیه از کشت سویا، تولید روغن می‌باشد. میزان روغن موجود در دانه سویا، ۲۵-۱۵ درصد است که در مصارف صنعتی و غذایی مورد استفاده قرار می گیرد. از سوی دیگر از گیاه سویا به عنوان مرتع،

علوفه خشک، سیلو و یا کود سبز استفاده می شود. شرایط آب و هوایی و نوع خاک جهت کشت سویا شبیه ذرت است. در واقع سویا قادر است در طیف وسیعی از خاکها به صورت رضایت بخشی رشد نماید (فتحی و همکاران، ۱۳۸۲).

از عناصر غذایی مهم که از اهمیت تغذیه‌ای زیادی در گیاهان به خصوص گیاهان روغنی برخوردار است، گوگرد می‌باشد. اثرات مفید گوگرد از جنبه تغذیهٔ گیاهی به فرایند اکسایش آن، تولید اسید، کاهش pH و افزایش انحلال عناصر غذایی در محیط ریشه مربوط می‌باشد، زیرا قسمت اعظم گوگرد توسط میکروارگانیسم‌های خاک که باکتری های تیوباسیلوس مهمترین آنها می‌باشند، به اسید سولفوریک تبدیل می‌شود (نور و طباطبایی، ۱۹۷۷). گوگرد برای تنظیم پاره‌ای از اعمال حیاتی گیاه مورد نیازمی باشد این اعمال عبارتند از:

الف) ساختن اسیدهای آمینه که عوامل سازنده پروتئین می باشد.

ب) فعال کردن دیاستازهائی که در تجزیه پروتئین موثرند.

ج) ساختن بعضی از ویتامین‌ها

د) تشکیل گلوسیدهای چرب که در گیاهانی مانند پیاز و سیر یافت می شوند.

تشکیل زنجیره های (SH) در داخل ساختمان پروتوپلاسم که تراکم آنها در بعضی از گیاهان باعث ازدیاد مقاومت بافت‌های گیاهی در مقابل سرما خواهد شد (شارما، ۲۰۰۳).

تامین عناصر غذائی گیاهان به سه روش کاربرد کودهای شیمیائی، آلی و بیولوژیک امکان پذیر است. در زمینه تغذیه گیاهی، درصورتی که فقط از کودهای شیمیائی برای تهیه احتیاجات گیاه استفاده شود، به آن سیستم تغذیه متداول گفته می شود و در صورت استفاده از کودهای آلی و بیولوژیک تحت عنوان

سیستم تغذیه ارگانیک شناخته می شود و در صورت کاربرد توام دو روش بالا به آن سیستم تغذیه تلفیقی گفته می شود. به رغم سهولت کاربرد کودها و سموم شیمیائی، امروزه استفاده از کشاورزی متداول سبب بروز مشکلات متعددی از قبیل آلوده شدن محیط زیست و آب‌های زیرزمینی، فرسایش خاک، ایجاد بیماری‌های گوناگون در انسان و کاهش کیفیت مواد غذائی گردیده است، از این رو حرکت به سمت کشاورزی ارگانیک که سبب حفظ محیط زیست، منابع طبیعی، سلامت انسان و ارتقای کیفیت محصولات می گردد امری اجتناب ناپذیر می باشد (برگلاند، ۲۰۰۲؛ اهدایی و وینز، ۲۰۰۱).

استفاده از کودهای بیولوژیک می‌تواند به عنوان گامی در جهت افزایش عملکرد بواسطه استفاده بهینه از برخی عناصر مطرح باشد. اصطلاح کودهای زیستی، منحصرا به مواد آلی حاصل از کودهای دامی، بقایای گیاهی، کود سبز و غیره اطلاق نمی‌گردد بلکه ریزجانداران باکتریایی و قارچی مفید و مواد حاصل از فعالیت آنها نیز از جمله کودهای زیستی محسوب می‌شوند که باکتری‌های افزاینده رشد گیاه یا اصطلاحا PGPR[1] از مهمترین انواع آنها می‌باشند (منافی و کلوپر، ۱۹۹۴). این گروه از باکتری‌ها علاوه بر افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک، از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، مهار عوامل بیماریزا و تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (استروز و کریستی، ۲۰۰۳).

همچنین با توجه به تاثیر افزایندگی بر رشد و نمو گیاهان زراعی، این باکتری‌ها اصطلاحا باکتری‌های افزاینده عملکرد نیز نامیده می‌شوند (ویسی، ۲۰۰۳). امروز استفاده از جنس‌های مناسب باکتری‌های افزاینده رشد به منظور بهبود رشد گیاه، کاهش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها در بسیاری از نقاط دنیا همانند کشورهای برزیل، هند، آمریکا، آرژانتین، اروگوئه و غیره مرسوم می‌باشد که به عنوان مایه تلقیح محرک رشد و یا آفت‌کش‌های بیولوژیک به فروش می‌رسد (گلیک و همکاران، ۲۰۰۱). کاربرد کودهای زیستی بویژه باکتری‌های افزاینده رشد گیاه مهمترین راهبرد در مدیریت تلفیقی تغذیه

[1] Plant Growth Promoting Rhizobacteria

گیاهی برای سیستم کشاورزی پایدار با نهاده کافی بصورت تلفیق مصرف کودهای شیمیایی با کاربرد باکتری های مذکور می‌باشد (شارما، ۲۰۰۳). باکتری‌های جنس تیوباسیلوس، ازتوباکتر، آزوسپریلیوم، رایزوبیوم و سودوموناس از مهمترین باکتری‌های افزاینده رشد گیاه می‌باشند که علاوه بر تثبیت و آزاد کردن عناصر و محلول کردن آنها با تولید مقادیر قابل ملاحظه مواد و هورمون‌های تحریک کننده رشد بویژه انواع اکسین و جیبرلین‌ها، رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (زهیر و همکاران، ۲۰۰۴).

این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها، تثبیت نیتروژن و رهاسازی آن در مراحل حساس رشدی گیاه و تسهیل جذب عناصر از خاک رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (غریب و همکاران، ۲۰۰۶). استفاده از کودهای زیستی ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی به تولید محصولاتی با کیفیت بالا کمک می‌کنند (محفوظ و شرف الدین، ۲۰۰۷). افزایش عملکرد غلات به وسیله تلقیح با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در بسیاری از آزمایش‌ها گزارش شده است.

گیاه سویا مانند دیگر بُنشن های (لگوم‌ها) تثبیت کننده نیتروژن مولکولی، نیتروژن مورد نیاز سوخت و ساز خود را از دو منبع خاک و همزیستی تأمین می کند. علاوه بر این از جمله گیاهانی است که برای تولید محصول احتیاج به مقد ار زیادی نیتروژن دارد بطوریکه برای هر تن محصول در حدود ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار نیاز دارد. بنابر عقاید اسکات و همکاران (۱۹۸۷) درصورتی که سیستم هم زیستی در این گیاه دارای کارایی بالایی باشد، گیاه سویا از جمله بُنشن هایی است که به کود نیتروژنه پاسخ مثبت نمی دهد. به عبارت دیگر این توانایی را دارد که تمام نیتروژن مورد نیاز خود را از راه تثبیت زیست شناختی نیتروژن مولکولی هوا تأمین کند.

به استفاده از گوگرد به همراه باکتری‌های اکسید کننده گوگرد توجه بسیاری شده است. اسید سولفوریک حاصل از اکسیداسیون گوگرد، با آپاتیت (خاک فسفات) واکنش داده و تولید مواد محلول‌تری مانند دی و مونو کلسیم فسفات می‌کند در برخی از کشورها مانند نیوزلند، استرالیا و سریلانکا برای افزایش بازیافت خاک فسفات، آن را با گوگرد مخلوط و برای تشدید اکسیداسیون گوگرد، از باکتری‌های تیوباسیلوس استفاده می‌کنند (پاتیراتنا و همکاران، ۱۹۸۹).

با توجه به اینکه وارد کردن کودهای شیمایی، محیط را آلوده می کند، ورود آلاینده های کشاورزی و خانگی به داخل آب های سطحی و زیرزمینی، ساکنان استان های مختلف کشور را تهدید می کند. بر این اساس، توسعه کشاورزی و صنعتی با ایجاد انواع مختلف آلودگی در اجزاء اصلی محیط زیست یعنی خاک، آب و هوا همراه بوده است. مصرف رو به رشد کودهای شیمایی (به‌تنهایی) به عنوان یک خطر جدی در جهت ایجاد آلودگی محسوب شده، که در صورت عدم توجه در دراز مدت اثرات نامطلوبی را بر چرخه حیات در این مناطق وارد خواهد کرد. با توسعه و پیشرفت صنعت کشاورزی، کودهای شیمیایی به طور چشمگیری مورد استفاده قرار گرفته‌اند که بر این اساس اثرات مطلوب آنها در حفظ تعادل محیط زیست و اکوسیستم‌های طبیعی بسیاری از دانشمندان محیط زیست را در مورد وضعیت آینده جهان نگران کرده است. بخصوص که مقادیر زیادی از این کودهای شیمیایی استفاده شده در اثر آبشویی، تبدیل به فرم‌های غیر قابل جذب توسط گیاه و ... از دسترس گیاه خارج می‌شوند. کودهای شیمایی اهمیت زیادی در ازدیاد محصول و تقویت حاصلخیزی خاک‌ها دارند اما سبب آلودگی محیط زیست نیز می شود که پیامدهای بسیار مضری را در بر خواهد داشت و امکان دارد که ترکیب جمعیت زیستی اکوسیستم ها را به شدت تغییر دهند.

با توجه به مطالب گفته شده مبنی برگسترش سطح زیر کشت جهت برطرف نمودن نیاز غذایی جامعه و تولید فراورده‌های طبیعی و سالم و از طرفی معضل آلودگی منابع آب و خاک با توجه به غیر قابل

اجتناب بودن مصرف کودهای شیمیایی از جمله عوامل اساسی و مسئله ساز در روند تولید محصولات کشاورزی می باشد. با توجه به موارد ذکر شده، لزوم نیل به روش‌هایی که بتوان با این معضلات مقابله نمود و هم امکان رشد و توسعه و ارتقاء عملکرد گیاهان زراعی در آنها میسر باشد بسیار حائز اهمیت است. هرچند استفاده از کودهای معدنی ظاهرا سریعترین و مطمئن‌ترین راه برای تامین حاصلخیزی و افزایش عملکرد است ولی هزینه های زیاد مصرف کود، آلودگی و تخریب محیط زیست و آلودگی منبع آب و خاک را به دنبال دارد. استفاده از باکتری‌های محرک رشد بجای کودهای شیمیایی و یا بصورت ترکیبی، جهت افزایش عملکرد و حفظ سلامت و پاکسازی منابع آب و خاک که کمتر مورد توجه بوده است از اهمیت بسیار زیادی برخوردار بوده و زمینه رشد و توسعه اقتصادی – اجتماعی – سیاسی کشور را فراهم خواهد کرد.

با توجه به موارد ذکر شده در بالا و ضرورت استفاده از کودهای زیستی، مضرات کودهای شیمایی و نیاز مبرم به افزایش بهره‌وری از سطح زمین در دسترس و قابل کشت، هدف از این تحقیق بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک شامل باکتری‌های رایزوبیوم و تیوباسیلوس و همچنین ترکیبی از آنها و کود گرانوله‌ی گوگرد است تا با بررسی اجزای عملکرد و برخی صفات کمی و کیفی سویا رقم M9، بهترین شرایط تغذیه‌ای (از نظر عناصر معدنی) برای این رقم مشخص گردد و همچنین سلامت و امنیت محیط زیست و انسان نیز حفظ شود.

فصل دوم

کلیات و مرور منابع

۲-۱-سویا

سویا (*Glycine max* (L.) Merill) به دلیل درصد بالای روغن و پروتئین که به ترتیب ۱۸-۲۲ و ۳۵-٤٥ درصد از وزن دانه را شامل می شود، در بین دانه‌های روغنی یک گیاه با ارزش و راهبردی برای کشور محسوب می گردد. ارقام اصلاح شده سویا دارای میزان پائین اسیدهای چرب اشباع می‌باشد که برای سلامتی انسان‌ها مناسب‌تر می‌باشد. از طرفی میزان بالای اسید اولئیک و میزان کم اسید پالمتیک، اسید استئاریک این ارقام، روغن سویا را تبدیل به روغنی مناسب و سالم برای انسان گردانیده است (برگلاند، ۲۰۰۲).

مهمترین مناطق کشت سویا در شمال کشور، گرگان، گنبد، بابل و ساری می باشند. علاوه بر نواحی شمالی این محصول در استان های لرستان، آذربایجان غربی و اردبیل (دشت مغان) کشت می شود. این گیاه چون از خانواده بقولات است می توان از آن بعنوان منبع ازت جهت تقویت خاک برای کشت بعدی استفاده نمود (میرزائی، ۱۳۸۳).

۲-۱-۱- تاریخچه سویا

گیاه سویا از چین سرچشمه گرفته است در سال ۲۸۵۳ قبل از میلاد مسیح، سویا جزو ۵ گیاه مقدس (سویا، برنج، گندم، جو و ارزن) نامگذاری شده است. این گیاه بین قرون ۱۱ تا ۱۷ قبل از میلاد مسیح در نیمه شرقی چین به عنوان غذایی اصلی کشت می‌شد و بعدها به کشورهای ژاپن، اندونزی، فیلیپین، ویتنام، تایلند، مالزی، برمه، نپال و هند معرفی شد و در قرن ۱۸ طی مبادلات تجاری وارد آمریکا شد و در

ابتدا تحت عنوان علوفه برای دام مورد کشت قرار گرفت. در سال ۱۹۰٤ شیمیدان معروف آمریکایی کارور، کشف کرد که دانه‌های سویا منبع ارزشمندی از پروتئین و روغن می‌باشد لذا کشت سویا با اهداف تغذیه انسانی مورد تشویق قرار گرفت تا آنجایی که اگر چه خاستگاه سویا آسیای شرقی است اما ۵۵٪ از تولیدات آن در آمریکا می‌باشد (برگلاند، ۲۰۰۲).

دیگر کشور های تولید کننده سویا آرژانتین، برزیل چین و هند هستند. در ایران از سال ۱۳۳۰ رسماً کاربرد صنعتی پیدا کرده است و کارخانجات صنایع بهشهر اولین تولیدکنندگان روغن سویا در ایران هستند.

۲-۱-۲- گیاهشناسی سویا

سویا با نام علمی *Glycine max* و از تیره لوبیاسانان (Fabaceae) می‌باشد. این گیاه یک‌ساله، دولپه و علفی است که به دو صورت دانه‌ای و علوفه‌ای مورد کاشت و بهره‌برداری قرار می‌گیرد. چنانچه به‌منظور تولید دانه کشت شود در گروه حبوبات و اگر تولید علوفه مورد نظر باشد در گروه بقولات (Legomes) قرار می‌گیرد (ملازاده، ۱۳۸٦).

عمق ریشه سویا در مرحله گلدهی ۲ برابر ارتفاع ساقه است ولی وزن خشک ریشه کمتر از اندام‌های هوایی است. رشد ریشه تا زمان تشکیل دانه ادامه پیدا می‌کند و سپس قبل از ورود دانه به مرحله رسیدگی فیزیولوژیک متوقف می‌شود. باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم به صورت طبیعی در خاک‌های ایران وجود ندارد و باید باکتری‌ها همراه بذر به خاک اضافه شود. برگ‌های سویا در هنگام رسیدگی معمولاً

ریزش می‌کنند که این یک صفت مطلوب برای برداشت است سویا دارای دو فرم رشد محدود و نامحدود است. در گیاهان با فرم محدود گل‌ها در ابتدای گره‌های فوقانی به ظهور رسیده و به طرف پایین ادامه می‌یابد. در ارقام رشد نامحدود گل‌دهی در گره‌های پایینی آغاز گردیده و به طرف بالا پیش می‌رود. در اشکال رشد نامحدود سویا، بزرگ ترین برگ‌ها در وسط بوته قرار دارند و در بخش‌های بالایی و پایینی بوته از سطح برگ‌ها و طول دمبرگ کاسته می‌شود. در ارقام رشد محدود برگ‌های قسمت انتهایی بوته دارای سطح برگ کمتر و دمبرگ کوتاهتر می‌باشند، ولی نزدیک شدن به طرف پایین بوته، سطح برگ‌ها و طول دمبر گ افزایش می‌یابد. در ارقام سویا دارای رشد محدود دانه‌هایی که در قسمت پایین بوته تولید می‌شوند نسبت به دانه‌هایی که در قسمت بالای بوته تولید می‌شوند کوچکتر هستند. آرایش برگ‌ها در بوته می‌تواند عملکرد را تحت تاثیر قرار دهد و ارقام دارای برگ‌های عمودی نسبت به ارقام دارای برگ‌های افتاده کارایی بالاتری از نظر فتوسنتزی دارد (کوچکی و همکاران، ۱۳۷۵).

در سویا هر چه فاصله غلاف‌بندی از سطح خاک بیشتر باشد، به همان اندازه برداشت مکانیزه راحت تر خواهد بود و غلاف به جای مانده بر روی بوته در حداقل خواهد بود. فاصله اولین غلاف‌های بوته از سطح خاک غالباً تابع ژنوتیپ و تراکم بوته است و در تراکم بالا غلاف در سطح بالاتری از سطح خاک تشکیل می‌شود. در سویا تعداد ساقه‌های فرعی در ارقام دیررس زیاد بوده و بالعکس، در ارقام زودرس تعداد آن‌ها کمتر است. با افزایش ساقه‌های فرعی در بوته، عملکرد دانه نیز افزایش خواهد یافت. از طرف دیگر بین رسیدگی محصول و ارتفاع بوته همبستگی مثبت وجود دارد به طوری که ارقام پاکوتاه زودرس و ارقام پابلند دیررس تر می‌باشند. گرده افشانی در لوبیا روغنی به صورت خودگشنی است و میزان دگرگشنی وابسته به فعالیت حشرات از ۱٪ تجاوز نمی‌کند. وزن هزار دانه سویا ٦۰ تا ۲۰۰ گرم و با

میانگین ۱۵۰ گرم است (بذر ارقام مختلف سویا اندازه‌های متفاوتی دارند مثلاً بذر کلارک درشت و رقم هیل ریز است) و روغن به همراه پروتئین در لپه‌ها ذخیره می‌شود (ملازاده، ۱۳۸٦).

۲-۱-۳- ارزش غذایی سویا

در همه گیاهان نه نوع اسید آمینه ضروری به وفور یافت می شود و در این میان دانه های سویا در دنیای گیاهان استثناء هستند. دانه های سویا محتوی تقریباً ٤۰٪ پروتئین هستند. صنایع غذائی می توانند دانه های سویا را طوری فرآوری کنند که پروتئین آنها حفظ شود، بنابراین دانه سویایی که خورده می شود مملو از پروتئین خواهد بود. مهمترین نتیجه حاصل از مصرف محصولات سویا کاهش بیماری های مهلک است.

دانه های سویا دارای مواد معدنی همچون کلسیم ، آهن، و روی می باشند که میزان موادمعدنی آن در انواع متفاوت دانه های سویا، مختلف می باشد. پروتئین سویا ، آرد سویا و دانه های پخته سویا بیشتر از دیگر محصولات آن دارای مواد معدنی هستند. دونوع ایزوفلاون مهم در دانه های سویا جنیستئین و دایيدزئین هستند. سویا از جمله مواد غذایی است که می توان از آن فراورده‌های زیادی تهیه کرد. با بهره-گیری از تکنولوژی مدرن، بشر امکان تولید انواع مختلف فراورده سویا را با طعم های متفاوت دارد (ملازاده، ۱۳۸٦).

۲-۱-٤- تأثیر محیط بر رشد سویا

فعالیت‌های به نژادی سویا منجر به تولید ارقام متفاوتی از نظر طول دوره رشد شده است که سبب شده آن را در عرض‌های جغرافیایی متفاوت و ارتفاعات مختلف از سطح دریا کاشت. با این که سویا گیاهی روز کوتاه است اما بسیاری از ارقام دیگر به طول روز حساسیت ندارند. لوبیا روغنی بر حسب طول روز و در نتیجه زودرسی به ۱۳ گروه شامل 0، 00، 000، I، II، III، IV، V، VI، VII، VIII، IX و X قرار دارند. ارقام 000 و 00 سویا بی تفاوت به طول روز و بسیار زودرس و گروه X بسیار حساس به طول روز و دیررس است. گروه‌های V تا VIII در تیپ رشد محدود قرار دارند و گروه‌های 00 تا IV رشد نامحدود هستند. در ارقام رشد نامحدود تعداد شاخه‌های جانبی زیاد بوده و یکنواختگی رسیدگی کمتری از انواع رشد محدود دارند.

به جز طول روز، شدت نور نیز نقش زیادی در رشد و عملکرد سویا دارد به طوری که آزمایش‌های انجام گرفته نشان می‌دهد که وجود سایه و کمی شدت نور سبب کاهش عملکرد سویا تا ٤٠ درصد می‌شود. ارقام کلارک ٦٣، ویلیامز و استیل در گروه رشد نامحدود قرار دارند. در ایران بیشتر از ارقام گروه II مانند هارکو و استیل به عنوان زودرس و ارقام گروه III مانند ویلیامز، کلارک ٦٣ و هابیت به عنوان میان رس و ارقام گروه V مانند لی و هیل به عنوان دیررس استفاده می‌شود. سویاهای دیررس حساس‌ترین گیاهان زراعی به طول روز هستند (کوچکی و همکاران، ۱۳۷۵). ارقام گروه های دو صفر و یک صفر را در نواحی شمال آمریکا، کانادا و اروپا که طول روزهای بلندی دارند کاشته می شوند. ارقام گره های ۸ به بالا در مناطق خط استوا که طول روز کوتاهی دارند، زراعت می گردند. بین رسیدن محصول و ارتفاع گیاه همبستگی مثبت وجود دارد به شرحی که ارقام کم ارتفاع، زودرس و ارقام با ارتفاع زیاد، دیررس می

باشند. در کشور ما ارقام گروه های II، III، IV، V، VI با توجه به نواحی مختلف و شرایط آب و هوایی منطقه تطابق بیشتری را نشان می دهند (آلیاری، ۱۳۷۹).

لوبیا روغنی گیاهی گرمادوست است این گیاه درجه حرارت‌های بالا را حتی بیش از ذرت تحمل می‌کند البته این بدین معنا نیست که در درجه حرارت‌های زیاد عملکرد خوبی خواهد داشت زیرا بسیاری از غلاف‌ها در درجه حرارت‌های زیاد ریزش می‌کنند اما بوته زنده می‌ماند و در اثر درجه حرارت‌های بسیار زیاد از بین نمی‌رود هر چند عملکرد مطلوبی هم تولید نمی‌کند. حداقل دما برای رشد لوبیا روغنی ۱۰ درجه سانتی گراد و دمای ۲- درجه سانتی‌گراد دمای کشنده آن است. دمای بالاتر از ۳۵ درجه در طول دوره رشد برای آن مناسب نیست و بذرهایی که در درجه حرارت‌های بالا تولید می‌شوند کیفیت مطلوبی ندارند. سویا حساس به خشکی است و بذر آن در مرحله سبز شدن حساس به آب ایستادگی می باشد البته سویا حساسیتی به رطوبت نسبی هوا (خشکی هوا) ندارد (کوچکی و همکاران، ۱۳۷۵).

لوبیا روغنی سرمای خفیف را در مرحله گیاهچه و مرحله رسیدگی دانه (کمی بیش از ذرت) تحمل می‌کند. کشت دیم لوبیا روغنی در مناطق با بارندگی سالانه ۱۰۰۰ میلی‌متر امکان‌پذیر است (مانند شمال ایران). این گیاه به باد مقاوم است. سویا به عنصر بر و شوری خاک بسیار حساس است (کوچکی و همکاران، ۱۳۷۵).

در غلظت بالای CO_2 تثبیت ازت هم افزایش می‌یابد. به صورت معمول غلظت CO_2 جو ۳۲۰ ppm می‌باشد اما پیش بینی‌ها نشان می‌دهد که این غلظت تا سال ۲۰۵۰ به ۶۰۰ ppm افزایش می یابد. آزمایش‌های انجام گرفته نشان می‌دهد که در این غلظت CO_2، ۶۰۰ ppm در سویا ۵۰ درصد افزایش عملکرد دیده می‌شود و این افزایش عملکرد بیشتر در نتیجه افزایش تعداد غلاف در بوته است و اثر

زیادی بر روی اندازه دانه‌ها ندارد. از طرف دیگر بذرهایی که والد آنها در شرایط غلظت بالای CO_2 رشد کرده بود نسبت به بذرهای معمولی ریشه‌چه قوی‌تری تولید می‌کردند (ملازاده، ۱۳۸٦).

۲-۱-۵- مراحل رشد و نمو سویا

دوره رشد و نمو گیاه به دو مرحله رشد رویشی و رشد زایشی تقسیم شده است (فهر و همکاران، ۱۹۷۱). در این سیستم مرحله بندی رشد سویا، مراحل مختلف رشد رویشی با علامت (V) و مراحل مختلف نمو زایشی با علامت (R) مشخص می گردد. مراحل رشدی (V) به دسته های V1 و V2 و... Vn تقسیم بندی شده اند. n نشان دهنده ی تعداد گره ها می باشد و تحت تاثیر ارقام و شرایط محیطی می باشد.

اولین مرحله بعد از سبز شدن مرحله V_E می باشد، مرحله بعدی شامل باز شدن کامل لپه ها و شروع باز شدن دو برگی ساده است که به آن V_C گفته می شود و مراحل بعدی شامل تشکیل برگ های سه برگچه ای می باشد. حالتی را که برگ های ساده اولیه کاملا باز شده اند و سه برگچه ای بعدی تشکیل شده اما کاملا باز نشده است را مرحله V_1 می نامند. بعد از باز شدن کامل سه برگچه ای و تشکیل سه برگچه ای بعدی (برگچه ها کاملا باز نشده باشند) مرحله V_2 نامیده می شود. مراحل زایشی نیز بر اساس گلدهی، نمو غلاف، نمو بذر و رسیدگی به هشت مرحله تقسیم شده اند. R_8 مرحله آخر نمو و رسیدگی کامل می باشد که زمان برداشت محصول را نشان می دهد.

۲-۱-٦- اهمیت سویا

سویا یکی از محصولات مهم جهانی است که به واسطه وجود مواد غذایی مهمی از قبیل پروتئین، روغن، هیدرات‌های کربن و ویتامین‌ها به عنوان یک گیاه صنعتی و محصول استراتژیک نه تنها پاسخگوی مصارف غذایی متنوع در زنجیره گسترده‌ی غذایی است، بلکه مصارف صنعتی فراوانی نیز دارد. میزان عملکرد سویا در ایران به طور متوسط ۲/۲ تن در هکتار می باشد (شهیدی، ۱۳۸٦). این گیاه از محصولات ارزشمند محسوب می‌گردد و با در نظر گرفتن وابستگی شدید کشور به روغن خوراکی، اهمیت توجه به توسعه سویا متغییر بوده و بستگی به عوامل خاکی و محیطی، سویه های باکتری مورد استفاده و رقم سویای کشت شده دارد (پور آذردخت و همکاران، ۱۳۸۸).

گیاه سویا از جمله لگوم های استراتژیک است که به دلیل ارزش غذایی زیاد (دانه آن محتوی ۲۰ ٪ چربی و ٤۰ ٪ پروتئین می باشد که پروتئین آن حدود ۲ برابر گوشت قرمز و پنیر و ۱۰ برابر شیر است)، استفاده‌های فراوان داروئی و صنعتی مورد توجه خاص محققین مختلف می باشد. افزون بر آن، از نقطه نظر زراعی سویا یکی از سرشارترین منابع پروتئین و روغن گیاهی است که بیشترین سطح زیر کشت دانه های روغنی را در دنیا (٦۲/۵ میلیون هکتار) و ایران (۱۳۰ هزار هکتار) دارا می باشد. کشورهای اصلی تولید کننده سویا در جهان چهار کشور آمریکا، برزیل، آرژانتین و چین می باشد و این کشورها بیش از ۹۰ درصد از تولید سویای جهانی را بخود اختصاص می دهند (پور آذردخت و همکاران، ۱۳۸۸).

۲-۲- تغذیه تلفیقی

تامین عناصر غذائی گیاهان به سه روش کاربرد کودهای شیمیائی، آلی و بیولوژیک امکان پذیر است. در زمینه تغذیه گیاهی، درصورتی که فقط از کودهای شیمیایی برای تهیه احتیاجات گیاه استفاده شود، به آن سیستم تغذیه متداول گفته می‌شود و در صورت استفاده از کودهای آلی و بیولوژیک تحت عنوان سیستم تغذیه ارگانیک شناخته می‌شود و در صورت کاربرد توأم دو روش بالا به آن سیستم تغذیه تلفیقی گفته می‌شود. به رغم سهولت کاربرد کودها و سموم شیمیائی، امروزه استفاده از کشاورزی متداول سبب بروز مشکلات متعددی از قبیل آلوده شدن محیط زیست و آب‌های زیرزمینی، فرسایش خاک، ایجاد بیماری‌های گوناگون در انسان و کاهش کیفیت مواد غذائی گردیده است، از این رو حرکت به سمت کشاورزی ارگانیک که سبب حفظ محیط زیست، منابع طبیعی، سلامت انسان و ارتقای کیفیت محصولات می‌گردد امری اجتناب ناپذیر می‌باشد (برگلاند، ۲۰۰۲؛ اهدایی و وینز، ۲۰۰۱).

در کشاورزی ارگانیک برای دستیابی به حداکثر حاصلخیزی ممکن خاک، بیشتر بر کودهای زیستی، تناوب زراعی، بقایای گیاهی، کودهای حیوانی، گیاهان بقولات، کود سبز و بقایای آلی خارج از مزرعه تاکید می‌شود (اورهان و همکاران، ۲۰۰۶). از آنجائی که رسیدن به کشاورزی ارگانیک به مرور زمان قابل دسترسی می‌باشد، در نتیجه در نظر گرفتن یک دوره گذار از کشاورزی متداول به ارگانیک به نام کشاورزی تلفیقی اجتناب ناپدیر است. به طورکلی کاربرد مدیریت تغذیه تلفیقی از روش‌های مؤثر برای بهبود تولید گیاهان زراعی از جنبه کیفی و کمی می‌باشد که با کاهش مصرف کودهای شیمیائی، موجبات امنیت و پایداری محیط زیست فراهم می‌شود (اکبری، ۱۳۸۷). به عبارتی کشاورزی تلفیقی میزان عناصر مورد نیاز گیاهان را مانند کشاورزی متداول برای گیاه فراهم نموده و تولید را در حد بالاتری حفظ کرده و از طرفی سبب ارتقاء کیفیت منابع می گردد (دادهیچ و همکاران، ۲۰۱۱).

۲-۳- کودهای زیستی

در دهه گذشته به دلیل مصرف کودهای شیمیایی اثرات زیست محیطی متعددی از جمله انواع آلودگی‌های آب و خاک و مشکلاتی در خصوص سلامتی انسان و دیگر موجودات زنده به وجود آمد. سیاست کشاورزی پایدار و توسعه پایدار کشاورزی، متخصصین را بر آن داشت که هر چه بیشتر از موجودات زنده خاک در جهت تأمین نیازهای غذایی گیاه کمک بگیرند و بدین‌سان بود که تولید کود بیولوژیک آغاز شد. البته مصرف کودهای بیولوژیک قدمت بسیار طولانی دارد. تولیدکنندگان محصولات برای تقویت زمین‌های کشاورزی، تیره‌ای از گیاهان به نام لگومینوز را کشت می‌کردند و معتقد بودند که با کشت آن حاصلخیزی خاک افزایش پیدا می‌کند. در نوشته‌های تاریخی کاشت گیاه شبدر، باقلای مصری و ... برای تقویت خاک‌ها گزارش شده است (ملکوتی و کشاورز، ۱۳۸٤).

کود بیولوژیک مواد نگهدارنده‌ی میکروارگانیزم‌های مفید خاک می‌باشند که به طور متراکم و با تعداد بسیار زیاد در یک محیط کشت تولید شده‌اند. معمولاً به صورت بسته‌بندی قابل مصرف در اراضی کشاورزی‌اند. هدف از مصرف کودهای بیولوژیک، تقویت حاصلخیزی خاک و تأمین نیازهای غذایی گیاه است، گر چه ممکن است اثرات مفید دیگری داشته باشند.

ارگانیزم‌هایی که در تولید کودهای بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرند عمدتاً از خاک جداسازی می‌شوند. در شرایط آزمایشگاه در محیط‌های کشت مخصوص تکثیر و پرورش پیدا می‌کنند و بعد به صورت پودرهای بسته‌بندی شده و آماده، مصرف می‌شوند (خاوازی و ملکوتی، ۱۳۸۰).

۲-۳-۱- تاریخچه کودهای زیستی

اولین کود زیستی در سال ۱۸۹۵ توسط ناب و هیلتنر در آمریکا معرفی شد. این محققین با جداسازی باکتری‌های ریزوبیوم همزیست باقلا از گره‌های ریشه ای، نسبت به خالص سازی و تکثیر آن اقدام کردند و فرآورده نهایی را در ظروف شیشه‌ای بسته‌بندی و به بازار عرضه کردند. در سال‌های بعد کشورهای دیگری مانند روسیه، کانادا، سوئد و استرالیا به تولید کودهای زیستی روی آوردند.

دامنه میکروارگانیسم‌های خاکزی مورد استفاده در تولید کودهای زیستی در طول قرن بیستم توسعه بسیاری یافته است و امروزه طیف وسیعی از باکتری‌های خاکزی (انواع ریزوبیوم، سودوموناس، ازتوباکتر، آزوسپریلوم، باسیلوس و غیره)، قارچها (انواع قارچ های میکوریزی واندوفیتی) و جلبک‌ها با مکانیسم-های مختلف برای تولید کودهای زیستی استفاده می‌شوند با این حال هنوز هم باکتری‌ها فراوانترین انواع جانداران در تولید کودهای زیستی محسوب می‌شوند. امروزه کودهای زیستی در فرمولاسیون‌های متفاوت برای محصولات مختلف کشاورزی از قبیل غلات، سبزی و صیفی، گیاهان صنعتی، باغات و گلخانه‌ها استفاده می‌شوند (اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۹۱).

۲-۳-۲- تولید کودهای زیستی در ایران

اولین کودهای زیستی مورد استفاده در ایران مایه تلقیح های ریزوبیومی سویا بودند که از اوایل دهه ۱۳٤۰ از کمپانی امریکایی نیتراژین وارد و همگام با توسعه کشت سویا در ایران مصرف شدند. پس از انقلاب اسلامی و قطع روابط تجاری ایران و امریکا تلاش‌هایی برای تولید این کود زیستی در کشور آغاز گردید که بدلیل عدم پی‌گیری‌های لازم و واردات مجدد این محصول از ایتالیا به سرانجامی نرسید.

با وجود آغاز تحقیقات در زمینه کودهای زیستی از دهه ۱۳۵۰ در موسسه تحقیقات خاک و آب، ایجاد بخش تحقیقات بیولوژی خاک در این موسسه در سال ۱۳۷۵ اولین گام موثر در راه تحقیقات جدی و نیز تولید کودهای زیستی در کشور بود. پژوهش های انجام شده در این بخش منجر به جداسازی، شناسایی و ارزیابی کارایی ریزوبیوم‌های همزیست سویا در کشور گردید. سویه‌های کارآمد طی آزمایشات گلخانه ای و مزرعه ای انتخاب شدند و در سال ۱۳۷۹ در قالب دانش فنی ابتدا ثبت و سپس برای تولید انبوه به بخش خصوصی واگذار شدند. تولید مایه تلقیح سویا به عنوان اولین کود زیستی تولید داخل از سال ۱۳۷۹ آغاز شد و سبب قطع واردات این کود زیستی از خارج از کشور گردید. پژوهش های مشابهی در خصوص ریزوبیوم‌های همزیست با نخود، لوبیا و باقلا در این بخش انجام و در اوایل دهه ۱۳۸۰ به سرانجام رسید که به طور مشابهی منجر به ثبت دانش فنی گردید. امروزه بخش خصوصی در قالب این دانش‌های فنی اقدام به تولید مایه تلقیح‌های ریزوبیومی نخود و لوبیا می‌نمایند.

همچنین در ده ساله اخیر واحدهای تولیدی کود میکروبی فسفاته گرانوله و مایه تلقیح باکتری های تیوباسیلوس نیز با کمک‌های علمی و فنی موسسه تحقیقات خاک و آب در کشور ایجاد شده‌اند. بدین ترتیب می‌توان بخش تحقیقات بیولوژی خاک را پایه گذار تولید کودهای زیستی در کشور قلمداد کرد.

در سال های بعد واحدهای تولیدی دیگری با سرمایه‌گذاری های قابل توجهی بوجود آمدند که در آنها انواع مایه تلقیح های ریزوبیومی، انواع کودهای زیستی حاوی باکتری های محرک رشد گیاه از قبیل ازتوباکتر، آزوسپریلوم و سودوموناس‌های فلورسنت، باسیلوس‌ها و باکتری‌های اکسید کننده گوگرد تولید می‌شود.

در سال‌های اخیر تصمیماتی در خصوص افزایش سهم خرید و مصرف کودهای زیستی در مقایسه با انواع شیمیایی توسط دولت اتخاذ شده است. به عنوان نمونه طبق مصوبه شماره ۹۰۷٦٥/ت٤۲۹٦۳ن مورخ ۱۳۸۸/٤/۲٤ هیئت محترم وزیران مقرر شده است به منظور توسعه و حمایت از کودهای زیستی و آلی تا سقف ۱۰ درصد از یارانه کودهای شیمیایی به این منظور اختصاص یابد که بر اساس بند د ماده ۱۳۰ قانون برنامه پنجم توسعه، افزایش این مقدار به ۳۵ درصد نیز پیش‌بینی شده است. آنچه مسلم است تاکنون زیر ساخت های مرتبط با این امر در بخش‌های مختلف اعم از تولید، توزیع و مصرف آماده نشده است و بدیهی است اجرای شتاب آلوده و افزایش بی‌برنامه سهم کودهای زیستی می‌تواند نتایج معکوسی در پی داشته باشد (اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۹۱).

۲-۳-۳- استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی ارگانیک

محققان بسیاری استفاده از کودهای میکروبی را برای بهبود فرایند کمپوست، جلوگیری از بیماری‌ها، تجزیه سموم، تثبیت و در دسترس قرار دادن عناصر خارج از دسترس و ... توصیه می کنند.

میکروارگانیسم‌ها بعنوان مواد قابل مصرف برای باروری و حفاظت گیاهان خریداری می شوند. این کودهای میکروبی شامل مواد ارگانیک و منبعی از شکر و نشاسته هستند که با یکدیگر توسط یک گونه خاصی از میکروارگانیسم تخمیر می شوند. این تولیدات حاوی میکروارگانیسم های زنده هستند و باید آنها را به دقت بکار برد. بعد از اتمام تاریخ مصرف این مواد نباید از آنها استفاده کرد زیرا ممکن است ارگانیسم‌های آنها مرده باشند.

اگر چه بعضی از محققان از این ترکیبات استفاده کرده اند و اثرات مثبت آنها را تایید کرده اند اما هنوز تجربیات کمی درباره این تولیدات وجود دارد. کودهای میکروبی نمی توانند با مدیریت مناسب هوموس در مزرعه زندگی کنند چون اغلب باکتری‌ها و قارچ‌های موجود در این کودها در خاک زندگی می کنند. تلقیح میکروبی، باعث افزایش یک گونه خاص از میکروارگانیسم‌ها می گردد (دیکسون و ویلر، ۱۹۸٦).

بعضی از کشاورزان خودشان کود میکروبی مورد نیاز خود را تهیه می کنند تا هزینه هایشان کمتر گردد. بعضی از میکروبها مواد غذایی را طی فرایند معدنی شدن به خاک اضافه می کنند. (پیولس و کراس ول، ۱۹۹۲).

۲-۳-٤- مزایای کودهای میکروبی

۱) تولید مواد تنظیم کننده ی رشد توسط باکتری‌های افزاینده رشد گیاه یکی از مهمترین ساز و کارهای پیشنهاد شده برای توضیح فعالیت و تأثیر این باکتری‌ها بر رشد و نمو گیاهان می‌باشد

(ارشد و فرانکن برگر، ۱۹۹۱). ترکیباتی با ساختمان هورمونی، از مهمترین این مواد هستند که از جمله می‌توان به گروه اکسین‌ها اشاره کرد (ملکوتی، ۱۳۸۰).

۲) این باکتری‌ها با تولید هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها، تثبیت نیتروژن و رهاسازی آن در مراحل حساس رشدی گیاه و تسهیل جذب عناصر از خاک رشد گیاه را تحت تأثیر قرار میدهند (غریب و همکاران، ۲۰۰٦).

۳) در سال های اخیر بکار گیری باکتری های افزاینده رشد گیاه که دارای توانایی مهار زیستی انواع مختلف بیماری های گیاهان زراعی می باشند، بصورت یکی از مفید ترین روش های مدیریت آفات و بیماری های گیاهی در راستای مدیریت پایدار بوم نظام های زراعی در آمده است (قلاوند و همکاران، ۱۳۸۵).

۲-۳-۵- انواع کودهای بیولوژیک

۲-۳-۵-۱- تثبیت کننده‌های ازت

کار اصلی تثبیت‌کننده‌های ازت، تثبیت ازت هوا و تبدیل آن به ازت معدنی قابل استفاده برای گیاه است. هوای اطراف ما ۰/۷۹ گاز ازت دارد ولی گیاهان قادر به استفاده از آن نیستند لذا این ازت باید به ازت معدنی تبدیل شود. تثبیت یا در کارخانه‌های کود سازی با صنعت پتروشیمی با هزینه و انرژی بسیار زیاد صورت می‌گیرد و یا بدون هزینه به وسیله موجودات ذره‌بینی خاک که کار کارخانه‌های کود سازی را انجام می‌دهند، صورت می‌گیرد (وسی، ۲۰۰۳).

الف- تولید صنعتی

تولید صنعتی ازت با بهره‌گیری از صنایع پتروشیمی و در کارخانجات تولید کود میسر است و از معایب آن می توان به صرف هزینه زیاد اشاره کرد. استفاده در مکان های دور با توجه به قابل حمل بودن و استفاده کنترل شده، از مزایای این کود است.

ب- تولید بیولوژیک

موجودات ذره بینی خاک با فعالیت های بیولوژیکی خود اقدام به تثبیت ازت می نمایند (آستارایی و کوچکی، ۱۳۷۵).

ثبیت ازت به سه صورت انجام می‌گیرد که به شرح ذیل است:

۱) آزاد یا غیر همزیست (ازتو باکتر): کود میکروبی که به این روش تهیه شده کود ازتو باکتری است و در شرایطی که کمبود آن وجود داشته باشد، به خاک اضافه می‌شود.
۲) همزیستی (ریزوبیوم): باکتری به نام ریزوبیوم روی ریشه گیاهان خانواده لگومینوز ایجاد غده یا گره می‌کند. گیاهانی مانند سویا، یونجه، شبدر، نخود، لوبیا، عدس و ماش تثبیت کننده‌های مهم ازت به روش همزیستی می‌باشند. باکتری ریزوبیوم در داخل غده یا گره تولید شده بر روی ریشه گیاه، ازت هوا را می‌گیرد و آن را تثبیت و به NH_3 تبدیل می‌کند. NH_3 تولیدی، هم مورد استفاده خود باکتری و هم مورد استفاده گیاه میزبان قرار می‌گیرد. مقدار تثبیت به روش همزیستی بسته به نوع باکتری و گیاه میزبان دارد. به طور متوسط از این طرق، تثبیت ازت می‌تواند بین ۲۰۰

تا ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار، انجام پذیرد. گیاهان و باکتری‌های همزیست با آنها در تثبیت ازت در جدول ۲-۱ آورده شده است.

جدول ۲-۱- انواع گیاهان تثبیت کننده ازت و گونه‌های باکتری همزیست با آنها

نام میزبان	گونه ریزوبیوم	میزان تثبیت
نخود - باقلا	ریزوبیوم لگومینوزاروم	۳۰۰-۲۰۰ کیلوگرم در هکتار
شبدر	ریزوبیوم تریفولی	
لوبیا	ریزوبیوم فازئولی	
یونجه	ریزوبیوم ملیلوتی	
باقلای مصری	ریزوبیوم لوپینی	
سویا	ریزوبیوم ژاپنیکوم	

۳) همیاری (ازوسپیریلیوم): باکتری به نام ازوسپیریلیوم به صورت همیاری با ریشه گیاهان خانواده غلات مثل گندم، ازت هوا را تثبیت می‌کند. اهمیت تثبیت ازت در این است که بدون آلودگی زیست محیطی، بدون نیاز به صرف هزینه و انرژی می‌توانیم کود ازته داشته باشیم. کود ازته تقویت خوبی برای حاصلخیزی خاک به شمار می‌رود و لذا با توجه به مشکلاتی که کودهای شیمیایی دارند، امروزه مصرف کودهای بیولوژیک مورد توجه خاص قرار گرفته‌اند (پیولس و کراس ول، ۱۹۹۲).

پدیده دی ازوترفی یا توان تغذیه از دی نیتروژن (N_2) به عنوان تنها منبع ازتی، کار بسیار ارزشمند گروه خاصی از باکتری های خاکسازی (تثبیت کننده ازت) است که همه اکوسیستم های طبیعی دست نخورده، تعادل ازتی خود را مرهون چنین موهبتی هستند. برآورد رقمی حدود ۱۷۵ میلیون تن نیتروژن در سال برای مقدار کل تثبیت بیولوژیک در سطح جهانی، نشانگر برتری فعالیت دی ازوترون ها در مقایسه، با توان تولیدی کارخانه های کود شیمیایی است (پوستگیت، ۱۹۸۷).

۲-۳-۵-۲- قارچ‌های میکوریزی

با ریشه بعضی از گیاهان ایجاد همزیستی کرده و اثرات مفیدی ایجاد می‌کند. واژه میکوریزا (به معنی قارچ ریشه، جمع میکوریز) به طور کلی به همزیستی بین ریشه گیاهان و میسلیوم های قارچی اطلاق می شود و دو نوع ابتدایی همیاری قارچ میکوریزا با ریشه گیاهان وجود دارد اکتوتروفیک یا اکتومیکوریزا و اندوتروفیک یا اندومیکوریزا. سیستم ویژه‌ای از سطح فعال ریشه‌ای بیشتری جهت جذب بهتر مواد غذایی از خاک خصوصاً هنگامی که خاک ها فاقد فسفر کافی باشند برخوردار است (وسی، ۲۰۰۳).

۲-۳-۵-۳- میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات

فسفات نامحلول خاک را به فسفر محلول و قابل جذب گیاه تبدیل می‌کنند. فسفر از عناصر اصلی مورد نیاز گیاه بوده و یکی ازمهمترین عناصردرتولید محصول، تشکیل بذر، در کربن گیری گیاه، کاهش

زمان رسیدن محصول و استحکام بیشتر ساقه غلات مؤثراست با وجود این، متاسفانه مصرف غیر اصولی و بی رویه کودهای شیمیایی فسفره تاثیر زیان باری بر جامعه کشاورزی تحمیل نموده است. در این حال استفاده از کودهای زیستی جهت حفظ حاصلخیزی خاک و بهبود رشد گیاهان زراعی در جهت افزایش تولید حبوبات یکی از راه حلهای اساسی و مفید جهت افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصول، تأمین امنیت غذایی، پایداری در تولید به نظر می رسد (ناظری و همکاران، ۱۳۹۱).

استفاده از کودهای زیستی باعث افزایش جذب عناصر غذایی مثل فسفر، ازت و برخی عناصر ریز مغذی، افزایش جذب آب، تولید هورمون‌های گیاهی، کاهش تاثیر منفی تنش های محیطی، تاثیر مثبت بر روی برخی میکروارگانیسم های خاکزی و همچنین بهبود خصوصیات کیفی و کمی محصولات زراعی مورد توجه و بررسی قرار گرفته اند (اردکانی، ۱۳۷۸؛ شیرانی‌نژاد، ۱۳۷۷).

بسیاری از باکتری های خاک، خصوصا باکتری های از جنس های *Pseudomonas* و *Bacillus* و قارچ های وابسته به جنس های *Penicillium* و *Aspergillus* قادر هستند تا فسفات های غیر محلول در خاک را به فرم‌های محلول تبدیل نماید. تبدیل به وسیله ترشحات اسیدهای آلی مانند اسید های فومیک، استیک، پروپیونیک، لاکتیک، گلیگولیک، فوماریک و سوکسینیک انجام می شود. نقش این اسیدها ابتدا کاهش pH است و سپس پیوند موجود در فرم‌های فسفات را تجزیه می کنند (ناهاس و همکاران، ۱۹۹۰).

ریزجانداران حل کننده فسفات می توانند منجر به افزایش حلالیت و جذب فسفر در محصولات کشاورزی شوند که این امر منجر به کاهش اثرات نیتروژن و زودرسی در گیاهان شود. به‌دلیل وجود توانایی انحلال فسفات در برخی از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک و با توجه به خطرات استفاده

بیش از حد کودهای فسفره و اهمیت فسفر در تغذیه گیاه بخصوص در امر تثبیت نیتروژن در گیاهان لگوم، اثرات متقابل بین میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات با باکتری بردی ریزوبیوم ژاپونیکوم بر روی محصولات زراعی مورد بررسی قرار گرفت. برترین میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات عبارت از سودوموناس پیوتیدا، آئروموناس هیدروفیلا و سودوموناس فلورسنس هستند (هالورسون و همکاران، ۱۹۹۰). میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات بر روی وزن خشک، درصد فسفرنسبت به پتاسیم، ازت، غلظت آهن و مس در بخش هوایی گیاه، تعداد، وزن تر و وزن خشک گره های ریشه‌ای و بر غلظت آن در بخش هوایی گیاه تأثیر دارند (زهیر و همکاران، ۲۰۰٤).

۲-۳-۵-٤- اکسید کننده گوگرد (تیوباسیلوس)

اکسید کننده گوگرد کودی است که دارای باکتری تیوباسیلوس بوده و باعث اکسایش بیولوژیکی گوگرد می‌شود. نقش گوگرد در گیاهان بطور عمده ساخت پروتئین، روغن و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی است. ولی به دلایل متعدد از جمله زیادی غلظت گوگرد در اندام‌های گیاهی در مقایسه با فسفر و نقش بسیار مثبت این عنصر در مواردی مانند افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی و بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی و اصلاح خصوصیات بیوشیمیایی خاک های سدیمی و آهکی و همچنین افزایش نفوذ پذیری و کاهش pH و حذف بی کربنات از آب آبیاری و نقش بسیار مؤثر و مثبت آن در کاهش تنش های شوری و سدیمی باید جایگاه فعلی این عنصر تغییر یابد و در ردیف عناصر اصلی قرار بگیرد و مصرف سالیانه آن از مصرف کودهای فسفاته بالاتر رود. البته نظر به اینکه شکل قابل جذب

گوگرد توسط گیاهان به صورت یون سولفات ($So4^{2-}$) است بنابراین لازم است گوگرد با کمک ریز جانداران اکسید کننده گوگرد بصورت یون سولفات درآید (ملکوتی، م. ۱۳۷۸).

مطالعات زیادی نشان داده که اگر گوگرد به همراه مواد آلی و باکتری‌های تیوباسیلوس با روش صحیحی جایگذاری شود و رطوبت نیز در حد مطلوب باشد می‌تواند تا حدود ٦٠ ٪ عملکرد محصولات کشاورزی را افزایش دهد (استورتز و کریستی، ۲۰۰۳).

برای تبدیل گوگرد به سولفات مهیا کردن شرایط اکسیداسیون در خاک از جمله رطوبت، مواد آلی، جایگذاری عمقی و میکروارگانیسم های اکسید کننده گوگرد الزامی است.

معدنی شدن ترکیبات آلی گوگرد دار به ۲ روش انجام می گیرد:

۱) بیولوژیک: گوگرد متصل به کربن در اثر اکسیداسیون کربن بوسیله میکروارگانیسم‌های هتروتروف به منظور کسب انرژی اکسیده شده و بصورت سولفات آزاد می شود.
۲) بیوشیمیایی: گوگردی که متصل به کربن نیست بوسیله آنزیم‌های سلولی معدنی می شود. مانند استر سولفات‌ها توسط آنزیم‌های سولفاتاز مختلف که نمونه بارزی از فرآیند معدنی شدن بیوشیمیایی است (ملکوتی و همکاران، ١٣٨٤).

۲-۳-۵-۵- کرم‌های خاکی

کرم های خاکی در تولید هوموس مورد استفاده قرار می‌گیرند و نوعی کود کمپوست به نام ورمی کمپوست (Wermy compost) تولید می‌کنند. این کود حاصل فن آوری بیولوژیکی یک نوع جانور زنده است و از طریق پرورش گونه ای کرم قرمز حلقوی بارانی موسوم به *Eisenia foetida* بر بستر بقایای مواد آلی تولید می شود. تمام مراحل کار از ابتدا تا انتها تحت کنترل بوده و نهایتاً کود ممتاز بدون هرگونه بو، شیرابه، بذر علف‌های هرز، تخم انگل و سایر پاتوژن‌های بیماریزای خاک تولید می گردد. ورمی کمپوست بطور طبیعی حاوی میکروارگانیسم‌های مفید از گروه ازتوفسفر و سولفو باکتری بهمراه مواد محرک رشد گیاهان است. قدرت نگهداری آب آن قابل ملاحظه بوده و ارتباط گیاه با مواد غذائی بهتر را فراهم ساخته، لذا مواد غذائی بستر، بنحو مطلوبی در اختیار ریشه‌ها قرار می‌گیرند. انواع محصولات فرآوری شده بر مزیتهای فوق افزوده است، از این رو ورمی کمپوست کودی آلی و بی رقیب می باشد (ملکوتی، م. ۱۳۷۸).

ورمی کمپوست در خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک تاثیر بسزایی دارد. این کود اصلاح کننده خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک بوده و علاوه بر وزن مخصوص کم، فاقد هرگونه بو، میکروارگانیسم‌های پاتوژن، باکتری‌های غیر هوازی، قارچ ها و علف‌های هرز می باشد. ورمی کمپوست علاوه بر قابلیت جذب آب با حجم بالا، شرایط مناسب جهت دانه‌بندی و قدرت نگه‌داری مواد غذایی مورد نیاز گیاهان را فراهم می نماید (وسی، ۲۰۰۳).

ورمی کمپوست حاوی عناصر غذایی بسیار غنی به ویژه ازت بوده که به تدریج آنها را در اختیار گیاه قرار می دهد. این کود در مقایسه با سایر کودهای آلی دارای میزان عناصر اصلی غذایی بالاتری است.

ورمی کمپوست علاوه بر عناصر ماکرو مانند ازت، فسفر و پتاسیم که در فعالیت‌های حیاتی گیاه نقش اساسی دارند حاوی عناصر میکرو مانند آهن، مس، روی و منگنز نیز می باشد. علاوه بر این با داشتن موادی مانند ویتامین B_{12} و اکسین عوامل محرک رشد گیاه را فراهم می آورند (پیوست، ۱۳۸۱).

۲-٤- انواع باکتری های افزاینده رشد گیاه

گروهی از باکتری های مفید خاکزی که سبب افزایش رشد گیاه می شوند تحت عنوان باکتری های افزاینده رشد گیاه (PGPR) هستند و از جمله مهمترین انواع کودهای زیستی محسوب می شوند (قلاوند و همکاران، ۱۳۸۵). این اصطلاح برای نخستین بار توسط شورت و کلوبر در سال ۱۹۷۸ به کار برده شد. در حال حاضر به صورت یکی از مهمترین انواع کودهای بیولوژیک به کار برده می شوند. باکتری های افزاینده رشد گیاه شامل باکتری های تثبیت کننده نیتروژن، محلول کننده‌ی فسفر، پتاسیم، گوگرد و سیلیکات می باشند (زهیر و همکاران، ۲۰۰٤).

۲-٤-۱- ازتوباکتر

ازتوباکتر یک باکتری آزادزی تثبیت کننده‌ی نیتروژن هوا است. مقدار تثبیت نیتروژن بوسیله‌ی این باکتری ۲۰-٤۰ کیلوگرم در هکتار در سال است که بدلیل هتروتروف بودن، برای تثبیت نیتروژن نیاز به وجود مقدار زیادی ماده‌ی آلی دارد لذا برای تامین کربن آن نیاز است که خاک دارای مواد آلی بالایی باشد. برای این منظور استفاده توام ازتوباکتر و کود دامی در خاک های ایران که اکثراً دارای مواد آلی کم

هستند، توصیه می شود. ازتوباکتر با بسیاری از میکروارگانیسم‌های خاک روابط آنتاگونیستی دارد از جمله می توان به کنترل رشد انواعی از قارچ های بیماری زا به وسیله ازتوباکتر اشاره کرد (خسروی، ۱۳۷٦). ازتوباکترها به دلیل فراوانی و وسعت انتشار بیش از سایر انواع تثبیت کننده ها مورد توجه قرار گرفته اند و در خاک های مناطق معتدله نیز بیشترین اهمیت را دارند (دارت و دی، ۱۹۷۵). ازتوباکتر کروکوکوم به عنوان مایه تلقیح بذر نه تنها در تثبیت نیتروژن بلکه بر سایر خصوصیات از قبیل تولید هورمون‌های رشد، مواد ضد قارچی، سیدروفور و اثر حل کنندگی فسفات نیز مؤثر است. این مجموعه بررسی های انجام شده بیانگر آن است که کارایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن در سویه های ازتوباکتر کروکوکوم علاوه بر فیزیولوژی باکتری، به نوع گونه گیاهی و شرایط محیطی نیز وابسته است (نارولا و همکاران، ۲۰۰۰).

۲-٤-۲- ریزوبیوم

ریزوبیوم مشهورترین باکتری محرک رشد گیاه و آندوفیت طبیعی گیاهان خانواده بقولات است. این باکتری در تنش‌های غیرزیستی می‌تواند سبب القای مقاومت سیستمیک در گیاهان شود (دیمپکا، ۲۰۰۹). از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به تولید آنزیم ACC-دآمیناز اشاره کرد. این آنزیم با تجزیه ACC از تولید هورمون اتیلن جلوگیری می‌کند در نتیجه اثرات اتیلن که موجب رشد ضعیف ریشه و کاهش توانایی ریشه در اکتساب آب و مواد غذایی می‌شود را کاهش می‌دهد.

القا تولید هورمون‌هایی مثل آسید آبسیزیک در گیاهان که موجب بسته شدن روزنه‌ها می‌شود و آنتی اکسیدان‌هایی مثل سوپراکسید دیسموتاز که باعث مهار رادیکال‌های آزاد می‌شوند از جمله ساز و کارهای

دیگر به کار رفته توسط این باکتری‌ها است. تولید ترکیبات اسمزی که در هنگام تنش منجر به ایجاد تعادل اسمزی در گیاه می‌شوند نیز از دیگر ساز و کارها می‌باشد (یانگ و همکاران، ۲۰۰۹).

مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهند که پتانسیل تثبیت نیتروژن مولکولی در گیاهان خانواده بُنشن ها (لگوم ها) علاوه بر عوامل محیطی مانند ویژگی های خاک، اقلیم و مدیریت زراعی به مقداری زیاد تحت تأثیر دو عامل سویه باکتری و رقم گیاه قرار دارد. چنانچه این دو عامل مهم به گونه ای مناسب انتخاب شده و بکار روند، سیستم همزیستی سویه برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم، توان زیادی برای تثبیت نیتروژن مورد نیاز گیاه و تأمین آن خواهد داشت تا اثرهای متفاوت ژنوتیپ های مختلف گیاه و سویه باکتری بر صفات مرتبط با تثبیت زیست شناختی (بیولوژیک) نیتروژن، مانند تعداد و وزن گره‌های ریشه ای و فعالیت احیای استیلن برای بقولات، از جمله نخود معمولی، بادام زمینی (نامبیر و همکاران، ۱۹۸۸)، سویا (واسک و بریل،۱۹۷٦)، لوبیا (گراهام و روساز، ۱۹۷۷) و لوبیاسبز (زاری و همکاران، ۱۹۷۸) تا قبل از دهه‌ی هشتاد معلوم شده است.

۲-٤-۳- تیوباسیلوس ها

تیوباسیلوس، گروهی از باکتری‌های گرم منفی می باشد که انرژی مورد نیاز خود را از طریق اکسیداسیون ترکیبات غیرآلی گوگرددار تأمین می‌نماید. این باکتری‌ها قادر به اکسیداسیون ترکیبات آهن‌دار

می باشند. تیوباسیلوس‌ها نقش بسیار مهمی در جلوگیری از آبشویی ترکیبات معدنی به خصوص گوگرد داشته و منجر به بازگشت ترکیبات فلزی می شوند (دوناتی و همکاران، ۱۹۹۷). سطوح پروتئین‌های فسفوریلاسیون توسط تیوباسیلوس افزایش می‌یابد و تحت تأثیر مس و تعدادی از فلزات سنگین قرار می-گیرد (ترزا و همکاران، ۲۰۰۰). این باکتری اسید دوست بوده و اکسیداسیون سولفید آهن به سولفات فریک یا اسید سولفوریک را تسریع می کند که در این کار حجم زیادی از سلول های این باکتری برای اکسیداسیون سریع آهن به کار می رود (گومز و همکاران، ۲۰۰۰). گوگرد یکی از عناصر مورد نیاز گیاه می باشد که در حدود ۱۰٪ میزان نیتروژن در گیاهان استفاده میشود (هنکلائوس و همکاران، ۲۰۰۳). به دلیل آن که تا اندازه زیادی توسط کودهای شیمیایی و ورودی های اتمسفری این عنصر تأمین می‌شود توجه کمتری به نقش این عنصر معطوف گردیده است (شرر، ۲۰۰۱).

طیف وسیعی از مکیروارگانیسم ها قادر به اکسایش گوگرد در محیط هستند که از بین آنها فقط باکتری های هتروتروف، به ویژه جنس تیوباسیلوس نقش مهمی در اکسایش گوگرد خا کهای زراعی ایفا می‌کنند. بسیاری از محققین نیز گزارش کرده اند اکسیداسیون گوگرد و تولید اسید سولفوریک باعث کاهش pH خاک و افزایش دسترسی فسفر و عناصر کم مصرف می شود و باکتری تیوباسیلوس باعث تسریع این فرایند می شود (زرنگار و همکاران، ۱۳۹۱).

۲-٤-٤- سودوموناس

باکتری های جنس سودوموناس از مهمترین باکتری های محرک رشد گیاه به شمار می روند. باکتری‌های سودوموناس هوازی و میله‌ای شکل هستند (وازکوئس و همکاران، ۲۰۰۲). سودوموناس و

بالاخص سودوموناس فلورسنت از مهمترین ارگانیسم های ریزوسفری به شمار رفته و اثرات مثبت ناشی از تلقیح آنها بر رشد به اثبات رسیده است. بسیاری از این باکتری ها با تولید آنزیم های فسفاتاز، آزاد شدن فسفر را از ترکیبات آلی فسفردار موجب می شوند. باکتری های تسهیل کننده جذب فسفات نه تنها رها سازی فسفر، بلکه تولید مواد بیولوژیک دیگر از جمله هورمون های رشد مثل اکسین و جیبرلیک اسید و همچنین ویتامین ها را موجب می شوند. این مواد با انحلال فسفات همبستگی مثبت دارند (صالح راستین، ۲۰۰۱). باکتری های سودوموناس که از سلسله پرتوباکترها و متعلق به خانواده بزرگ سودمونادآسه می‌باشند و بعضی از گونه‌های آن به عنوان پالاینده‌های زیستی قادر هستند که آلاینده‌های شیمیایی از جمله آفت کش ها را در محیط زیست تجزیه کنند. از مهمترین گونه های آن، می‌توان به گونه های سودوموناس پوتیدا، فلورسنس، آرژینوزا و سودوموناس اشاره کرد. به طورکلی افزایش تعداد و تنوع میکروارگانیسم ها و اثرات متقابل جوامع میکروبی باعث افزایش تعداد و تنوع اسید های آلی مؤثر در فرایند انحلال فسفات‌های نامحلول می شود (شارما، ۲۰۰۲).

باکتری های سودوموناس پتانسیل قابل توجهی در بهبود کارایی جذب فسفر از خود نشان داده و به علت وسعت انتشار، تنوع گونه‌ای و مقاوم بودن برخی از گونه های آن به تنش های محیطی توانسته اند به عنوان کود زیستی مناسب از جایگاه و اهمیت ویژه‌ای برخوردار گردند (کیم و هکاران، ۱۹۸۹).

۲-۵- باکتریهای محرک رشد گیاه (PGPR) و ACC –دآمیناز

تحقیقات اخیر نشان داده است که اثر بازدارندگی اتیلن روی رشد طولی ریشه می تواند توسط ACC –دآمیناز، آنزیمی که توسط تعدادی از میکروارگانیسم‌های خاک از جمله ریزوبیوم‌ها ساخته می شود، کاهش یابد (گلیک و همکاران، ۱۹۹۸). مدلی که عمل این آنزیم در باکتریهای محرک رشد گیاه را توضیح می دهد توسط گلیک و همکاران در ۱۹۹۸ پیشنهاد شد. به طور خلاصه، ACC که پیش ماده ضروری برای تولید اتیلن در گیاهان عالی است، از ریشه‌های گیاه یا بذور به بیرون ترشح می شود. باکتری‌های ریزوبیومی که متصل به سطح ریشه یا بذر هستند، می‌توانند مقداری از این ACC را جذب کرده و با فعالیت آنزیم ACC –دآمیناز آن را هیدرولیز کنند. بنابراین مقدار ACC در خارج ریشه کاهش می یابد. برای نگه‌داشتن تعادل بین سطح ACC در داخل و خارج ریشه، ACC بیشتری از ریشه یا بذر ترشح شده، در نتیجه مقدار ACC فراهم برای اکسیداسیون و تبدیل به اتیلن در داخل سلول کاهش می یابد. با کاهش سطح ACC در داخل سلول گیاهی، اتیلن کمتری تولید خواهد شد و اثر بازدارندگی آن روی طویل شدن ریشه کاهش خواهد یافت. از طرف دیگر آمونیاک و α –کتوبوتیرات به دست آمده از تجزیه ACC برای رشد ریزوبیوم‌ها به مصرف می رسد (گلیک و همکاران، ۱۹۹۸). شواهد تجربی بسیار زیادی نشان می دهد که ACC –دآمیناز یکی از مکانیزم‌های کلیدی است که توسط آن ریزوبیوم‌ها رشد گیاه به ویژه رشد طولی ریشه را تحریک می کنند. بر اساس مدلی که در بالا توضیح داده شد، مسلم است که سویه هایی از ریزوبیوم که دارای آنزیم ACC –دآمیناز هستند، می توانند سطح اتیلن در گیاه میزبان را پایین آورده و بنابراین بعضی اثرات منفی اتیلن روی گره زایی را خنثی کنند (گلیک و همکاران، ۱۹۹۸).

۲-٦- مرور منابع مربوط به استفاده از باکتری‌های محرک رشد در انواع گیاهان

پژوهش های زیادی در رابطه با اثر مایه تلقیح های حاوی PGPR بر رشد گیاهان انجام شده است که در این بخش به برخی از مهمترین آنها پرداخته و سعی خواهد شد به طیف وسیعی از باکتری ها و اثرات آنها بر انواع گیاهان زراعی و باغی اشاره شود. تحقیقات گسترده در زمینه استفاده از مایه تلقیح های حاوی PGPR در کشاورزی در حدود ۵۰ سال قبل در اتحاد جماهیر شوروی سابق آغاز و طی آن اثر مایه تلقیح ازتوباکتر بر روی محصولات مختلف به شکل آزمون های مزرعه‌ای انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که فقط ۳۵ درصد مزارع به ازتوباکتر جواب مثبت دادند. ترنر و بکمن (۱۹۸۹) اثر *Bacillus subtilis* بر افزایش سبز شدن بادام زمینی را معنی‌دار ذکر نمودند.

پوتین و باشان (۱۹۹۳) تاثیر تلقیح *Azospirillum brasilense* بر رشد و دوام کاکتوس را قابل توجه ذکر نمودند. روهاشاو–سینگ و همکاران (۱۹۹۳) افزایش وزن خشک ذرت در اثر تلقیح با باکتری ازتوباکتر را گزارش دادند. فالیک و همکاران افزایش وزن ریشه ذرت در اثر تلقیح با *Azospirilum brasilense* را گزارش دادند. عملکرد و جذب ازت گندم پائیزه در اثر تلقیح با باکتری های ریزوسفر از جمله ازتوباکتر کروکوکوم قابل توجه ذکر شده است (رناتودفریتاس،۲۰۰۰). سویه های مختلف *Bacillus* توانستند از طریق تثبیت نیتروژن و انحلال فسفات های نامحلول، رشد جو را افزایش دهند.

رای و گارو (۱۹۹۸) اثر ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم را بر رشد و عملکرد گندم بررسی کردند بطوریکه ازتوباکتر به تنهایی ۸/۲، آزسپریلیوم ۹/۱ و مخلوط این دو ۱۳/۹ درصد افزایش عملکرد را نسبت به شاهد بدون تلقیح موجب شد. در آزمایشی جوانه زنی دانه های سیب در اثر تلقیح با گونه *Pseudomonas fluorescence* به میزان ۷۹ درصد افزایش یافت (کیزر و بوت، ۱۹۸۷). تیلاک و همکاران (۱۹۸۲) اثر

تلقیح ازتوباکتر وآزسپیریلوم را بر مقدار ماده خشک بخش هوایی ذرت و سورگوم قابل توجه ذکر کرده اند. اثرات مثبت تلقیح توام ازتوباکتر و رایزوبیوم بر گره بندی سویا، ماش و شبدر معنی دار گزارش شده است (یورنز و همکاران، ۱۹۸۱). اثر تلقیح توام ازتوباکتر و ریزوبیوم بر موفقیت تلقیح و عملکرد باقلا و جذب عناصر معدنی توسط رودلاس (۱۹۹۹) مثبت گزارش شده است.

اثر ازتوباکتر کرکوکوم در حل کردن فسفات های غیر آلی و افزایش رشد گندم بدین واسطه گزارش شده است (کومار و نیرو–نارولا، ۱۹۹۹). جرک و همکاران (۲۰۰٦) گزارش دادند که در اثر تلقیح عدس بوسیله ازتوباکتر ۱۱–۸ درصد عملکرد آن افزایش یافت. در گزارشی پتانسیل استفاده از ریزوبیوم ها به عنوان باکتری های محرک رشد گیاه در غلات به واسطه تولید مواد محرک رشد از جمله اکسین ها، سیتوکین ها و... قابل توجه ذکر شده است (ماتیرو و داکورا، ۲۰۰٤). در تحقیق دیگری کلونیزاسیون و تحریک رشد گندم و جو بهاره، ذرت و تربچه توسط *Rhizobium leguminosarum bv. Viciae* مثبت و معنی دار ذکر شده است (هولفیچ، ۱۹۹۹). افضل و اصغری (۲۰۰۸) نیز اثر ریزوبیوم و باکتری های حل کننده فسفات را بر رشد گندم و جذب فسفر مثبت و معنی دار گزارش نموده اند.

پژوهش های در زمینه اثر PGPR دارای مزیت آنزیم *ACC deamianse* در سایر شرایط تنشی نیز موفقیت آمیز بوده است. تحقیقات نشان داده که تلقیح *Pseudomonas putida* حاوی آنزیم *ACC deaminase* در حضور نمک به میزان ۱۵۰ میلی مول بر لیتر به طور معنی داری رشد کلزا را بهبود بخشیده است (چنگ و همکاران، ۲۰۰۷). سراواناکومار و سمیاپان (۲۰۰۷) گزارش دادند که *Pseudomonas fluorescens* دارای آنزیم *ACC deaminase* در شرایط شور اثرات مثبتی بر برخی

شاخص های رشد بادام زمینی داشته است. گریچکو و همکاران (۲۰۰۰) در تحقیق دیگری گوجه فرنگی تراریخت با ژن مولد *ACC deaminase* تحمل بیشتری به اثرات سمی کادمیوم، کبالت، نیکل، سرب، مس و روی نشان داد.

۲-۷- مطالعات انجام شده روی PGPR در ایران

به دلیل محدودیت تعداد مطالعات انجام شده در ایران در مورد تأثیر کودهای میکروبی بر روی گیاه سویا، در بررسی منابع به مطالعات انجام شده در مورد سایر گیاهان نزدیک به سویا نیز پرداخته می‌شود. به منظور بررسی تأثیر کود زیستی میکروبی فسفاته گرانوله و کود شیمیایی فسفره سوپرفسفات تریپل بر شاخص های فیزیولوژیکی رشد لوبیا سفید رقم دانشجو در شهرستان مهران اجرا گردید که تیمارهای آزمایشی شامل استفاده از کود شیمیایی فسفر سوپر فسفات تریپل در ۵ سطح (عدم استفاده از کود شیمیایی، استفاده از ۲۵٪ کود شیمیایی فسفر، استفاده از ۵۰٪ کود شیمیایی فسفر، استفاده از ۷۵٪ کود شیمیایی فسفر، استفاده از ۱۰۰٪ کود شیمیایی فسفر و کود زیستی فسفر گرانوله حاوی روی در ۲ سطح (عدم استفاده از کود زیستی میکروبی فسفاته، استفاده از کود زیستی میکروبی فسفر) مورد بررسی قرار گرفتند. صفاتی نظیر وزن خشک کل، سرعت رشد محصول (CGR)، سرعت آسمیلاسیون خالص (NAR) اندازگیری شدند. برای دستیابی به روند تغییرات تجمع وزن خشک اندام هوایی در طول فصل رشد معادلات متعددی مورد آزمون قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که تجمع ماده خشک تحت تاثیر تیمارهای کود شیمیایی فسفر و کود زیستی میکروبی فسفاته مصرفی قرار گرفته است، بطوری که سطوح

۷۵٪ و ۵۰٪ کود شیمیایی فسفر و همچنین استفاده از کود زیستی میکروبی فسفاته دارای بهترین وضیعت بودند و بیشترین وزن خشک کل، سرعت رشد محصول، سرعت رشد نسبی گیاه، سرعت جذب خالص گیاه در این تیمار مشاهده شدند (ناظری و همکاران، ۱۳۹۱).

کانتوا و مینا (۲۰۰۲) در آزمایشی بر روی خردل نتیجه گرفتند که حداکثر عملکرد دانه در تیمار واجد ٤٥ کیلوگرم در هکتار کود فسفره و حاوی باکتری‌های حل کنندهٔ فسفات به دست می‌آید و این تیمار شرایط خشکی را بهتر از سایر تیمارها تحمل می‌کند. نتایج تحقیقی در هند با استفاده از تیمارهای مختلف کود فسفره و کودهای زیستی(رایزوبیوم و باسیلوس) در ماش نشان داد که اثر متقابل بین میزان فسفر و کودهای زیستی معنی دار است. نتایج تحقیقات مختلف در خصوص کارایی میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات، موید نقش موثر آنها در افزایش عملکرد گیاهان زراعی چون کلزا، گندم و لوبیا است (میلر و همکاران، ۱۹۹۲).

محمودی (۱۳۸۵) گزارش کرد که استفاده از کودهای زیستی به خصوص تلقیح بذور نخود با ریزوبیوم در مقایسه با تیمار بدون تلقیح اثر مثبتی در افزایش غلظت ازت گیاهی و پروتئین دانه- فسفر گیاهی و افزایش ماده خشک دارد. ورزی و همکاران (۱۳۸٤) با بررسی کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد و اجزاءعملکرد گیاه دارویی رازیانه، نشان دادند که فسفات زیستی دارای تأثیر معنی داری بر روی تعداد چتر در بوته، وزن هزاردانه، شاخص برداشت و عملکرد دانه نبود ولی اثر معنی‌داری روی ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیک داشت. نبیل و همکاران (۲۰۰۵) طی آزمایشی بر روی نقش کود زیستی بر روی رشد و عملکرد باقلا و کنترل آفات آن، نشان دادند که کود زیستی تاثیر معنی داری روی وزن خشک، ساقه ها،

نسبت ریشه به ساقه، نسبت غلاف به گل ها و افزایش نیتروژن، فسفر و پتاسیم داشت و آلودگی آفت از ۷۱/۳ به ٦٤ درصد کاهش داد.

دانش بیولوژی خاک در ایران نوپا بوده و فقط در طی سال های اخیر به طور جدی در زمینه استفاده از PGPR درکشاورزی پژوهش هایی انجام شده است که در این بخش به برخی از آنها اشاره می شود. خسروی (۱۳۷٦) اثر باکتری های بومی ازتوباکتر کروکوکوم را بر رشد گندم و افزایش سیستم ریشه ای آن در یک آزمون گلخانه ای معنی دار گزارش دادند. بشارتی و صالح راستین (۱۳۷۸) در آزمایشی گلخانه ای گزارش دادند که اثر چند سویه از باکتری های تیوباسیلوس بومی خاک های ایران موجب افزایش جذب فسفر و شاخص های مختلف رشد ذرت شد. ریحانی تبار و همکاران (۱۳۷۹) گزارش دادند که اثر سودوموناس های فلورسنس بومی بر برخی شاخص های رشد گندم بهاره در شرایط گلخانه ای مثبت و معنی دار بوده است.

ذبیحی و همکاران (۱۳۸۸) با بررسی تاثیر سویه های مختلف سودوموناس در شرایط شور بر رشد لوبیا در شرایط گلخانه ای گزارش دادند که سودوموناس پوتیدا شاخص های عملکرد دانه و وزن هزار دانه را به طور معنی داری افزایش داد. اخگر (۱۳۸۷) ضمن جداسازی و شناسایی باکتری های *Pseudomonas* بومی گزارش داد که تلقیح کلزا با سویه های دارای توان تولید *ACC deaminase* موجب کاهش اثرات تنشی حاصل از شرایط شور در این گیاه در شرایط گلخانه ای شده است. خسروی و همکاران (۱۳۸۸) اثر سویه های ریزوبیوم دارای آنزیم *ACC deaminase* بر رشد و جذب عناصر

غذایی گندم در شرایط تنش شوری ۷ و۱۰ دسی زیمنس بر متر در شرایط گلخانه ای را قابل توجه گزارش دادند.

نتایج بررسی تلقیح با کودهای زیستی ازتوباکتر و فسفات بارور بر عملکرد گلرنگ نشان داد تیمار ترکیب کودی تلقیح با فسفاته ی بارور به میزان ۵۰ گرم در هکتار + کود مرغی به میزان ۵ تن در هکتار + کودهای حاوی نیتروژن و فسفر به ترتیب ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار با میانگین ٤٤٤۰/۵۰ کیلوگرم در هکتار و تیمار شاهد یا عدم مصرف هر گونه کودی با میانگین ۱۸۲۵ کیلوگرم در هکتار به ترتیب بیشترین و کمترین عملکرد دانه را به خود اختصاص دادند، ایشان همچنین اظهار نمودند کودهای فسفره زیستی بر عملکرد گلرنگ تاثیر مثبت خواهند داشت، به شرط اینکه همراه با کودهای آلی، دامی و مصرف ۵۰٪ توصیه شده کودهای شیمیایی فسفره همراه باشد (اوجاقلو و همکاران، ۱۳۸٦)

به منظور مطالعه اثرات کاربرد منفرد و تلفیقی کود زیستی بر عملکرد کمی و کیفی پیکر رویشی گیاه دارویی گشنیز، آزمایشی در سال زراعی۹۰-۱۳۸۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از ۱- کود زیستی بیوسولفور (حاوی باکتری تیوباسیلوس) به همراه گوگرد آلی بنتونیت دار ، ۲- بیوسولفور + کود شیمیایی ، ۳ -بیوسولفور + کود گاوی، ٤- بیوسولفور + ورمی کمپوست، ۵- شاهد. نتایج بیانگر اثر معنی دار منابع تغذیه‌ای و دفعات چین بر اکثر صفات مورد مطالعه بود. نتایج آزمایش نشان داد بیشترین مقادیر عملکرد تر و خشک برگ (به ترتیب ۳۲٤۱ و ٦۹۱ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد تر و خشک ساقه (به ترتیب ۸۳۵ و ۲۱۱ کیلوگرم در هکتار) با کاربرد تلفیقی کود زیستی بیوسولفور با کود شیمیایی به دست آمد. همچنین بیشترین مقادیر عملکرد تر و خشک مجموع اندام هوایی در تیمار کود زیستی بیوسولفور با کود شیمیایی مشاهده شد (به ترتیب ٤۰۷٦ و ۸۹۳ کیلوگرم در هکتار). کاربرد منفرد کود بیوسولفور

نسبت برگ به ساقه را در گیاه گشنیز افزایش داد، به طوری که بیشترین نسبت برگ به ساقه در چین اول در تیمار کود بیوسولفور مشاهده شد. همچنین شاخص های مذکور در چین دوم در حداکثر مقادیر خود بودند. به طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که مصرف تلفیقی کودهای زیستی بیوسولفور با سایر کودها به خصوص کود زیستی بیوسولفور با کود شیمیایی باعث بهبود عملکرد اندام رویشی و درصد و عملکرد اسانس گیاه دارویی گشنیز شد (اقحوانی شجری و همکاران، ۱۳۹۰).

جهت مطالعه اثر تیوباسیلوس، گوگرد و ماده آلی بر رشد رویشی و تولید اسانس در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) آزمایشی انجام شد که تیمارهای آزمایشی شامل ۱۰ تیمار به شرح ۲۰۰، ٤۰۰ و ٦۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد، ترکیب گوگرد با تیوباسیلوس به میزان ٦٪ وزنی این مقادیر، ترکیب گوگرد و تیوباسیلوس با ماده آلی به میزان ٥٪ وزنی مقادیر مذکور و تیمار شاهد در ۳ تکرار بودند. نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان داد که تفاوت های معنی داری در مورد عناصر ریزمغذی مس، روی، آهن و منگنز موجود در خاک گلدان ها پس از برداشت و همچنین وزن تر، وزن خشک، تعداد شاخه جانبی و میزان اسانس در بین تیمارهای به کار رفته وجود داشت. بیشترین مقادیر مس و منگنز قابل جذب موجود در خاک پس از برداشت، وزن تر و خشک گیاه در آغاز گلدهی و تعداد شاخه جانبی؛ در تیمار ٤۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد + تیوباسیلوس + ماده آلی و کمترین این مقادیر در تیمار شاهد بدست آمد. با توجه به تحقیقات اندک در زمینه تاثیرگذاری عنصر گوگرد بر تولید اسانس، در این آزمایش مشاهده گردید که بیشترین میزان اسانس تولیدی در تیمارهای ٤۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد + تیوباسیلوس + ماده آلی و ٦۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد + تیوباسیلوس + ماده آلی، به دست آمد (یادگاری و برزگر، ۱۳۸۹).

جهت بررسی تاثیر کود بیولوژیک بر تأمین عناصر کم مصرف مورد نیاز گیاه کلزا، آزمایشی گلخانه ای با ۱۵ تیمار شامل ۵ سطح گوگرد عنصری (۲۰۰، ٤۰۰، ٦۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ کیلوگرم در هکتار) و ۳ سطح تیوباسیلوس (بدون مایه تلقیح، ۵ و ۱۰ گرم مایه تلقیح در ٦ کیلوگرم خاک گلدان، با جمعیت ۱۰۷ باکتری در گرم مایه تلقیح) به اجرا در آمد هدف از اجرای این پژوهش بررسی اثر اکسایش گوگرد در حضور باکتری اکسیدکننده گوگرد و قابلیت جذب عناصر میکرو تعیین و مقدار عناصر جذب شده در تیمارها بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارها از نظر غلظت آهن، روی، مس و منگنز تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود داشت. اثر متقابل گوگرد و باکتری تیوباسیلوس در غلظت عناصر آهن، روی و مس گیاه در سطح ۱٪ و غلظت منگنز در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. متوسط غلظت آهن، روی، مس و منگنز در تیمارهای بدون تلقیح به ترتیب ۷٤۵/۵، ۲۳، ۲۲/۲۳ و ۱۲۲/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم بود در حالیکه این مقدار در تیمارهای تلقیح شده به ترتیب ۹۱۸/٤، ۳۱/۸، ۲۹ و ۱۳٤/۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بود و به ترتیب ۱/۵، ۲، ۲ و ۰/۵۷ برابر افزایش عملکرد نشان دادند (زرنگار و همکاران، ۱۳۹۱).

محنت کش (۱۳۸۲) به منظور بررسی مصرف گوگرد و تیوباسیلوس و ماده آلی بر عملکرد کمی و کیفی کلزا آزمایشی به مدت دو سال اجرا کردند. نتایج نشان داد که مصرف گوگرد به همراه تیوباسیلوس تا سطح ۹۱۱ کیلوگرم در هکتار باعث افزایش عملکرد دانه گردید ولی از لحاظ درصد روغن بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. رضوی‌پور و صبوری (۱۳۸۲) گزارش کردند که استفاده از کود گوگرد چه به شکل پودری و چه به شکل پودری تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس در افزایش ارتفاع ساقه، عملکرد دانه و درصد روغن کلزا نقش مؤثری ندارد.

۲-۸- تأثیر گوگرد بر خصوصیات فیزیولوژیک سویا

نقش گوگرد در گیاهان، به طور عمده ساخت پروتئین و روغن و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی است و به همین دلیل عنصر بسیار مهمی برای دانه‌های روغنی می‌باشد. در سال‌های گذشته، به دلیل آلودگی زیاد هوا، مقدار بیشتری گوگرد از طریق اتمسفر و هم چنین قارچ کش‌های حاوی گوگرد، وارد خاک می شد و کمبود آن کمتر مشاهده می شد، ولی در سال‌های اخیر با کاهش باران‌های اسیدزا، حذف این منابع گوگردی، استفاده از محصولات پر نیاز به عناصر غذایی و کشاورزی متمرکز، کمبود این عنصر در مناطقی از جهان تشدید شده است. گوگرد، عنصری حیاتی برای تغذیه گیاهان است و نقش آن برتر از فسفر می باشد. گوگرد عنصری است که پس از اکسایش در خاک علاوه بر نقش تغذیه‌ای مستقیم، می-تواند بدلیل کاهش موضعی pH و تولید اسید سولفوریک، به طور غیر مستقیم نیز بر افزایش جذب فسفر و دیگر عناصر غذایی کم مصرف خاک مؤثر واقع شود. امروزه گوگرد متداول‌ترین و اقتصادی‌ترین ماده-ای است که برای اسیدی کردن خاک به کار می رود (رشیدی و کریمیان، ۱۳۷۸).

مودایهش و همکاران (۱۹۸۹) به منظور بررسی اثر گوگرد بر قابلیت دسترسی عناصر غذایی در خاک های آهکی، به سه خاک آهکی که از نظر مقدار فسفر و عناصر کم مصرف با یکدیگر متفاوت بودند، مقادیر مختلف گوگرد اضافه کردند، نتایج آنها نشان داد که در هر سه نوع خاک مقدار آهن، مس و منگنز قابل دسترس افزایش یافت. کاچهاو و همکاران (۱۹۹۷) در یک آزمایش مزرعه‌ای مصرف منابع مختلف گوگرد نشان دادند که جذب فسفر در نخود با افزایش مقدار گوگرد افزایش می‌یابد. کلباسی و همکاران (۱۹۸۸) در آزمایشی نشان داد ند که مصرف گوگرد یک روش مؤثر و ارزان برای رفع کلروز، افزایش جذب عناصر غذایی و افزایش عملکرد در خاک های آهکی است.

۲-۸-۱- مقدار گوگرد مورد نیاز

اگر چه مصرف بهینه گوگرد می‌تواند در خاک‌های آهکی منجر به افزایش میزان فسفر قابل جذب خاک و جذب آن توسط گیاه گردد ولی مصرف بیش از اندازه گوگرد با تبدیل مقدار زیادی از کربنات کلسیم خاک به گچ باعث افزایش شوری خاک و غلظت بالای یون کلسیم در محلول خاک می‌شود. غلظت بالای یون کلسیم در محلول خاک نیز با تبدیل یون‌های فسفات به صورت فسفات‌های مختلف کلسیم منجر به کاهش غلظت فسفر قابل جذب خاک می‌گردد. بنابراین تعیین دقیق مقدار گوگرد مورد نیاز به منظور اجتناب از به هم خوردن تعادل عناصر غذایی در خاک امری لازم و ضروری است. مقدار مصرف بهینه گوگرد نیز به نوبه خود به خصوصیات شیمیایی خاک مانند میزان گچ، آهک، pH و هیدروکسیدهای آهن و آلومینیم، ظرفیت خاک و طبیعت میزالوژیکی و بافری آن که باید برای هر نوع خاک و در هر منطقه با توجه به شرایط آب و هوایی آن منطقه با آزمایشات مزرعه‌ای تعیین گردد، بستگی دارد (بابایی و همکاران، ۱۳۹۱).

امروزه، بیش از هر زمان دیگر، تأمین نیاز گیاهان به عناصر غذایی کافی به منظور تضمین تولید محصول و در نتیجه تأمین امنیت غذایی جامعه بشری، اهمیت دارد. کشاورزان به طور مداوم در تلاش‌اند تا با رفع کمبودهای این عناصر و استفاده بهینه از مصرف کود، تولید محصول را به حد پتانسیل ژنتیکی نزدیک کنند (بابایی و همکاران، ۱۳۹۱).

۲-۸-۲- نقش تیوباسیلوس در تأمین گوگرد

اکسیداسیون گوگرد در خاک توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های خاکزی صورت می‌گیرد که باکتری‌های جنس تیوباسیلوس مهمترین آنها محسوب می شوند. این باکتریها با اکسایش گوگرد در خاک‌های آهکی و قلیایی، می‌توانند در کاهش واکنش خاک و اصلاح خاک، تأمین سولفات مورد نیاز گیاه، انحلال برخی از عناصر غذایی و افزایش قابلیت جذب آنها موثر واقع شوند (بشارتی، ۱۳۸٦). تیوباسیلوس، گروهی از باکتریهای گرم منفی می باشند که انرژی مورد نیاز خود را از طریق اکسیداسیون ترکیبات غیرآلی گوگرددار تأمین می‌نمایند. این باکتری‌ها قادر به اکسیداسیون ترکیبات آهن‌دار می باشند. تیوباسیلوس‌ها نقش بسیار مهمی در جلوگیری از آبشویی ترکیبات معدنی به خصوص گوگرد داشته و منجر به بازگشت ترکیبات فلزی می شوند (دوناتی و همکاران، ۱۳۷۹).

۲-۹- مرور مطالعات مربوط به تأثیر تیوباسیلوس و گوگرد بر رشد سویا

آزمایشی به منظور بررسی اثر بخشی خاک فسفات به همراه گوگرد و مایه تلقیح باکتری های تیوباسیلوس بر عملکرد کمی و کیفی سویا و اثرات باقی مانده آن گیاه بر گیاه ذرت، توسط نورقلی‌پور و همکاران (۱۳۸۵) انجام گرفت. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از: T1 به عنوان شاهد، T2 سوپر فسفات تریپل (۶۷.۵ kg ha^{-1} p_2o_5)، T3 خاک فسفات (۱۱۲.۵ kg ha^{-1} p_2o_5)، T4 خاک فسفات و گوگرد، T5 خاک فسفات، گوگرد و مایه تلقیح تیوباسیلوس و T6 خاک فسفات، گوگرد و کود دامی انتخاب شدند. نتایج آزمایش بر روی گیاه سویا نشان داد که با کاربرد کود سوپر فسفات تریپل نسبت به شاهد، عملکرد افزایش یافت ولی این افزایش در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود. با کاربرد کود سوپر فسفات تریپل نسبت به

شاهد، عملکرد افزایش یافت ولی این افزایش در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود. با کاربرد خاک فسفات نیز این افزایش مشاهده گردید ولی اثر آن کمتر از سوپر فسفات تریپل بود. در تیمار چهارم عملکرد نسبت به شاهد کاهش یافت. در تیمار پنجم عملکرد نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان داد ولی تفاوت با تیمارهای T3 و T2 در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود. عملکرد در تیمار T6 نسبت به شاهد کاهش یافت. از لحاظ درصد روغن دانه، اختلاف بین تیمارهای مختلف در سطح ۵٪ معنی دار نگردید. در سال دوم اجرای آزمایش در گیاه ذرت، بیشترین مقدار علوفه تر از تیمار پنجم به مقدار ۶۷۱۹۰ کیلوگرم بر هکتار به دست آمد که تنها با تیمار ششم در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار بود. بین تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ مشاهده نشد. در تیمار دوم (سوپر فسفات تریپل) عملکرد نسبت به شاهد افزایش یافت ولی این افزایش معنی‌دار نبود.

قربانی نصرآبادی و همکاران (۱۳۸۱) طی آزمایشی بر روی سویا گزارش کردند در صورت کاربرد همزمان گوگرد و کود میکروبی تیوباسیلوس، میانگین وزن دانه، وزن غلاف، و عملکرد بیولوژیک در تمام سطوح گوگرد نسبت به شاهد بدون گوگرد و یا تیمارهای گوگردی بدون تیوباسیلوس افزایش می یابد. اثرات مثبت تلقیح توام ازتوباکتر و رایزوبیوم بر گره بندی سویا، ماش و شبدر معنی دار گزارش شده است (یورنز و همکاران، ۱۹۸۱).

بالا بودن میزان آهک خاک علاوه بر نقشی که بر pH خاک دارد می‌تواند به صورت مستقیم یا غیر مستقیم بر قابلیت استفاده عناصر غذایی مورد نیاز گیاه تأثیر بگذارد. اکسیداسیون گوگرد با تولید اسید سولفوریک می تواند سبب محلولیت عناصر خاک و در نتیجه انحلال و آزاد شدن برخی عناصر غذایی شود. به منظور بررسی تأثیر کود pH باعث کاهش میکروبی گوگرد بر عملکرد و جذب عناصر غذایی توسط سویا و

برای تعیین دقیق مقدار گوگرد مورد نیاز به منظور اجتناب از به هم خوردن تعادل عناصر غذایی در خاک یک آزمایش با سه تیمار در قالب طرح بلوک های کامل در سه تکرار در ایستگاه تحقیقات قراخیل استان مازندران به صورت مزرعه‌ای انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان عناصر در برگ سویا، نمونه برگ در زمان گلدهی تهیه و پس از کامل شدن دورهٔ رشد گیاه، میزان عملکرد نیز محاسبه شد. نتایج نشان داد که اثر سطوح گوگرد بر عملکرد دانه و غلظت فسفر در برگ در سطح ۱٪ معنی دار است و بیشترین میزان عملکرد از مصرف سه تن گوگرد در هکتار بدست آمد. نتایج نشان داد که گوگرد اثر معنی‌داری بر افزایش غلظت آهن، منگنز، روی و مس برگ دارد و بیشترین غلظت این عناصر از مصرف سه تن گوگرد در هکتار بدست آمد که به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. افزایش سطوح گوگرد باعث کاهش pH خاک شد (بابایی و همکاران، ۱۳۹۱).

به منظور بررسی تاثیر کاربرد کودهای بیولوژیک باکتریایی حل کننده‌ی فسفر و گوگرد و محلول‌پاشی عنصر روی بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا رقم TMS پژوهشی در سال ۱۳۸۹ اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل عامل محلولپاشی روی در دو سطح صفر و ۵، کاربرد باکتری حل کننده فسفر در دو سطح کاربرد و عدم کاربرد و تیمار باکتری حل کننده گوگرد در دو سطح کاربرد و عدم کاربرد اجرا شد. پس از رسیدگی ارتفاع بوته، تعداد گره، تعداد غلاف در هر گیاه، تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، درصد پروتئین و روغن دانه تعیین گردیدند. بالاترین عملکرد دانه (٤١٠٩ کیلوگرم در هکتار) در اثر کاربرد تیمار ترکیب کود زیستی گوگرد و فسفر حاصل گردید. با مصرف تیمار کودی محلول‌پاشی روی و کود زیستی گوگرد حداکثر درصد پروتئین دانه به میزان ٧٦٪ به دست آمد. عملکرد

دانه با عملکرد پروتئین دانه، تعداد غلاف و وزن هزار دانه رابطه مستقیمی نشان داد (علیجانی و همکاران، ۱۳۹۰).

سپهوند (۱۳۸۲) در بررسی اثر مصرف مقادیر مختلف گوگرد (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ ۵۰۰ و ۱۰۰۰ کیلوگرم بر هکتار)، همزمان با کاشت بر عملکرد دانه و کیفیت و درصد پروتئین (دانه سویا) رقم کلاک در دشت الشتر (در استان لرستان) گزارش کرد تأثیر تیمارهای گوگرد بر عملکرد دانه سویا در سطح ۱٪ معنی دار اما بر درصد روغن و پروتئین دانه معنی‌دار نشده است. در تحقیقی باو (۱۹۹۸) گزارش کرد عملکرد محصولات روغنی با افزایش مقدار گوگرد تا حدی به طور خطی افزایش یافت و در سطوح بیشتر گوگرد، میزان افزایش عملکرد در سویا کاهش می‌یابد.

۲-۱۰- همزیستی سویا و رایزوبیوم

بدون شک تثبیت بیولوژیک نیتروژن (BNF) بهترین و مهم‌ترین راهی است که خاک بطور طبیعی از نیتروژن سرشار می‌شود. در طی این فرآیند بیولوژیک که توسط گونه‌های متعددی از میکروارگانیسم‌های پروکاریوت و به کمک سیستم آنزیمی نیتروژناز صورت می‌گیرد سالانه بطور طبیعی مقادیر زیادی نیتروژن اتمسفری (حدود ۱۷۰ میلیون تن) به اکوسیستم‌های طبیعی وارد می شود. این نیتروژن عمدتا به فرم آلی می باشد که هیچ یک از مشکلات اقتصادی و زیست محیطی ناشی از مصرف نامتعادل کودهای شیمیایی نیتروژنه را به همراه ندارد. در این میان سیستم همزیستی لگوم - ریزوبیوم از اهمیت ویژه ای برخوردار است زیرا حدود ۵۰ درصد کل تثبیت نیتروژن را در سطح جهانی بر عهده دارد وارزش اقتصادی این مقدار نیتروژن را سالانه بالغ بر ۸۵ میلیارد دلار تخمین زده اند (پیپلز و همکاران، ۱۹۹۵؛

استیسی و همکاران، ۱۹۹۲). روی ریشه سویا نوعی باکتری همزیست بنام *Bradyrhizobium japonicum*مشاهده می‌شود. باکتری‌های ریزوبیوم، کربوهیدرات‌ها و سایر مواد غذایی را از آوند آبکشی گرفته و انرژی دریافتی را صرف تبدیل نیتروژن هوا به یون آمونیوم و در نهایت اسیدهای آمینه می‌کند. مقداری از نیتروژن تولید شده که مازاد مصرف باکتری است در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و مقداری نیتروژن هم از تجزیه بافت گره‌های مرده (قطع در اثر پیری و رشد ثانویه ریشه) آزاد گردیده و در اختیار گیاه قرار می‌گیرد (ملازاده، ۱۳۸٦).

استفاده از رابطه همزیستی سویا با باکتری رایزوبیوم از مناسب‌ترین راهکارها برای تامین بخش زیادی از نیتروژن مورد نیاز این گیاه می‌باشد و جزء اصول اولیه کشاورزی ارگانیک می‌باشد. از مزایای استفاده از این رابطه بالقوه می‌توان به نکاتی مانند عدم ایجاد آلودگی در محیط زیست، قیمت ارزان، کاربرد آسان و ...اشاره کرد.اما مسئله این است که به دلایلی از این توانائی به خوبی بهره‌برداری نمی‌شود. برای مثال لیندمن و گلاور (۲۰۰۳) گزارش گردند در صورتی که در یک زمین برای اولین بار سویای تلقیح شده با باکتری کشت شود امکان عدم گره‌بندی به دلیل کمبود باکتری‌های بومی وجود دارد.

رحمانی و صالح راستین (۱۳۸۱) اعلام کردند که انجام و کارائی فرآیند تثبیت نیتروژن در گیاهان بقولات از جمله سویا، به رقم، سویه باکتری همزیست و عوامل محیطی بستگی دارد. از این رو هر گونه تنش محیطی مانند تنش خشکی، شوری، دما (پایین و بالا)، سموم کشاورزی، غرقاب، کمبود یا زیادی عناصر غذائی، مواد آللوپاتیک و .... می‌توانند تثبیت نیتروژن را به شدت کاهش داده و یا کلاً مختل نمایند.

گونه ریزوبیومی که میزبان اختصاصی سویا است برادی رایزوبیوم ژاپونیکوم نام دارد (خلدبرین و اسلام زاده، ۱۳۸۰). استفاده از این باکتری یکی از راه‌هایی است که می‌توان برای تغذیه و بهبود رشد محصول

بعلاوه حفظ بهداشت محیط زیست به آن امیدوار بود. رابطه همزیستی لگوم هایی نظیر سویا با باکتری های تثبیت کننده ازت مولکولی و مصرف بسیار کم کود ازته سبب افزایش بازده محصول می‌شود. از نظر اقتصادی و زیست محیطی نیز استفاده از این توانایی سویا - ریزوبیوم قابل توجیه است.

۲-۱۰-۱- تأثیر رایزوبیوم در رشد سویا

سویا از جمله گیاهانی است که برای تولید محصول احتیاج به مقادیر فراوانی نیتروژن دارد بطوریکه این نیاز برای هر تن محصول حدود ۱۰۰ کیلو گرم در هکتار بر آورد شده است. به عقیده محققین در صورتی که سیستم همزیستی در این گیاه به کارآیی بالایی رسانده شود، سویا از جمله لگوم‌هایی است که به کود نیتروژنه پاسخ مثبت نشان نمی‌دهد. به عبارت دیگر این همزیستی توان لازم را دارد که بخش عمده نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق تثبیت بیولوژیک نیتروژن تامین نماید (کریسر و لی، ۱۹۹۲).

در برخی مطالعات توانایی این همزیستی در تأمین نیتروژن مورد نیاز سویا تا ۹۵ درصد نیز گزارش شده است (پیپلز و همکاران، ۱۹۹۵). این در حالی است که امروزه در کشور سالانه مقادیر متنابعی کود نیتروژنه در زراعت گیاهان لگوم، از جمله سویا، بکار برده می‌شود که با توجه به مطالب فوق لازم است تداوم این امر، هر چه سریع‌تر از طریق بررسی و شناخت تنگناهای احتمالی و رفع آنها در کشت و زراعت این گیاهان، متوقف گردد.

زمانی که گیاه در محیط فاقد عناصر معدنی قرار می‌گیرد، ارتباطات همزیستی می‌تواند مفید باشد و موجب رشد گیاه شود، ولی در خاک‌های کشاورزی حاوی کود این فوائد وجود ندارد، زیرا مواد مغذی به آسانی در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و همزیستی موجب کاهش رشد گیاه می‌شود. برهمکنش میان ریشه

گیاه و ارگانیسم‌ها در ریزوسفر سبب جذب مواد مغذی ضروری و مانع تجمع مواد سمی می‌شود (وایت، ۲۰۰۳).

باکتری‌های محرک رشد از طریق تأثیر بر فیزیولوژی و مورفولوژی ریشه گیاهان تلقیح شده موجب افزایش جذب عناصر و رشد بیشتر گیاهان می‌شوند. اکثر تحقیقات انجام شده روی باکتری‌های دیازوتروف آزاد زی بوده و تعداد کمی نیز روی باکتری‌های همزیست ریزوبیوم متمرکز بوده است (نوئل و همکاران، ۱۹۹٦). تحقیقات نشان داده است که سویه‌های مختلف ریزوبیوم و برادی ریزوبیوم، آثاری مشابه با باکتری‌های محرک رشد را در همزیستی با گیاهان غیر لگوم از خود نشان داده‌اند و غده‌های تشکیل شده از این باکتری‌ها، تولید فیتوهورمون، سیدروفور و HCN کرده‌اند. همچنین این باکتری‌ها از خود آثار آنتاگونیسمی در برابر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی نشان داده اند (آنتون و بیوچامپ، ۱۹۹۸). افزایش عملکرد در گیاهان تلقیح شده عمدتاً به خاطر تولید مواد محرکه رشد توسط باکتری‌های همزیست با ریشه است که البته حضور آنها در رابطه با جذب مواد غذایی و آب نیز بسیار مؤثر است (پریرا و همکاران، ۱۹۸۸).

۲-۱۱- مرور مطالعات مربوط به تأثیر ریزوبیوم بر رشد و عملکرد سویا

در مطالعه‌ای برهمکنش های سه گونه از باکتری های حل کننده فسفات و بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم بر عملکرد و جذب P، Fe، Mn، Cu و Zn در سویا (*Glycin max* L. CV. Harcor) در شرایط گلخانه-ای مورد مطالعه قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل شامل چهار سطح باکتری حل کننده فسفات (بدون باکتری M0 و سه گونه باکتری با پتانسیل انحلال نسبی زیاد M1، M2 و M3)، دو سطح

باکتری بردی ریزوبیوم (بدون باکتری B_0 و با باکتری B_1) و سه سطح کود فسفره ($P_0 = 0$، $P_1=29$ و $P_2=58$ میلی گرم سوپر فسفات تریپل بر کیلوگرم خاک) در چارچوب طرح بلوک های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. باکتری های حل کننده فسفات به طور متوسط، وزن خشک، غلظت فسفر، آهن، روی و مس در بخش هوایی گیاه را به ترتیب ۱۵٦، ۳۰، ۹/۳، ٦ و ۸.۳ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. عامل بردی ریزوبیوم بر تمام ویژگی های ذکر شده و وزن دانه تاثیر معنی‌دار مثبت ($P<0.05$) داشت. برهمکنش‌های دو عامل فوق بر وزن خشک، درصد فسفر و غلظت آهن بخش هوایی گیاه معنی-دار بود. افزایش سطوح کود فسفره نیز وزن خشک ، غلظت فسفر و وزن دانه در بوته را به طور متوسط به ترتیب ١٤، ١٥ و ٢٢ درصد نسبت به شاهد، افزایش و غلظت روی را ٥/٥ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. بیشترین مقدار فسفر در بخش هوایی گیاه در بالاترین سطح کود فسفره (P_2) مشاهده گردید ولی وزن خشک بخش هوایی گیاه در سطح P1 و در حضور باکتری حل کننده فسفات تفاوت معنی داری با سطح P2 آن نداشت. بنابراین، از دیدگاه ضرورت کاهش مصرف کود شیمیایی، می توان بیان نمود که نیاز به مصرف کود فسفره در سویا در حضور باکتری حدوداً ٥٠ درصد کاهش می یابد (راثی پور و علی اصغرزاده، ١٣٨٤).

به منظور ارزیابی عملکرد دانه، درصد پروتئین و درصد روغن رقم کلارک سویا در شرایط تنش خشکی و همچنین کارآیی نژادهای مختلف باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم، آزمایشی در دو سال زراعی ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳ اجرا شد. تیمارهای آبیاری شامل سه سطح تنش خشکی، تنش ملایم (۸۵٪ نیاز آبی گیاه)، تنش متوسط (۷۰٪ نیاز آبی گیاه)، تنش سخت (۵۵٪ نیاز آبی گیاه) و آبیاری مطلوب (شاهد) به عنوان عامل اصلی و سه نژاد باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم به نام های هلی نیترو، ریزوکینگ، نیتراژن و تیمار بدون

تلقیح با باکتری (شاهد) به عنوان سطوح عامل فرعی، منظور گردیدند. صفات مورد بررسی در این تحقیق شامل عملکرد دانه، درصد روغن دانه، عملکرد روغن دانه در واحد سطح، درصد پروتئین دانه و عملکرد پروتئین دانه در واحد سطح بودند. نتایج نشان داد که عملکرد دانه و درصد روغن و درصد پروتئین دانه در شرایط مطلوب آبیاری و تنش خشکی، معنی‌دار گردید. نژادهای مختلف باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم دارای عکس العمل متفاوتی بودند. در شرایط آبیاری مطلوب، نژاد هلی نیترو با تثبیت بیشتر نیتروژن، عملکرد دانه و درصد پروتئین بالاتر و درصد روغن کمتری را تولید نمود، اما با توجه به عملکرد دانه بیشتر، افزایش عملکرد روغن در مترمربع حاصل شد. با اعمال تنش خشکی به دلیل کاهش تثبیت نیتروژن، عملکرد دانه کاهش و درصد روغن افزایش یافت و با توجه به کاهش بیشتر عملکرد دانه، عملکرد روغن در واحد سطح، کاهش یافت. تحت شرایط تنش خشکی ملایم و متوسط نژاد ریزوکینگ از کارآیی بیشتری برخوردار بود، در تنش سخت به دلیل کاهش شدید تولید مواد فتوسنتزی گیاه و کاهش اکسیژن مورد نیاز تنفس گره‌های ریشه، تفاوت معنی‌داری در بین نژادهای باکتری مشاهده نشد. در مجموع با کاهش رطوبت مورد نیاز سویا در خاک، عملکرد دانه، عملکرد روغن و پروتئین دانه در مترمربع کاهش یافت که به دلیل کاهش نیتروژن موجود در گیاه و در نتیجه کاهش تولید مواد فتوسنتزی در گیاه بود (فرنیا و مدنی، ۱۳۸۹).

در آزمایشی اثرات تلقیح ٦ سویه مختلف باکتری برادی ریزوبیوم (شامل مایه تلقیح های سویای تولید داخل، RS150، RS151، RS152، RS154 و Nitrogen-Italia) با بذر گیاه سویا رقم JK، بر جذب میکروالمنت ها در اندام هوایی گیاه و در نتیجه عملکرد گیاه در شرایط مزرعه ای مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله ۵۰ درصد گل دهی از تیمارها نمونه برگ تهیه و میزان آهن، مس، روی و منگنز آن ها

اندازه گیری و در مرحله برداشت نیز میزان عملکرد گیاه تعیین گردید. اندازه گیری و مقایسه جذب و تجمع آهن، مس، روی و منگنز در برگ نشان داد که تلقیح باکتری های برادی‌ریزوبیوم بر میزان عناصر موجود در برگ‌ها نسبت به شاهد تاثیر معنی‌داری داشته است. همچنین مقایسه عملکرد گیاه شاهد با تیمارهای مختلف نشان داد اثر تلقیح باکتری‌های مورد استفاده بر عملکرد سویا معنی‌دار بوده است. بنابراین استفاده از کودهای بیولوژیکی در بهینه سازی مصرف کود در کشاورزی بوم شناختی حایز اهمیت بوده و ضمن افزایش عملکرد و تاکید بر کاهش اثرات زیست محیطی، می توانند جایگزین خوبی برای کودهای شیمیایی باشند (پورآذردخت و همکاران، ۱۳۸۸).

مطالعه‌ای با هدف مقایسه توان همزیستی سه رقم اصلی سویای کشور؛ سحر، ویلیامز و کلارک ۶۳ در همزیستی با یک سویه کاملاً مؤثر باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم در خاک فاقد باکتری بومی همزیست و دارای نیتروژن کم در شرایط مناسب اتاق رشد با چهار تکرار انجام گرفت. به منظور بررسی مقادیر نیتروژن مولکولی تثبیت شده به روش ایزوتوپی نیتروژن-۱۵ به گیاهان تثبیت کننده و مرجع، به ترتیب سولفات آمونیوم نشاندار با غنای ۹/٦۱٦ و ۲/۰۸٦ درصد اتم نیتروژن ۱۵ اضافی در مقادیر ٦/٦۷ و ۳۰/۳۳ میلی گرم در کیلوگرم داده شد. بر اساس نتایج حاصل، رقم سحر نسبت به دو رقم ویلیامز و کلارک - ٦۳، در اکثر شاخص‌های معتبر از جمله مقدار نیتروژن حاصل از هوا در گیاه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک غده های ریشه‌ای و وزن خشک کل گیاه، برتری معنی‌داری نشان داد. در هر سه رقم سویا بالغ بر۹۰ درصد نیاز نیتروژن از طریق همزیستی تامین شد. تفاوت ارقام سویا برخلاف شاخص «درصد نیتروژن حاصل از هوا در گیاه» در شاخص «مقدار نیتروژن جذب شده از هوا در گیاه» معنی‌دار و معلوم شد (پیرولی بیرانوند و همکاران، ۱۳۸۵).

۲-۱۲- تأثیر توأم رایزوبیوم و تیوباسیلوس بر سویا

تشکیل گره و متعاقب آن تثبیت نیتروژن، فاکتورهای مهمی هستند که میزان بهره‌وری و تولید گیاه سویا را تعیین می‌کنند. زمانی که تلقیح گیاه سویا با باکتری برادی‌ریزوبیوم همراه با مصرف و تلقیح باکتری‌های محرک رشد (بویژه باسیلوس‌ها) باشد می‌تواند اثرات مفید و سودمند گره‌زایی را افزایش دهد.

میشرا و همکاران (۲۰۰۹) در آزمایشی تأثیر استفاده از یک نژاد باکتری محرک رشد از جنس باسیلوس به نام *Bacillus thuringiensis*-KR1 که از گره‌های تشکیل شده توسط پیچ Kudzu (*Pueraria thunbergiana*) جدا شده بود وقتی که همراه برادی ریزوبیوم استفاده گردید را بر خصوصیات رشد و فیزیولوژیک سویا مورد بررسی قرار دادند. تلقیح همزمان گیاه سویا با هردو باکتری، بالاترین میزان گره‌زایی، وزن شاخساره، وزن ریشه، حجم ریشه و مقدار زیست توده‌ی کل را نسبت به تیمار شاهد و تیمار استفاده از برادی‌ریزوبیوم به تنهایی، را باعث گردید. بر اساس نتایجی که بدست آوردند پیشنهاد شد که مزایای بالقوه‌ی استفاده از گره‌های تشکیل شده توسط عوامل گره‌زایی غیر از باکتری برادی‌ریزوبیوم که در لگوم‌های وحشی یافت می‌شوند، می‌توانند برای تثبیت نیتروژن و افزایش گره زایی برای تلقیح سویا با برادی‌ریزوبیوم در جهات افزایش تحریک رشد گیاه و رشد باکتری‌ها کمک کنند.

در مطالعه‌ای اثر مصرف گوگرد همراه با مایه تلقیح باکتریهای تیوباسیلوس و برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم بر عملکرد سویا و فرآیند تثبیت نیتروژن مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح گوگرد (S0 تاS3) به ترتیب معادل با ۰ ، ۵۰۰ ، ۱۰۰۰ و۳۰۰۰ کیلوگرم درهکتار، دو سطح باکتری تیوباسیلوس(T0 شاهد و T1 مایه تلقیح تیوباسیلوس) ، دو سطح باکتری برادی ریزوبیوم

(R0 شاهد و R1 تلقیح با برادی ریزوبیوم) بودند. بر اساس نتایج حاصل ، خاک FF (خاک آهکی تهیه شده از مزرعه دانشکده کشاورزی کرج) با وجود داشتن ریزوبیوم بومی نسبت به تلقیح با ریزوبیوم پاسخ مثبت نشان داد. همچنین در هر دو خاک نتایج مثبتی در اثر کاربرد مایه تلقیح تیوباسیلوس حاصل شد. خاک FF در تیمار S2T1R1 و خاک SWRI (خاک آهکی مزرعه موسسه تحقیقات خاک و آب واقع در کرج) در تیمار S3T1R1 بیشترین عملکرد بیولوژیک و تثبیت نیتروژن را داشتند. مصرف توأم مایه تلقیح تیوباسیلوس و برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم غلظت نیتروژن و یا مقدار کل نیتروژن جذب شده درگیاه را نسبت به تلقیح هریک به تنهایی به طور معنی‌دار ($P<0.01$) افزایش داد. چنین اثرات سینرژیستی، در مورد کاربرد همزمان گوگرد با مایه تلقیح‌های تیوباسیلوس و برادی ریزوبیوم بر روی عملکرد بیولوژیک نیز در خاک‌های مورد مطالعه مشاهده گردید (قربانی نصرآبادی و همکاران، ۱۳۸۱).

به منظور بررسی تاثیر تلقیح و عدم تلقیح بذر با تیوباسیلوس و شکل مصرف کود نیتروژن تثبیت شده با برادی‌ریزوبیوم بر عملکرد و اجزای عملکرد سه رقم کلزای پاییزه، آزمایشی توسط شرفی و همکاران (۱۳۸۹) اجرا گردید. تاثیر تلقیح با باکتری تیوباسیلوس بر عملکرد کل و برخی صفات معنی‌دار بود. در تیمار تلقیح بذر با تیوباسیلوس متوسط عملکرد دانه ٤٣٩٠ کیلوگرم در هکتار بود که نسبت به تیمار عدم مصرف ۱۲/۲ درصد افزایش داشت. تاثیر مصرف تیوباسیلوس بر طول ساقه اصلی، تعداد غلاف در ساقه اصلی و شاخه فرعی و تعداد برگ در هر بوته معنی‌دار و روی سایر صفات معنی‌دار نبود. اثرات متقابل بین مصرف و عدم مصرف تیوباسیلوس و رقم برای صفات عملکرد دانه، طول شاخه فرعی و طول غلاف در شاخه فرعی معنی‌دار شد.

به منظور ارزیابی تاثیر گوگرد بر اجزای عملکرد و عملکرد دو رقم سویا تحقیقی با تیمارهای آزمایشی شامل شش سطح گوگرد (۰، ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ تن در هکتار) و دو رقم سویا (سحر و ویلیامز) انجام شد که براساس نتایج حاصل افزایش گوگرد موجب کاهش اسیدیته خاک و افزایش هدایت الکتریکی خاک شد. استفاده از گوگرد تا ۵ و ۱۰ تن در هکتار به ترتیب برای رقم سحر و ویلیامز سبب افزایش وزن خشک گیاه گردید. اما مصرف مقادیر بیشتر گوگرد، سبب کاهش وزن خشک گیاه شد که می تواند به دلیل زیاد شدن هدایت الکتریکی خاک ناشی از مصرف گوگرد باشد. علی رغم زیاد شدن هدایت الکتریکی خاک در تیمار ۱۵ تن گوگرد در هکتار، میزان تثبیت نیتروژن توسط هر دو رقم سویا به دلیل مساعد شدن واکنش خاک ناشی از اکسایش گوگرد، افزایش یافت (امانی و همکاران، ۱۳۸۷).

فصل سوم

مواد و روش‌ها

۳-۱- زمان و محل اجرای آزمایش

این تحقیق در بهار و تابستان سال ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در منطقه بسطام اجرا گردید. شهرستان شاهرود در عرض جغرافیایی ۳٦ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی و طول جغرافیایی ٥٤ درجه و ٥۷ دقیقه شمالی از نصف النهار گرینویچ واقع شده است و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳٤۹ متر است.

۳-۲-ویژگی های آب و هوایی

براساس تقسیم بندی های اقلیمی منطقه بسطام دارای اقلیم معتدل سرد و مرطوب کوهستانی با میزان بارندگی متوسط ۱۸۵ میلی متر و رطوبت نسبی ٦۳ درصد می باشد و بارندگی ها عمدتا در فصل پاییز و بهار رخ می دهد. براساس اطلاعات ایستگاه هواشناسی شاهرود، میانگین سالانه دما در این شهر۱٤/٤ درجه سانتی گراد و براساس اطلاعات ایستگاه تبخیرسنج بسطام میانگین دما در این شهر حدود ۱۲ درجه سانتی گراد است.

۳-۳- مشخصات خاک مزرعه

به منظور تشخیص خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، قبل از عملیات اجرایی طرح از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری خاک نمونه برداری انجام شد و مورد تجزیه قرار گرفت که نتایج حاصله در جدول ۳-۱ نشان داده شده است. مطابق اطلاعات به دست آمده بافت خاک شنی لومی تعیین شد.

جدول ۳-۱ خصوصیات خاک مزرعه

pH	EC dS/m	OC%	N%	P(AV)ppm	K(AV)ppm	Sand%	Silt%	Clay%
۷/۷۹	۷/۵٦	۰/۳۵	۰/۰۲٤	٤/۸۹	۱۷۷	۵۵	۳٤	۱۱

۳-٤- شرح آزمایش

به منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی شامل دو باکتری رایزوبیوم ژاپونیکوم به عنوان گونه همزیست با سویا در تثبیت ازت و تیوباسیلوس به عنوان حل کننده ی گوگرد، همراه با کاربرد کود گوگرد بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی و رشدی سویا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ٤ تکرار طراحی و اجرا گردید. فاکتورها شامل مصرف و عدم مصرف باکتری رایزوبیوم ژاپونیکوم، مصرف و عدم مصرف باکتری تیوباسیلوس، کود گوگرد در ۳ سطح: عدم مصرف، ٦۵ کیلوگرم، ۱۳۰ کیلوگرم در هکتار می‌باشند.

۳-۵- مواد آزمایشی

رقم سویای مورد آزمایش در این مطالعه، رقم M9 می‌باشد که در استان لرستان کشت می شود و از عامل فروش مرکز تحقیقات دانه های روغنی در استان بدست آمده است. کودهای زیستی مورد استفاده

در این تحقیق دو باکتری رایزوبیوم ژاپونیکوم (از شرکت زیستی طبیعت گرا واقع در کرج تهیه شد) و تیوباسیلوس (از شرکت فن آوری زیستی مهر آسیا) بودند.

۳-٦- نقشه آزمایش

آزمایش در چهار تکرار بصورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. نقشه آزمایش (جدول ۳-۲) بصورت زیر اجرا گردید.

جدول ۳-۲- نقشه آزمایش (a= باکتری رایزوبیوم، b= باکتری تیوباسیلوس، c= گوگرد)

a1	a2	a2	a1	a1	a1	a1	a2	a2	a1	a2	a2
b2	b2	b1	b2	b1	b1	b1	b2	b1	b2	b2	b1
c2	c1	c1	c1	c2	c1	c3	c3	c2	c3	c2	c3
a1	a2	a2	a1	a1	a1	a1	a2	a2	a1	a2	a2
a2	a2	a2	a1	a1	a2	a2	a1	a1	a1	a2	a1
b1	b2	b1	b1	b2	b2	b2	b2	b2	b1	b1	b1
c2	c3	c3	c2	c3	c1	c2	c2	c1	c1	c1	c3

a2	a1	a1	a2	a2	a1	a2	a2	a1	a2	a1	a1
b2	b2	b1	b2	b1	b2	b1	b1	b2	b2	b1	b1
c2	c3	c3	c3	c1	c1	c3	c2	c2	c1	c1	c2

b2 c2	b2 c1	b1 c1	b2 c1	b1 c2	b1 c1	b1 c3	b2 c3	b1 c2	b2 c3	b2 c2	b1 c3

۳-۷- آماده سازی زمین

به منظور آماده سازی زمین یک شخم عمیق در پائیز و یک شخم سطحی در بهار زده شد و پس از آن دو بار دیسک عمود بر هم زده و تسطیح شد. به وسیله فاروئر پشته هایی به فواصل ۵۰ سانتی متر ایجاد گردید. سپس اندازه کرت ها در آن مشخص شد و پس از آن جوی های آبیاری تعبیه گردیدند. به منظور عدم اختلاط آب آبیاری تیمارها با یکدیگر بین هر دو تیمار یک خط نکاشت در نظر گرفته شد و محل تیمارهای مورد نظر به صورت تصادفی مشخص شد. همچنین به منظور عدم اختلاط آب هر تکرار با تکرار بعدی، دو جوی در نظر گرفته شد که یکی از آنها به منظور تخلیه آب اضافی تکرار بالایی و دیگری به منظور ورود آب از نهر کنار زمین به تکرار بعدی تعبیه شده بود. گوگرد و باکتری تیوباسیلوس به صورت ردیفی فقط در ردیفهای کشت پس از ایجاد جوی و و پشته در منطقه ریشه پخش شد و به صورت دستی با خاک مخلوط گردید. با احتساب ٤ تکرار برای هر تیمار، در نهایت ٤٨ کرت کوچک بوجود آمد. هر کرت آزمایشی از ٤ ردیف ٦ متری به فواصل ۵۰ سانتیمتر از یکدیگر تشکیل گردید و فاصله بذور روی ردیف ها ۱۰ سانتی متر در نظر گرفته شد.

۳-۸- روش استفاده از باکتری ها

باکتری های مورد استفاده در این آزمایش بصورت مخلوط با بذر استفاده گردید. به این ترتیب که قبل از کاشت تلقیح باکتری ها در غلظت مناسب انجام شد و در سایه به مدت یک ساعت خشک گردید.

۳-۹- کود گوگرد

کرت‌هایی که دارای تیمار گوگرد بود گوگرد به صورت خطی و با دست در محل رشد ریشه قرار داده شد و کرت‌هایی که دارای تیمار گوگرد و تیوباسیلوس بودند گوگرد مخلوط با تیوباسیلوس به صورت خطی در محل رشد ریشه قرار داده شد. باکتری ریزوبیوم هم به صورت تیمار با بذر اعمال شد.

۳-۱۰- کاشت

زمان کاشت خرداد ماه (۱۳۹۲/۳/۲۹) بود. بذر سویا در دمای ۸ تا ۱۰ درجه سانتی گراد خاک می تواند جوانه بزند. ولی بهترین دما برای جوانه زنی آن بین ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد می باشد. بذرها در عمق ۳-۵ سانتی متری کشت شدند.

۳-۱۱- داشت

گیاه سویا در دو مرحله گلدهی و پرشدن دانه نیاز به آب کافی دارد. کمبود آب موجب ریز گل‌ها و تولید دانه های ریز می شود. در این آزمایش آبیاری هر ۷ روز یکبار انجام گردید. بعد از جوانه زنی و ظهور گیاه، در نقاطی که سبز شدن بذور با مشکل مواجه شده بود اقدام به واکاری شد. مبارزه با علف های هرز بصورت دستی و با وجین آنها انجام شد. بدلیل تراکم مناسب کاشت و رشد سریع گیاهچه های سویا در این آزمایش چندان مشکلی از نظر علف هرز وجود نداشت.

۳-۱۲- نمونه‌برداری

نمونه‌برداری در مراحل مختلف رشدی انجام گرفت. برای اندازه گیری شاخص سطح برگ، نمونه برداری در اوج رشد رویشی که بوته بیشترین حجم و ارتفاع را داشت انجام گرفت. در هر بار نمونه برداری حدود نیم متر از بالا و پایین کرت‌ها و دو ردیف از طرفین هر کرت حذف گردید تا اثر حاشیه حذف شود.

۳-۱۳- صفات مورد مطالعه

برای اندازه گیری صفاتی مانند تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، ارتفاع بوته، شاخص برداشت و عملکرد بیولوژیک نمونه برداری در آخر انجام شد، بدین ترتیب که پس از اینکه برگها خشک شد و بیشتر از ۹۰ درصد غلافها تغییر رنگ داد (قهوه ای و زرد شدن غلاف) نمونه برداری انجام گردید و از هر کرت ۵ بوته برداشت شد.

۳-۱۳-۱- اندازه گیری درصد پروتئین و روغن

نمونه‌های برداشت شده به مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفته و بعد از آسیاب کردن، خصوصیات کیفی (روغن و پروتئین) تعیین گردید.

درصد پروتئین و درصد روغن دانه ها اندازه گیری شد که برای اندازه گیری آنها به ترتیب از روش کجدال و روش سوکسوله استفاده شد. اساس روش کجلدال این است که هر ۱۰۰ گرم پروتئین دارای ۱۶ گرم نیتروژن می باشد و نسبت پروتئین به نیتروژن ۱ به ۶/۲۵ محاسبه می کنند. در این روش با اندازه گیری میزان نیتروژن پروتئین ها و ضرب کردن در عدد ۶/۲۵، میزان پروتئین را محاسبه می کنند.

برای اندازه گیری درصد روغن ابتدا بالن را در ۱۰۳درجه ی سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت قرار می دهیم و بعد آن را وزن میکنیم. میزان ۵ گرم از نمونه را وزن کرده و در تیمبل می‌پیچیم سپس در قسمت استخراج کننده‌ی دستگاه قرار می‌دهیم از حلال پترولیوم اتر برای استخراج استفاده می‌کنیم. به مدت ۸-۱۶ساعت دستگاه سوکسله را روشن کرده تا تمامی چربی استخراج شود. بعد حلال را استخراج کرده و میزان روغن را محاسبه می‌کنیم.

۳-۱۳-۲- اندازه گیری کلروفیل

برای استخراج و اندازه گیری کلروفیل، ۲/۵ گرم از بافت برگ وزن و در هاون چینی قرار داده شد. پس از افزودن مقداری استون ۸۰ درصد ، برگ کاملاً ساییده شده و حجم آن با استون ۸۰ درصد به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد . محلول حاصل با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول فوقانی برای اندازه گیری کلروفیل استفاده شد. مقداری از نمونه داخل بالن در کووت دستگاه طیف نور سنج۲ که قبلاً با استون ۸۰ درصد تنظیم شده بود، ریخته شد و سپس به طور جداگانه در طول

[2] Spectrophotometery

موج های ٦٦٣ نانومتر برای کلروفیل a و ٦٤٥ نانومتر برای کلروفیل b و قرائت گردید (گنکالوس و همکاران، ۲۰۰۹).

برای محاسبه ی میزان کلروفیل a و b از فرمول های زیر استفاده گردید (بر حسب میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر نمونه):

Chl a =۲۵/۳۸ (جذب در ٦٦٣) + ۳/٦٤ (جذب در ٦٤٥) × حجم /۱۰۰× وزن نمونه

Chl b = ۳۰/۳۸ (جذب در ٦٤٥) + ٦/٥٨ (جذب در ٦٦٣) × حجم /۱۰۰× وزن نمونه

Chl = [۲۰/۲ (جذب در ٦٤٥) + ۸/۰۲ (جذب در ٦٦٣) × حجم /۱۰۰× وزن نمونه

۳-۱۳-۳- شاخص سطح برگ

برای تعیین شاخص سطح برگ (LAI) بعد از جداسازی برگ های ۵ بوته ، به وسیله دستگاه اندازه گیری سطح برگ، اندازه گیری انجام شد.

۳-۱٤- تجزیه آماری داده ها

در این تحقیق تجزیه واریانس اعداد خام با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد و سپس مقایسه میانگین صفات مورد بررسی به روش آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت. مرتب سازی داده ها و رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام شدند.

فصل چهارم

نتایج و بحث

٤-١- نتایج جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها

٤-١-١- تعداد غلاف در بوته

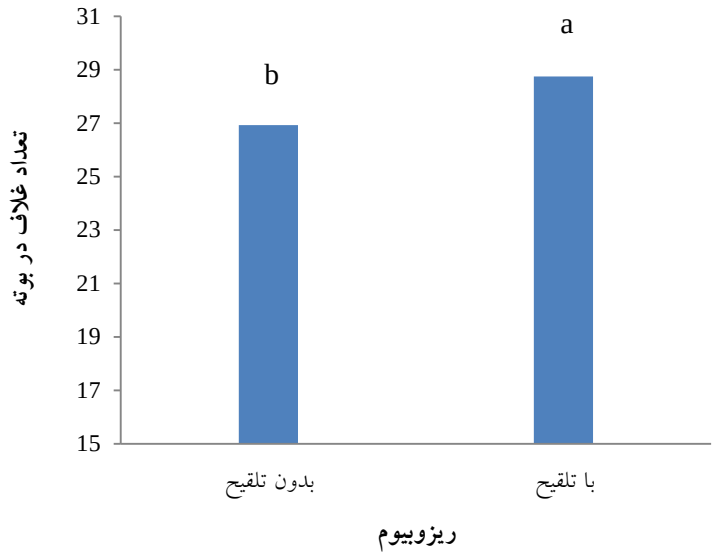
تعداد غلاف در بوته سویا یکی از اجزای مهم عملکرد سویا می‌باشد. از آنجا که تعداد غلاف در بوته یکی از عوامل مرتبط با رشد می‌باشد، هر عاملی که باعث افزایش عملکرد سویا شود بر این ویژگی نیز اثر خواهد گذاشت. تعداد غلاف در بوته تحت تاثیر اثر اصلی رایزوبیوم در سطح ۵ درصد و تیوباسیلوس در سطح ۱ درصد تغییرات معنی‌داری نشان داد. اثر اصلی گوگرد و هیچ یک از اثرات متقابل معنی‌دار نشد (جدول ٤-١).

تعداد غلاف در بوته در اثر تلقیح با ریزوبیوم (۲۸/۷۵ عدد)، نسبت به عدم تلقیح (۲٦/۹۲ عدد) با ٦/۳۳ درصد افزایش اختلاف معنی دار داشت (شکل ٤-١). در تلقیح با تیوباسیلوس نیز چنین نتیجه‌ای مشاهده شد و در تلقیح با تیوباسیلوس تعداد غلاف‌ها در بوته (۲۹/٤ عدد) بود که نسبت به عدم تلقیح به میزان ۸/٤۳ درصد افزایش نشان داد (شکل ٤-۲). فرنیا (۱۳۷۷) در آزمایشی تأثیر نژادهای باکتری ریزوبیوم ژاپونیکوم را بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام سویا در منطقه لرستان مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد اثر تیمارهای باکتری بر تعداد غلاف در هر بوته و وزن هزار دانه نسبت به تیمار شاهد(بدون تلقیح) معنی‌دار بوده که حاکی از فراهم شدن نیتروژن مورد احتیاج گیاه توسط گره تشکیل-شده روی ریشه است. امینی‌حاجی‌باشی و همکاران (۱۳۸٤) گزارش کردند که در اثر استفاده از باکتری رایزوبیوم در کشت لوبیاچیتی، تعداد غلاف در بوته (۱۰/۸۰) نسبت به نمونه‌ی شاهد (٦/۱) بیشتر بود و

تفاوت معنی‌داری داشت. کاظمی و همکاران (۱۳۸٤) در بررسی تاثیر تلقیح بذر با باکتری رایزوبیوم ژاپونیکوم بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا، گزارش کردند که تلقیح بذر با باکتری سبب افزایش معنی دار تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن هزار دانه و نهایتا عملکرد نهایی سویا گردید. بریودان و همکاران (۱۹۷۸) گزارش کردند که استفاده از باکتری رایزوبیوم و افزایش سطح نیتروژن در طی دوره‌ی گلدهی سویا، تعداد غلاف در گره (۲۲ درصد) و تعداد غلاف در بوته (٤۰ درصد) نسبت به شاهد (عدم مصرف باکتری) افزایش داد.

شرفی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که تلقیح کلزای پائیزه با تیوباسیلوس، سبب افزایش معنی-دار تعداد غلاف در بوته و در گره شد. تأثیر مثبت تیوباسیلوس بر تعداد غلاف در بوته در سویا توسط حامدی (۲۰۰۳) نیز گزارش شده است. در مطالعه‌ای گزارش شد که استفاده از باکتری تیوباسیلوس سبب بهبود اجزای عملکرد لوبیا چیتی شد و تعداد دانه غلاف در بوته را به میزان ۱۸/۷۳ درصد افزایش داد (کامل و همکاران، ۱۳۹۲).

افزایش تعداد غلاف در بوته در اثر استفاده از باکتری‌های محرک رشد می تواند به دلیل فراهمی عناصر غذایی توسط این باکتری‌ها و تأثیر آنها بر وضعیت pH خاک و یا هورمون‌های رشد گیاهی مربوط باشد. عنصر نیتروژن که توسط رایزوبیوم تثبیت شده و در اختیار گیاه قرار می‌گیرد می‌تواند سبب افزایش رشد رویشی و در نتیجه افزایش تعداد گره و تعداد غلاف شود.



شکل ٤-١- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته، تحت تأثیر رایزوبیوم در سویا رقم M9

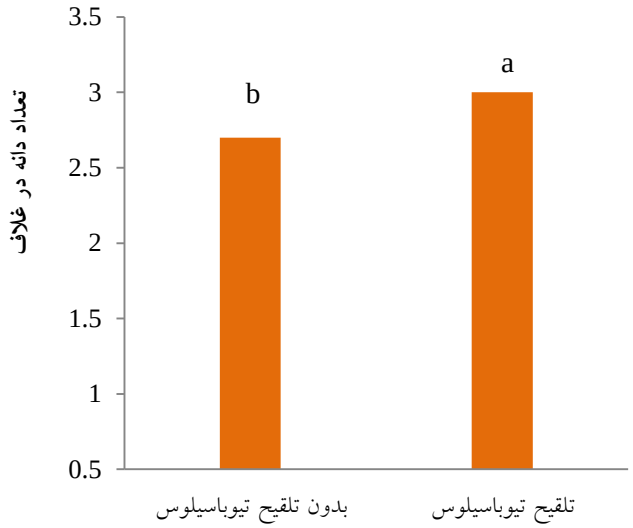
شکل ٤-٢- مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته، تحت تأثیر تیوباسیلوس در سویا رقم M9

٤-١-٢- تعداد دانه در غلاف

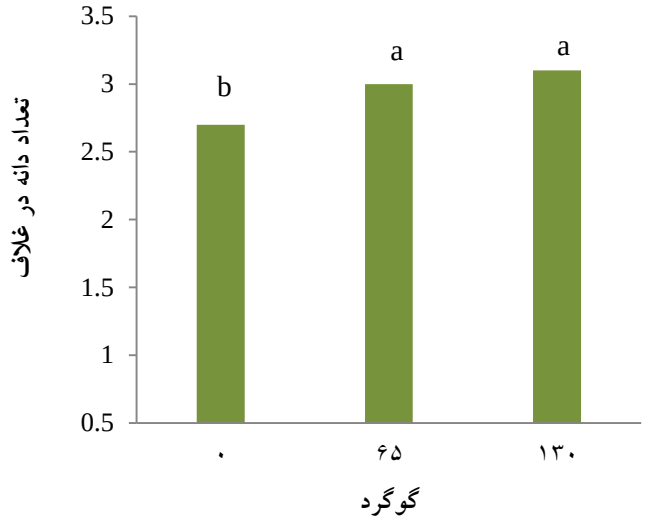
صفت تعداد دانه در غلاف تحت اثر اصلی تیوباسیلوس و گوگرد در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. سایر عوامل به کار برده شده در این آزمایش و هیچ یک از اثرات متقابل معنی‌دار نشد (جدول ٤-١). بر اساس شکل ٤-٣ تعداد دانه در غلاف در اثر کاربرد تیوباسیلوس (٣ عدد) بیشتر از نمونه‌ی شاهد (٢/٧ عدد) بدست آمد و تفاوت معنی‌داری داشت. تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر کاربرد ١٣٠ کیلوگرم گوگرد در هکتار (٣/١ عدد)، تفاوت معنی‌داری با کاربرد ٦٥ کیلوگرم گوگرد (٣ عدد) نداشت ولی این دو عامل تیمار با نمونه‌ی شاهد (٢/٧ عدد) تفاوت معنی‌داری داشتند (شکل ٤-٤). به نظر می‌رسد با توجه به نتایج بدست آمده، صفت تعداد دانه در غلاف تحت تأثیر گوگرد قرار می‌گیرد و این با نتایج محققان دیگر که صفت تعداد دانه در غلاف را یک صفت ژنتیکی و جدای از محیط (آلن و مورگان، ١٩٧٥؛ میجر و همکاران، ١٩٧٨؛ مندهام و همکاران، ١٩٨١؛ شرفی و همکاران، ١٣٨٨) گزارش کردند، مغایرت دارد و نشان داده شد که شرایط محیطی و تغذیه‌ای و استفاده از باکتری‌های محرک رشد بر این صفت اثرگذار بوده است. اولسر و کارتر (٢٠٠٤) بر این باورند که اجزایی از عملکرد نظیر اندازه بذر و تعداد بذر در غلاف، در هر گیاه از طریق ژنتیکی کنترل می‌شوند.

کاربرد گوگرد و باکتری تیوباسیلوس که آن نیز از طریق فراهمی گوگرد بر رشد گیاه تأثیر دارد تعداد دانه در غلاف را افزایش داده است و این نشان از نقش مهم گوگرد در تعداد دانه در غلاف سویا دارد، چرا که در هر دو تیمار در نهایت گوگرد است که اثرگذار بوده است. بر اساس نتایج این آزمایش عنصر

گوگرد در تشکیل جوانه‌های زایشی و افزایش تعداد تخمک در یک غلاف نقش تعیین کننده‌ای داشته است.



شکل ٤-٣- مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف، تحت تأثیر رایزوبیوم در سویا رقم M9



شکل ٤-٤- مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف، تحت تأثیر گوگرد در سویا رقم M9

٤-١-٣- تعداد دانه در بوته

تلقیح نمونه‌های سویا با باکتری ریزوبیوم اثر معنی‌داری بر تعداد دانه در بوته در سطح ۵ درصد گذاشت. مقدار این صفت تحت اثرات اصلی باکتری تیوباسیلوس و گوگرد در سطح احتمال ۱ درصد نیز تغییرات معنی‌داری نشان داد. اثر متقابل دوگانه رایزوبیوم و تیوباسیلوس در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. سایر اثرات متقابل معنی‌دار نشد (جدول ٤-١).

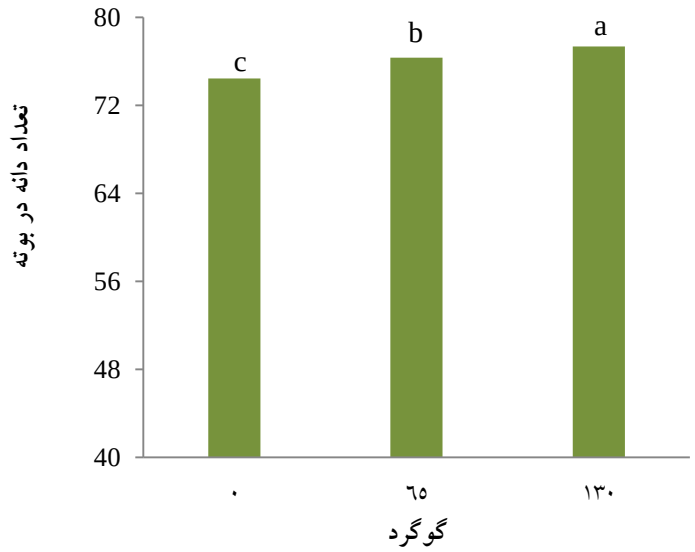
مقایسه میانگین تعداد دانه در غلاف در سطوح مختلف گوگرد تفاوت معنی‌داری نشان داد. بیشترین تعداد دانه در بوته مربوط به تیمار ۱۳۰ کیلوگرم در هکتار (۸۱/۷۵) بود (شکل ٤-۵). در تیمار اثر متقابل رایزوبیوم و تیوباسیلوس، بیشترین تعداد دانه در بوته (۸۳/۷۵) در تیمار کاربرد همزمان رایزوبیوم و

تیوباسیلوس بدست آمد و کمترین تعداد دانه در بوته (۷٤/٤۲) در شرایط عدم تلقیح رایزوبیوم و عدم تلقیح تیوباسیلوس، مشاهده شد و ۱۱/۱٤ درصد کاهش نشان داد (شکل ٤-٦).

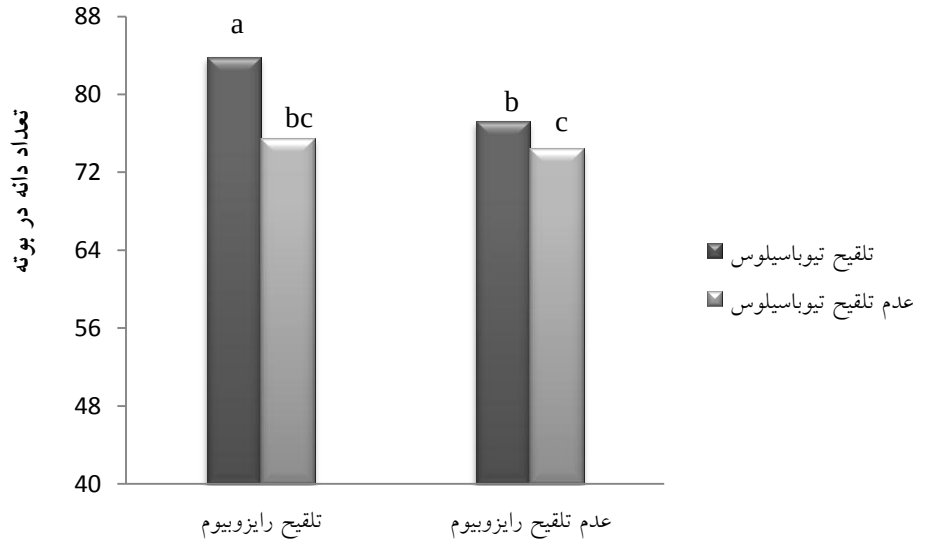
بابایی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند که کود گرانوله گوگردی بر تعداد دانه در بوته در سویا اثر معنی‌دار دارد و سبب افزایش تعداد آن می‌شود. علاوه بر نقش مستقیم گوگرد بر رشد گیاه، pH خاک در اطراف ریشه را کاهش داده و در نتیجه می‌تواند حلالیت عناصر در خاک را افزایش دهد به این ترتیب گوگرد می‌تواند به طور مستقیم و غیر مستقیم به رشد و نمو گیاه کمک نماید (بابایی و همکاران، ۱۳۹۱). کامل و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که استفاده از ٤۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار، تعداد دانه در بوته را نسبت به نمونه‌ی شاهد ۲۱ درصد افزایش داد. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد تعداد دانه در بوته رابطه مستقیمی با تعداد غلاف در بوته داشته است. در اکثر مطالعات انجام شده روی اجزای عملکرد سویا همبستگی بالا و معنی‌دار بین تعداد غلاف و تعداد دانه در بوته گزارش شده است (پاندی و توری، ۱۹۹۳)

در مطالعه‌ای که تأثیر توام رایزوبیوم و تیوباسیلوس بر اجزای عملکرد سویا مورد مطالعه قرار گرفته بود گزارش شد که تعداد دانه در بوته تحت تأثیر اثر توأم ریزوبیوم و تیوباسیلوس در سطح ۱ درصد معنی‌دار است و نسبت به نمونه‌ی شاهد ۱٤/۲ درصد افزایش نشان داد (قربانی‌نصرآبادی و همکاران، ۱۳۸۱b). با توجه به یافته‌های این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این دو باکتری نسبت به هم اثر سینرژیستی دارند و سبب افزایش عملکرد سویا از طریق تاثیر بر اجزای عملکرد آن می‌شوند.

با توجه به اینکه تیمارهای به کار رفته در این تحقیق، سبب افزایش معنی‌دار تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف شدند، بدیهی است که تعداد دانه در بوته نیز افزایش یابد.



شکل ٤-٥- مقایسه میانگین تعداد دانه در بوته، تحت تأثیر گوگرد در سویا رقم M9



شکل ٤-٦- مقایسه میانگین اثر متقابل رایزوبیوم و تیوباسیلوس بر تعداد دانه در بوته در سویا رقم M9

٤-١-٤- وزن هزار دانه

صفت وزن هزار دانه تحت اثر اصلی رایزوبیوم، تیوباسیلوس و گوگرد در سطح احتمال ١ درصد قرار گرفت و هیچ یک از اثرات متقابل معنی‌دار نشد. اثر تکرار در سطح احتمال ١ درصد معنی‌دار شد (جدول ٤-١).

مقایسه میانگین وزن هزار دانه نشان داد که در اثر تلقیح با رایزوبیوم، مقدار وزن هزاردانه افزایش یافت (١٢٧/٢ گرم) و نسبت به شرایط عدم تلقیح (١٢٥/٥ گرم) تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ٤-٧). تلقیح با تیوباسیلوس نیز سبب افزایش معنی‌دار وزن هزاردانه (١٢٩ گرم) نسبت به شاهد شد (شکل ٤-٨). در اثر مصرف مقدار ١٣٠ کیلوگرم گوگرد در هکتار مقدار وزن هزار دانه (١٣١/٥) با سطح ٦٥

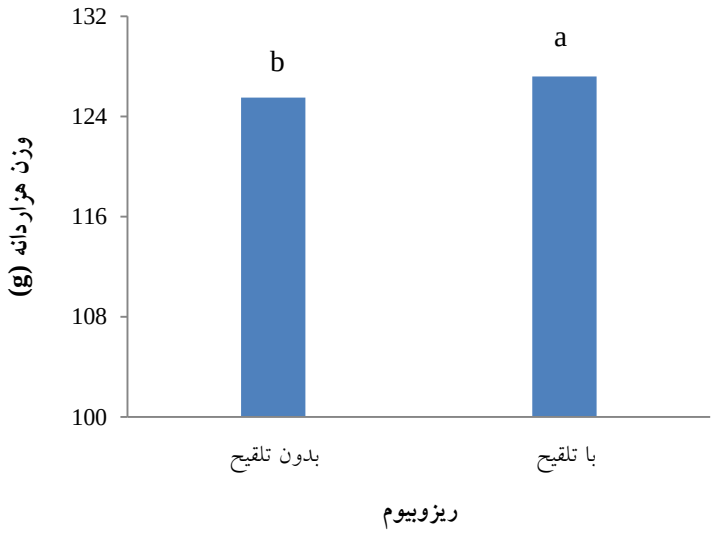
کیلوگرم (۱۳۰ گرم) تفاوت معنی‌دار نداشت اما این دو نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر وزن هزاردانه داشتند (شکل ٤-۹).

نتایج مشابهی مبنی بر تأثیر مصرف گوگرد و تیوباسیلوس بر افزایش وزن هزار دانه سویا توسط قربانی نصرآبادی و همکاران (۱۳۸۱) گزارش شده است. یکی از اجزای بسیار مهم و تأثیرگذار بر عملکرد دانه سویا، وزن هزاردانه آن می‌باشد. در مطالعه‌ای گزارش شد که بیشترین وزن هزاردانه لوبیا در اثر استفاده از باکتری رایزوبیوم (۲۰۷/٦۸ گرم) بدست آمد و نسبت به نمونه‌ی شاهد (۱۵۱/٦۷ گرم) تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان داد (مرزبان و همکاران، ۱۳۹۰). در نتایج مطالعات بابایی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی سویا نشان داد که گوگرد اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر وزن هزار دانه داشت و بیشترین وزن هزار دانه از سطح سه تن در هکتار گوگرد به میزان ۱٤۸ گرم و کمترین آن در تیمار شاهد (بدون گوگرد) به میزان ۱۲٤ گرم بدست آمد. طی مطالعه‌ای که اثر تلقیح باکتری رایزوبیوم بر اجزای عملکرد سویا (ارتفاع، تعداد غلاف، تعداد دانه در غلاف و وزن هزاردانه) صورت گرفت گزارش شد که باکتری رایزوبیوم سبب بهبود صفات ارتفاع و وزن هزاردانه شد و اثر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر این صفات گذاشت (فتحی، ۱۳۸۹).

یافته‌های بوام و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که کمبود گوگرد، عملکرد دانه سویا را از طریق تأثیر بر رشد گیاه در دوره پرشدن دانه کاهش می‌دهد. آنها دریافتند که کمبود گوگرد در اواخر دوره رشد ممکن است نتیجه تحرک بالای سولفات در خاک و پویایی مجدد اندک آن در گیاه باشد. در آزمایشی روی کلزای پائیزه که تأثیر تیوباسیلوس و رایزوبیوم بر شاخص‌های عملکرد مورد بررسی قرار گرفت گزارش

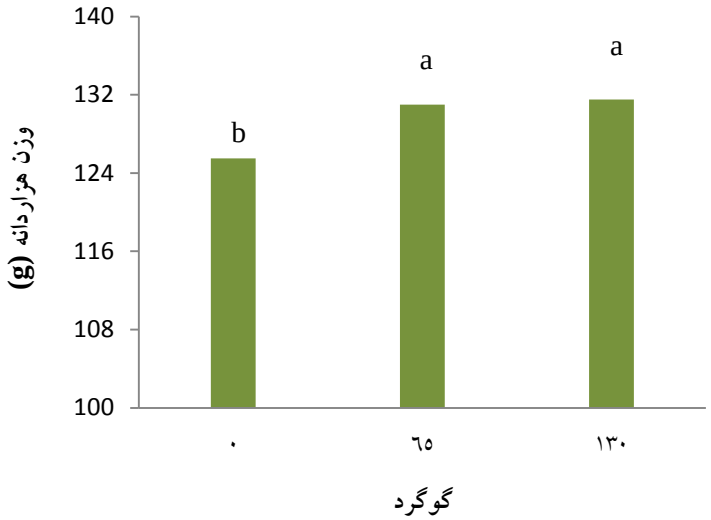
شد که کاربرد توأم تیوباسیلوس و رایزوبیوم بر مقدار وزن هزار دانه اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد گذاشت و مقدار وزن هزاردانه در اثر استفاده از هردو باکتری (۲/۸۵ گرم) بیشتر از نمونه‌ی شاهد (۲/۳ گرم) بدست آمد (شرفی و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج این تحقیق با نتایج لتو و همکاران (۱۹۹٤) مطابقت دارد. گرجی‌اناری و همکاران (۱۳۸٦) تأثیر کودهای زیستی (باکتریایی) را بر اجزای عملکرد عدس مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که مصرف توأم تیوباسیلوس و گوگرد باعث افزایش معنی‌دار وزن هزاردانه در عدس شد.

زیاد بودن وزن هزار دانه یک محصول به مقدار مواد خشک و ذخیره‌ای بذر آن گیاه بستگی دارد، هر چه مقدار مواد ذخیره‌ای مانند پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها و ... بیشتر باشد دانه از وزن بیشتری برخوردار خواهد بود. عناصر نیتروژن و گوگرد نقش مستقیم و غیر مستقیم در سنتز این مواد دارند و فراهمی آنها سبب افزایش وزن هزاردانه شده است.



شکل ٤-٧- مقایسه میانگین مقدار وزن هزار دانه، تحت تأثیر رایزوبیوم در سویا رقم M9

شکل ٤-٨- مقایسه میانگین مقدار وزن هزار دانه، تحت تأثیر تیوباسیلوس در سویا رقم M9



شکل ٤-۹- مقایسه میانگین مقدار وزن هزار دانه، تحت تأثیر مقدار گوگرد در سویا رقم M9

٤-۱-٥- ارتفاع بوته

در مورد صفت ارتفاع بوته اثرات اصلی رایزوبیوم و گوگرد در سطح آماری ۱ درصد و تیوباسیلوس در سطح ٥ درصد معنی‌دار شدند. اثر متقابل رایزوبیوم و گوگرد نیز در سطح ٥ درصد بر ارتفاع بوته اثر معنی‌داری داشت (جدول ٤-۲).

علت استفاده از رایزوبیوم، توانایی همزیستی آن با سویا و تثبیت نیتروژن می‌باشد، و عنصر نیتروژن عامل اصلی رشد رویشی و طویل شدن ساقه است و این تفاوت نتیجه‌ای منطقی و قابل پیش‌بینی بود. چنین نتیجه‌ای در مورد استفاده از باکتری‌های تیوباسیلوس در این تحقیق نیز مشاهده شد و تلقیح با تیوباسیلوس سبب افزایش ارتفاع بوته (٥۳/۰٤ سانتی‌متر) نسبت به شاهد (٤۹/۹٦ سانتی‌متر) شد که می

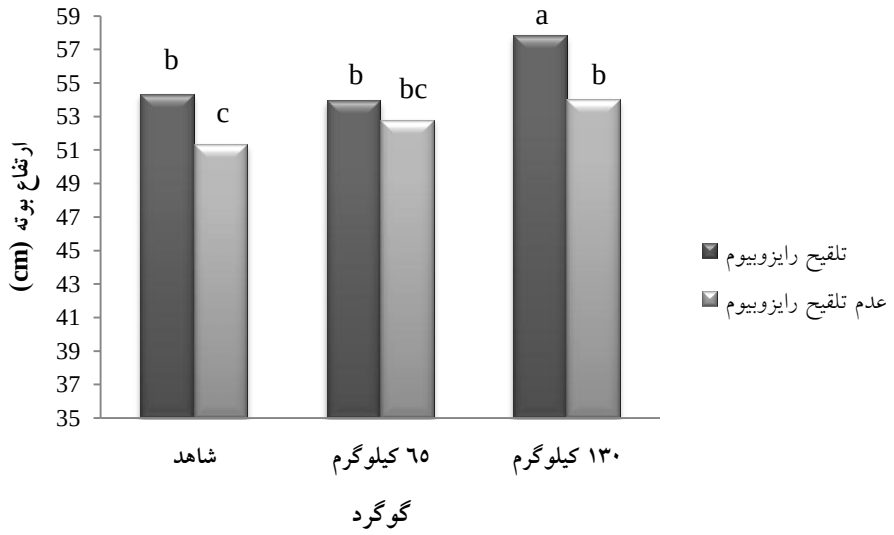
تواند مؤید نقش گوگرد و فعالیت محلول کنندگی برخی عناصر در خاک توسط تیوباسیلوس باشد (شکل ٤-١٠). وو و همکاران (٢٠٠٥) نیز نشان دادند که تلقیح بذر با کودهای بیولوژیک (تیوباسیلوس) باعث افزایش ارتفاع بوته ذرت شد. آنها دلیل این امر را افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود فتوسنتز و ساخت مواد در اثر افزایش سطح برگ عنوان کردند.

مقایسه میانگین ارتفاع بوته نشان داد در حضور باکتری رایزوبیوم و سطح ١٣٠ کیلوگرم گوگرد بیشترین مقدار ارتفاع بوته (٥٧/٨٥ سانتی‌متر) بدست آمد و کمترین مقدار ارتفاع بوته در نمونه‌ی شاهد (٥١/٣٣ سانتی‌متر) مشاهده شد. حضور باکتری ریزوبیوم و سطح ١٣٠ کیلوگرم گوگرد باعث افزایش ١١/٢٧ درصدی ارتفاع بوته شد (شکل ٤-١١).

محققان طی تحقیقی که روی اثرات تیوباسیلوس بر صفات رشدی عدس انجام دادند گزارش نمودند که تلقیح بذور عدس با این باکتری، سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه شد (گرجی‌اناری و همکاران، ١٣٨٦). در تحقیقی که توسط چمندی و همکاران (١٣٨٩) روی سه رقم سویا شامل M9، M7 و M17 انجام شد میانگین ارتفاع آنها به ترتیب ٥٩، ٥٨ و ٦٥ سانتی‌متر گزارش گردید.

ارتفاع بوته صفتی است که کاملا به میزان رشد رویشی گیاه بستگی دارد. رایزوبیوم از طریق تثبیت نیتروژن سبب افزایش ارتفاع بوته شده است و عنصر گوگرد در کاربرد توام با رایزوبیوم این مقدار را افزایش داده است.

شکل ٤-١٠- مقایسه میانگین ارتفاع بوته، تحت تأثیر تیوباسیلوس در سویا رقم M9



شکل ٤-١١- مقایسه میانگین اثر متقابل گوگرد و رایزوبیوم روی ارتفاع بوته در سویا رقم M9

٤-١-٦- کلروفیل

٤-١-٦-١- مقدار کلروفیل کل

میزان کلروفیل کل نمونه‌های مورد مطالعه فقط تحت تأثیر ریزوبیوم در سطح ۱ درصد و همچنین تیوباسیلوس در سطح احتمال ۵ درصد دچار تغییرات معنی‌داری شد. در حالیکه اثر اصلی گوگرد بر میزان کلروفیل کل معنی‌دار نبود. ضمنا هیچ یک از اثرات متقابل بر میزان کلروفیل کل معنی‌دار نبود (جدول ٤-۲).

مقایسه میانگین کلروفیل کل در اثر تلقیح با رایزوبیوم (۰/۲٦ میلی‌گرم در گرم برگ تازه) با کلروفیل کل در تیمار شاهد (۰/۲ میلی‌گرم در گرم) تفاوت معنی‌داری نشان داد و ۲۳/۷ درصد در تیمار شاهد کاهش نشان داد (شکل ٤-۱۲). و همچنین نیز مقدار کلروفیل کل در نمونه‌های تلقیح شده با تیوباسیلوس (۰/۲۲ میلی‌گرم) دارای اختلاف معنی دار با شاهد (۰/۲) بود (شکل ٤-۱۳).

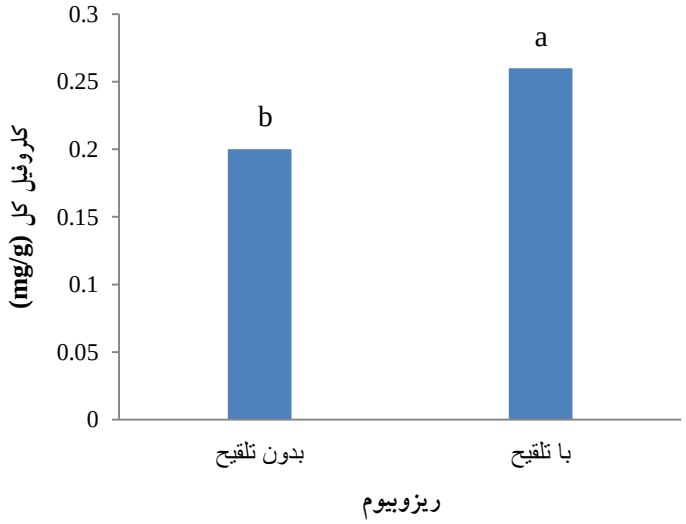
یکی از شاخص‌های میزان نیتروژن گیاه میزان کلروفیل برگ است (کوماوات و همکاران، ۲۰۰۰) و میزان تثبیت نیتروژن در تیمارهای تلقیح شده با باکتری رایزوبیوم نسبت به تیمارهای شاهد (بدون تلقیح) به اثبات رسیده است (یامان و کینسوی، ۱۹۹٦). نیتروژن علاوه بر ایفای نقش در تشکیل پروتئین‌ها، یک جزء لازم مولکول کلروفیل هم هست. عرضه کافی نیتروژن با رشد رویشی زیاد و رنگ سبز تیره ارتباط دارد (هاسگاوا و همکاران، ۲۰۰۸). اگرچه در سایر مطالعات افزایش میزان کلروفیل در تیمارهای تلقیح شده با رایزوبیوم نسبت به شاهد (بدون تلقیح) اثبات شده است (ماتوس و شرودر، ۱۹۸۹؛ یامان و

کینسوی، ۱۹۹٦) ولی می‌توان بیان داشت که رشد سبزینه‌ای مطلوب در تیمارهای باکتریایی، با توجه به نتایج مزرعه‌ای، حاکی از فعالیت مطلوب سیستم تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بوده و تأثیرات آن را در صفات دیگر ظهور پیدا کرده است.

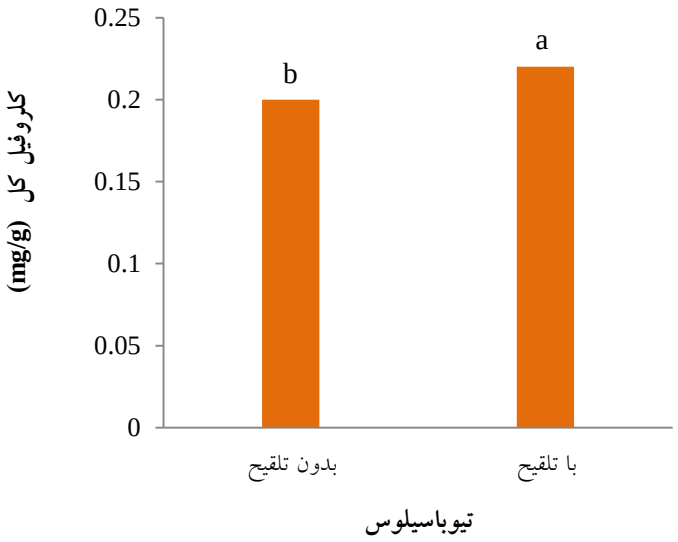
گوگرد اگر چه در ترکیب کلروفیل جود ندارد ولی برای تشکیل کلروفیل ضروری است سویا (و در کل لگوم‌ها) به این دلیل به مقدار بیشتری گوگرد نسبت به سایر گیاهان نیاز دارد که مقدار پروتئین دانه آن بیشتر است. به خاطر دخالت گوگرد در فتوسنتز، کمبود آن باعث کاهش میزان کلروفیل شده و برگ‌ها به زردی گراییده و کلروز بین رگبرگ‌ها مشاهده می‌شود (هاسگاوا و همکاران، ۲۰۰۸).

اثر مثبت تلقیح رایزوبیوم بر افزایش مقدار کلروفیل در محصولات دیگر مانند بادام زمینی (آقابابائی و رئیسی، ۱۳۹۰)، شبدر ایرانی (عسکری و بیات، ۱۳۹۲)، اقاقیا (عسکری و همکاران، ۱۳۹۲)، نخود (خدارحمی و همکاران، ۱۳۹۲) و یونجه (پوستینی و همکاران، ۱۳۹۱) قبلاً گزارش شده است.

مورته و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که کلنیزاسیون گندم با تیوباسیلوس موجب افزایش مقدار کلروفیل کل به ویژه در شرایط تنش خشکی می‌شود. طی مطالعه‌ای که اثرات کودهای زیستی روی اجزای عملکرد و صفات کمی و کیفی لوبیا سبز انجام شد گزارش شد که کود زیستی تیوباسیلوس سبب افزایش مقدار کلروفیل کل (۰/۳۱ میلی‌گرم در گرم) نسبت به نمونه‌ی شاهد (۰/۲۱ میلی‌گرم در گرم) شد، کود زیستی تیوباسیلوس با تأثیر بر محلولیت گوگرد، سبب تسهیل در جذب آن می‌شود و عنصر گوگرد نیز اگرچه در ساختار مولکول کلروفیل به طور مستقیم نقش ندارد، ولی در سنتز کلروفیل نقش مهمی ایفا می‌کند (کریمی و همکاران، ۱۳۹۲).



شکل ٤-١٢- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل کل، تحت تأثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9

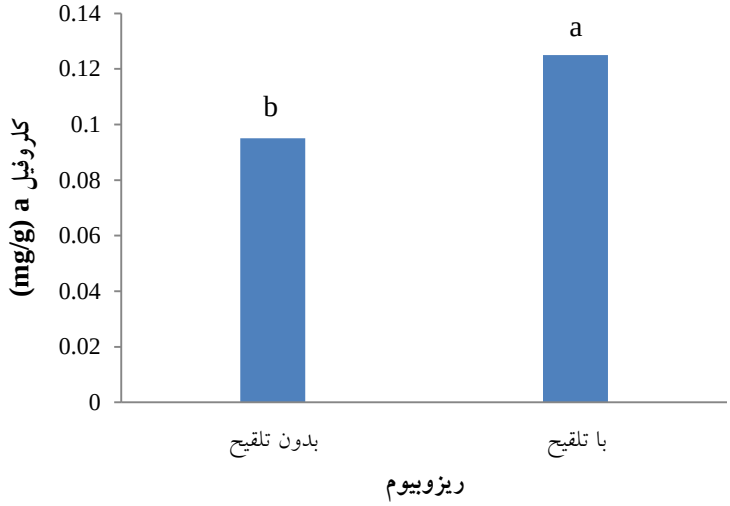


شکل ٤-١٣- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل کل، تحت تأثیر باکتری تیوباسیلوس در سویا رقم M9

٤-١-٦-٢- کلروفیل a

مقدار کلروفیل a تحت تاثیر تیمار استفاده از رایزوبیوم در سطح ۱ درصد تغییرات معنی‌داری داشت. اثرات اصلی تیوباسیلوس و گوگرد و کلیه اثرات متقابل بر مقدار کلروفیل a معنی‌دار نشد (جدول ٤-٢). مقایسه میانگین مقدار کلروفیل a نشان داد در تیمار کاربرد رایزوبیوم (۰/۱۲۵ میلی‌گرم) مقدار این کلروفیل نسبت به نمونه‌ی شاهد (۰/۰۹۵ میلی‌گرم در گرم)، ٢٤ درصد افزایش معنی‌دار نشان داد (شکل ٤-١٤).

در تحقیقی گزارش شد که کاربرد باکتری رایزوبیوم به تنهایی، موجب افزایش ۱۸، ١٤ و ۱۲/٦ درصدی مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b به ترتیب، در گیاه سویا شده است (تقی‌زاده‌طبری و همکاران، ۱۳۹۱). در این مطالعه با محاسبه رگرسیون میان عملکرد دانه و میزان کلروفیل نشان داد که میزان کلروفیل با عملکرد دانه همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری (٤٢٪) داشت. در مطالعه‌ای که توسط شافع و همکاران (۱۳۹۰) بر روی ذرت انجام شد گزارش شد که کاربرد ازت سبب تغییر معنی‌داری در مقدار کلروفیل شد در تحقیق ما نیز کاربرد ریزوبیوم که تثبیت کننده‌ی نیتروژن است، سبب افزایش مقدار کلروفیل کل و کلروفیل a و کلروفیلb شد. طی مطالعه‌ای که توسط محمدی و همکاران (۱۳۹۰) از نظر بررسی اثر تلقیح رایزوبیوم بر اجزای عملکرد و مقدار کلروفیل لوبیا انجام شد گزارش شد که تلقیح رایزوبیوم بر مقدار کلروفیل کل (۰/۵۳۸ میلی‌گرم در گرم)، کلروفیل a (۰/۳٤٦) و کلروفیل b (۰/۳۱۱) اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد گذاشت و سبب افزایش آنها نسبت به نمونه‌ی شاهد (به ترتیب ۰/٤۱۱، ۰/۲۹۳ و ۰/۲٦٦ میلی‌گرم بر گرم) شد.

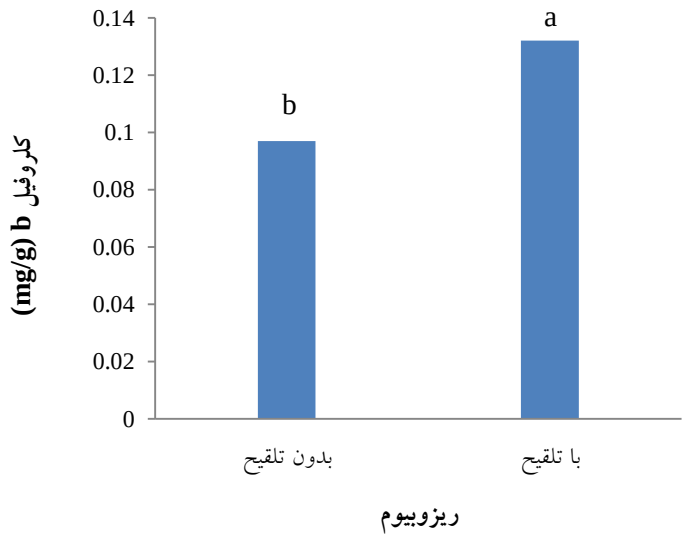


شکل ٤-١٤- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل a، تحت تأثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9

٤-١-٦-٣- کلروفیل b

مقدار کلروفیل b نیز همانند کلروفیل a تنها تحت تاثیر اثر اصلی رایزوبیوم در سطح ۱ درصد قرار گرفت. و اثرات اصلی تیوباسیلوس و همچنین گوگرد بر مقدار کلروفیل b معنی‌دار نشد. اثرات متقابل تمام فاکتورها نیز بر مقدار کلروفیل b معنی‌دار نشد (جدول ٤-٢). مقدار کلروفیل b در اثر تلقیح سویا رقم M9 با رایزوبیوم (۰/۱۳۲ میلی‌گرم در گرم) بیشتر از نمونه‌ی شاهد (۰/۰۹۷ میلی‌گرم در گرم) بود و با آن تفاوت معنی‌داری نشان داد (شکل ٤-١٥) و در حضور رایزوبیوم مقدار کلروفیل b ٢٦/٥١ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت.

فواید رشد گیاه به همراه PGPR شامل افزایش میزان جوانه زنی، افزایش سطح برگ، محتوای کلروفیل، محتوای نیتروژن، محتوای پروتئین و تاخیر در پیری برگ می‌باشد (دبلیر و همکاران، ۲۰۰۳؛ کاکمکسی، ۲۰۰۵).



شکل ٤-١٥- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل b، تحت تأثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9

٤-١-٧- عملکرد دانه

مقدار عملکرد دانه سویا رقم M9، تحت تأثیر اثر اصلی هر سه تیمار رایزوبیوم، تیوباسیلوس و گوگرد در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل هیچ یک از فاکتورها معنی‌دار نشد (جدول ٤-١).

مقدار عملکرد دانه در نمونه‌ی شاهد (٢٤٠٣ کیلوگرم در هکتار)، از نمونه‌ی تحت تأثیر رایزوبیوم (٢٥١٠ کیلوگرم) کمتر بود و با آن تفاوت معنی‌داری نشان داد که میزان عملکرد دانه در تلقیح با رایزبیوم

نسبت به شاهد ٤/٢٦ درصد افزایش داشت (شکل ٤-١٦). در اثر تیمار با تیوباسیلوس نیز مقدار عملکرد (٢٥٧٨ کیلوگرم در هکتار) با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد (شکل ٤-١٧). مقدار عملکرد دانه در تیمار استفاده از ٦٥ کیلوگرم در هکتار گوگرد (٢٦٢٩ کیلوگرم در هکتار) با نمونه شاهد تفاوت معنی-داری نشان نداد ولی در تیمار ١٣٠ کیلوگرم گوگرد (٢٦٧٦ کیلوگرم در هکتار) با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد (شکل ٤-١٨).

در مطالعه‌ای گزارش شد که تأثیر گوگرد بر میزان عملکرد دانه در سطح ١ درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان عملکرد دانه به میزان ٢٤٢٩ کیلوگرم در هکتار از مصرف سه تن گوگرد در هکتار و کمترین مقدار آن به میزان ١٧٢٦ کیلوگرم در هکتار از تیمار شاهد بدون گوگرد بدست آمد (بابایی و همکاران، ١٣٩١). تأثیر مثبت گوگرد و مایه تلقیح تیوباسیلوس بر عملکرد سویا می‌تواند به نقش مستقیم عنصر گوگرد در تغذیه گیاه از یک طرف و به تأثیر گوگرد در کاهش موضعی pH تثبیت شده در خاک‌های آهکی و قلیایی و در نهایت افزایش جذب این عناصر توسط گیاه از طرف دیگر مربوط باشد (روزا، ١٩٨٩). نورقلی و همکاران (١٣٨٥) نیز نتایج مشابهی را مبنی بر تأثیر مثبت گوگرد و تیوباسیلوس بر افزایش عملکرد سویا گزارش نموده‌اند.

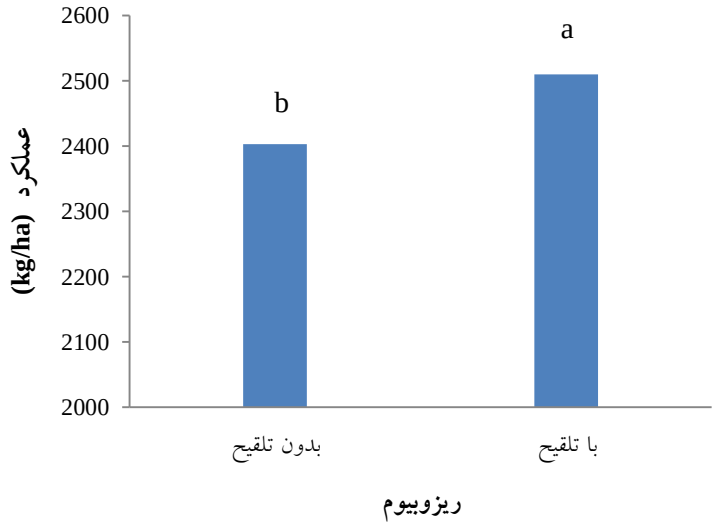
عزیزی و همکاران (١٣٨٤) میزان عملکرد دانه‌ای چهار رقم سویا شامل کلارک، زان، هارکور و ویلیامز را به ترتیب ٢٢٠٠، ٣٤٢٠، ٢٣٠٠ و ٢٦٠٠ کیلوگرم گزارش کردند. عناصر گوگرد و نیتروژن با افزایش رشد رویشی و افزایش تعداد غلاف و دانه‌بندی در گیاه، می‌توانند در افزایش عملکرد نقش مستقیم داشته باشند که دراین مطالعه چنین نتیجه‌ای حاصل شد (کالوین و برنت، ٢٠٠١). دیررس بودن

محصول، بالابودن وزن هزاردانه، بالا بودن مقدار بیوماس کل (عملکرد بیولوژیک) و تعداد غلاف باعث افزایش عملکرد در سویا می‌شوند و از اجزای اصلی عملکرد هستند (عزیزی و همکاران، ۱۳۸٤).

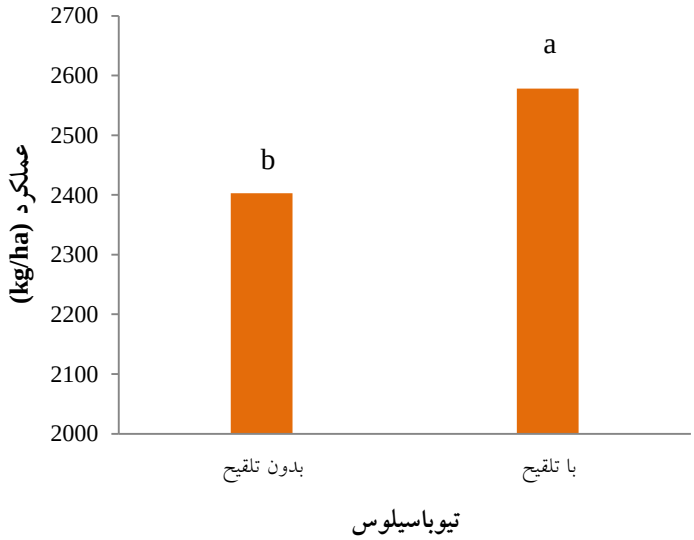
سپهوند (۱۳۸۲) در بررسی اثر مصرف مقادیر مختلف گوگرد (۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار) همزمان با کاشت، بر عملکرد دانه و کیفیت (درصد پروتئین) دانه سویا (رقم کلاک) در استان لرستان گزارش کرد، تأثیر تیمارهای گوگرد بر عملکرد دانه سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار اما بر درصد روغن و پروتئین دانه معنی‌دار نشده است. در تحقیقی باو (۱۹۹۸) گزارش کرد عملکرد دانه‌ای محصولات روغنی با افزایش مقدار گوگرد تا حدی به طور خطی افزایش یافت و در سطوح بیشتر گوگرد، میزان افزایش عملکرد بر روی سویا کاهش می‌یابد. در اینجا مشاهده شد که با افزایش سطح گوگرد از ٦٥ به ۱۳۰ کیلوگرم، عملکرد نیز بالا رفت و احتمالاً اگر افزایش سطح گوگرد همچنان ادامه داشت، میزان افزایش عملکرد کاهش می‌یافت. در اینجا می‌توان نتیجه گرفت که سویای رقم M9 پتانسیل استفاده از ۱۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار را دارد و حتی به بیشتر از آن هم می‌تواند پاسخ مثبت دهد.

در مطالعه‌ای گزارش شد که کاربرد باکتری برادی‌رایزوبیوم ژاپونیکوم موجب افزایش چشم‌گیری در میزان عملکرد دانه گردیده و این بخاطر افزایش نیتروژن در گیاه می باشد که منجر به افزایش قسمت‌های رویشی می‌شود و داشتن عملکرد مطلوب نتیجه رشد رویشی مناسب است (شکوه‌فر و همکاران، ۱۳۸۷). در آزمایشی که توسط ایوانز (۱۹۷۸) انجام گرفت افزایش عملکرد در نتیجه تلقیح بذر سویا با باکتری برادی‌رایزوبیوم ژاپونیکوم گزارش شده است. بیرانوند و همکاران (۱۳۸۲) گزارش دادند افزایش در

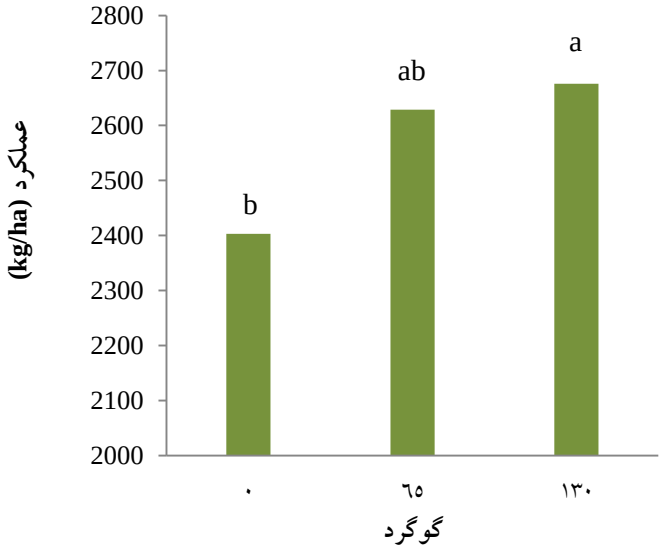
عملکرد دانه متاثر از افزایش تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد غلاف در بوته و تعداد کل بوته در واحد سطح بود.



شکل ٤-١٦- مقایسه میانگین مقدار عملکرد دانه، تحت تأثیر تلقیح ریزوبیوم در سویا رقم M9



شکل ٤-١٧- مقایسه میانگین مقدار عملکرد دانه، تحت تأثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9



شکل ٤-۱۸- مقایسه میانگین مقدار عملکرد دانه‌ای، تحت تأثیر سطوح به کار رفته گوگرد در سویا رقم M9

در یک آزمایش مشخص شده که مصرف گوگرد تا سه تن در هکتار در یک نوع خاک، موجب افزایش معنی‌دار جذب ازت در گیاه سویا می‌شود. پس گوگرد نه تنها از طریق تغذیه بهتر به طور مستقیم سبب بهبود رشد سویا می‌شود، بلکه در اثر کاهش اسیدیته خاک و ایجاد شرایط مناسب برای جذب عناصر غذایی و تثبیت ازت توسط این گیاه رشد و عملکرد را افزایش می‌دهد (امانی و همکاران، ۱۳۹۰).

٤-١-٨- درصد روغن دانه

مقدار درصد روغن در سویا رقم M9، تحت تأثیر فاکتورهای به کاربرده در این آزمایش و اثرات متقابل آنها قرار نگرفت (جدول ٤-٢). به نظر می‌رسد مقدار روغن یک صفت ژنتیکی بوده و تابع رقم و پتانسیل ژنتیکی آن رقم می‌باشد و کمتر از شرایط محیطی و تغذیه‌ای تأثیر می‌پذیرد. ابراهیمی‌منفرد و دلخوش (١٣٨٨) مقدار روغن ٨ رقم سویا را بین ١٧ تا ٢٥ درصد گزارش کردند که میزان روغن رقم M9 در گزارش آنها، ٢١/٨ درصد بود. این محققان مقدار روغن را یک صفت ژنتیکی و تابع رقم گزارش کردند. حسینی (١٣٨٣) درصد روغن نمونه‌ها را در ارقام مختلف مورد بررسی سویا را متفاوت گزارش کرده و آنرا به ویژگی‌های ژنتیکی نسبت داده است.

٤-١-٩- درصد پروتئین دانه

مقدار درصد پروتئین نمونه‌های سویا رقم M9 تحت تأثیر اثر اصلی رایزوبیوم، تیوباسیلوس و گوگرد تغییرات معنی‌داری در سطح ١ درصد نشان داد (جدول ٤-٢).

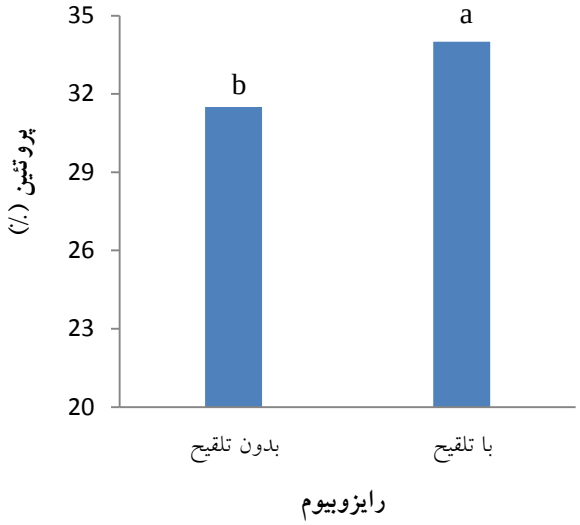
مقدار درصد پروتئین تحت تأثیر تلقیح رایزوبیوم (٣٤ درصد) نسبت به شاهد (٣١/٥ درصد) بالاتر بود و تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ٤-١٩). مقدار این صفت تحت تلقیح تیوباسیلوس (٣٤/٢ درصد) نیز تفاوت معنی‌داری با شاهد داشت (شکل ٤-٢٠). اثر اصلی گوگرد بر مقدار پروتئین نیز معنی‌دار شد و مقدار این صفت در کاربرد ١٣٠ کیلوگرم گوگرد در هکتار (٣٥ درصد) با سطح ٦٥ کیلوگرم گوگرد (٣٤

درصد)، تفاوت معنی‌داری داشت و هر دو سطح با تیمار عدم مصرف گوگرد، تفاوت معنی‌داری نشان دادند (شکل ٤-٢١).

محققان گزارش کرده‌اند که تثبیت بالاتر ازت و انتقالات ازت بیشتر به دانه باعث افزایش درصد پروتئین در سویا می‌شود و از طرف دیگر این تأثیر در خاک‌هایی که دارای باکتری رایزوبیوم باشند، بیشتر می‌باشد (لفل و همکاران،١٩٩٢). در پژوهشی گزارش گردید که گیاه سویا در شرایط تلقیح با باکتری رایزوبیوم، ١٠ درصد پروتئین بیشتری نسبت به شرایط عدم تلقیح دارد و کاربرد کود نیتروژنی می‌تواند مقدار پروتئین دانه را تقریبا به سطحی معادل گیاهان تلقیح شده برساند (کریشنان و همکاران،٢٠٠٠).

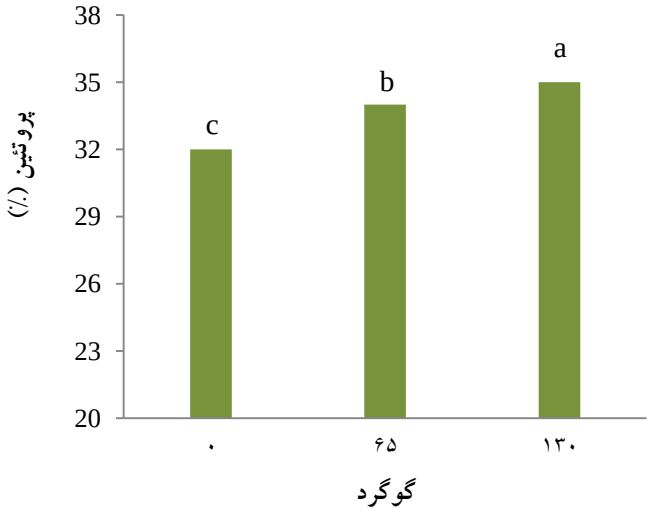
در مطالعه‌ای مقدار پروتئین چهار رقم سویا شامل ویلیامز، M17، M9 و M7 مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به ترتیب ٣٣/٥، ٣٧، ٣٣/٨ و ٣٥ درصد بود. لویچ و همکاران (١٩٨٣) در آزمایشی گلخانه‌ای، تاثیر نیتروژن، گوگرد و تلقیح با رایزوبیوم مخصوص لوبیا (رایزوبیوم فازئولی) را بر روی فاکتورهای مختلف رشد لوبیا بررسی کردند و گزارش کردند که افزودن گوگرد، سنتز پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد و کیفیت محصول را بهبود می‌بخشد. شکوه‌فر و همکاران (١٣٨٧) گزارش کردند که باکتری برادی‌رایزوبیوم ژاپونیکوم بر مقدار پروتئین سویا در دانه و در نهایت در هکتار اثرگذار است و در سویه-های مختلف باکتری این مقدار متفاوت است، مقدار پروتئین در آزمایش آنها بین ٨٠٠ تا ١٣٠٠ کیلوگرم در هکتار گزارش شد.

همانطور که توضیح داده شد عنصر نیتروژن نقش مستقیمی در سنتز پروتئین‌ها دارد، عنصر گوگرد نیز در سنتز این ترکیبات نقش غیر مستقیم ایفا می‌کند و بدون حضور آن پروتئینی ساخته نخواهد شد، در نتیجه با اعمال این تیمارهای طبیعی به نظر می‌رسد که مقدار پروتئین افزایش معنی‌داری داشته باشد.



شکل ٤-١٩- مقایسه میانگین مقدار پروتئین، تحت تأثیر تلقیح رایزوبیوم در سویا رقم M9

شکل ٤-٢٠- مقایسه میانگین مقدار پروتئین، تحت تأثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9

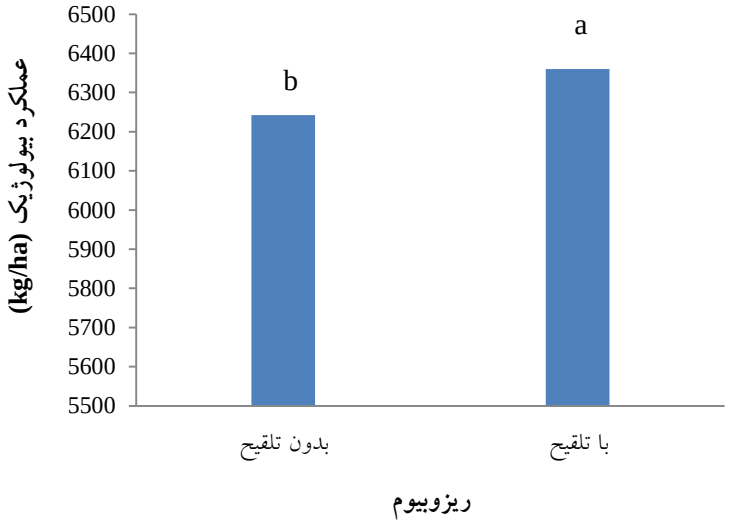


شکل ٤-٢١- مقایسه میانگین مقدار پروتئین، تحت تأثیر سطوح به کار رفته گوگرد در سویا رقم M9

٤-١-١٠- عملکرد بیولوژیک

عملکرد بیولوژیک به کل زیست توده‌ی تولید شده بر اساس وزن تر در هکتار گفته می‌شود که در این آزمایش و تحت تأثیر اثر اصلی فاکتورهای رایزوبیوم و تیوباسیلوس در سطح ۵ درصد و اثر اصلی گوگرد در سطح ۱ درصد قرار گرفت. ضمنا هیچ یک از اثرات متقابل معنی‌دار نشدند (جدول ٤-٢).

در اثر تلقیح سویا با رایزوبیوم مقدار عملکرد بیولوژیک (٦٣٦٠ کیلوگرم در هکتار) بیشتر از نمونه‌ی شاهد (٦٢٤٢ کیلوگرم در هکتار) بود و تفاوت معنی‌داری نشان داد (شکل ٤-٢٢). میزان این صفت در اثر کاربرد باکتری تیوباسیلوس (٦٣٣٩ کیلوگرم در هکتار) نیز با نمونه‌ی شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ٤-٢٣). سطوح به کار برده شده‌ی گوگرد در این مطالعه از نظر مقدار عملکرد بیولوژیک تفاوت معنی‌داری نشان دادند، یطوریکه تاثیر استفاده از ۱۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار از نظر عملکرد بیولوژیک (٦٤٣٨ کیلوگرم در هکتار) با نمونه‌ی شاهد و با کاربرد ٦٥ کیلوگرم گوگرد در هکتار (٦٣٤٧ کیلوگرم در هکتار) تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ٤-٢٤).

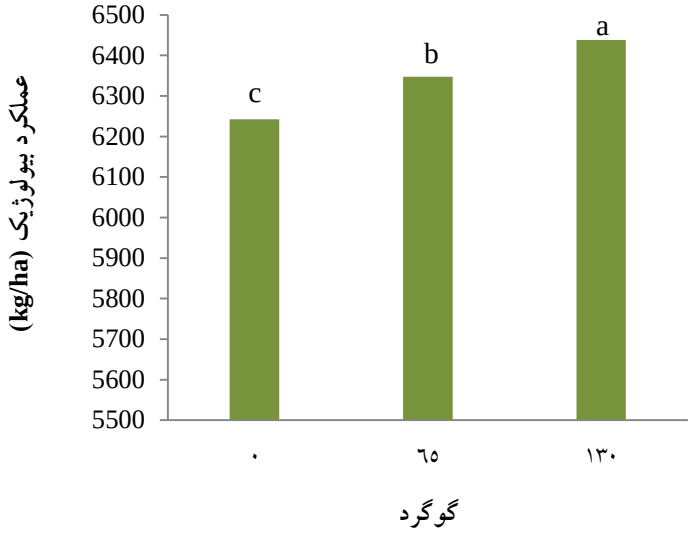


شکل ٤-٢٢- مقایسه میانگین مقدار عملکرد بیولوژیک، تحت تأثیر تلقیح رایزوبیوم در سویا رقم M9

در مطالعه قراخانی‌بنی و همکاران (۱۳۹۰) روی چهار رقم سویا شامل ویلیامز، M17، M9 و M7 مقدار عملکرد بیولوژیک به ترتیب ۵۷۵۰، ٦٤٠٠، ٥٦٠٠ و ٥٥٠٠ کیلوگرم در هکتار گزارش شد. در تحقیقی معلوم شد که کاربرد نیتروژن آغازگر همراه با تلقیح رایزوبیوم، بیوماس کل و شاخص سطح برگ سویا را در مرحلهٔ R1، افزایش داد (کالیسکان و همکاران، ۲۰۰۸). چمندی و همکاران (۱۳۸۹) مقدار بیوماس کل یا همان عملکرد بیولوژیک سویا رقم M9 را ١٤١٥ گرم در متر مربع گزارش کردند.

تلقیح عصاره سلولی آزوسپیریلوم همراه با برادی ریزوبیوم، گره‌بندی، میزان تثبیت ازت، وزن خشک اندام هوایی و ازت کل گیاه سویا را افزایش داده است (ساریج و همکاران، ١٩٨٦) . زاید و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که افزایش در وزن کل گیاه بوسیله ریزوباکترها به واسطه افزایش در جذب عناصر غذایی و در نتیجه رشد بهتر گیاه می‌باشد.

شکل ٤-٢٣- مقایسه میانگین مقدار عملکرد بیولوژیک، تحت تأثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9



شکل ٤-٢٤- مقایسه میانگین مقدار عملکرد بیولوژیک، تحت تأثیر گوگرد در سویا رقم M9

در یک آزمایش گزارش شد در صورت وجود سوپر فسفات، ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار بهترین مقدار برای افزایش عملکرد سویا است (شارما و همکاران، ۲۰۰۱). در یک مطالعه گلخانه‌ای، در سه خاک آهکی نقش گوگرد بر تثبیت ازت و شاخص‌های رشد در گیاه سویا مثبت گزارش شد (قربانی‌نصرآبادی، ۲۰۰۱). پس گوگرد به عنوان عنصر ضروری به همراه تیوباسیلوس با بهبود اسیدیته خاک باعث افزایش فعالیت باکتری ریزوبیوم و تثبیت ازت می‌شود. باکتری‌های جنس تیوباسیلوس به دلیل تولید فاکتورهای رشد همانند ویتامین‌ها قادرند به طور غیرمستقیم بر رشد برادی‌رایزوبیوم موثر باشند (هالت و همکاران، ۱۹۹٤). هرچه میزان رشد رویشی بیشتر باشد مقدار عملکرد بیولوژیک نیز افزایش خواهد یافت به کار بردن عناصر غذایی ضروری و ماکرو مثل نیتروژن و گوگرد از عوامل مهم در افزایش رشد و افزایش مقدار عملکرد کل می‌باشد.

٤-۱-۱۱- شاخص برداشت (HI)

مقدار شاخص برداشت تحت تاثیر اثرات اصلی و متقابل هیچ کدام از تیمارها معنی‌دار نشد (جدول ٤-۳). اگر گیاه مواد تولید شده فتوسنتزی را بیشتر صرف اندام‌های رویشی کند به علت اتلاف نور و سایه‌اندازی برگ‌ها بر یکدیگر نمی‌تواند مواد فتوسنتزی زیادی تولید کند و شاخص برداشت کاهش پیدا می‌کند (اندرسون و واسیلاس، ۱۹۸۵). فراهانی پاد و همکاران (۱۳۹۱) میزان شاخص برداشت چهار رقم سویا (زان، M7، L17 و ویلیامز) را بین ۳۷ تا ٤٥ درصد گزارش کردند. عزیزی و همکاران (۱۳۸٤) میزان شاخص برداشت را برای چهار رقم سویا شامل کلارک، زان، هارکور و ویلیامز را بین ۳۱ تا ٤۱ درصد

گزارش کردند. در مطالعه‌ای که توسط قراخانی‌بنی و همکاران (۱۳۹۰) روی چهار رقم سویا انجام شد میزان شاخص برداشت رقم M9، ٤٥ درصد گزارش شد.

٤-۱-۱۲- شاخص سطح برگ

بر اساس جدول تجزیه واریانس، اثرات اصلی تلقیح رایزوبیوم، تیوباسیلوس و گوگرد در سطح ۱ درصد بر مقدار شاخص سطح برگ سویا رقم معنی دار شد. اثرات متقابل دوگانه و سه گانه هیچ کدام از تیمارها اثر معنی‌داری بر LAI نداشت (جدول ٤-۳).

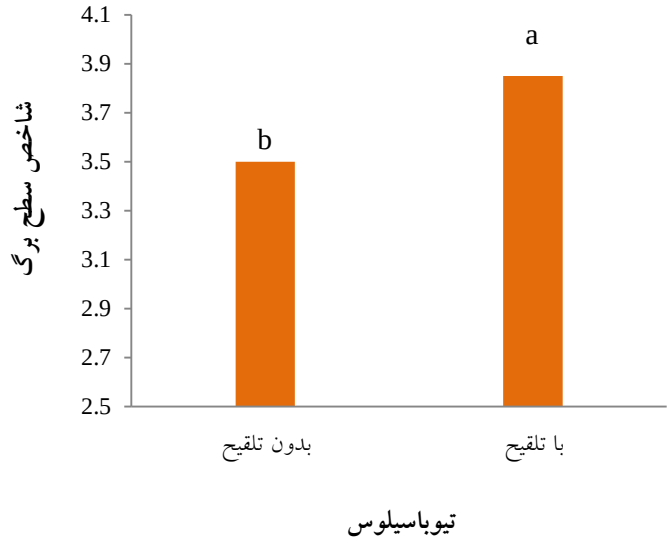
تلقیح سویا رقم M9 با رایزوبیوم سبب افزایش معنی‌دار شاخص سطح برگ (۳/۹) نسبت به شاهد (۳/۷) به میزان ۵/۱۲ درصد شد (شکل ٤- ۲۵). تلقیح تیوباسیلوس نیز سبب افزایش ۹/۱ درصدی مقدار شاخص سطح برگ نسبت به شاهد شد (شکل ٤-۲٦). بین سطوح مختلف گوگرد نیز تفاوت معنی‌داری از نظر LAI مشاهده شد و هرسه سطح با هم تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان دادند. بیشترین مقدار شاخص سطح برگ مربوط به تیمار ۱۳۰ کیلوگرم گوگرد (۳/۹۲) و کمترین مقدار مربوط به نمونه-ی شاهد (۳/۵۵) بود و تیمار ٦۵ کیلوگرم گوگرد (۳/۸۵) در حد واسط قرار گرفت (شکل ٤-۲۷).

تئورر (۱۹۷۹) نشان داد که منحنی تغییرات سطح برگ یک منحنی لگاریتمی رشد است که در اواسط فصل رشد به حداکثر رسیده و سپس با مرگ برگ‌های پیرتر کاهش می‌یابد. سطوح بالای نیتروژن مصرفی در سویا در مقایسه با شاهد (عدم مصرف کود) به لحاظ شاخص سطح برگ، برتری نشان می‌دهد و این برتری عمدتاً از مراحل زایشی گیاه شروع شده و تا انتهای فصل رشد ادامه می یابد (حاتمی، ۱۳۸۹).

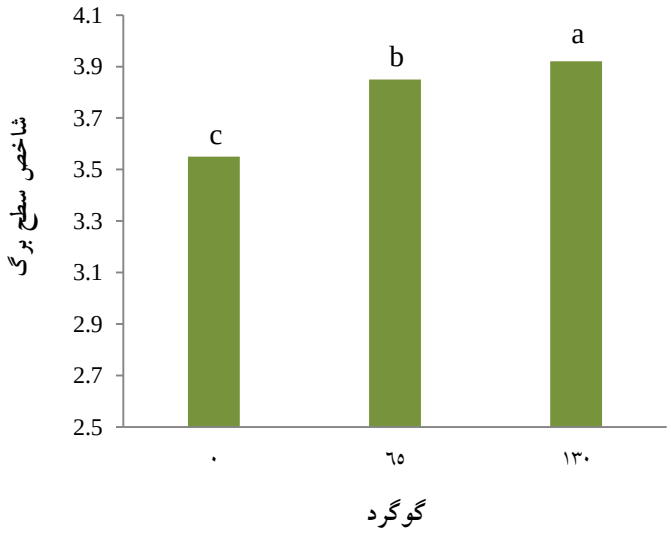
در آزمایشی که توسط ژانگ هائو (۲۰۰۲) در کانادا انجام شد، گزارش گردید که تلقیح بذور سویا بوسیله باکتری برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم باعث توسعه برگ سویا و افزایش سطح برگ گردید. شناخت و بررسی شاخص‌های رشد، در تجزیه و تحلیل عوامل مؤثر بر عملکرد و اجزاء آن از اهمیت زیادی برخوردار است (گاردنر و همکاران، ۱۹۸۵).

استفاده از کود نیتروژن با قابلیت رهاسازی آهسته، رشد اندام‌های هوایی سویا را تحریک نموده و موجب ایجاد LAI بیشتر در مراحل زایشی، به ویژه در طی مرحلهٔ پرشدن دانه شده و نهایتاً عملکرد دانه را افزایش داد (کوشال و همکاران، ۲۰۰٦). کالیسکان و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند، کاربرد کود آغازگر و سرک نیتروژن همراه با کود آهن، می‌تواند در بهبود رشد اولیه و عملکرد سویای تلقیح شده در خاک‌های مدیترانه‌ای، مفید باشد و استقرار سطح برگ بیشتر بین مراحل رشدی R1 و R4 در بهبود بازده فتوسنتزی و عملکرد سویا بسیار مهم است (کومودینی و همکاران، ۲۰۰۱).

شکل ٤-۲۵- مقایسه میانگین شاخص سطح برگ، تحت تأثیر تلقیح رایزوبیوم در سویا رقم M9



شکل ٤-٢٦- مقایسه میانگین شاخص سطح برگ، تحت تأثیر تلقیح تیوباسیلوس در سویا رقم M9



شکل ٤-٢٧- مقایسه میانگین مقدار شاخص سطح برگ، تحت تأثیر کاربرد سطوح مختلف گوگرد در سویا رقم M9

جدول ٤-١- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در سویا رقم M9

		میانگین مربعات				
منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	تعداد دانه در بوته	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
تکرار (R)	۳	۱۲/۲۲ ns	۰/۳۸۹ ns	٤۲۸/٤۷۲ ns	۱۳/٦۸۸**	٤٦۳۸٦/٤۷ ns
رایزوبیوم (A)	۱	۸۵/۳۳*	۰/۰۸۳ ns	۹۹۰/۲٦ *	۲۹۵/۰۲**	۳۳٦۳٤۰/۰۸**
تیوباسیلوس (B)	۱	۱٤۷**	۰/۷۵۰*	۲۷۳۰/٦۲ **	۲۱۲/۵۲۱**	۳۲۲۰۹٦/۳۳**
گوگرد (C)	۲	۵٦/٤۳ ns	۰/۵۸۳ *	۱۲۰۲/۳۳ **	۲٤۹/٤۳۸**	۲۵۷۱٦۸/۵۲**
رایزوبیوم×تیوباسیلوس (AB)	۱	۸/۳۳ns	۰/۳۳۳ns	٦٦۰/۰۸۳*	۰/۰۲۱ ns	۵۷۹٦۳ns
رایزوبیوم×گوگرد (AC)	۲	۹/۵۲۱ ns	۰/۰۸۳ns	۱٤٦/۳۳ns	۱/۸۹٦ns	۷۷۷/۸۹٦ ns
تیوباسیلوس×گوگرد (BC)	۲	٤/٦۸ns	۰/۰۰۰۱ ns	۱۵۳/۵۸ ns	۰/۸۹٦ ns	۲٤۹٦۷/۲۷ ns
رایزوبیوم×تیوباسیلوس×گوگرد (ABC)	۲	۲/۷۷۱ ns	۰/۳۳۳ ns	۱۰۵/۵۸ ns	٤/۷۷۱ ns	٤٤٤/۵٦ns
اشتباه آزمایشی (E)	۳۳	۱۷/٤۸	۰/۱٦۲	۱٦۵/۸۳٦	۱/۹٤۵	۱٦۸۲۹/٦۵
%CV		۱٦/۲٤	۱۳/۷۸	۱٦/۹۵	۱/۰٤	۵

**معنی دار در سطح احتمال۰/۰۱ * معنی دار در سطح احتمال۰/۰۵ ns عدم معنی دار

جدول ٤-٢- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در سویا رقم M9

		میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	کلروفیل کل	کلروفیل a	کلروفیل b	روغن	پروتئین	عملکرد بیولوژیک
تکرار (R)	۳	۱٤/۲ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱۲ ns	۰/۹٦٤ ns	۰/۹ ns	۳٤۳۳٥/٤۱ ns
رایزوبیوم (A)	۱	۱۲۳٥/۲٥**	۰/۰٦۳ **	۰/۰۱٥ *	۰/۰۱٤ *	۰/۰۱۸ ns	٦٤/۱۷۲**	۸۷٦۳۷٥۲/۸*
تیوباسیلوس (B)	۱	٦٦/٥۰٥*	۰/۰۰۲ *	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/٤۰ ns	٦۸/۸۸**	٥۲۲۰٦۰۲/۸*
گوگرد (C)	۲	۱۳۰/٥۱**	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۳/۲۲ ns	۳۸/۳۱**	۳۰٥۳۰۷۷/۸**
رایزوبیوم×تیوباسیلوس (AB)	۱	٤٥/۰٤ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱٦ ns	۲/۰۹ ns	۳/۲٥ ns	۷۷٦۰۲/۸ ns
رایزوبیوم×گوگرد (AC)	۲	٦٤/٥۳*	۰/۰۰۰۱۳ ns	۰/۰۰۰۱٤ ns	۰/۰۰۰۱۳ ns	۰/۸۸ ns	۰/٦۰۹ ns	۲٦۲۲٦٤/٥۸ ns
تیوباسیلوس×گوگرد (BC)	۲	۲۸/۷٥ ns	۰/۰۰۰۱۳ ns	۰/۰۰۰۱٥ ns	۰/۰۰۰۱۷ ns	٤/۱ ns	۰/٦۹۳ ns	۳۸٥۸۹/٥ ns
رایزوبیوم×تیوباسیلوس×گوگرد (ABC)	۲	۲/۷۳ns	۰/۰۰۰۱۱ ns	۰/۰۰۰۱۸ ns	۰/۰۰۰۱۹ ns	٤/۳۸ ns	۱/۸۱۸ ns	٦٦۳۱٥۲/۸ ns
اشتباه آزمایشی (E)	۳۳	۱۳/۱۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱۱	۲/٤۳	۰/۹۹۹	۲۱۳۳۰۲/۸
%CV		٦/۸۸	۷/٥۹	۱۰/٤٦	۹/٥۳	٦/٦	۲/۸	۷/۲٥

**معنی دار در سطح احتمال۰/۰۱ * معنی دار در سطح احتمال۰/۰٥ ns عدم معنی دار

جدول ٤-٣- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در سویا رقم M9

	میانگین مربعات		
منابع تغییر	درجه آزادی	شاخص سطح برگ	شاخص برداشت
تکرار (R)	٣	٠/٠٠٤ ns	١١/١١٨ ns
رایزوبیوم (A)	١	٣/٤١٣**	١/٣٣ ns
تیوباسیلوس (B)	١	٠/٩٦٣**	١٨/٧٥٠ ns
گوگرد (C)	٢	٠/٢٢٤**	٢٤/٦٠٩ ns
رایزوبیوم×تیوباسیلوس (AB)	١	٠/٠٠٠١ ns	١/٦٨٨ ns
رایزوبیوم×گوگرد (AC)	٢	٠/٠١٩ ns	٢/٩١١ ns
تیوباسیلوس×گوگرد (BC)	٢	٠/٠٢٨ ns	٣٣/٣٢ ns
رایزوبیوم×تیوباسیلوس×گوگرد (ABC)	٢	٠/٠٣٩ ns	٠/١٠٩ ns
اشتباه آزمایشی (E)	٣٣	٠/٠٤٠	١٨/١٧٥
%CV		٤/٨٤	٩/٧٩

**معنی دار در سطح احتمال٠/٠١ * معنی دار در سطح احتمال٠/٠٥

ns عدم معنی دار

نتیجه‌گیری

امروزه، بیش از هر زمان دیگر، تأمین نیاز گیاهان به عناصر غذایی کافی به منظور تضمین تولید محصول و در نتیجه تأمین امنیت غذایی جامعه بشری، اهمیت دارد. کشاورزان به طور مداوم در تلاشند تا با رفع کمبودهای این عناصر و استفاده بهینه از مصرف کود، تولید محصول را به حد پتانسیل (ژنتیکی) نزدیک کنند. بررسی وضعیت عناصر غذایی در خاک نشان می‌دهد که علیرغم وجود مقادیر فراوان برخی از عناصر غذایی، فرم محلول و قابل جذب آنها کمتر از مقدار لازم برای رشد و نمو گیاه بوده و کمبود این عناصر یکی از عوامل محدودکننده تولید محصول محسوب می‌شود.

نتایج این تحقیق نشان داد که عملکرد دانه تحت تأثیر اجزاء عملکرد قرار می‌گیرد که از تعداد گیاه در واحد سطح، تعداد غلاف در هر بوته، تعداد دانه در هر غلاف و وزن دانه تشکیل می‌شود. عملکرد و اجزای اصلی عملکرد سویا شامل تعداد غلاف در بوته، وزن هزاردانه، تعداد دانه ، عملکرد بیولوژیک کل و درصد **پروتئین** در اثر تلقیح هردو باکتری رایزوبیوم و تیوباسیلوس و استفاده از ۱۳۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار، بیشترین مقدار را در بین سایر تیمارهای مورد استفاده در این مطالعه داشتند و این نتایج مناسب بودن این تیمارها را برای رشد سویا نشان می‌دهند.

شاخص‌های فیزیولوژیکی و رشدی، نمایانگر شرایط رشدی گیاه و معیارهایی برای پیش‌بینی عملکرد و تشخیص شرایط گیاه و آینده‌ی آن هستند از برخی از این شاخص‌ها (LAI) برای توانایی رقابت با علف‌های هرز در اوایل رشد گیاه استفاده می‌شود. این شاخص‌ها معمولا بصورت دوره‌ای و در مراحل مختلف رشد گیاه اندازه‌گیری می‌شوند تا توانایی‌ها و شرایط رشدی گیاه در مراحل مختلف تشخیص

داده شوند و نیازها و پتانسیل گیاه تشخیص داده شوند. در این مطالعه مشاهده گردید که استفاده از تیمارهای تلقیح سویا با باکتری‌ها و استفاده از گوگرد، مقدار برخی از این شاخص‌های فیزیولوژیک را نسبت به شاهد افزایش داد. مثلاً کاربرد ریزوبیوم شاخص سطح برگ را افزایش داد، که می‌تواند در اثر تثبیت ازت و افزایش رشد رویشی باشد. در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده بهترین تیمار برای تولید سویا رقم M9 در منطقه شاهرود، استفاده همزمان از باکتری‌های تیوباسیلوس و رایزوبیوم و نیز مصرف ٦٥ کیلوگرم گوگرد در هکتار می‌باشد و به کشاورزان توصیه می‌شود.

پیشنهادات

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه پیشنهادات زیر ارائه می‌گردد:

- قبل از استفاده در سطح تجاری و توصیه به کشاورزان، انجام آزمایشات بیشتر در سطحی وسیع‌تر و با ارقام مختلف سویا در مناطق مختلف ضروری می‌باشد.
- استفاده از این باکتری‌ها در سایر محصولات روغنی و زراعی پیشنهاد می‌گردد.
- استفاده از سایر باکتری‌های محرک رشد مثل سودوموناس، ازتوباکتر و ... توصیه می‌گردد.
- برخی از باکتری‌های محرک رشد برای فعالیت و تأثیر بر رشد گیاه نیاز به حضور عناصر معدنی دارند، در نتیجه مصرف توأم عناصر معدنی و این باکتری‌ها پیشنهاد می‌گردد.
- برای هر منطقه و هر محصول تحقیقات مختص با آن منطقه و محصول انجام شود.
- بررسی اثرات متقابل این باکتری‌ها و دست یافتن به ترکیبی از این باکتری‌ها برای کارایی بهتر، توصیه می‌شود.

- پیشنهاد می‌گردد شاخص‌های فیزیولوژیکی رشد بصورت دوره‌ای و در مراحل فنولوژیکی رشد گیاه مورد مطالعه قرار گیرند تا اثر عناصر و کودهای میکروبی بر آنها بهتر قابل بررسی باشد.

منابع

- آستارایی، ع.، کوچکی، ع. ۱۳۷۵. کاربرد کودهای بیولوژیک در کشاورزی پایدار، انتشارات جهاد کشاورزی مشهد.
- آلیاری، ه.، شکاری، ف. و شکاری، ف. ۱۳۷۹. دانه های روغنی (زراعت و فیزیولوژی). انتشارات عمیدی، تبریز.
- ابراهیمی‌منفرد، ک. و دلخوش، ب. ۱۳۸۸. ارزیابی خصوصیات شیمیایی روغن استخراج شده از هشت رقم جدید دانه سویا. علوم غذایی و تغذیه. ۸(۱): ۷۲-۸٤.
- اسدی رحمانی، ه. خاوازی، ک. اصغرزاده، ا. رجالی، ف. و افشاری، م. ۱۳۹۱. کودهای زیستی در ایران: فرصت‌ها و چالش‌ها. مجله پژوهشهای خاک (علوم خاک و آب). ۲٦(۱): ۷۷-۸۷.
- اخگر، ع. ۱۳۸۷. جداسازی، شناسایی و بررسی باکتری های ریزوسفری دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز در کاهش اثرات تنش شوری بر رشد کلزا. رساله دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران. ۱۵۸ صفحه.
- اردکانی، م، ر. ۱۳۷۸. قارچ‌های میکوریزا و اهمیت زیستی آنها با گیاهان، فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی اراک. ۳(٤): ۲۲۹ – ۲٤۰.
- افتخاری، س.ق.، فلاح نصرت آباد، ع.، اکبری، غ. ع.، محدثی، ع. و الله دادی، ا. ۱۳۸۸. اثر باکتری های حل کننده فسفات و کودهای فسفاته بر چگونگی رشد گیاه برنج. مجله پژوهش های خاک(علوم خاک وآب)، جلد۲۳، شماره۲، ص:۲۳۹-۲۲۹.

- اکبری پ .۱۳۸۷ . اثرات سیستم های مختلف تغذیه‌ای (آلی، شیمیائی، تلفیقی) و باکتری های افزاینده رشد (PGPR) بر صفات کمی و کیفی آفتابگردان .پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت . دانشگاه تربیت مدرس .۱٤۳ صفحه.
- امانی، ف. رئیسی، ف. پیرولی بیرانوند، ن. و موسوی، ا. ۱۳۸۷. تأثیر گوگرد بر میزان تثبیت ازت و برخی صفات رشد دو رقم سویا با استفاده از روش رقت ایزوتوپی 15N. مجله کشاورزی، ۱۰(۱): ۹-۲۰.
- اوجاقلو ف، فرحوش ف، حسنزاده ع و جوانشیر ع، ۱۳۸٦. تأثیر تلقیح با کودهای زیستی ازتوباکتر و فسفات بارور بر عملکرد گلرنگ. مجله علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز. ۱(۳): ۳۹-۵۱
- بابایی، پ. گلچین، ا. بشارتی، ح. و افضلی، م. ۱۳۹۱. تأثیر کود میکروبی گوگردی بر جذب عناصر غذایی عملکرد سویا در مزرعه. مجله پژوهشهای خاک. ۲٦(۲): ۱٤٥-۱۵۱.
- بشارتی، ح .۱۳۸٦. تأثیر مصرف گوگرد و ماه تلقیح تیوباسیلوس بر آهن جذب شده توسط ذرت در یک خاک آهکی. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران، کرج.
- بشارتی، ح.، ن. صالح راستین. ۱۳۷۸. بررسی تاثیر کاربرد مایه تلقیح باکتری های تیوباسیلوس همراه با گوگرد در افزایش قابلیت جذب فسفر. مجله علوم خاک و آب، جلد ۱۳، شماره۱. ص:۳۹-۲۳.

- بیرانوند، ن . ۱۳۸۲. اثر رقم گیاه و سویه باکتری بر مقدار تثبیت نیتروژن سویا به روش های معمولی و ایزوتوپی (N15) در خاک‌های مختلف. خلاصه مقالات سومین همایش توسعه کاربرد مواد بیولوژیک و استفاده بهینه از کود و سم در کشاورزی.۳۳۹-۳٤۰.
- پور آذردخت، م. رضایی، م.ح. اصغرزاده، ا. و چراتی، ع. ۱۳۸۸. بررسی اثر سویه های مختلف باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم (*Bradyrhizobium japonicum*) بر جذب ریز مغذی ها در اندام هوایی و عملکرد دانه در گیاه سویا (*Glycine max* L.). پژوهش های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران (پژوهش های علوم گیاهی). ٤(٤): ۳۳-٤۰.
- پیوست، غ.ع. سبزیکاری (تألیف). ۱۳۸۱. چاپ دوم. نشر علوم کشاورزی. ٤٦۱ص.
- خاوازی، ک.، ملکوتی، م.ج.۱۳۸۰. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. چاپ اول، نشر آموزش کشاورزی، کرج.
- خسروی، ه. ۱۳۷٦. بررسی فراوانی و انتشار ازتوباکتر کرکوکوم در خاک های زراعی استان تهران و مطالعه برخی از خصوصیات فیزیولوژیک آن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران. تهران: ۱۱۱ صفحه.
- خسروی، ه.، علیخانی ح. و یخچالی، ب. ۱۳۸۸. بررسی اثر سویه های ریزوبیوم دارای آنزیم ACC daminase بر رشد گندم در شرایط تنش شوری. مجله تحقیقات آب و خاک ایران(مجله علوم کشاورزی ایران)، جلد ۳۹ شماره۱.
- خلدبرین، ب. اسلام‌زاده، ط. ۱۳۸٤. تغذیه معدنی گیاهان عالی (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز، چاپ دوم، ج اول. ۲۵۹-۱٦۱.

- حاتمی، ح. آیئنه‌بند، ا. عزیزی، م. سلطانی، ا. و دادخواه، ع.ر. ۱۳۸۸. تأثیر کود نیتروژن بر رشد و عملکرد ارقام سویا در خراسان شمالی. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی. ۲(۲): ۲۵-۴۲
- حاتمی، ح. آیئنه‌بند، ا. عزیزی، م. سلطانی، ا. و دادخواه، ع.ر. ۱۳۸۹. تاثیر کود پتاسیم بر رشد و عملکرد ارقام سویا در خراسان شمالی. فصلنامه علمی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۲(۲): ۱۰۱-۱۱۱.
- حسینی، ح. ۱۳۸۳. بررسی تاثیر سموم مختلف علف‌کش بر روی رشد و عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم سویا. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران.
- حمیدی، آ. ۱۳۸۵. جنبه های اگرواکولوژیک کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد دانه و علوفه سیلویی دورگ های دیر رس ذرت. رساله دکتری دانشگاه تربیت مدرس.
- حمیدی، آ.ر. چوگان، ا. اصغر زاده، م. دهقان شعارف، ا. قلاوند، م. ج. ملکوتی. ۱۳۸۸. بررسی اثر کاربرد باکتریهای افزاینده رشد گیاه برظهور گیاهچه و استقرار گیاهچه و عملکرد دانه دورگ های دیر رس ذرت در مزرعه. مجله به زراعی نهال و بذر، جلد ۲۵. شماره۲. ص:۲۰۷-۱۸۳.
- چمندی، ح ابوطالبیان، م.ع. احمدوند، گ. و جاهدی، آ. ۱۳۸۹. اثرات پرایمینگ بذر در مزرعه و تاریخ کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد سه رقم سویا در همدان. فنآوری تولیدات گیاهی. ۱۰(۲): ۱۷-۲۹.

- راثی پور، ل. و علی اصغر زاده، ن. ۱۳۸٦. اثرات متقابل باکتری های حل کننده فسفات و برادی رایزوبیوم ژاپونیکوم بر شاخص های رشد، غده بندی و جذب برخی عناصر غذایی در سویا. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال یازدهم. شماره٤٠(الف). صفحه٥٣-٦٣.
- راثی‌پور، ل. و علی‌اصغرزاده، ن. ۱۳۸٤. برهمکنش باکتری های حل کننده فسفات و بردی ریزوبیوم ژاپنیکوم بر عملکرد و جذب برخی عناصر غذایی در سویا. دانش کشاورزی. ۱۵(٤): ۱٤۱-۱٥٦.
- رحمانی، ا. و صالح راستین، ن. ۱۳۸۱. بررسی تحمل به حرارت و تثبیت نیتروژن در سویه‌های ریزوبیوم همزیست سویا. مجله علوم آب و خاک. ١٦(٢): ١٧٨-١٨٩.
- رحیمیان، ز. ۱۳۹۰. اثر گوگرد و تیوباسیلوس به همراه ماده آلی بر صفات کمی و کیفی کلزا. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۳(۱۲): ۱۹-۲۷
- رشیدی، ن .و ن .ع .کریمیان .۱۳۷۸ . تأثیر گوگرد و روی بر رشد و ترکیب شیمیایی ذرت دریک خاک آهکی. چکیده مقالات ششمین کنگرهٔ علوم خاک ایران، مشهد.
- رضوی پور، ت .و صبوری، ص .۱۳۸۲. بررسی تاثیر گوگرد پودری با و بدون بیاکتری تیوباسییلوس بر روی عملکرد کلزا. .هشتمین کنگره علوم ایران. ٦٦-٦٧.
- ریحانی تبار، ع.۱۳۷۹. بررسی جمعیت پسودوموناس های فلورسنت در ریزوسفر گندم کشت شده در خاک های زراعی استان تهران و تعیین پتانسیل آنها برای افزایش رشد گیاهان. پایان نامه کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.

- زرنگار، ا. فلاع، ع. و رضایی عمروآبادی، ش. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر گوگرد و مایه تلقیح تیوباسیلوس بر غلظت آهن، روی، مس و منگنز در گیاه کلزا در شرایط گلخانه ای. زراعت و اصلاح نباتات ایران. ۸(۳): ۱۹۱-۱۹۷. دانشور، ه. و ابایی مراد، ق. ۱۳۷۲. بررسی امکان کنترل جمعیت کنه *Tetranychus turkestani* روی پنبه، سویا و لوبیا به وسیله *Phytoseiulus persimilis*در کانون‌های آلودگی. آفات و بیماری‌های گیاهی. ٦١-٧١.
- ذبیحی، ح. ر.، ثوابقی، غ. خاوازی، ک.، گنجعلی، ع. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر کاربرد سویه هایی از سودوموناس فلورسنت بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم در سطوح مختلف شوری خاک، مجله آب و خاک(علوم و صنایع کشاورزی)، جلد۲۳، شماره۱، ص:۲۰۸-۱۹۹.
- سپهوند، م .۱۳۸۲ . بررسی تمایز مقادیر مختلف گوگرد به صورت مصرف خالی بر عملکرد دانه و کیفیت دانه سویا، سومین همایش ملی توسعهٔ کاربرد مواد بیولوژیک و استفاده بهینه از کود و سم در کشاورزی، نشر آموزش کشاورزی .کرج، تهران، ۹۳-۹۸.
- سرمدنیا. غ. و کوچکی. ع. ۱۳٦۸. فیزیولوژی گیاهان زراعی، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- شافع ، ل. صفاری ، م. امام، ی. و محمدی نژاد، ق. ۱۳۹۰. اثر مصرف کودهای نیتروژن و روی بر میزان کلروفیل و میزان روی برگ، عملکرد و ترکیب عناصر دانه دو هیبرید ذرت. مجله به-زراعی نهال و بذر. ۲۷(۲): ۲۳۵-۲٤٦.
- شاهمرادی، ش.۱۳۸۲. بررسی اثرات تنش خشکی بر روی صفات کمی وکیفی ارقام و لاین های پیشرفته سویا. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران.

- شرفی، س.، عباس‌دخت، ع.، چایی‌چی، م.ر.، اردکانی، م.ر. و قاسمی، ث. ۱۳۸۹. بررسی تاثیر رقم، تلقیح بذر با تیوباسیلوس و اشکل مختلف نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد کلزای پاییزه. علوم گیاهان زراعی ایران. ٤١(٣): ٤٥٩-٤٦٨.
- شکوه‌فر، ع. شهولی، ر. و قدرتی، غ.ر. ۱۳۸۷. ارزیابی عکس العمل سویا نسبت به مقادیر و سویه های مختلف باکتری برادی‌رایزوبیوم ژاپونیکوم در منطقه شمال خوزستان. مجله زراعت و اصلاح نباتات ایران. ٤(٢): ٨١-٩١
- شهیدی، م. ١٣٨٦. گردهمایی بررسی زراعت سویا، دفتر تهیه و دانه‌های روغنی وزارت جهاد کشاورزی. شرکت زراعی دشت ناز ساری.
- شیرانی راد، ا. ۱۳۷۷. بررسی اکوفیزیولوژیک همزیستی قارچ میکوریزا و سیکولار باگندم و سویا. رساله دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور (مجموعه مقالات). چاپ اول، مرکز نشر آموزش کشاورزی، ۵۹۰ ص.
- صادقی، ح. اکبری، غ.ع. حجازی، ا. باغستانی میبدی، م.ع. ۱۳۸۲. ارزیابی شاخص‌های رشد سویا (*Glycine max* L) و چند گونه علف هرز در شرایط رقابت. آفات و بیماری‌های گیاهی. ۷۱(۲): ۸۷-۱۰٦.
- عزیزی، م. فرامرزی، ع. عبدی، م. و اجلی، ج. ١٣٨٤. بررسی اثر تاریخ‌های مختلف کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد چهار رقم سویا در منطقه میانه. دانش نوین کشاورزی. ١(٢): ٧٥-٨٥.

- علیجانی، آ.م. استکی اورگانی، خ. جعفرزاده کنارسری، م. ۱۳۹۰. اثرکاربرد میکروارگانیسم های حل کننده های فسفات و گوگرد و محلولپاشی با بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا عنصر روی (Zn). یافته های نوین در کشاورزی. ۵(۲): ۲۹۱-۳۰۰.
- صالح راستین، ن. ۱۳۷۷. کودهای بیولوژیک، نشریه علمی پژوهشی خاک و آب، جلد ۱۲، شماره ۳، مؤسسه تحقیقات خاک و آب. تهران- ایران.
- فراهانی پاد، پ. پاک‌نژاد، ف. فاضلی، ف. ایلیکایی، م.ن. و داوودی‌فرد، م. ۱۳۹۱. اثر تاریخ کاشت بر ماده خشک و اجزای عملکرد چهار رقم سویا رشد نامحدود. مجله زارعت و اصلاح نباتات. ۸(۱): ۲۰۳-۲۱۲.
- فرنیا، ا. ۱۳۷۷. بررسی تاثیر نژادهای ریزوبیوم جاپونیکوم بر جنبه های فیزیولوژیکی رشد و نمو ارقام سویا. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول.
- قراخانی‌بنی، ه. موحدی دهنوی، م. یدوی، ع.ر. و هاشمی‌جزی، س.م. ۱۳۹۰. بررسی خصوصیات کمی و کیفی چهار رقم سویا تحت تاریخ‌های مختلف کاشت در منطقهٔ شهرکرد. مجله تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی. ۱(۲): ۱۹-۳۳.
- قربانی نصرآبادی، ر.، صالح راستین، ن .و علیخانی ح.، ۱۳۸۱. بررسی تاثیر کود میکروبی گوگرد بر تثبیت نیتروژن و شاخص‌های رشد سویا. مجله علوم آب. ۳۷(٤): ٣٦٦-٣٧٣.
- قربانی نصرآبادی، ر.، ن .صالح راستین و ح .ع .علیخانی .۱۳۸۱. بررسی تأثیر مصرف گوگرد با مایه تلقیح تیوباسیلوس و برادی ریزوبیوم بر تثبیت نیتروژن و شاخص‌های رشد سویا. مجله علوم خاک و آب. جلد ١٦(٢): ١٧٠-١٧٨.

- قلاوند، ا.، و همکاران. ۱۳۸۵. کاربرد کودهای زیستی(بیولوژیک)، راهبردی بوم شناختی برای مدیریت پایدار بوم نظام های زراعی. مقالات کلیدی نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات. شهریورماه. پردیس ابوریحان، تهران.
- کوچکی، ع.، و همکاران. ۱۳۷۵. تولید محصولات زراعی(ترجمه و تدوین) انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- محنت کش، ع.، ۱۳۸۲. بررسی مصرف گوگرد و تیوباسیلوس و ماده آلی بر عملکرد کمی و کیفی کلزا. هشتمین کنگره علوم ایران. ۷۸-۷۹.
- ملازاده، مرتضی. ۱۳۸٦. مرجع جامع گیاهان زراعی جلد دوم (گیاهان صنعتی). انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی.
- ملکوتی، م. ج. ۱۳۷۸. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد، بهینه سازی مصرف کود در ایران، چاپ دوم، نشر آموزش کشاورزی، کرج.
- ملکوتی، م. ج.، م. ن، غیبی. ۱۳۸۳. اصول تغذیه ذرت. بهینه سازی مصرف کود گامی به سوی خود کفایی در تولید ذرت(مجموعه مقالات). انتشارات سنا. چاپ اول.
- ملکوتی، م. ج.، و پ. کشاورز. ۱۳۸٤. نگرشی بر حاصلخیزی خاک های ایران(شناسایی و بهره برداری) انتشارات سنا.
- ناصری، ف. ۱۳۷۵. ترجمه دانه های روغنی. انتشارات معاونت فرهنگی آستان قدس رضوی.

- ناظری، پ. کاشانی، ع. خاوازی، ک. اردکانی، م.ر. و میرآخوری، م. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر شاخص های فیزیولوژیکی رشد به کود زیستی میکروبی فسفاته حاوی روی وکود شیمیایی فسفر در لوبیا. مجله زارعت و اصلاح نباتات. ۸(۳): ۱۱۱- ۱۲۶
- نورقلی‌پور، ف.، ک .خاوازی.، ح .بشارتی و ع .ا .فلاح. ۱۳۸۵. بررسی تأثیر کاربرد خاک فسفات، گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر عملکرد کمی و کیفی سویا و اثرات باقی‌مانده آن بر ذرت، مجله علوم خاک و آب. ۲۰(۱): ۱۲۲-۱۳۲.
- یادگاری، م. و برزگر، ر. ۱۳۸۹. تاثیر گوگرد و تیوباسیلوس بر قابلیت جذب عناصر غذایی، رشد رویشی و تولید اسانس در بادرنجبویه (*Melissα officinαlis* L.). داروهای گیاهی. ۱(۱): ۳۵-۴۰

- Abd-Alla, M., H. 1994.Use of organic phos phorous by *Rhizobium leguminosarum* by. Viciae phosphatase. Biology and Fertility of Soils, 8:216-218.
- Afza, R., Hardarson, G., Zapata, F., and Danso, S.K.A. 1987. Effects of delayed soil and foliar N fertiliztion on yield and N2 fixation of soybean. Plant and Soil. 3:361-368.
- Afzal A. and Asghari. B. 2008. *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). International Journal of Agriculture & Biology, 10: 58-88.
- Aleksandrov VG, Blagodyr RN and Iiiev IP, 1967. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. Mikrobiolohichnyi Zhurnal (Kiev) 29: 111-114.
- Anderson, L. R., and B. I.Vasilas. 1985. Effects of planting date on two soybean cultivars: seasonal dry matter accumulation and seed yield. Crop Sci. 25: 999-1004.
- Antoun, H. and Beauchamp, C. 1998. Potemtial of *rhizobium* and *bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legomes. Plant and soil, 204: 57-67.

- Arshad, M. and Frankenberger, Jr., W.T. 1991. Microbial production of plant hormones., pp.327-334, in: The rhizosphere and p: ant growth. Eds. Keister, D., I., and Cregan, P., B., Kulwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Azizi, M. 1994. Effects of N fertilizers on growth indices, yield and yield components of soybean. M.Sc. thesis in agronomy, faculty of Ariculture Isfehan Univ. OF Technology.
- Banerjee, M., R., Yesmin, L., and Vessey, j., k., 2006. Plant- growth promoting rhizobacteria as biofertilizers as biofertilizers and biopsticides., pp. 137-181. In: Handbook of microbial biofertilizeas. Ed., Rai, M., K., Food production press, U.S.A.
- Bao, L. 1998. The changes of fertilizer structure & effectiveness in China, jaingxi Scientific and Technology publisher, China.
- Berglund R B. 2002. Soybean production field guide for north dakota and northwestern minnesota. NDSU Extension Service North Dakota Soybean Council Minnesota Soybean Research and Promotion Council. 136 page.
- Besharaty, H., Atashnama, K. and Hatami, S., 2007. Biosuper as a phosphate fertilizer in a calcareous soil with low available phosphorus. African Journal of Biotechnology, 6(11): 1325-1329.
- Besharaty, H., Khavazi, K. and Saleh-Rastin, N., 2002. Evaluation of some carriers for Thiobacillus inoculats used along with sulphur to increase uptake of some nutrients by corn and improve its performance. Plant Nutrition, 92: 672-673.
- Blight K.R., Candy R.M. & Ralph D.E., 1999. "The preferential oxidation of orthorhombic sulfur during batch culture", J. Plant Nutr. 4(8): 225-232.
- Boem, G. F. H., P. Prysupa and G. Ferraris. 2007. Seed number and yield determination in sulfur deficient soybean crops. J. Plant Nutr. 30(1): 93-104.
- Boswell C.C. & Friesen D.K., Elemental sulfur fertilizers and their use on crops and pastures, Fert. Res., 35, pp.127-149, 1993
- Brevendan, R.E., Egli, D.B., and Leggett, J.E. 1978. Influence of N nutrition on flower and pod abortion and yield of soybeans. Agron. J. 70:81-84.

- Buhler, D.D., Gunsolus, J.L., and Raston, D.F. 1992. Integrated weed management techniques to reduce herbicide inputs in soybean. Agron. J. 84: 973-978.
- Calvin, T., B. Brent. 2001. Effect of planting date and matarity group on soybean yield. The Texas South Exctension Agronomy, (806) 35.
- Caesar, A. J. and Burr, T. J. 1987. Growth promotion of apple seedlings and rootstocks by specific strains of bacteria. Ecology and Epidemiology, 11: 1583-1588.
- Chakmakchi, R., Donmez, F., Aydın, A and Shahin, F. 2006. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. Soil. Biol. Biochem. 38: 1482–1487
- Cheng, Z., E. Park and Glick. B.R. 2007.1 Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonase putida* UW4 faciliate the growth of canola in the precence of salt. Canadian Journal of Microbilogy, 53: 912-918.
- Dadhich S K, Somani L L and Shilpkar D. 2011. Effect of integrated use of fertilizer P, FYM and biofertilizers on soil properties and productivity of soybean – Wheat crop sequence. Journal of Advances in Developmental Research 2 (1): 42-46.
- Dart, P. J. and J. M. Day. 1975. Nitrogen fixation in the field other than by nodules. In: N. Walker (Ed.), Soil Microbiology. Butter Worth Sci. Pub., London.
- Dimkpa, C., Weinand, T. and Asch, F. (2009) Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant, Cell and Environment 32: 1682–1694.
- Dixon, R.O.D. and wheeler. C.T. 1986. Nitrogen fixation in plants, Blackie, London. 157p.
- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., and Yaacov Okon, Y. 2003. Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Rev. Plant Sci. 22:107-149.
- Donati, E., Pogliani, C. & Boiardi, J. 1997. Anaerobic leaching of covellite by Thiobacillus ferrooxidans. Journal of Applied Microbiology Biotechnology, 47: 636-639.

- Egli, D.B., Guffy, R.G., and Leggett, J.E. 1985. Partitioning of assimilate between vegetative and reproductive growth in soybean. Agron. J. 77: 917-922.
- Ehdaei B and Waines J G. 2001. Sowing date and nitrogen rate effects on dry matter and nitrogen partitioning in bread and durum wheat. Field Crops Research 73: 47-61.
- Evans, L.T.1978.Crop physiology. Cambridge university press. Pp. 196.
- Fehr, W. R. and A. H. Probst. 1971. Effect of seed source on soybean strain performance for two successive generations. Crop Sci. 11: 865-867.
- Gardner, F., Pearce, R., and Mitchell, R.L. 1985. Physiology of crop plants. Iowa state university Press. Ames. USA.
- Germida J.J. & Janzen H.H., 1993. "Factors affecting the oxidation of elemental sulfur in soils", Fert. Res., 35, pp.101114, 1993.
- Gharib, F. A., L. A. Moussa and O. N. Massoud. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth yield and essential oil of sweet Marjoram (Majorana hortensis) plant. Int. J Agric. Biol. 10(4):381-387.
- Ghorbani Nasrabadi R (2001) Effect of microbial sulfur fertilizer on nitrogen fixation by Bradyrhizibium japonicum-soybean symbiosis, Tehran University, Thesis of Master of Science in Soil Science.
- Glick BR, Karaturovic DM and Newell PC, 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonas. Canadian Journal of Microbiology 41: 533-536.
- Glick, B.R., Patten, C.L., Holguin, G. and Penrose, D.M. 1998. A model for the lowering of plant Ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. J. Theor. Biol. 190: 63-68.
- Goncalves, E.M., Cruz, R.M.S., Abreu, M., Brandao, T.R. & Silva C.L. (2009). Biochemical and colour changes of watercress (Nasturtium *officinale R. Br*.) during freezing and frozen storage. *Food Engineering*, 93: 32-39.
- Gomez, J. M., Cantero, D. & Webb, C. 2000. Immobilization of Thiobacillus ferrooxidans cells on nickel alloy fiber for ferrous sulfate oxidation. Journal Applied Microbiology Biotechnology, 54: 335-340.

- Grichko, V.P., B. Filby, and B.R. Glick. 2000. Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb and Zn. Journal of Biotechnology. 81: 45-53.
- Grossman, J.M., Schipanskip, M.E., Sooksanguana, T., Seehavera, S. and Drinkwater, L.E. 2011. Diversity of rhizobia in soybean [*Glycine max* (Vinton)] nodules varies under organic and conventional management. Applied soil ecology. 50: 14-20.
- Gyaneshwar P, Naresh Kumar G, Parekh LJ and Poole PS, 2002. Role of soil microorganisms in
- improving P nutrition of plants. Plant and Soil 245: 83-93.
- Halt, J. G.,N.R. Krieg, P. H. A. Sneah,J.T.Staley, and.Williams. S. T. 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology. In: Baltimore, M. D. (Eds.).Williams & wilkins.
- Halvorson, H.O., A. keynan, and. Kornberg. H.L. 1990. Uilization of calcium phosphate for microbial growth at alkaline PH, Soil Biochem., 22(7) 887-890.
- Hameeda B, Rupela OP, Reddy G and Satyavani K, 2006. Application of plant growth-promoting
- bacteria associated with composts and macro fauna for growth promotion of pearl millet
- (Pennisetumglaucum L.). Biological Fertilizer Soils 44: 260-266.
- Haneklaus S., Bloem E., and Schung E. 2007. Sulfur intraction in crop. In: M. J. Hawkesford and L. J. De Kok (eds.). Sulfur in plants. Springer, pp:19.
- Haneklaus, S., Bloem, E. & Schnug, E. 2003. The global sulphur cycle and its links to plant environment. In: Abrol, Y.P., Ahmad, A. (Eds.), Sulphur in Plants. Kluwer Academic Publishers,
- Dordrecht, the Netherlands. PP: 1–28.
- Hardarson, G, F. Zapata and S. K. A. Danso. 1984. Field evaluation of symbiotic nitrogen fixation by rhizobial strains using 15 N methodology. Plant and Soil 82: 369-375.

- Hardarson, G., F. A. Blis, M. R. Cigales- Rivero, R. A. Henson, J. A. Kipe- Nolt, L. Longeri, A. Manrique, J. J. Pena- Cabriales, P. A. A. Pereira, C. A. Sanabria, S. M. Tsai. 1993. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. Plant and Soil, 152(1): 59-70.
- Hirsch, A.M., Fang, Y., Asad, S. and Kapulnik, Y. 1997. The role of phytohormones in plant- microbe symbioses. Plant and Soil, 194:171-184.
- Höflich, G. 1999. Colonization and growth promotion of non-legumes by *Rhizobium* bacteria. Microbial Biosystems: New FrontiersProceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology Bell CR, Brylinsky M, Johnson- Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada,Green P (eds).
- Hu XF, Chen J and Guo JF, 2006. Two phosphate and potassium solubilizing bacteria isolated from Tiannumountain, Zhejiang, China. World Journal of Microbiology and Biotechnology 22: 983-990.
- Jarak, M., R. Protio, S. Jankovio and. Colo, J. 2006. Response of wheat to *Azotobacter*-Actinomycet inoculation and nitrogen fertilizers. Romanian Agriculture Research. Number23.
- Kachhave, K. G., S. D. Gawand and O. D. Kohire. 1997. Uptake of nutrients by chickpea, J. Indian Soc. Soil Sci. 45: 590-591.
- Kalbasi, M., F. Filsoof and Y. Rezaei-Nejad. 1988. Effect of Sulfur treatment on yield and uptake of Fe, Zn and Mn by corn. sorghum and soybean. J. Plant Nutr. 11(6-11): 1353-1360.
- Kaushal, T., Onda, M., Ito, S., Yamazaki, A., Fujikake, H., Ohtake, N., Sueyoshi K., Takahashi, Y., and Ohyama, T. 2006. Effect of placement of slow- release fertilizer (Lime nitrogen) applied at different rates on growth, N2 fixation andyield of soybean (*Glycine max*). J. Agronomy & Crop Science, 192: 417-426.
- Keryser, H. H. and F. Li. 1992. Potential for increasing biological nitrogen fixation in soybean. Plant and Soil, 141: 119- 35.

- Kim K K., Jordan D., and MacDonald G A., (1989). Entro bacter agglomerans, phosphate solubizing bacterial activity in soil: effect of carbon sources. Soil. Biol. Biochem. 89, 995-1003
- Krishnan, H. R., G. Jiang, A. H. Krishnan and. Wiebold, W. J. 2000. Seed Storage protein Composition of nonnodulation soybean and its influence on protein quality. Plant Sci. 2:191-99.
- Kumar, V. and Neeru Narula. 1999. Solubilization of inorgainc phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. Biol. Fertil. Soils. 28: 201-305.
- Kumudini, S.D., Hume, J., and Chu, G. 2001. Genetic improvement in shortseason soybeans. I. Dry matter accumulation, partitioning, and leaf area duration. Crop Sci. 41: 391-398.
- Leffel, R.C., P.B. cregan., A. P.Balgiana., and .Thibeau. D.J. 1992. Nitrogen metabolism of normal and high-seed - protein soybean. Crop science. 32: May-June, N.3. Lindemann W C and Glover C R. 2003. Nitrogen fixation by legumes. Cooperative extension service college of agriculture and home economics, Guide A-129. Cooperative Extension Service College of Agriculture and Home Economics.
- Li YF, 1994. The characteristics and function of silicate dissolving bacteria fertilizer. Soil and
- Fertilizer 2: 48-49.
- Lindemann W C and Glover C R. 2003. Nitrogen fixation by legumes. Cooperative extension service college of agriculture and home economics, Guide A-129. Cooperative Extension Service College of Agriculture and Home Economics.
- Mahfouz, S. A and M. A. Sharaf-Eldin. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield
- and essential oil content of fennel (Foeniculum vulhare Mill.) Int. Agrophys.. 21:361-366.
- Liuch C.J.A. Campos and f. Ligero. 1983. Effect of nitrogen and sulfur fertilization and seed inoculation with *Rhizobium leguminisarum bv. Phaseoli* on the nitrogen-

sulfur relationship of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) J. of Plant Nutr. 6(12): 1033-1042.

- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic press.
- Matiru, V. N. and Dakora F. D. 2004. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. African Journal of Biotechnology, 3 (1): pp: 1-7.
- Miller, R. M. and Jastrow, J. D. 1992. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. In: Bchtlenfalvay, G. J., Linderman, R. G. (Eds), mycorrhizae in sustainable Agriculture. ASA Special Publication 54, Am. Soc. Of Agronomy, Madison., WI, pp. 29-44.
- Mishra, P.K., Mishra, S., Selvakumar, G., Kundu, S. and Gupta, H.S. 2009. Enhanced soybean (*Glycine max* L.) plant growth and nodulation by *Bradyrhizobium japonicum*-SB1 in presence of *Bacillus thuringiensis*-KR1. Soil & Plant Science. 59(2): 189-196.
- Modaihsh, S., W. A. Al-mustafa and A. E. Metwally. 1989. Effect of elemental sulfur in chemical changes and nutrient availability in calcareous soils. Plant Soil, 116: 95-101.
- Nahas,E.,D. A.Banzatto and Assis. L. C. 1990. Fluor apatite solubilization by *Aspergillus niger* in vinasse medium. Soil Boil. Biochem. 22(8)1097-1101.
- Noel, T.C., Sheng, C., Yost, C,K., Pharis, R.P. and Hynes, M.F. 1996. *Rhizobium legominosarum* as a plant growth-promoting rhizobacterium: Direct growth promoting of canila and lettuce. Can. J.Microbial, 42: 279-283.
- Olser.R.d.,J.L.Cartter. 2004. Effect of planting date on chemical composition and growth characteristies of soybean.pp: 211-223.
- Orhan E, Esitken A, Ercisli S , Turan M and Sahin F. 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. Scientia Horticulturae 111: 38–43.
- Pandey.J.P..J.H.Torrie.1993..Path coefficient analysis of seed yield components in soybean.Crop Sci.13:505- 507.

- Paul, E. A. and Clark. F. E. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London, 275p.
- Peolles. M.B. and E.T. craswell. 1992. Biological nitrogen fixation Investments, expectations and actual contribution to agriculture, plant and soil, 141:13-39.
- Peoples, M. B., J. K. Ladha and D. F. Herridge. 1995. Enhancing legume N2 fixation through plant and soil management. Plant and Soil, 174: 83-101.
- Peoples, M. B., D. F. Herridge and J. K. Ladha. 1995. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production. Plant and Soil, 174:3-28.
- Postgate, J.1987. Nitrogen Fixation, Edward Arnold, London, 73p.
- Putene, M. E., and Bashan, Y. 1993. Effect of inoculation with *Azospirilum brasilens* on germination and seedling growth of the giant colmnarcardon cactus (*Pachycereus pringlei*). Symbiosis, 15: 49-60.
- Rai, S. N. and A. C. Gaur. 1988. Characterization of *Azotobacter* spp. and effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop. Plant and Soil 109: 131-134.
- Rennie, R. J., S. Dubetz, J. B. Bole and H. H. Muendel. 1995. Dinitrogen fixation measured by N isotope dilution in two Canadian soybean cultivars. Agron. J. 74: 725-730.
- Renato de Freitas, J. 2000. Yield and N assimilation of winter inoculated wheat rhizobacteria. Pedobiologia 44: 97-104.
- Rodelas, B. 1999. Influence of Rhizobium /Azotobacter combined inoculation on mineral composition of faba bean (*vicia fabas*.) Biology and Fertility of Soils. 29 (2): 165-169.
- Roger, P.A. and Ladha, J.K. 1992. Biological N2 fixation in wetland rice fields: estimation and contribution to nitrogen balance. Plant Soil. 141: 41-55.
- Rohitashav-Singh, Sood, B.K., V.K. Sharma, and .singh. R. 1993. esponse of forage maize (*Zea mays* L.) to Azotobacter inoculation and nitrogen. Indian Journal of Agronomy, 38:555-558.

- Rongchang,L.,and Fenyting. L. 1995. International training course on biological fertilizer Bodenk, bouding china. Pp.11-68.
- Rosa, M. C., J. J. Muchovej and V. H. Alvarez. 1989. Temporal relations of phosphorus fractions in an oxisoil amended with rock phosphate and Thiobacillus thiooxidatons. Soil Sci. Soc. Am. J. 53: 1096-1100.
- Saravanakumar,D. and R. Samiyappan. 2007. ACC deaminase from Pseudomonas fluoresce ns mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. Journal of Applied Microbiology, 120(5): 1283-1292.
- Sarig , S. Y., Y. Kapulnik. And Y. Okon . 1986 . Effect of Azospirillun spp . Enriron. Microbiol . 44 : 990-991 .
- Sarig, S., Okon, Y. and Blum, A. 1990. Promotion of leaf area development and yield in Sorghum bicolor inoculated with A.brasilense. Symbiosis. 9: 235-245.
- Saleh-Rastin, N., 2001. Biological fertilizers and their roles on sustainable agriculture.
- Scherer H.W. and A. lang.1996. N2 fixation and growth of legumes as affected by sulfur fertilization. Biol. Fertil. Soils. 23: 449-453.
- Scherer, H. W. 2001. Sulphur in crop production invited paper. European Journal of Agronomy, 14: 81–111.
- Senaratne, R., C. Amornpimol and G. Hardarson. 1987. Effect of combined nitrogen on nitrogen fixation of soybean as affected by cultivar and rhizobial strain. Palnt and Soil, 103: 45-50.
- Sharma, A.K., 2002. Bifertilizers for sustainable agriculture. Agrobios Indian Publications .456
- Sharma, A.k. 2003. Biofertilizer for sustuainble agriculture. Agrobios, India.
- Sharma NK, Khaddar VK, Misra SY, Sharma OR and Yadav RA (2001) Agronomic efficiency of sulphur fertilizers and its effect on seed yield and chemical composition of soybean in black clay soil under rained conditions. Research on Crops 2: 25-29.
- Sparks DL and Huang PM, 1985. Physical chemistry of soil potassium. Pp. 201–276. In: Munson

- RD, (Ed). Potassium in Agriculture. Amatuer Softball Association (ASA).
- Stacey,G., H. B. Robert and J. E. Harold (eds.). 1992. Biological Nitrogen Fixation. Champan and Hall, Inc.
- Stamford, N. P., Freitas, A. D. S., Ferraz, D. S., Montenegro, A. and Santos, C. E. R. S., 2003. Nitrogen fixation and growth of cowpea (Vigna unguiculata) and yam bean (Pachyrhizus erosus) in a sodic soil as affected by gypsum and sullphur inoculated with Thiobacillus and rhizobial inoculation. Tropical Grasslands, 37: 11-19.
- Starling, M.E, Wood, C.W., and Weaver, D.B. 1998. Starter nitrogen and growth habit effects on late-planted soybean. Agron. J. 90: 658-662.
- Sturz, A. V. and Christie, B. R. 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: themanagement of soil quality and plant disease with rhizobacteria. Soil and Tillage Research,72:107-123.
- Tabatabai M.A., Sulfur in Agriculture, 1st Ed., American Society of Agronomy Inc., 1986.
- Tarabily, K. A., Soaud, A. A., Saleh, M. E. and Matsumoto, S., 2006. Isolation and characterization of sulfur oxidizing bacteria, including strains of Rhizobium, from calcareous sandy soils and their effects on nutrient uptake and growth of maize (Zea mays L.).Australian Journal of Agricultural Research, 57(1): 101-111.
- Teresa, M., Novo, M., Alba, C., Ronaldo, M., Paula, C., Antonia, C. & et al. 2000. Thiobacillus ferrooxidans response to copper and other heavy metals: growth, protein synthesis and protein phosphorylation. Antonie van Leeuwenhoek, 77: 187–195.
- Theurer, J.C. 1979. Growth patterns in sugar beet production. J. Am. Soc. sugar beet Technol. 24: 343-367.
- Tilak, K.V. B. R., N. Ranganayaki, K.K. Pal, R. De, A. K. Saxen, C. Shekhar Nautiyal , Shilpi Mittal, A. K. Tripathi and johri, B. N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria, Current Science. 89: 136 – 150.
- Turner, J.T. and Backman,P.A. 1989. Factors relating to peanut yield increases following *Bacillus subtilis* seed treatment. Plant Disease, 73: 464-468.

- Vazques P., Holguin G., and Puente M E. (2000). Phosphate solubilizing microorganism associtated with the rizospherte of mangrovest in semi arid coastallagoon". Biol.Fert. Soile. 30, 460-468.
- Vessey, J.k. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and soil, 255:271-286.
- Vivanco, J.M. and Flores, H. E. 2000. Control of root formation by plant growth regulators, pp.1-25. In: plant growth regulators in agriculture and horticulture . Ed., Basra, A. S., Foodd Producte Press, New York.Wani, S. P., O. P. Ruple and K. K. Lee. 1995. Sustainable agriculture in the semi- arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. Plant and Soil, 174: 29-49.
- Walters, D. 2009. Diseaese control in crops (Biological and environmental). New York. USA. 560p.
- White, P.J. 2003. Ion transport. In: Thomas B, Murphy DJ, Murray BG, Encyclopedia of applied plant sciences. London: Academic Press, 625-634.
- Wood, C.W., Torbert, H.A., and Weaver D.B. 1993. Nitrogen fertilizer effects on soybean growth, yield, and composition. J. Prod. Agric. 6:354-360.
- Wu,S,C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C and Wong ,M.H. 2005.Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125: 155–166.
- Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Plant Science 14: 1-4.
- Yang Z., Stöven K., Haneklaus S., Singh B.R. & Schnug E., Elemental Sulfur Oxidation by Thiobacillus spp. and Aerobic Heterotrophic Sulfur-Oxidizing Bacteria, Pedosphere, 20, pp. 71-79, 2010.
- Zahir ,A. Z., Arshad ,M.and Frankenberger (jr.), W. F. , 2004. Plant growth promoting rhizobacteria : Applications and perspectives in agriculture , Advances in Agronomy, 81: 97 - 168 .
- Zaied, K.A., Abd El-Hady, A.H., Afify, Aida, H. and Nassef, M.A. 2003. Yield and Nitrogen Assimilation of Winter Wheat Inoculated with New Recombinant Inoculants of Rhizobacteria. Pakistan Journal of Biological Sciences 6 (4): 344-358.

– Zhanghao, Trevor C. Charles, Brian T.Driscoll.2002. Low temperature-tolerant *Bradyrhizobium Japonicum* strains allowing improved soybean yield in short season Areas. Agron J., 94:870-875.

Abstract

With respect to the use of organic fertilizers, disadvantages of chemical fertilizers and urgent needs to increase productivity from available lands, a factorial experiment to investigate the effect of biofertilizers including bacteria Rhizobium (2 levels inoculated and non-inoculated) and Thiobacillus (2 levels inoculated and non-inoculated) and Granulated sulfur fertilizer (at 3 levels of zero, 65 and 130 kg per hectare) on soybean yield components and some quantitative and qualitative characteristics of the M9 cultivar was applied. Based on the results, the highest number of seeds per plant (75.83) in the treatment of Thiobacillus and Rhizobium was showed. The total chlorophyll content of inoculation with Rhizobium (0.26 mg per gram of fresh leaf) than controls (0.2 mg-g g) showed a significant difference. In the case of soy protein percentage as the main effects in M9 cultivar, Rhizobium and Thiobacillus bacteria and sulfur, were significant. The percentage of oil in the all treatments were not significant. Inoculated soybean with Rhizobium was significant and increases leaf area index (3.9) compared to control (3.7) to the extent of 5.12 percent. Inoculated with Thiobacillus also increased 1.9 percent compared to control the amount of leaf area index. The yield and main components of soybean yield include number of pods per plant, seed weight, seed number and total biological yield which inoculated with Rhizobium bacteria and Thiobacillus and 130 pounds of sulfur per hectare, showed the highest value amount compared to the other treatments used in this study and the results of this treatments are suitable for soybean growth .
Keywords: Protein, Soy cultivar M9, biological yield, microbial fertilizers, sulfur granulation

Shahrood University

Faculty of Agriculture

Department of Agronomy

M.Sc. Thesis

Effect of dual inoculation of *Thiobacillus* and *Rhizobium japonicum* at different levels of sulfur on yield and yield components of soybean

Kamyar farrokhi sadabadi

Supervisors:

Dr. M.R. Ameriyan

Dr. H. Abbasdokht

Advisors:

Dr. A. Gholami

Eng. M. Rahimi

February 2015