تأثیر مایه تلقیح سویا و ازتوباکتر بر گیاهان حاصل از بذرهای سویای تولید شده در شرایط تنش خشکی

حامد هادی،[۱]* احمد اصغرزاده، جهانفر دانشیان و آیدین حمیدی

عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین؛ **hamedhadi9@yahoo.com**

استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب؛ **a_asgharzadeh_2000@yahoo.com**

دانشیار پژوهش موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر؛ **J_daneshian@yahoo.com**

استادیار پژوهش موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال؛ **hamidi_aidin@yahoo.com**

چکیده

به منظور بررسی تأثیر مایه تلقیح سویا و ازتوباکتر کروکوکوم بر ویژگی‌های گیاهان سویای حاصل از بذرهای تولید شده در شرایط تنش خشکی، پژوهشی در دو بخش آزمایشگاه و گلخانه انجام شد. آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و آزمایش مزرعه‌ای به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل رقم (منوکین، ویلیامز و لاین اس.آر.اف× تی۳)، بذرهای تولید شده در شرایط تنش خشکی (آبیاری گیاهان مادری پس از مقادیر ۵۰ (آبیاری مطلوب)، ۱۰۰ (تنش متوسط)، ۱۵۰ (تنش شدید) میلی متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس آ) و تلقیح بذر (عدم تلقیح، مایه تلقیح سویا، تلقیح توأم مایه تلقیح سویا و ازتوباکتر کروکوکوم) بود. در آزمایش گلخانه‌ای آبیاری گیاهان با محلول غذایی بدون نیتروژن انجام شد. نتایج آزمایش گلخانه‌ای مشخص کرد که گیاهان حاصل از بذرهای شرایط تنش متوسط در تمام ارقام به ترتیب ۱۶، ۲۳ و ۱۸ درصد از وزن خشک بخش هوایی، ریشه و گیاه بیشتری نسبت به گیاهان حاصل از بذرهای شرایط آبیاری مطلوب داشتند. همچنین گیاهان حاصل از بذرهای شرایط تنش خشکی از تعداد و وزن خشک گره ریشه بیشتری برخوردار بودند و افزودن ازتوباکتر کروکوکوم به مایه تلقیح سویا تعداد و وزن تر گره ریشه را نسبت به تلقیح با مایه تلقیح سویا افزایش داد. نتایج آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که گیاهچه حاصل از بذرهای شرایط مختلف رطوبتی در تلقیح با باکتری وزن خشک گیاهچه و ارتفاع بیشتری نسبت به شاهد داشت. گیاه حاصل از بذر شرایط تنش متوسط رقم ویلیامز تلقیح شده با مایه تلقیح سویا ۴۶ درصد وزن خشک گیاه بیشتری نسبت به عدم تلقیح داشت.

واژه‌های کلیدی: برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم، همزیستی، وزن خشک گره، ارتفاع ساقه، وزن خشک گیاه

مقدمه

سویا یکی از مهمترین دانه‌های روغنی در جهان و ایران می‌باشد. در حال حاضر کشور بیش از ۸۰ درصد نیاز به روغن را از خارج تأمین می‌نماید و دستیابی به خود کفائی در تأمین روغن مورد نیاز کشور از اهداف مهم توسعه کشاورزی ایران می‌باشد. سطح زیر کشت سویا در ایران در سال زراعی ۸۴-۱۳۸۳ حدود ۸۲ هزار هکتار

۱- نویسنده مسئول،آدرس: تهران، صندوق پستی: ۱۹۸-۱۷۱۸۵

* دریافت: ۸۷/۳/۶ و پذیرش: ۸۹/۳/۱۷

بر آورد شده که متعلق به استان‌های آذربایجان شرقی، اردبیل، گلستان، گیلان، لرستان، مازندران و همدان می‌باشد که حدود ۶۸/۸۳ درصد آن آبی و ۳۱/۱۷ درصد نیز به صورت دیم بوده است. میزان تولید سویای کشور حدود ۱۹۸ هزار تنش برآورد شده که ۷۴/۷۹ درصد آن از کشت آبی و ۲۵/۲۱ درصد مابقی از کشت دیم بدست آمده است. راندمان تولید در هکتار سویای آبی کشور ۲۶۱۵ کیلوگرم و عملکرد دیم ۱۹۴۷ کیلوگرم بوده است (بی نام، ۸۴). وقوع تنش کم آبی در طول رشد گیاه، مخصوصاً در مراحل زایشی در درجه اول از عملکرد گیاه و نهایتا قوه نامیه بذرهای حاصل می‌کاهد. دورنباس و همکاران (۱۹۸۹) گزارش کردند که بین وزن بذر با جوانه زنی و بنیه بذر ارتباطی وجود دارد، به طوری که با کاهش وزن بذر در اثر تنش، بنیه بذر کاهش می‌یابد. خاک یک سیستم پیچیده است که توسط موجودات کوچک مختلف شامل باکتریها، قارچها، اکتینومایست‌ها کلونیزه شده است (فاستر، ۱۹۸۸). خاک جایی است که میکروارگانیسم‌ها در حضور ریشه‌های گیاه که ریزوسفر نامیده می‌شود وجود دارند (گارات و بونیلا، ۲۰۰۰).

باکتریها (که نوع غالب میکروارگانیزم های خاک می‌باشند) و در ریزوسفر رشد می‌کنند ریزوباکتریها نامیده می‌شوند و باکتریهای ریزوسفری که سبب بعضی مکانیسم‌های مستقیم یا قابلیت القای رشد گیاه هستند به عنوان باکتریهای ریزوسفری افزاینده رشد گیاه نامیده می‌شوند (کلوپر و همکاران، ۱۹۸۹). آنهایی که باعث افزایش رشد گیاه از طریق غیر مستقیم می‌شود به عنوان کنترل زیستی باکتریهای افزاینده رشد گیاه نامیده می‌شوند (باشان و هالگوین، ۱۹۹۸). تحریک مستقیم گیاه وقتی انجام می‌شود که باکتریهای افزاینده رشد گیاه ترکیباتی فراهم کند که بر متابولیسم گیاه یا وقتی آنها تسهیل می‌کنند دستیابی گیاه به عناصر غذایی غیر قابل دسترس از خاک در باکتری‌های افزاینده رشد مهمترین اثر فرآیندهای تحریک کنندگی رشد گیاه در کنار تثبیت نیتروژن، تولید هورمون های گیاهی یا ترکیبات تنظیم کننده رشد گیاه می‌باشد. مثال ها شامل تولید ایندول ۳- استیک اسید توسط ازتوباکتر دی‌آزوتروفوس و هرباسپیریلیوم سروپدیاسه (باستین و همکاران، ۱۹۹۸): زآتین و اتیلن توسط سویه‌های آزوسپیریلوم (استریزیک و همکاران، ۱۹۹۴): اسید جیبرلیک توسط آزوسپیریلوم لیپوفروم سویه op33 (باتینی و همکاران، ۱۹۸۹): و اسید آبسیزیک توسط آزوسپیریلوم برازیلنس سویه‌های cal و AZ39 (پریگ و همکاران، ۲۰۰۵).

مکانیزم‌های مهم دیگر باکتریهای افزاینده رشد گیاه تولید و آزاد سازی سیدروفورها، ترکیبات اسیدی که آهن یا فسفات را برای گیاه وقتی آنها در خاک در دسترس نیستند فراهم می‌کند (سشادری و همکاران، ۲۰۰۰). باکتری‌های ریزوسفری افزاینده رشد گیاه تقریباً شامل باکتری‌های آزادزی محدود که ریزوسفر یا بافت خاصی درون گیاه را کلونیزه می‌کند (کلوپر و همکاران، ۱۹۸۹). علاوه بر باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، تعدادی از باکتری‌های ریزوسفری همزیستی که برقرار می‌سازد، و رابطه هم‌افزایی با گیاه القا می‌کند (بهلول، ۱۹۹۰). این گروه به ویژه خانواده ریزوبیاسه، به طور وسیعی مطالعه شده بود در ارتباط با همزیستی لگوم‌ها تحت دورنمایی از تثبیت زیستی نیتروژن (هابلیب و لودن، ۲۰۰۰). هرچند تمایلی وجود دارد تا گونه‌های ریزوبیاسه به عنوان باکتری‌های افزاینده رشد گیاه شناخته شوند مخصوصاً وقتی که آنها با گیاهان غیر لگوم تلقیح می‌شوند (گار و همکارن، ۱۹۸۰). در آزمایش مزرعه‌ای هافلیچ و همکاران (۱۹۹۴) افزایش وزن خشک اندام هوایی گندم و جو بهاره پس از تلقیح با ریزوبیوم لگومینوزاروم سویه آر۳۹ نشان دادند. یانی و همکاران (۱۹۹۷) مشخص کردند که ریزوبیوم لگومینوزاروم ریشه ها را کلونیزه می‌کند و رشد و تولید برنج را بهبود می‌بخشد. نوئل و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که ریزوبیوم لگومینوزاروم رشد سریع گیاهچه‌های کاهو و کلزا را در شرایط کنترل شده تحریک می‌کند. این نویسندگان و چابوت و همکاران (۱۹۹۶) ظرفیت تحریک رشد گیاه را ساز طریق مکانیسم‌های مستقیم تولید مانند سیدروفور یا حل کنندگی فسفات توسط سویه‌های مختلف ریزوبیوم لگومینوزاروم را نشان دادند. آنتون و همکاران (۱۹۹۸) دریافتند که مکانیزم‌های تحریک کنندگی رشد گیاه را در ۱۸ سویه از برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم و همچنین تولید ۶ تا ۱۰ ۱۸ سویه تولید ایندول استیک اسید را گزارش کردند. هر چند این نتایج خیلی دقیق نبود زیرا روش‌شناسی استفاده شده کیفی بود (بریک و همکاران، ۱۹۹۱). کانشیرو و ولک (۱۹۸۵) نشان دادند که تلقیح سویا با جهش یافته‌های برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم که ایندول استیک اسید تولید شده در نتیجه افزایش میزان گره‌های ریشه بود. کمبود جهش یافته‌های برادی‌ریزوبیوم‌الکانی در تولید ایندول استیک اسید تعداد گره کمی بر ریشه‌های سویا ایجاد شده بود اما گره زایی با کاربرد خارجی ایندول استیک اسید تحریک شده بود. در کشت برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم تولید زآتین و R-۹ زآتین توسط استاروانت و تالر (۱۹۸۹) گزارش شده بود اما داده‌های کمی وجود نداشت. تنظیم تولید جیبرلین

توسط این باکتری‌های ریزوسفری یک گزارش وجود دارد توسط کاتنلسون و کال (۱۹۶۵)، که تعیین شده بود تولید جیبرلین توسط برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم با استفاده از زیست سنجی TLC. هر مطالعه بیشتری بر تعریف غیر واقعی و کمی کردن سیتوکنین‌ها و جیبرلین‌های تولید شده توسط برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم در ۴۰ سال گذشته بود. به طور کلی مولکول‌های فعال زیستی اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، سیتوکنین‌ها، اسید آبسیزیک و اتیلن، . . .) تولیده شده توسط برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم توسط دستگاه‌های کروماتوگرافی‌گازی یا سایر روش‌های مبهم مشخص یا کمی نشده بود. همچنین تولید اسید آبسیزیک یا اتیلن توسط برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم مطالعه نشده بود. تولید جیبرلین در ریزوبیوم ابتدا توسط آتزورن و همکاران (۱۹۸۸) در ریزوبیوم فازئولی تعیین شده بود جایی که مولکولهای فعال زیستی GA_1 و GA_4 به ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۳ و ۰/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر یافت شده بود. گرانز (۲۰۰۱) گزارش کرد که ازتوباکتر به عنوان یک باکتری دی آزوتروف، نیازمند مقادیر زیادی کربن قابل استفاده برای بقا در خاک می‌باشد که این نیازمندی خود را از طریق ترشحات بذر و ریشه تأمین می‌نماید. مارتینز و همکاران (۱۹۸۸) نیز طی پژوهشی نشان دادند که ترشحات ریشه ذرت، در صورت اضافه شدن ازتوباکتر کروکوکوم به محیط کشت سنتز اکسین، جیبرلین و سیتوکنین به وسیله باکتری را به طور چشمگیری افزایش می‌دهد و علت آن را به مناسب بودن ترشحات ریشه‌ای به عنوان یک منبع کربنی برای رشد ازتوباکتر نسبت دادند. مشخص گردیده که ترشح‌های ریشه ذرت شامل قندهایی مانند ساکارز، ریبوز، گلوکوز، فروکتوز وانواع اسیدهای کربوکسیلیک مانند اسید سیتریک، لاکتیک، مالیک، سوکسینیک، تارتاریک می‌باشند. پریتیواج و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که تولید لیپوکیتوالیگوساکاریدها یا عوامل گره‌زا[1]، از علائم ضروری باکتریهای اختصاصی گیاه میزبان برای همزیستی موفقیت آمیز لگوم ریزوبیوم می‌باشند که در غلظت‌های کمتر از میکرومولار تغییرات فیزیولوژیکی در گیاه ایجاد می‌کنند و نشان دادند که باکتری برادی‌ریزوبیوم‌ژپونیکوم جوانه‌زنی گیاهان گوناگونی مانند ذرت، برنج، چغندرقند، سویا، لوبیا، و پنبه را در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای افزایش می‌دهد. علاوه بر این، سه تا از چهار لیپوکیتوالیگوساکاریدهای تولید شده جوانه‌زنی بذرهای ذرت، سویا و آرابیدوپسیس را تحریک کرده، همچنین رشد اولیه گیاهچه‌های ذرت را در شرایط گلخانه‌ای افزایش دادند و آنان با این یافته امکان استفاده از لیپوکیتوالیگوساکاریدها را برای بهبود تولید گیاهان پیشنهاد دادند. علاوه بر این، سه تا از چهار لیپوکیتوالیگوساکاریدهای تولید شده جوانه زنی بذرهای ذرت، سویا و آرابیدوپسیس را تحریک کرده، همچنین رشد اولیه گیاهچه‌های ذرت را در شرایط گلخانه‌ای افزایش دادند و آنان با این یافته امکان استفاده از لیپوکیتوالیگوساکاریدها را برای بهبود تولید گیاهان پیشنهاد دادند که مصرف کودهای زیستی باکتریایی بصورت تلقیح بذر مهمترین روش استفاده از این کودها می‌باشد. افزایش توسعه ریشه به معنی افزایش توانایی جذب مواد غذایی و بعضی از باکتری‌های افزاینده رشد گیاه شناخته شده و اثرات افزایندگی رشد گیاه با تحریک رشد ریشه از طریق تولید ایندول استیک اسید می‌باشد. این گروه از باکتریها علاوه بر افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و مهار عوامل بیماریزا، با تولید مواد و هورمون‌های تنظیم کننده رشد گیاه عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (استارتز و کریستس، ۲۰۰۳). تأثیر گونه‌های مختلف باکتری ازتوباکتر بر رشد و نمو گیاهان از طریق توانایی تثبیت نیتروژن مولکولی، تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاهی نظیر اکسین، جیبرلین و سیتوکنین و ترکیبات مشابه آنها و ترشح این مواد به محیط ریشه و محیط اطراف بذر، همچنین تولید متابولیت‌های ضد قارچی و محلول کردن فسفر خاک شناخته شده است. همچنین اثرات مفید تلقیح با باکتری ازتوباکتر کروکوکوم بر عملکرد غلات، بقولات، دانه‌های روغنی، سبزیجات و صیفی‌جات و گیاهان نقدینه‌ای مختلف توسط پژوهشگران بسیار متعددی بررسی و گزارش شده است (کواک و میلیک، ۲۰۰۱). با توجه به تأثیر منفی تنش خشکی بر خصوصیات گیاه، بررسی توان تشکیل گره بر روی ریشه گیاهان حاصل از بذرهای شرایط تنش خشکی و همچنین تأثیر افزودن ازتوباکتر کروکوکوم به مایه تلقیح سویا و اثرات متقابل تنش و باکتری، اجرای این پژوهش از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. با توجه به تأثیر مثبت باکتریها، استفاده از آنها به عنوان راهکاری جهت بهبود رویش گیاهان حاصل از بذرهای تولید شده در شرایط تنش خشکی در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

تأثیر مایه تلقیح سویا و ازتوباکتر کروکوکوم بر گیاهان حاصل از بذرهای سویا تولید شده در شرایط تنش خشکی، در گلخانه و مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش

1- Nod factor

گلخانه ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و آزمایش مزرعه‌ای به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار در مزرعه آموزشی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین سال ۱۳۸۵ اجرا گردید. تیمارها شامل رقم (منوکین، ویلیامز و لاین اس.آر.اف× تی۳)، بذرهای تولید شده در شرایط تنش خشکی [آبیاری گیاهان مادری پس از مقادیر ۵۰ (آبیاری مطلوب)، ۱۰۰ (تنش متوسط)، ۱۵۰ (تنش شدید) میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس آ] و تلقیح بذر (عدم تلقیح بذر، مایه تلقیح سویا، تلقیح توأم مایه تلقیح سویا و ازتوباکتر کروکوکوم) بودند. بذرها قبل از کاشت با مایه تلقیح مایع وخالص باکتری ازتوباکتر کروکوکوم و برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم (سویه تجارتی ایران) بوده که توسط بخش بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب جدا و خالص‌سازی شده و مایه تلقیح آنها در هر میلی‌لیتر حاوی 10^9 سلول زنده و فعال بودند. باکتری که به صورت مایع بود در ظرف پتری ریخته شد و بذرها با باکتری آغشته گردید. برای چسبندگی بهتر باکتری‌ها به بذر از محلول چسباننده و محافظ تولیدی این موسسه استفاده شد. با توجه به چند عامل از هیچگونه تیمار ضد عفونی بذر استفاده نشد. اولا پوسته بذر سویا به مرطوب شدن حساس است و با یک بار مرطوب شدن سریعاً چروکیده می‌شود و در این آزمایش از بذرهایی استفاده می‌شد که حاصل از شرایط تنش خشکی بودند و پوسته نازکتری داشتند و ثانیاً به دلیل اینکه در تیمارهای تلقیحی از باکتری استفاده می‌شد و با کاربرد مواد ضدعفونی کننده امکان از بین رفتن و کاهش جمعیت باکتری وجود داشت.

در آزمایش گلخانه‌ای برای تهیه بستر کاشت از ماسه استفاده شد که ماسه‌ها جهت کاهش هدایت الکتریکی و اسیدیته با استفاده از محلول ۱۰ درصد اسید کلریدریک رقیق (۲۵ درصد) اسید شویی و آبشویی شدند. بذرها در گلدان‌هایی با ظرفیت ۴ کیلوگرم کشت شدند. در مدت اجرای آزمایش تغذیه گیاهان با محلول غذایی هوگلند بدون نیتروژن انجام شد (بک و همکاران، ۱۹۹۳). برای هر مرتبه آبیاری، ۰/۵ میلی لیتر از هر محلول را در یک لیتر آب مخلوط و با سود یک نرمال، اسیدیته محلول بین ۶/۸–۶/۶ تنظیم گردید. آبیاری بصورت روزانه به میزان ۱۰۰ میلی لیتر و از پائین گلدان اجرا شد. به منظور بررسی تشکیل گره بر روی ریشه‌ها، در مرحله پایان گلدهی و شروع نمو غلاف (فهر و کاوینس، ۱۹۷۷) گلدان‌ها تخلیه و پس از شستشوی ریشه‌ها، تعداد گره‌ها شمارش گردید. وزن تر و خشک نیز با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ ± گرم اندازه گیری شد.

به منظور بررسی روند تغییر وزن خشک گیاه، از ۱۵ روز پس از جوانه‌زنی تا قبل از آغاز گلدهی از مزرعه نمونه‌برداری و ویژگی‌های گیاه اندازه گیری گردید. در مزرعه بافت خاک لومی‌رسی و زمین محل اجرای آزمایش در سال گذشته آیش بود و عملیات خاک‌ورزی اولیه و ثانویه قبل از اجرای آزمایش انجام شد. با توجه به استفاده از باکتری برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم و مساحت مورد کاشت، کود اوره به میزان ۹ کیلوگرم (به عنوان آغازگر) و فسفات آمونیوم ۲۵ کیلوگرم در نظر گرفته شد و بصورت دستپاش در سطح زمین پخش گردید و سپس با دیسک مخلوط شد. نخستین آبیاری بلافاصله پس از کاشت انجام و سپس به طور مرتب ۷–۴ روز یک بار صورت گرفت. برای آبیاری دو نهر جهت ورود و خروج آب تعبیه گردید. هر کرت از سه خط کاشت با فاصله ۶۰ سانتی متر و طول ۴ متر تشکیل شده بود. در هر خط کاشت ۱۶۰ بذر با فاصله ۵ سانتی متر و ۲ بذر در هر حفره قرار داده شد. طول گیاه با خط کش با دقت ۱± میلی‌متر اندازه گیری شد. گیاهان پس از خشک شدن در آون، با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ ± گرم به تفکیک اجزاء گیاهی توزین گردیدند. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C (ver 2.0) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح پنج درصد انجام شد. رسم روند تغییر رشد گیاه و برآورد معادله نیز با Excel (2003) -MS انجام گردید.

نتایج و بحث

در آزمایش گلخانه‌ای نتایج نشان داد که گیاه حاصل از بذر شرایط آبیاری مطلوب لاین اس.آر.اف× تی۳ بیشترین تعداد گره ریشه را داشت که این میزان در مقایسه با گیاه شرایط تنش شدید ۳۳ درصد کاهش نشان داد. با افزودن بر شدت تنش، تعداد گره ریشه رقم ویلیامز نسبت به آبیاری مطلوب افزایش یافت. گیاهان حاصل از بذرهای شرایط تنش شدید ۱۴ درصد نسبت به گیاه حاصل از بذر شرایط آبیاری مطلوب از تعداد گره ریشه بیشتری برخوردار بود. در بین ارقام مورد بررسی رقم منوکین بیشترین میزان گره ریشه را داشت (جدول ۱). المریچ و همکاران (۱۹۹۷) نیز گزارش کردند تعداد گره های ریشه ای و الگوی پراکنش آنها بر روی ریشه‌های سویا در ارقام مختلف متفاوت بوده است. دانشیان و همکاران نیز (۱۳۷۶) در مطالعه روی اثر متقابل سویه‌های باکتری برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم (هلی‌نیترو، گلدکت و ریزوکینگ) و ارقام مختلف سویا (ویلیامز، سنچوری و هارکور) به اثر معنی‌دار رقم اشاره نمود و رقم ویلیامز به دلیل دارا بودن طول دوره رشد بیشتر، از گره زایی بیشتری برخوردار بود. گیاه حاصل از

بذر شرایط آبیاری مطلوب و تلقیح شده با مایه تلقیح سویا توأم با ازتوباکتر کروکوکوم، ۱۸ درصد از تعداد گره بیشتری نسبت به مایه تلقیح سویا برخوردار بود. گیاه حاصل از تلقیح توام مایه تلقیح سویا و ازتوباکتر کروکوکوم با بذر شرایط تنش متوسط و شدید نیز به ترتیب ۵۹ و ۶۹ درصد از تعداد گره ریشه بیشتری نسبت به تلقیح ساده برخوردار بودند (جدول ۱). در مطالعه‌ای که توسط زنگی و مکنزی (۱۹۹۲) روی تأثیر سویه‌های باکتری برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم بر عملکرد ارقام زودرس سویا (آپاچی و مپل آرو) انجام دادند، نتیجه گرفتند که کاربرد باکتری اثر معنی‌داری بر گره‌زایی در ارقام سویا داشته و رقم آپاچی با ۱۵/۳ عدد، بیشترین تعداد گره را داشته است. وزن تر گره گیاه حاصل از بذر شرایط تنش شدید ۴۱ درصد کمتر از گیاه شرایط آبیاری مطلوب بود و گیاه حاصل از بذر شرایط تنش متوسط کاهش وزن زیادی را نشان داد (جدول ۱). همچنین مقوانسی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند تلقیح با سویه‌های برادی‌ریزوبیوم باعث بهبود گره‌زایی، رشد رویشی و جذب نیتروژن در سویا می‌شود. وزن تر گره در گیاهان حاصل از رقم منوکین بیشترین میزان بود. تیمار تلقیح توأم باکتریها وزن تر گره بیشتری را حاصل نمود. گیاه حاصل از بذر شرایط آبیاری مطلوب و تنش متوسط در تلقیح با مایه تلقیح سویا از وزن تر گره بیشتری داشتند در حالیکه گیاه حاصل از بذر شرایط تنش شدید و تلقیح شده با مایه تلقیح سویا توأم با ازتوباکتر کروکوکوم وزن تر گره بیشتری را حاصل نمودند. سویه‌های برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم بصورت همزیست با گره ریشه سویا نیتروژن را تثبیت می‌کنند (مدرزاک و همکاران، ۱۹۹۵).

ریزوبیوم‌ها عامل‌های گره‌زا مانند لیپوکیتوالیگوساکارید آزاد می‌کنند که همچنین به عنوان تحریک جوانه‌زنی طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی شناخته شده اما هنوز مکانیزم عمل آن شناخته نشده است. لومیکروم و لیپوکیتوالیگوساکاریدها که توسط ریزوبیوم آزاد می‌شود باعث تحریک رشد گیاهان می‌شود (داکورا، ۲۰۰۳). هنگامی که لومیکروم در غلظت ۵۰ نانومول استفاده شده بود در ژنوتیپ‌های سورگوم، سویا، لوبیا چشم بلبلی افزایش زیادی در رشد گیاه مشاهده شده بود (داکورا و همکاران، ۲۰۰۲). ریزوبیوم‌ها ترکیبات مختلفی مانند اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها، ریبوفلاوین‌ها و ویتامین‌ها با نفوذ در ریشه گیاهان لگوم و غیرلگوم باعث القای افزایش رشد می‌شوند (داکورا، ۲۰۰۳). با توجه به اینکه وزن تر گره ریشه رقم منوکین در بین ارقام بیشترین مقدار بود از نظر وزن خشک گره نیز برتر بود. گیاه حاصل از بذر شرایط تنش شدید ۳۵ درصد از وزن خشک گره ریشه بیشتری نسبت به گیاه رویش یافته از بذر شرایط آبیاری مطلوب داشت و گیاه حاصل از بذر شرایط تنش متوسط به میزان زیادی وزن خشک گره ریشه کمتری از آبیاری مطلوب داشت. وزن خشک گره گیاهان حاصل از بذرهای تولید شده در شرایط تنش متوسط و شدید تلقیح شده با مایه تلقیح سویا توأم با ازتوباکتر کروکوکوم به ترتیب ۴۰ و ۱۹ درصد بیش از تلقیح ساده بود (جدول ۱). بیلی (۱۹۸۸) گزارش کرد طی یک آزمایش اثر سویه‌های مختلف برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم بر وزن خشک گره ارقام سویا معنی‌دار بود و بیشترین میزان وزن خشک گره متعلق به رقم مپل آرو به میزان ۰/۵ گرم در گیاه در مرحله پایان غلاف‌بندی بود. کواکی و میلیک (۲۰۰۱) گزارش کردند تأثیر گونه‌های مختلف باکتری ازتوباکتر بر رشد و نمو گیاهان از طریق توانایی تثبیت نیتروژن مولکولی، تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاهی نظیر اکسین، جیبرلین و سیتوکنین و ترکیبات مشابه آنها و ترشح این مواد به محیط ریشه و محیط اطراف بذر، همچنین تولید متابولیت‌های ضد قارچی و محلول کردن فسفر خاک شناخته شده است. همچنین اثرات مفید تلقیح با ازتوباکتر کروکوکوم بر عملکرد غلات، بقولات، دانه‌های روغنی، سبزیجات و صیفی‌جات توسط پژوهشگران بسیار متعددی بررسی و گزارش شده است. ژانگ و همکارن (۲۰۰۲) گزارش کردند تحقیقات اخیر نشان داده که لومیکروم و لیپوکیتوالیگوساکاریدها که توسط ریزوبیوم آزاد می‌شود باعث تحریک رشد گیاهان می‌شود. دوبلر و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که باکتری‌های دی‌ازوتروف با جذب مواد غذایی و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی رشد گیاه را بهبود می‌بخشند. در آزمایشی که توانایی تولید هورمون گیاهی توسط سویه برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم مقایسه شده بود نتایج نشان داد که سویه‌های E109، USDA110، SEMIA5080 مسیرهای مختلفی از بیوسنتز تنظیم کنندگان رشد گیاهی وجود دارد. تولید و آزاد سازی هورمون‌های گیاهی فقط یک اثر مستقیم تنظیم کنندگی رشد گیاهی این سویه‌ها معین شده بود و تفاوت‌های کمی (قابل اندازه‌گیری) بین آنها از نظر تولید هورمون مشخص شد. در سویه‌ای که در شرایط آزمایشگاهی رشد می‌کردند تولید هیچ سیدروفور یا محلول کنندگان فسفات مشاهده نشد. تولید IAA در YEM به طور معنی‌داری در SEMIA5080 (۳/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بالاتر از USDA100 (۲/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) یا E109 (۰/۹۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود. بدین معنی که تولید زآتین در YEM به طور معنی‌داری برای سویه USDA110 (۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بالاتر از E109

(۰/۸۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) یا SEMIA5080 (۰/۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود. علاوه بر این تولید اسید جیبرلیک به طور معنی‌داری در سویه E109 (۰/۸۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و USDA110 (۰/۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بالاتر از SEMIA5080 (۰/۵۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود (بیویر و همکاران، ۲۰۰۶).

گیاهان حاصل از بذرهای تنش شدید رقم ویلیامز تلقیح شده با مایه تلقیح سویا به ترتیب ۱۲ و ۱۵ درصد ارتفاع ساقه بیشتری نسبت به گیاهان از بذرهای شرایط آبیاری مطلوب و تنش متوسط حاصل نمودند (جدول ۳). بیسواس و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که افزایش طول ساقه برنج در اثر تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم از طریق سازوکار ترشح هورمون‌های گیاهی تحریک کننده رشد توسط این باکتری‌ها می‌باشد. مقوانسی و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند که طول ساقه سویا با تلقیح با سویه‌های مختلف برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم تحت تأثیر قرار گرفت. با توجه به اینکه روی ریشه گیاهان حاصل از بذرهای شرایط تنش شدید رقم ویلیامز گره بیشتری تشکیل شده بود میزان نیتروژن بیشتری را برای گیاه فراهم نموده و باعث افزایش طول سلول‌ها و ارتفاع ساقه نسبت به سایر تیمارها گردیده است. با توجه به نقش هورمون‌های گیاهی تحریک کننده رشد از قبیل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها در افزایش تقسیم سلولی و افزایش طول سلول‌ها یکی از مهمترین سازوکارهای تأثیر افزاینده رشد گیاهچه باکتری افزاینده رشد گیاه از طریق ترشح این هورمون‌ها می‌باشد (زهیر و همکاران، ۲۰۰۴). طول گیاه حاصل از تلقیح بذر شرایط آبیاری مطلوب رقم منوکین با مایه تلقیح سویا توأم با ازتوباکتر کروکوکوم ۵۹ درصد نسبت به عدم تلقیح افزایش داشت (جدول ۴). بیسواس و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند طول گیاهچه حاصل از بذرهای تلقیح شده با باکتری ریزوبیوم افزایش یافت. حاجی بلند و همکاران (۱۳۸۳) نیز در بررسی که بر روی گندم انجام دادند گزارش کردند که تلقیح گندم رقم امید با ازتوباکتر جدا شده از محیط خاک اطراف ریشه گندمیان مرتعی، سبب افزایش رشد اندام‌های هوایی بوته می‌شود. زهیر و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که با توجه به نقش هورمون های گیاهی تحریک کننده رشد از قبیل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها در افزایش تقسیم سلولی و افزایش طول سلول‌ها یکی از مهم‌ترین سازوکارهای تأثیر افزاینده رشد گیاهچه، باکتری افزاینده رشد گیاه از طریق ترشح این هورمون‌ها می‌باشد. گیاه حاصل از بذر شرایط تنش شدید رقم منوکین تلقیح شده با مایه تلقیح سویا از وزن خشک بخش هوایی بیشتری برخوردار بود (جدول ۳). داکورا (۲۰۰۳) گزارش کرد که ریزوبیوم‌ها ترکیبات مختلفی مانند اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها، ریبوفلاوین‌ها و ویتامین‌ها با نفوذ در ریشه گیاهان لگوم و غیرلگوم باعث القای افزایش رشد می‌شوند. مقوانسی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که با آغشته سازی سویا با باکتری مشابه افزایش معنی‌داری بیش از شاهد در نیتروژن محتوی بخش هوایی مشاهده شد. گیاهان حاصل از بذرهای تنش متوسط لاین اس.آر.اف× تی۳ تلقیح شده با مایه تلقیح سویا از وزن خشک ریشه بیشتری برخوردار بودند (جدول ۳). زهیر و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند طول و وزن خشک ریشه ذرت بر اثر کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد گیاه تولید کننده اکسین افزایش یافت. گیاهان حاصل از آبیاری مطلوب رقم منوکین تلقیح شده با مایه تلقیح سویا از وزن خشک گیاه بیشتری برخوردار بود و نسبت به عدم تلقیح ۵۱ درصد افزایش یافت. آنتون (۱۹۹۸) گزارش کرد که باکتری برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم بر تربچه تأثیر معنی‌داری داشت و ۱۵ درصد وزن خشک گیاه را افزایش داد. همچنین زهیر و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که هورمون‌های افزاینده رشد ترشح شده توسط باکتری‌های افزاینده رشد گیاه با تحریک رشد موجب افزایش وزن خشک گیاهچه و اجزای آن می‌گردند.

در نمونه برداری مرحله گیاهچه‌ای آزمایش مزرعه‌ای نتایج نشان داد که رقم، اثر متقابل باکتری × رقم × تنش‌خشکی، رقم × تنش‌خشکی تأثیر معنی‌داری بر تعداد گره ساقه داشت (جدول ۴). گیاهچه های حاصل از بذرهای شرایط تنش متوسط رقم ویلیامز در تلقیح با مایه تلقیح سویا از تعداد گره ساقه بیشتری برخوردار بود و نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذرهای شرایط آبیاری مطلوب رقم ویلیامز در تلقیح با مایه تلقیح سویا ۱۰ درصد افزایش یافت و نسبت به گیاهچه تیمار عدم تلقیح بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط رقم ویلیامز ۵۰ درصد افزایش یافت. مقوانسی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که تلقیح با سویه‌های برادی‌ریزوبیوم باعث بهبود رشد رویشی در سویا می‌شود. تمام عوامل و اثر متقابل تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاهچه داشت (جدول ۴). گیاهچه رشد یافته از بذرهای حاصل از شرایط آبیاری مطلوب رقم منوکین در تیمار تلقیح توأم با ۱۲ سانتی‌متر ارتفاع از بیشترین میزان برخودار بود که نسبت به شرایط عدم تلقیح ۴۰ درصد افزایش یافت. گیاهچه بذرهای حاصل از شرایط تنش شدید رقم منوکین در تیمار تلقیح توأم با ۹ سانتی‌متر ارتفاع ۳۳ درصد نسبت به گیاهچه رشد یافته از بذرهای شرایط آبیاری مطلوب رقم منوکین در تیمار تلقیح توأم کاهش یافت. بذرهای حاصل از آبیاری مطلوب رقم

منوکین تلقیح شده با مایه تلقیح سویا توأم با ازتوباکترکروکوکوم به ترتیب ۳۸، درصد ارتفاع گیاهچه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد (جدول ۶). لومیکروم و لیپوکیتوالیگوساکاریدها که توسط ریزوبیوم تولید و به محیط ریزوسفری آزاد می‌شود، عاملی برای تحریک رشد گیاهان می‌باشد (داکورا، ۲۰۰۳). تحقیقات دیگر محققان نیز نشان داده است که طول ساقه در اثر تلقیح با سویه‌های مختلف برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم تحت تأثیر قرار می‌گیرد (مقوانسی و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد که لومیکروم‌ها و لیپوکیتوالیگوساکاریدها که توسط باکتری آزاد می‌شود باعث افزایش رشد و طول سلول‌های اندام هوایی گردیده و در نتیجه از طول ساقه‌چه بیشتر گردیده است. بیسواس و همکاران (بیسواس و همکاران، ۲۰۰۰) افزایش طول گیاهچه حاصل از بذرهای تلقیح شده با برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم را مشاهده کردند. تمام عوامل و اثر متقابل به غیر از عامل تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاهچه داشت (جدول ۴). گیاهچه رشد یافته از بذرهای حاصل از شرایط آبیاری مطلوب رقم منوکین در تلقیح توأم با ۰/۸۳۵ گرم از بیشترین میزان وزن خشک گیاهچه برخوردار بود و با تنش متوسط در گروه آماری مشابهی قرار گرفت. در حالیکه در شرایط تنش شدید نسبت به آبیاری مطلوب ۵۳ درصد کاهش یافت و نسبت به گیاهچه رشد یافته از تیمار عدم تلقیح بذر شرایط آبیاری مطلوب رقم منوکین ۳۷ درصد از وزن بیشتری برخوردار بود (جدول ۶). باکتری برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم تأثیر معنی‌داری بر تربچه داشت و ۱۵ درصد وزن خشک گیاه را افزایش داد (آنتون و همکاران، ۱۹۹۸).

بررسی روند تغییر وزن خشک گیاه تیمار عدم تلقیح بذرهای شرایط مختلف آبیاری مشخص کرد که تا ۲۲ روز پس از ظهور گیاهچه، گیاه رشد یافته از بذر حاصل از شرایط تنش متوسط بیشترین وزن خشک را داشت. پس از ۲۹ روز پس از ظهور گیاهچه وزن خشک گیاه بذرهای حاصل از شرایط آبیاری مطلوب با شیب تندتری نسبت به سایر شرایط تنش متوسط افزایش یافت و بیشترین میزان وزن خشک را حاصل نمود (شکل ۱). در تیمار تلقیح ساده بذرهای شرایط مختلف آبیاری تا ۳۶ روز پس از ظهور گیاهچه، گیاه رشد یافته از بذر حاصل از شرایط تنش شدید در تلقیح با مایه تلقیح سویا بیشترین میزان وزن خشک را داشت و در نهایت گیاه حاصل از بذر شرایط تنش متوسط در تلقیح با مایه تلقیح سویا بیشترین میزان خشک را حاصل نمود (شکل ۲). بررسی روند تغییر تیمار تلقیح توأم بذرهای شرایط مختلف آبیاری نشان داد تا ۲۲ روز پس از ظهور گیاهچه، گیاه حاصل از بذر شرایط تنش شدید در تلقیح توأم بالاتر بود و سپس تیمار تلقیح توأم بذر شرایط تنش متوسط با شیب زیادی افزایش یافت (شکل ۳).

نتایج نمونه برداری در مرحله آغاز گلدهی آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که تمام عوامل و اثرات متقابل تأثیر معنی‌داری بر تعداد گره ساقه، ارتفاع و وزن خشک گیاه داشت (جدول ۴). جهت ارزیابی توسعه رویشی گیاه تعداد گره در ساقه اصلی و ارتفاع ارزیابی شدند. تعداد گره ساقه گیاهان رشد یافته از بذر شرای تنش متوسط رقم ویلیامز در تلقیح با مایه تلقیح سویا از بیشترین میزان برخوردار بود که نسبت به تیمار عدم تلقیح همین بذر ۱۰ درصد افزایش یافت. تیمار تلقیح توأم بذر حاصل از شرایط آبیاری مطلوب رقم منوکین ارتفاع گیاه بیشتری را حاصل نمود و در شرایط تنش شدید ۴۱ درصد کاهش یافت (جدول ۶). تلقیح توأم باکتری برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم و ازتوباکترکروکوکوم نشان داد که باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌گردد (وسی، ۲۰۰۳). ریزوبیوم‌ها با ترشح ترکیبات مختلفی مانند اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها، ریبوفلاوین‌ها و ویتامین‌ها با نفوذ در ریشه گیاهان لگوم و غیر لگوم باعث القای افزایش رشد می‌شوند (داکورا، ۲۰۰۳). در واقع باکتریها با تولید این ترکیبات، مخصوصاً تأمین نیتروژن بیشتر، تأثیر خود را بر گیاه میزبان اعمال می‌نمایند. تیمار تلقیح ساده بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط گیاهی حاصل نمود که از وزن خشک بیشتری برخوردار بود و نسبت به تیمار عدم تلقیح همین بذر ۴۶ درصد افزایش یافت. در تیمار تلقیح ساده و توأم بذرهای حاصل از شرایط تنش متوسط ارقام منوکین و ویلیامز وزن خشک گیاه بیشتری را حاصل نمودند. گیاهان حاصل از بذرهای شرایط تنش متوسط رقم ویلیامز تلقیح شده با مایه تلقیح سویا از وزن خشک گیاه بیشتری برخوردار بودند و نسبت به عدم تلقیح، به ترتیب ۴۶ درصد افزایش وزن نشان دادند (جدول ۶). وزن خشک گیاه معیاری اساسی برای ارزیابی استقرار بوته‌های برخوردار از بنیه قوی در مزرعه محسوب می‌شود (مارتین و همکاران، ۱۹۸۸). بنابراین به نظر می‌رسد این افزایش در مقادیر وزن خشک گیاه ناشی از تأثیر باکتریها و فراهمی نیتروژن بیشتر برای گیاه و همچنین ترکیباتی که توسط این باکتریها آزاد می‌شوند سبب افزایش نسبت به عدم تلقیح گردیده است.

بنابراین نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که وقوع خشکی در طول رویش گیاه تأثیر منفی بر بذرهای حاصل دارد و نتایج بررسی که روی گیاهان رویش یافته از این بذرها صورت گرفت نشان داد که گیاهان رشد یافته از بذرهای تولید شده در شرایط تنش متوسط و تلقیح شده با

مایه تلقیح سویا از ارتفاع ساقه، طول کل گیاه، وزن خشک برگ و اندام‌های هوایی بیشتری برخوردار بودند. گیاه رویش یافته از بذر شرایط مختلف آبیاری در تلقیح با باکتری وزن خشک و ارتفاع بیشتری نسبت به شاهد داشت. گیاهان حاصل از بذر شرایط تنش متوسط رقم ویلیامز تلقیح شده با مایه تلقیح سویا وزن خشک بیشتری داشتند و نسبت به عدم تلقیح برتری نشان دادند. روند تغییر وزن خشک گیاه نشان داد که در شرایط عدم تلقیح گیاه حاصل از بذر شرایط آبیاری مطلوب وزن خشک بالاتری داشت در حالیکه در تیمار تلقیح، گیاه حاصل از بذرهای شرایط تنش متوسط وزن خشک بیشتری داشت. بنابراین تلقیح بذرهای حاصل از شرایط آبیاری محدود تحت تأثیر قرار داد و افزایش نشان داد. همچنین تعداد گره‌های ریشه گیاهان رویش یافته از بذرهای تولید شده در شرایط آبیاری محدود بیشتر از آبیاری مطلوب بود. افزودن ازتوباکتر کروکوکوم به مایه تلقیح سویا تعداد، وزن تر و خشک گره ریشه گیاهان حاصل از بذرهای هر یک از سطوح آبیاری را نسبت به تلقیح با مایه تلقیح سویا افزایش داد.

ترکیبات محلول غذایی هوگلند بدون نیتروژن

غلظت محلول نهایی (mM)	مقدار (لیتر/گرم)	ترکیب	نوع محلول	غلظت محلول نهایی (mM)	مقدار (لیتر/گرم)	ترکیب	نوع محلول
۰/۳۰	۰/۲۴۷	H_3BO_3	۴	۱/۰۰	۲۹۴/۱	$CaCl_2 .2H_2o$	۱
۰/۵۰	۰/۲۸۸	$ZnSO_4 .7H_2O$		۰/۵۰	۱۳۶/۱	KH_2PO_4	۲
۰/۲۰	۰/۱	$CuSO_4 .5H_2O$		۰/۲۵	۱۲۳/۳	$MgSO_4 .7H_2o$	۳
۰/۰۱	۰/۰۴۸	$NaMoO_2 .2H_2O$		۰/۲۵	۸۷/۰	K_2SO_4	
۱۰/۰۰	۵/۴	Fe citrate$^+$	۵	۱/۰۰	۰/۳۳۸	$MnSO_4 .H_2O$	

از هر نوع محلول تهیه شده ۰/۵ میلی لیتر در هر لیتر جهت آبیاری استفاده شد

جدول ۱- ویژگی‌های گره ریشه گیاهان حاصل از بذرهای شرایط تنش خشکی و تلقیح با باکتری

تنش رطوبتی (میلی‌متر)	۵۰ (آبیاری مطلوب)			۱۰۰ (تنش متوسط)			۱۵۰ (تنش شدید)		
باکتری	رقم	تعداد	وزن تر	وزن خشک	تعداد	وزن تر	وزن خشک	تعداد	وزن تر	وزن خشک
	منوکین	۵/۳	۰/۴۶۴	۰/۰۹۰	۸/۷	۰/۱۳۸	۰/۰۶۱	۱/۰	۰/۲۱۳	۰/۰۵۰
	اس.آر.اف×تی۳	۶/۰	۰/۱۲۵	۰/۰۳۰	۲/۵	۰/۱۷۵	۰/۰۳۹	۴/۵	۰/۲۶۱	۰/۰۶۱
	ویلیامز	۴/۳	۰/۳۹۰	۰/۰۸۴	۳/۲	۰/۲۱۹	۰/۰۳۲	۹/۵	۰/۳۶۷	۰/۰۷۰
مایه تلقیح سویا		۴/۵	۰/۳۹۶	۰/۰۸۸	۳/۰	۰/۲۱۰	۰/۰۳۰	۲/۵	۰/۲۲۹	۰/۰۵۴
مایه تلقیح سویا + ازتوباکتر کروکوکوم		۵/۵	۰/۳۹۲	۰/۰۸۸	۷/۳	۰/۱۶۷	۰/۰۵۰	۸/۰	۰/۳۳۱	۰/۰۶۷

جدول ۲- میانگین مربعات صفات گیاهان حاصل از بذر شرایط تنش خشکی سویا و تلقیح با باکتری در آزمایش گلخانه‌ای

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول گیاه	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک گیاه
تنش خشکی	۲	۵۰/۶۶۲	۰/۳۵۵*	۰/۰۸۵**	۰/۷۷۷**
خطای الف	۶	۸۰/۸۵۱	۰/۰۵۰	۰/۰۰۶	۰/۰۶۵
رقم	۲	۶۷۰/۱۷۴**	۳/۸۶۷**	۰/۰۳۹۸**	۶/۶۸۲**
تنش خشکی × رقم	۴	۲۸۶/۴۴۷**	۰/۴۸۶**	۰/۲۱۷**	۱/۲۷۳**
باکتری	۲	۱۰۲۹/۳۴۱**	۳/۸۲۴**	۰/۵۴۳**	۷/۲۲۸**
تنش خشکی × باکتری	۴	۱۴۶/۶۷۰**	۰/۶۱۸**	۰/۰۱۲	۰/۷۱۱**
رقم × باکتری	۴	۱۰۱۲/۶۴۶**	۲/۵۴۸**	۰/۱۷۷**	۳/۹۱۵**
تنش خشکی × رقم× باکتری	۸	۲۹۵/۹۹۵**	۰/۶۸۵**	۰/۰۹۳**	۱/۱۱۵**
خطای ب	۴۸	۳۶/۳۸۰	۰/۰۲۱	۰/۰۰۶	۰/۰۳۴
ضریب تغییرات (درصد)		۷/۹۹	۱۱/۲۰	۱۹/۳۳	۱۰/۷۷

* و ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

جدول ۳- میانگین ویژگی‌های گیاه تحت اثر متقابل تنش×رقم×باکتری در آزمایش گلخانه‌ای

میزان تبخیر (میلی‌متر)	رقم	باکتری	طول کل گیاه (سانتی‌متر)	وزن بخش هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک کل گیاه (گرم)
		A1	۵۹/۷۶mn	۱/۱۶۶f	۰/۳۷۶efg	۱/۵۴۲ghi
	منوکین	A2	۹۱/۶۳abc	۲/۴۶۷ab	۰/۶۹۷ab	۳/۱۶۴a
		A3	۱۰۰/۹a	۱/۲۵۹ef	۰/۷۰۰ab	۱/۹۵۹ef
		A1	۷۳/۷۵g-k	۰/۸۷۲g	۰/۲۱۷h-k	۱/۰۸۹jk
۵۰	اس.آر.اف×تی ۳	A2	۶۳/۹۶k-n	۱/۲۷۸ef	۰/۳۵۹e-h	۱/۶۳۶fgh
		A3	۵۳/۸۳n	۰/۲۲۷jk	۰/۰۲۵l	۰/۲۵۲no
		A1	۶۴/۸۹j-n	۱/۲۵۶ef	۰/۲۹۶f-i	۱/۵۵۱ghi
	ویلیامز	A2	۸۸/۸۸bcd	۰/۸۲۶g	۰/۴۲۹def	۱/۲۵۵ij
		A3	۷۸/۸d-i	۱/۱۷۱f	۰/۱۷۷ijk	۱/۳۴۸hij
		A1	۶۹/۸۳i-m	۱/۴۷۹e	۰/۶۸۱ab	۲/۱۵۹de
	منوکین	A2	۷۸/۰۴d-i	۲/۰۷۵cd	۰/۷۷۳a	۲/۸۴۸ab
		A3	۸۲/۹۸c-h	۱/۸۵۴d	۰/۵۳۷cd	۲/۳۹۱cd
		A1	۷۲h-l	۰/۴۹۲hi	۰/۲۴۲g-j	۰/۷۳۳lm
۱۰۰	اس.آر.اف×تی ۳	A2	۸۷/۶۳b-e	۱/۸۵۵d	۰/۸۰۹a	۲/۶۶۴bc
		A3	۶۱/۲۷lmn	۰/۳۳۱ij	۰/۰۸۵kl	۰/۴۱۶mn
		A1	۸۴/۶۲c-g	۰/۴۴۵ij	۰/۱۹۰ijk	۰/۶۳۵lm
	ویلیامز	A2	۸۶/۳۲b-f	۱/۹۳۳d	۰/۴۷۳de	۲/۴۰۶cd
		A3	۷۰/۷۹i-m	۲/۱۰۳cd	۰/۴۸۸cde	۲/۵۹۲bc
		A1	۵۴/۷۵n	۰/۸۲۵g	۰/۲۷۹g-j	۱/۱۰۵jk
	منوکین	A2	۷۵/۴۲f-k	۲/۵۰۸a	۰/۶۱۹bc	۳/۱۲۷a
		A3	c-g۸۴/۷	۰/۷۰۲gh	jkl۰/۱۳۹	۰/۸۴۱kl
		A1	۷۰/۰۴i-m	۱/۳۹۰ef	۰/۳۴۸e-h	۱/۷۳۷fg
۱۵۰	اس.آر.اف×تی ۳	A2	۶۹/۸۵i-m	۱/۲۹۳ef	۰/۵۲۶cd	۱/۸۱۸fg
		A3	۷۶/۳۹e-j	۰/۰۶۳k	۰/۰۱۱l	۰/۰۷۳o
		A1	۷۷/۷۵d-i	۱/۴۸۰e	۰/۴۳۱def	۱/۹۱۱ef
	ویلیامز	A2	۹۶/۳۵ab	۱/۲۸۸ef	۰/۵۳۴cd	۱/۸۲۱fg
		A3	۶۴/۲۸k-n	۲/۲۳۵bc	۰/۸۰۰a	۳/۰۳۵a

در هر صفت سطوح تیماری که دارای حروف مشابه هستند با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در گروه آماری مشابهی قرار دارند.

A1: عدم تلقیح، A2: مایه تلقیح سویا، A3: مایه تلقیح سویا + ازتوباکتر کروکوکوم

جدول ۴- میانگین مربعات ویژگی های گیاهچه و گیاه در آزمایش مزرعه‌ای

		ویژگی‌های گیاهچه				ویژگی‌های گیاه	
منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد گره	ارتفاع	وزن خشک گیاهچه	تعداد گره	ارتفاع	وزن خشک گیاه
تکرار	۲	۰/۰۷۰	۰/۰۱۲	۰/۰۰۲	۰/۲۳۱	۱۲/۵۵۵	۱/۹۳۹
باکتری	۲	۰/۰۷۲	۰/۳۷۸**	۰/۰۷۱**	۰/۷۷۸*	۱۵۰/۲۶۵**	۳۴/۳۱۴**
خطای الف	۴	۰/۰۱۹	۰/۰۱۵	۰/۰۰۱	۰/۰۷۹	۳/۸۵۳	۰/۷۷۷
رقم	۲	۰/۲۰۰**	۱/۰۹۷**	۰/۱۵۳**	۶/۷۰۴**	۱۰۲۵/۷۷۲**	۶۱/۷۸۱**
باکتری×رقم	۴	۰/۰۳۴	۰/۲۰۳**	۰/۰۱۹**	۱/۰۳۷*	۹۷/۲۷۷**	۳/۰۳۴**
تنش خشکی	۲	۰/۰۳۱	۰/۰۴۲*	۰/۰۰۲	۴/۷۳۱**	۲۸/۸۲۸**	۱۳/۳۲۹**
باکتری× تنش‌خشکی	۴	۰/۰۱۰	۰/۰۵۸**	۰/۰۰۹**	۳/۸۹۸**	۶۸/۹۸۴**	۷/۳۰۱**
رقم×تنش	۴	۰/۰۷۰**	۰/۱۳۶**	۰/۰۰۶**	۳/۴۶۳**	۱۷۹/۸۰۹**	۲۰/۳۳۰**
باکتری×رقم×تنش‌خشکی	۸	۰/۰۶۳**	۰/۰۸۴**	۰/۰۰۸**	۱/۷۵۵**	۷۱/۶۵۰**	۱۱/۳۹۳**
خطای ب	۴۸	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۰۱	۰/۲۸۶	۵/۳۷۳	۰/۶۳۸
ضریب تغییرات (درصد)		۶/۱۰	۳/۸۴	۳/۴۴	۵/۴۰	۷/۳۴	۱۵/۸۵

* و ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشند.

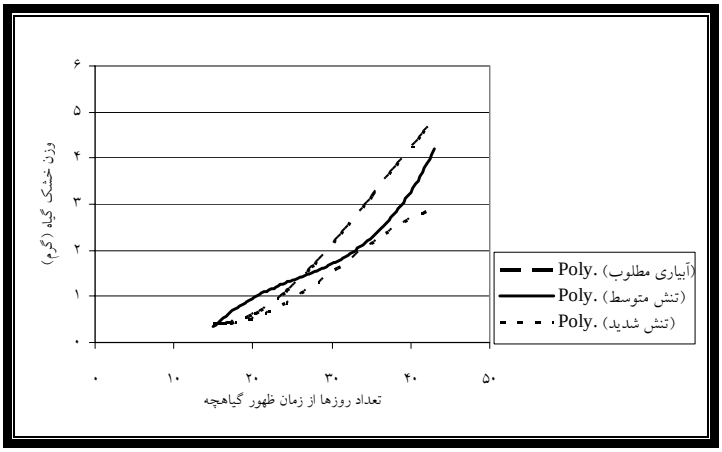
جدول ۵- معادله های وزن خشک گیاه تیمار عدم تلقیح بذرهای شرایط مختلف آبیاری در آزمایش مزرعه ای

	تیمار	ضریب تبیین	معادله
عدم تلقیح	آبیاری مطلوب	R^2 =۰/۹۹۲۹	$y= ۰/۰۰۰۲x^3 +۰/۰۱۹۴ x^2 -۰/۴۷۴۷x+۳/۷۸۵۳$
	تنش متوسط	R^2 = ۰/۹۹۴	$y=۰/۰۰۳ x^3 - ۰/۰۲۳۵ x^2 + ۰/۶۶۴۷ x -۵/۳۸۴۲$
	تنش شدید	R^2 = ۰/۹۶۲۵	$y= -۰/۰۰۲ x^3 + ۰/۰۱۶۸ x^2 - ۰/۴۰۴۱ x +۳/۳۰۴۷$
تلقیح ساده	آبیاری مطلوب	R^2 = ۰/۹۸۵۵	$y = ۰/۰۰۳ x^3 -۰/۰۲۲۲ x^2+۰/۶۰۳۴x -۴/۶۴۳$
	تنش متوسط	R^2 =۰/۹۸۱۷	$y =۰/۰۰۷ x^3 -۰/۰۴۶۳ x^2 +۱/۱۴۰۵ x -۸/۴۴۱$
	تنش شدید	R^2 =۰/۹۷۲۹	$y = -۰/۰۰۱ x^3 +۰/۰۱۰۳ x^2 -۰/۱۶۷۵ x +۰/۰۱۵۱$
تلقیح توام	آبیاری مطلوب	R^2 =۰/۹۸۵۷	$y = ۰/۰۰۲ x^3 -۰/۰۱۱۶ x^2 +۰/۴۱۱ x -۳/۶۰۲۷$
	تنش متوسط	R^2 =۰/۹۸۳۶	$y =-۰/۰۰۳ x^3 +۰/۰۲۳۸ x^2 -۰/۵۱۰۱x +۳/۷۲۱۸$
	تنش شدید	R^2 = ۰/۹۹۳	$y =۰/۰۰۰۱ x^3-۰/۰۰۶۱x^2 +۰/۲۰۲۴ x -۱/۶۸۴$

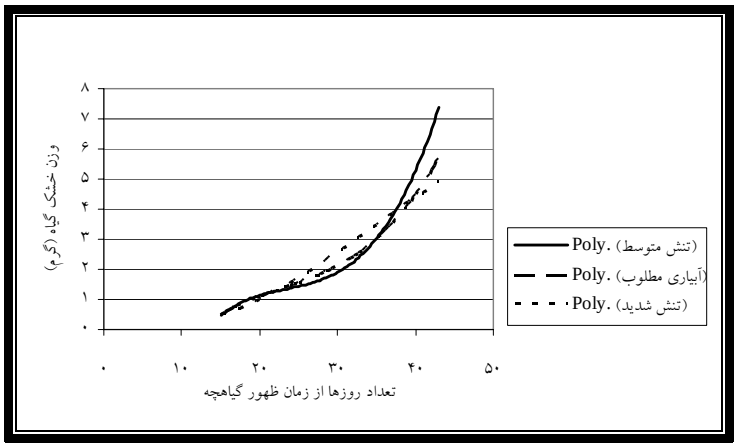
جدول ۶- میانگین اثر متقابل باکتری×رقم×تنش خشکی، ویژگی‌های گیاهچه و گیاه در آزمایش مزرعه‌ای

			مرحله گیاهچه‌ای				مرحله آغاز گل‌دهی	
باکتری	رقم	تنش خشکی (میلی متر)	تعداد گره ساقه	ارتفاع گیاهچه (سانتی متر)	وزن خشک گیاهچه (گرم)	تعداد گره ساقه	ارتفاع گیاه (سانتی متر)	وزن خشک گیاه (گرم)
عدم تلقیح	اس.آر.اف× تی۳	۵۰	۴/۰۰۰^{ab}	۷/۵۰۰^{fgh}	۰/۵۲۵^{def}	۱۰/۵^{b}	۴۴^{a}	۵/۹ ^{def}
		۱۰۰	۳/۰۰۰^{c}	۷/۵۰۰^{fgh}	۰/۳۴۰^{hij}	۹/۵^{b}	۳۷^{cd}	۵/۷۸ $^{d-g}$
		۱۵۰	۳/۰۰۰^{c}	۷/۳۵۰^{fgh}	۰/۴۷۰^{efg}	۱۰/۵^{b}	۲۶/۷۵^{ghi}	۲/۳۸ ^{kl}
		۵۰	۳/۰۰۰^{c}	۶/۰۰۰^{ij}	۰/۲۷۵^{j}	۱۰^{b}	۲۵/۶۳^{hij}	۴/۲۸۷ $^{g-j}$
		۱۰۰	۳/۵۰۰^{bc}	۵/۷۵۰^{j}	۰/۱۷۵^{k}	۱۰^{b}	۲۲^{j}	۰/۵۱^{m}
		۱۵۰	۳/۵۰۰^{bc}	۶/۷۵۰^{hij}	۰/۳۴۰^{hij}	۸/۵^{c}	۲۵/۷۵^{hij}	۱/۰۸۳ ^{lm}
	ویلیامز	۵۰	۳/۷۵۰^{bc}	۸/۲۵۰^{ef}	۰/۲۹۰^{j}	۹/۵^{b}	۲۴/۵^{ij}	۴/۱۲ ^{hij}
		۱۰۰	۳/۰۰۰^{c}	۹/۲۵۰^{cde}	۰/۳۴۵^{hij}	۱۰/۵^{b}	۳۷/۵^{cd}	۶/۱۸۵ ^{de}
		۱۵۰	۳/۷۵۰^{bc}	۹/۲۵۰^{cde}	۰/۳۶۰$^{g-j}$	۸/۵^{c}	۲۹/۲۵^{fgh}	۴/۱۸ ^{hij}
مایه تلقیح سویا	منوکین	۵۰	۴/۵۰۰^{ab}	۹/۷۵۰^{bcd}	۰/۵۲۵^{def}	۹/۸۳۳^{b}	۳۷/۷۵^{cd}	۴/۴۳ $^{f-j}$
		۱۰۰	۳/۰۰۰^{c}	۹/۰۰۰^{de}	۰/۵۹۵^{cd}	۱۰/۵^{b}	۳۷/۷۵^{cd}	۵/۸۷ ^{def}
		۱۵۰	۳/۷۵۰^{bc}	۲۵۰^{bcd}	۰/۶۷۵^{bc}	۱۰/۵^{b}	۳۴/۷۵^{de}	۸/۲۵۵ ^{bc}
	اس.آر.اف× تی۳	۵۰	۳/۰۰۰^{c}	۸/۲۵۰^{ef}	۰/۴۴۵^{fgh}	۹/۸۳۳^{b}	۲۴/۷۵^{ij}	۴/۶۵۳ $^{e-i}$
		۱۰۰	۳/۰۰۰^{c}	۸/۲۵۰^{ef}	۰/۲۶۰^{jk}	۱۰/۵^{b}	۳۰/۵^{fg}	۴/۰۷۵ $^{e-i}$
		۱۵۰	۳/۵۰۰^{bc}	۶/۰۰۰^{ij}	۰/۱۸۰^{k}	۷/۸۳۳^{cd}	۲۳/۳۳^{ij}	۳/۶۷ ^{ijk}
	ویلیامز	۵۰	۴/۵۰۰^{ab}	۸/۲۵۰^{ef}	۰/۵۷۰^{cde}	۱۰/۵^{b}	۳۹^{bcd}	۸/۱۵۵ ^{bc}
		۱۰۰	۵/۰۰۰^{a}	۱۱/۰۰۰^{ab}	۰/۷۸۰^{ab}	۱۱/۵^{a}	۴۲/۵^{ab}	۱۱/۴۳ ^{a}
		۱۵۰	۳/۵۰۰^{bc}	۸/۰۰۰^{efg}	۰/۶۳۰^{cd}	۸/۵^{c}	۳۸/۵^{bcd}	۲/۹۳۵ ^{jk}
مایه تلقیح سویا + ازتوباکتر کروکوکوم	منوکین	۵۰	۴/۰۰۰^{ab}	۱۲/۰۰۰^{a}	۰/۸۳۵^{a}	۱۰/۵^{b}	۴۴/۷۵^{a}	۳/۹۹ ^{hij}
		۱۰۰	۴/۰۰۰^{ab}	۱۰/۵۰۰^{bc}	۰/۸۲۰^{a}	۱۰/۵^{b}	۳۷^{cd}	۵/۳۱۵ $^{e-h}$
		۱۵۰	۳/۵۰۰^{bc}	۹/۰۰۰^{de}	۰/۵۴۵^{def}	۱۰/۵^{b}	۳۱/۷۵^{ef}	۵/۰۲ $^{e-h}$
	اس.آر.اف× تی۳	۵۰	۳/۰۰۰^{c}	۸/۰۰۰^{efg}	۰/۳۳۰^{ij}	۱۰/۵^{b}	۲۵/۵^{j}	۵/۱۴ $^{e-h}$
		۱۰۰	۴/۰۰۰^{ab}	۶/۷۵۰^{hij}	۰/۳۶۵$^{g-j}$	۷/۵^{d}	۲۱/۵^{ij}	۲/۳ ^{kl}
		۱۵۰	۳/۰۰۰^{c}	۷/۰۰۰^{ghi}	۰/۳۶۵$^{g-j}$	۹/۵^{b}	۲۴/۲۵^{ij}	۴/۳۱ $^{g-j}$
	ویلیامز	۵۰	۴/۵۰۰^{ab}	۷/۰۰۰$^{f-i}$	۰/۵۱۰^{def}	۱۰/۵^{b}	۲۴^{ij}	۵/۲۷ $^{e-h}$
		۱۰۰	۳/۵۰۰^{bc}	۹/۰۰۰^{de}	۰/۵۶۵^{cde}	۱۰/۵^{b}	۲۳/۷۵^{ij}	۸/۹۱۵ ^{b}
		۱۵۰	۴/۵۰۰^{ab}	۹/۰۰۰^{de}	۰/۴۳۰$^{f-i}$	۱۰/۵^{b}	۳۹/۲۵^{bc}	۶/۹۳۵ ^{cd}

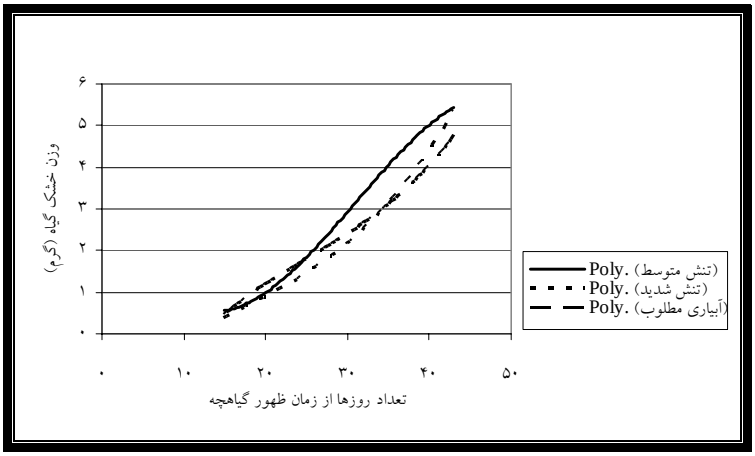
در هر صفت سطوح تیماری که دارای حروف مشابه هستند با آزمون در سطح ۵ درصد در گروه آماری مشابهی قرار دارند.



شکل ۱- روند تغییر وزن خشک گیاه تیمار عدم تلقیح بذرهای سطوح مختلف آبیاری



شکل ۲- روند تغییر وزن خشک گیاه تیمار تلقیح ساده بذرهای سطوح مختلف آبیاری



شکل ۳- روند تغییر وزن خشک گیاه تیمار تلقیح توأم بذرهای سطوح مختلف آبیاری

فهرست منابع:

۱. حاجی‌بلند، ر.، علی اصغرزاده، ن. و مهرفر، ز. ۱۳۸۳. بررسی اکولوژیکی ازتوباکتر در دو منطقه مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن روی رشد و تغذیه معدنی گیاه گندم. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال هشتم، شماره ۲، صفحه ۹۰- ۷۵.

۲. دانشیان، ج، ا. مجیدی هروان و ا. قلاوند. ۱۳۷۶. تأثیر سویه‌های تجارتی برادی‌ریزوبیوم‌ژاپونیکوم بر خصوصیات کیفی و کمی سه رقم سویا. مجله نهال و بذر، ج ۱۳. ش ۱. صفحه ۱۱-۶.

3. Antoun, H., Beauchamp, C.J., Goussard, N., Chabot, R. and Lalande, R. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes:effect on radish (*Raphanus sativu*s L.). *Plant and Soil*, 204:57-67.
4. Bailay. L,D. 1988. Influence of single strains and a commercial mixture of *Bradyrhizobium japonicum* on growth, nitrogen accumulation and nodulation of two early maturing soybean cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, 68:411-418.
5. Barbieri, P., Zanelli, T., Galli, E. and Zanetti, G. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp 6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *Federation of European Microbiology Society Microbiological Letters*, 36:87-90.
6. Beck, D.P., Materon, L.A., Afandi, F. 1993. Practical Rhizobium-Legume Technology Manual. Technical Manual No. 19. ICARDA. Syria.
7. Biswas, J.C., Ladha, J.K., Dazzo, F.B., Yanni, Y.G. and Rolfe B.G. 2000. *Rhizobial* inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agronomy Journal*, 92: 880-886.
8. Dakora. FD. 2003. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. *New Phytol*. 157:39-49.
9. Dobbelaere, S. Vanderleyden, J., Okon, Y. 2003. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. Volume 22, Number 2, 107 – 149.
10. Elmerich. C,A. Kondorsi and WE. Newton. 1997. Biological nitrogen fixation for the 21-st century. Klawer Academic Publishers, 207-237.
11. Fehr, W.R. and Caviness, C.E. (1977) Stages of soybean Development. Iowa State University, Special Report 80, Ames, Iowa, 12 pp.
12. Gonzalez-Lopez, J., Martinez-Toledo, M. V., Reina, S. and Salmeron, V. 1991. Root exudates of maize and production of auxins, gibberellins, cytokinins, amino acids and vitamins by *Azotobacter chroococcum* in chemically-defined media and dialised-soil media. *Technological and Environmental Chemistry*, 33:69-78.
13. Gransee, A. 2001. Effects of root exudates on nutrient availability in the rhizosphere,pp.626-627.in:Plant nutrition-Food security and sustainability of agro ecosystem, through basic and applied research XIV international plant nutrition colloquium.Eds.,Horst, W.J., Schenk, M.K., Burkert, A., Classen, N., Flessa, H., Formmer, W.B., Goldbach, H., Olfs, H., Römheld, V., Sattelmacher, B., Schmidhalter, U., Schubert, S., Wiren, N.V., Wittenmayer, L., Development in plant and soil science, Kulwer Academic Pub.
14. Hafeez. F.Y, N.H. Shah and K.A. Malik. 2000. Field Evaluation of lentil cultivars inoculated wuth *Rhizobium leguminosarum* bv. Viciae strains fir nitrogen fixation 15-isotope dilution. *Biology and Ferility of Soils*, 31: 65-69.
15. Hega, k. and lino M. 1998. Auxin-growth relationships in maize coeleoptiles and pea internodes and control by auxin of the tissue sensitivity to auxin. *Plant Physiology*, 117: 1473-1486.

16. Madrzak, C.J., Gollinska, B., Kroliczk, J., Pudelko, K., Lazewska, D., Lampaka, B. and Sadowsky, M.J. 1995. Diversity among field population of *Bradyrhizobium japonicum* in Poland. Appl. Environ. Microbial. 61(40): 1194-1200.
17. Manafee, W.F. and Klopper, J.W. 1994. Application of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. In: Soil biota management in sustainable farming system, Pankburst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., and Grace, P.R., eds. Pp : 23-31. *CSLRO, pub*. East Melborne , Australia.
18. Meghvansi, M.K., Kamal.P, and Mahna, S.K. 2005. Identification od pH tolerant *Bradyrhizobium japonicum* strsins and their symbiotic effectiveness in soybean
19. [*Glycine max* (L.) Merr] in low nutrient soil. *Affrican journal od Biotechnology* vol.4(7), pp. 663-666.
20. Mrkovacki, N. and Milic, V. 2001. Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Annals of Microbiology*, 51:145-158.
21. Nieto, K.F. and Frankenberger, W.T. (Jr.) 1991. Influence of adenine, isopentyl alcohol and *Azotobacter chroococcum* on the vegetative growth of *Zea mays*. *Plant and Soil*, 135:213- 221.
22. Okereke, G.R. Onochie, C.C, Onvkwo, A.u, Onyeagba, E & Ekejindu, G.D. 2000. Response of introduced Bradyrhizobium strains infecting a promiscuous soybean cultivar. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16:43-48.
23. Prithiviraj. B, Zhou. X, Souleimanov. A, Smith. D.L. 2000. Nod Bj V ($C_{18:1}$MeFuc) a host specific bacterial-to-Plant signal molecule, enhances germination and early growth of diverse crop plants. In: *Book of Abstracts, 17th North American Conference on Symbiotic Nitrogen Fixation* 23-28 July 2000. Quebec, Canada. 80. University of Laval, p.E6.
24. Sharma, A. K. 2003. Biofertilizers for sustainable agriculture. *Agrobios*, India.
25. 22.Subba Rao, N.S.(ed.) 1993. Biofertilizer in agriculture and forestry, (3rd edn.) *Oxford and IBH Pub*., New Delhi, India.
26. Sturz , A. V. and Christie , B. R. 2003. Beneficial microbial alleloplathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with *rhizobacteria* . *Soil and Tillage Research* , 72: 107-123.
27. Zahir, A.Z., Arshad, M. and Frankenberger (Jr.), W.F. 2004. Plant growth promoting *rhizobacteria*: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81: 1-97.
28. Zahir, A.Z., Abbas, S.A., Khalid, A. and Arshad, M. 2000. Substrate dependence microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedlings. *Pakistan Journal of Biological Science*, 3:289-291.
29. Zhang. H, Daoust. F, Charles. TC, Driscoll. BT, Prithiviraj.B, Smith. DL. 2002. *Bradyrhizobium japonicum* mutants allowing improved nodulation and nitrogen fixation of field grown soybean in short season area. *J.Agri Sci*. 138: 293-300.
30. Zhengqi. C and A.F. Mackenize. 1992. Soybean nodulation and grain yield as influenced by N. fertilizer rate. *Canadian Journal and Plant Science*, 72:1049-1056.
31. Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting *rhizobacteria as bio fertilizer. Plant and Soil, 255: 271-286.*