نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار
جلد ۳۱ شماره ۱ / سال ۱۴۰۰ صفحات ۱۲۳-۱۰۳

اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر عملکرد دانه و روغن کلزا

شهلا نوبخت[۱]، محمدرضا ساریخانی[۲*]، نصرت اله نجفی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۰
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استاد شیمی و حاصلخیزی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
* مسئول مکاتبه: Email: rsarikhani@yahoo.com

چکیده

اهداف تحقیق: اهداف این آزمایش شامل تعیین زادمایه جامد مناسب از نظر زنده‌مانی باکتری، بهبود رشد، درصد روغن کلزا و همچنین تعیین مقدار روغن و نوع اسیدهای چرب کلزا در تیمارهای مختلف می‌باشد.

مواد و روش: بر همین اساس این آزمایش به بررسی اثر چندین ترکیب زادمایه جامد از باکتری *Enterobacter cloacae* S16-3 بر گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) رقم هایولا ۳۰۸ پرداخته است. زادمایه جامد این باکتری در حضور حامل‌های مختلف شامل باگاس، پیت، هیدروچار، بایوچار، خاکاره و پرلیت به‌صورت منفرد و مخلوط آن‌ها با پرلیت (به‌جز پیت) با نسبت وزنی (۱:۱) تهیه شد و جمعیت این باکتری بعد از گذشت شش ماه شمارش شد، سپس اثربخشی زادمایه کودهای زیستی از طریق مایه‌زنی بر گیاه کلزا بررسی شد. آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای با در نظر گرفتن ۱۰ تیمار مربوط به حامل جامد، یک تیمار شاهد (بدون کود و بدون باکتری)، تیمارهای کود شیمیایی ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK انجام شد. در طول دوره رشد، رطوبت گلدان‌ها از طریق توزین در یک دامنه رطوبتی (FC ۰/۸ – ۰/۷) نگهداری شدند. در طول دوره رشد شاخص کلروفیل برگ اندازه‌گیری شد و بعد از اتمام دوره رشد، گیاهان از محل طوقه برداشت شد و وزن خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته، ارتفاع بوته، قطر طوقه، حجم ریشه در بوته، وزن تر و خشک شاخساره، ریشه و دانه، وزن تر و خشک کل، عملکرد دانه در بوته، میزان روغن با دستگاه سوکسله و درصد اسید چرب با کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: یافته‌های این تحقیق نشان داد که اثر باکتری *Enterobacter cloacae* در قالب فرمولاسیون ده‌گانه سبب افزایش تعداد دانه در بوته، ارتفاع بوته، قطر طوقه، شاخص کلروفیل، حجم ریشه، وزن تر و خشک شاخساره، ریشه و دانه، وزن تر و خشک کل، عملکرد دانه و وزن خورجین شد. اثر تلقیح زادمایه‌های جامد *انتروباکتر* بر وزن هزار دانه معنی‌دار نشد. نتایج مربوط به درصد روغن و اسید چرب نشان داد که به جز دو تیمار پیت و بایوچار که نسبت به شاهد کاهش درصد روغن داشتند، بقیه تیمارها افزایش درصد روغن را نشان دادند و در ارتباط با اسید چرب، تیمار باگاس–پرلیت سبب افزایش درصد اسیداولئیک و افزایش کیفیت روغن گردید.

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های حاصل از آزمایش، استفاده از *انتروباکتر* در قالب حامل‌های جامد سبب بهبود بسیاری از ویژگی‌های زراعی، افزایش درصد روغن و اسید چرب گیاه کلزا شد. اما برای تأیید نهایی کارایی این تحقیق بهتر است که علاوه‌بر آزمایش‌های درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای، اثر بخشی آنها در شرایط مزرعه‌ای با میزبان‌های متفاوت هم مورد آزمایش قرار گیرد. با توجه به نتایج به دست آمده از میان حامل‌های استفاده شده، حامل‌های هیدروچار، بایوچار-پرلیت و باگاس-پرلیت نتایج بهتری نشان دادند و توصیه می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه جامد، کلزا، کود زیستی

The Effects of Solid Inocula of *Enterobacter cloacae* on Grain and Oil Yield of Rapeseed

Shahla Nobakht[1], Mohammad Reza Sarikhani[2*], Nosrat Allah Najafi[3]

Received: February 29, 2020 Accepted: August 10, 2020
1-MSc Student of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2-Assoc. Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3Prof. of Soil Chemistry and Fertility, Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
*Corresponding Author Email: rsarikhani@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: The objectives of this experiment include determining the appropriate solid medium in terms of bacterial viability, growth improvement, canola oil percentage, as well as determining the amount of oil and type of canola fatty acids in different treatments.

Methods and Materials: Accordingly, this experiment was performed to chek the effect of a few combination of solid inoculant of bacteria *Enterobacter cloacae* S16-3 on growth of rapeseeds (*Brassica napus* L.) cultivar hayola 308. Solid inoculants of this bacterium were prepared using different carriers including: bagasse, peat, hydrochar, biochar, sawdust, perlite and bagasse:perlit, hydrochar:perlit, biochar:perlit, sawdust:perlit (with ratio 1:1 w/w), then after six months, bacteria population was counted and finally the effect of biofertilizers inoculant was checked with rapeseed inoculation in a pot culture. This experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications in greenhouse by considering 10 treatments of solid carriers, a negative control treatment, a positive control containing 100 and 70 percent of NPK. During the growth period, the pots were irrigated at 0.7-0.8 FC and during the growing season the leaf chlorophyll index was measured. At the end of the experiment, plants were harvested and number of seeds per plant were counted, then the silique height, stem diameter, root volume per plant, fresh and dry weight of shoot and root, total fresh and dry weight, silique weight per plant, the weight of one thousand seed were measured. The oil content and fatty acid analysis were measured in seeds using Soxhlet extractor and GC, respectively.

Results: The results of this study showed that the effect of *Enterobacter cloacae* in carrier-based formulation (10 formulations) increased the number of seeds per plant, plant height, stem diameter, chlorophyll index, roots volume, fresh and dry weight of shoot and root, weight of silique, total fresh and dry weight and the weight of one thousand seeds. The inoculation effect of solid inocula of *Enterobacter* on 1000 seed weight was not significant. The results of oil content and fatty acid analysis showed that in all treatments except for peat and bagasse:perlite, oil content increased. GC results indicated that oil quality was affected by bacterial inoculation and bagasse: perlite treatment increased the percentage of oleic acid.

Conclusion: Based on the experimental findings, the use of *Enterobacter* in the form of solid carriers improved many agronomic characteristics, increased the percentage of oil and fatty acid of rapeseed. But to

finally confirm the effectiveness of this research, in addition to in-vitro and greenhouse experiments, it is better to test their effectiveness in field conditions with different plants. According to the results obtained from the used carriers, hydrocard, biochar-perlite and bagasse-perlite showed better results and are recommended.

Keywords: Biofertilizer, Canola, *Enterobacter*, Solid inoculant

مقدمه

علاقه به کودهای زیستی و استفاده از آنها در کشاورزی به‌علت هزینه بالای کودهای شیمیایی و خطراتی که برای محیط زیست وارد می‌کنند، روز به روز درحال افزایش است. برای تلقیح باکتری‌های مفید اولین قدم انتخاب باکتری مؤثر و سپس مطالعه فرمولاسیون مناسب برای موفقیت تلقیح آن باکتری می‌باشد(باشان و همکاران ۲۰۱٤). بسیاری از باکتری‌ها ممکن است ویژگی‌های خوب محرک رشد گیاه را داشته باشند اما در بازار تجاری موفق عمل نکنند که علت این امر می‌تواند فرمولاسیون نامناسب آنها باشد (باشان، ۱۹۹۸). بخش عمده کود زیستی را حامل تشکیل می‌دهد، حامل در کودهای زیستی عبارت از ماده یا ترکیبی از مواد مختلف است که بتواند باکتری‌های هدف را با جمعیت معین به دست مصرف‌کننده برساند (خسروی ۲۰۱۵). حامل‌های جامد موادی هستند که سطح ویژه بالایی دارند و می‌توانند جمعیت باکتری را برای مدت طولانی حفظ کنند و اثر سمی بر باکتری نداشته باشند. برای افزایش موفقیت در تلقیح، فرمولاسیون یک مایه تلقیح باید دارای چندین ویژگی باشد: باید یک محیط محافظتی برای ریزجانداران فراهم کند، به رشد مطلوب باکتری کمک کند، از کاهش جمعیت باکتری جلوگیری کند، با محیط زیست سازگار باشد، مقرون به صرفه باشد، از مواد در دسترس تهیه شود، pH خنثی یا قابل تنظیم داشته باشد (اسمیت ۱۹۹۲). تحقیقات برای رسیدن به حامل‌های مناسب در سراسر دنیا ادامه دارد. یکی از چالش‌های عمده در صنعت تولید کودهای زیستی، توسعه فرمولاسیونی است که تمام ویژگی‌های ذکر شده را داشته باشند و برای استفاده در مزرعه مناسب باشند و بتواند اطمینان‌بخش زنده‌مانی و بقای باکتری از طریق تامین فضای حفاظتی، مخصوصاً در مورد باکتری‌های بدون اسپور باشد و منجر به کلنیزاسیون بیشتر گیاه بعد از مصرف شود (هال و همکاران ۲۰۱۵).

در بین باکتری‌های مفید برای تولید کود زیستی می‌توان به *انتروباکتر کلوآسه* اشاره کرد که یک باکتری محرک رشد است و با حل‌کردن فسفر و آزادسازی پتاسیم به رشد گیاه کمک می‌کند (ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸ و کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸). بعد از تهیه ترکیب‌های مختلف از این باکتری می‌توان اثرات مایه‌زنی آن را بر گیاهان مختلف مشاهده کرد اما از این میان گیاه کلزا قابل‌توجه است زیرا که بخش عمده‌ای از روغن خوراکی مورد نیاز در کشور از منابع خارجی تامین می‌شود. بنابراین توسعه کشت دانه‌های روغنی از اهمیت زیادی برخوردار است. کلزا از مهم‌ترین دانه‌های روغنی دهه‌های اخیر به شمار می‌رود. دانه کلزا حاوی ٤٠ تا ٤٨ درصد روغن و کنجاله آن حاوی ۳۵ تا ٤٠ درصد پروتئین است (خیاوی و همکاران ۲۰۱۷).

حامل‌های متفاوتی به منظور افزایش زنده‌مانی زادمایه میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند. موادی نظیر پیت به عنوان یک حامل جهانی از جمله این موارد می‌باشد. فراهمی و در دسترس بودن مواد، عدم داشتن اثرات منفی بر میکروب و رشد گیاه، از جمله ویژگیهای مطلوب یک حامل مناسب می‌باشد. حامل‌های منتخب برای این پژوهش شامل پیت، باگاس، پرلیت، بایوچار، هیدروچار و خاکاره هستند که پیت یک حامل غالب

بوده و در مناطقی که در دسترس باشد مورد استفاده قرار می‌گیرد اما پردازش آن یک سرمایه‌گذاری پرهزینه می‌خواهد (تیتابوتر و همکاران ۲۰۰۷). در حال حاضر تولید سالانه باگاس بالغ بر یک میلیون تن است که مقداری از آن برای مصارف مختلفی استفاده می‌شود، با این وجود همچنان حجم عظیمی از باگاس به مصرف نمی‌رسد و یکی از معضلات موجود صرف هزینه‌های زیاد برای معدوم نمودن باگاس است، بنابراین می‌تواند به عنوان حامل به کار رود (اولیا و همکاران ۲۰۱۰). پرلیت یک آلومینوسیلیکات با منشأ آتشفشانی، سبک، جاذب‌الرطوبت، نسبتاً خنثی و پایدار است. این حامل عموماً به تنهایی یا به‌صورت ترکیب با سایر بسترهای کشت به کار می‌رود. دارای قدرت بافری بالا ولی ظرفیت تبادل کاتیونی کم است (روستا و همکاران ۲۰۱۷). پرلیت باعث افزایش زهکشی بستر کشت و بهبود تهویهٔ آن می‌شود (دیلمقانی حسنلویی و همتی ۲۰۱۱). در ارتباط با بایوچار و هیدروچار می‌توان عنوان کرد که تقریباً هر زیست توده‌ای که قابلیت تبدیل به بایوچار را داشته باشد، می‌تواند برای تولید هیدوچار نیز مورد استفاده قرار گیرد و تنها شرایط تولید متفاوتی دارند. به عنوان مثال، پژوهشگران بیان کردند که از مواد مختلفی مانند باگاس نیشکر، چوب درختان، پوست بادام زمینی و ... می‌توان برای تولید هیدروچار و بایوچار استفاده کرد (فانگ و همکاران ۲۰۱۵). خاک-اره ظرفیت تبادل کاتیونی، مقدار آب قابل دسترس کم و نسبت کربن به نیتروژن زیادی دارد اما قیمت ناچیز، وزن اندک، فراوانی و در دسترس بودن آن یک مزیت محسوب می‌شود، بنابراین افزودن مواد نگه‌دارنده به این قبیل بسترها می‌تواند در کاهش هدررفت عناصر غذایی و کاهش هزینه‌های تولید مفید باشد (برزگر-هفشجانی و همکاران ۲۰۱۵).

براساس بررسی‌های انجام شده و افزایش روزافزون کشت گیاه کلزا و با توجه به اینکه تحقیقات انجام گرفته در این زمینه محدود بوده است، و از طرف دیگر ضرورت تحقیق در مورد عرضه زادمایه‌های میکروبی بر پایه حامل‌های جامد، در این مطالعه مجموعه‌ای از حامل‌های جامد مختلف به عنوان حامل باکتری محرک رشد گیاه (*انتروباکتر*) مورد بررسی قرار گرفته است. در این بررسی انتظار می‌رود بتوان حامل جامد مناسبی برای باکتری مورد نظر جهت بهبود رشد و کیفیت روغن کلزا معرفی نمود.

مواد وروش

انتخاب باکتری

باکتری مورد استفاده در این تحقیق باکتری S16-3 *Enterobacter cloacae* می‌باشد که از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز تأمین شده است. این باکتری گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری و میله‌ای شکل از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد. *انتروباکتر* با توجه به توان انحلال فسفر، آزادسازی پتاسیم و توان رشد در محیط فاقد نیتروژن (قدرت تثبیت نیتروژن) یک باکتری محرک رشد گیاه است که اثرهای مثبت آن در رشد گیاهان در آزمایش‌ها پیشین مشخص شده است (مرادی و ساریخانی ۲۰۱۷، ساریخانی و همکاران ۲۰۱۸ و کاظمی اسکویی و همکاران ۲۰۱۸) و در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱).

آماده سازی زادمایه‌ها و بررسی جمعیت زنده باکتری در تیمارهای حامل

در این آزمایش چندین حامل جامد شامل باگاس، پیت، هیدروچار، بایوچار، خاکاره و پرلیت به‌صورت منفرد و مخلوط آن‌ها با پرلیت با نسبت وزنی (۱:۱)

جدول ۱- برخی خصوصیات محرک رشدی باکتری مورد استفاده در این آزمایش

باکتری	نوع گرم	تثبیت نیتروژن	انحلال فسفر نامحلول ($mg.l^{-1}$)	آزادسازی پتاسیم ($mg.l^{-1}$)	اکسین ($m.\ l^{-1}$)
Enterobacter cloacae	منفی	قادر به رشد در محیط عاری از نیتروژن	۵۱۰	۱۳	۳/۱۷

مورد استفاده قرار گرفت. این مواد پس از هوا خشک شدن با هاون پودر شده و از غربال ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شدند. لازم به ذکر است که پیت از بقایای گیاهی نسبتاً تجزیه‌یافته حوالی دریاچه نئور استان اردبیل، هیدروچار و بایوچار از چوب درخت تبریزی تهیه گردید که هیدروچار در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ١٤ ساعت و بایوچار در دمای ٤٠٠ درجه سانتی‌گرادبه مدت ٤٠ دقیقه تهیه شدند (عظیم‌زاده و نجفی ٢٠١٦)، باگاس و پرلیت به‌صورت فرآوری شده و خاکاره نیز از ضایعات چوب تهیه شد.

حامل‌های جامد به‌صورت زیر تهیه شدند:

ابتدا ٦ گرم از هر ماده حامل جامد (پیت، باگاس، خاکاره، هیدروچار، بایوچار و پرلیت) و نسبت‌های ۱:۱ از هر یک از حامل‌های آلی با پرلیت (۳ گرم: ۳ گرم) توزین شده و در کیسه‌های پلاستیکی مجزا تهیه شدند. لازم به ذکر است که برخی از حامل‌ها برای داشتن pH خنثی، تعدیل pH شدند. به‌دلیل پایین بودن pH هیدروچار، ٦ گرم از این ماده توسط ۰/٦ گرم کربنات کلسیم و ۳ گرم از این ماده توسط ۰/۳ گرم کربنات کلسیم تعدیل شدند. همچنین به‌دلیل بالا بودن pH پرلیت و بایوچار، pH این مواد نیز بااسید سولفوریک تعدیل شد (٦ گرم از بایوچار با ۳ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۰/۲ نرمال و ٦ گرم از پرلیت توسط ۳ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال تعدیل شد). بقیه حامل‌ها (نسبت‌های ۱:۱) با انجام محاسباتی تعدیل گردیدند. سپس حامل‌های جامد تهیه شده در کیسه‌های پلاستیکی به رطوبت ۲۰٪ رسانده شده و درون اتوکلاو در فشار ۱/۲ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. سپس از کشت شبانه باکتری در محیط NB، به میزان لازم به حامل‌های استریل افزوده شد تا جمعیت قابل قبولی از باکتری در حامل ایجاد شود.

جمعیت باکتری‌ها در زمان‌های صفر و ۱۸۰ روز از طریق شمارش کلنی شمارش شد و برای شمارش از محیط کشت نوترینت آگار (NA) استفاده شد و به‌علاوه یک نمونه نیز تهیه و بعد از گذشت ٦ ماه برای مایه‌زنی گیاه کلزا در کشت گلدانی استفاده شد (قاسمی پیرانلو و همکاران ٢٠١٩).

آماده‌سازی خاک، کشت گیاه و اعمال تیمار باکتریایی

برای بررسی ترکیب زادمایه‌های جامد باکتری *انتروباکتر کلوآسه* و اثر آنها بر رشد گیاه روغنی کلزا (*Brassica napus* L.) رقم هایولا ۳۰۸، آزمایشی در قالب طرح CRD با ۹ تیمار مربوط به زادمایه جامد، یک تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) و دو تیمار کنترل مثبت ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد NPK با سه تکرار در گلخانه گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز انجام گرفت. خاک مورد استفاده پس از عبور از غربال ٤ میلی‌متری در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ اتمسفر استریل شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای

کلاس بافت	شن	سیلت	رس	کربنات کلسیم معادل (٪)	کربن آلی	FC	فسفر قابل‌جذب ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم قابل‌جذب	ECe ($dS.m^{-1}$)	pHe —
لوم شنی	٦٩	١٣	١٨	٢/٥٦	٠/١٧	١٢/٥٧	٣	١٩٨/٠٧	١/٤	٧/٥٦

در این آزمایش ابتدا بذور کلزا در هیپوکلریت سدیم ۰/۵درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی سطحی شده و ٤-٣ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. به هرکدام از گلدان‌ها ۳/۳۰۰ کیلوگرم خاک استریل اضافه شد و سپس گلدان‌ها با آب استریل اشباع شدند و بعد از رسیدن رطوبت گلدان‌ها به حدود FC، ٦ عدد بذر جوانه-دار شده کشت گردید و در نهایت پس از رشد بذرها، ۳ عدد از بوته‌ها حفظ شد. در تمامی گلدان‌ها سایر نیازهای عناصر غذایی به جز NPK به مقدار لازم به‌صورت محلول و به‌طور یکنواخت به همه گلدان‌ها اضافه شد. اما در مورد عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، که هدف اصلی این آزمایش بود در تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) هیچ کود شیمیایی و باکتری استفاده نشد، در مورد تیمار شاهد مثبت ۱۰۰ درصد NPK، بر اساس آزمون خاک و تجربیات قبلی ۱۰۰ درصد مقدار کودی توصیه شده معادل (mg N/kg soil ٥٦/٥ از منبع اوره)، (١٣ mg P/kg soil از منبع سوپر فسفات تریپل) و (٣١/٣ mg K/kg soil) از منبع سولفات پتاسیم) و در تیمار شاهد مثبت ۷۰ درصد NPK، ۷۰ درصد مقادیر فوق در هر گلدان استفاده شد. در زادمایه‌ها نیز، ۷۰ درصد مقدار NPK استفاده شد، زیرا فرض آزمایش این بود که باکتری بتواند ۳۰ درصد نیاز گیاه به این عناصر را تأمین کند. ۱۰ میلی‌گرم از هر زادمایه باکتریایی به‌طور مساوی بین تکرارهای هر تیمار یعنی در سه گلدان پخش شد. در طول دوره‌ی رشد گیاه از طریق توزین رطوبت تمامی گلدان‌ها در دامنه رطوبتی (FC ۰/۸ – ۰/۷) نگهداری شد، برای کسر اثر افزایشی رشد گیاه بر وزن گلدانها، تعدادی گلدان به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که با تغییر محسوس رشد کلزا، از گیاه‌های شاهد برای تعیین وزن کلزا استفاده گردید.

پارامترهای اندازه‌گیری شده قبل و بعد از برداشت

حدود یک ماه پس از رشد گیاه و قبل از گلدهی، شاخص کلروفیل سه بار (با دستگاه کلروفیل‌سنج) اندازه‌گیری شد و پس از برداشت پارامترهای وزن خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته (با دستگاه بذرشمار)، ارتفاع بوته (از سطح خاک با خط کش)، قطر طوقه (با کولیس)، حجم ریشه در بوته (با استفاده از تغییر حجم آب در استوانه‌ی شیشه‌ای مدرج)، وزن تر و خشک شاخساره، ریشه، دانه و وزن تر و خشک کل و عملکرد دانه در بوته اندازه‌گیری شدند. در نهایت درصد روغن (با دستگاه سوکسله) و اسید چرب (با کروماتوگرافی گازی) اندازه‌گیری شدند (آزادمرد دمیرچی ۲۰۱۳).

طرح آزمایشی و تحلیل آماری

آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح CRD با ۱۳ تیمار و سه تکرار اجرا شد. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام و ترسیم شکل‌ها با نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص کلروفیل

با توجه به تجزیه واریانس انجام شده مشخص شد که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر شاخص کلروفیل برگ گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین شاخص کلروفیل مربوط به تیمارهای بایوچار و هیدروچار بود که به‌جز تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی)، NPK70 پیت و بایوچار – پرلیت با بقیه در یک گروه آماری قرار داشتند و کمترین مقدار در تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) مشاهده شد (جدول ٦).

میزان کلروفیل یکی از نشانگرهای غیرمستقیم کارایی دستگاه فتوسنتز در ارتباط با کیفیت گیاهان است (باشیال ۲۰۱۱). رنگ برگ، که با مقدار کلروفیل آن همبستگی نزدیک دارد، تحت تأثیر عوامل مختلفی همانند مرحله رشد گیاه، رقم، ضخامت برگ، تراکم گیاه و دیگر فاکتورهای آب وهوایی قرار دارد (مالاسیوتیس و همکاران ۲۰۰٦).

یکی از مکانیسم‌های افزایش کلروفیل در گیاهان تلقیح شده توسط باکتری‌های محرک رشد، کاهش غلظت اتیلن و تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها است که سبب پایداری و تشکیل بیشتر کلروفیل می‌شود (اعتمادی و همکاران ۲۰۱٤).

بنرجی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند که مقدار کلروفیل b و a در برگ‌ها با افزودن کودهای زیستی افزایش می‌یابد. این افزایش به جذب بیشتر منیزیم، اثرهای مفید باکتری‌های موجود در کودهای زیستی، در دسترس قرار دادن نیتروژن به میزان زیاد و در نهایت رشد بیشتر بافت‌ها و اندام‌ها به وسیله گونه‌های تثبیت کننده‌های نیتروژن نسبت داده شده است. مدهایان و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که استفاده از گونه‌های مختلف *Enterobacter* موجب افزایش ارتفاع بوته، تعداد برگ، کلروفیل و قطر طوقه در گیاه *Jatropha curcas* شده است. حبیب و زقلول (۲۰۱۲)، علی‌پور و سبحانی-پور (۲۰۱۲)، قدم‌خانی و همکاران (۲۰۱۷)و کلانتری و همکاران (۲۰۱۷) نیز به نتایج مشابهی اشاره کردند.

قطر طوقه

با توجه به تجزیه واریانس انجام شده مشخص شد که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر قطر طوقه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود. ضریب تغییرات با مقدار ۵/۷۱ درصد هم حاکی از دقت بالای آزمایش بود (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین قطر طوقه متعلق به تیمار کودی ۱۰۰٪ (NPK100) با میانگین ۷/۲ میلی‌متر بود که افزایش قابل ملاحظه‌ای را نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) نشان داد. قطر طوقه در حامل‌های جامد به کار رفته بین ٦/۳ تا ٦/۸ میلی‌متر بود که همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند ولی با شاهد منفی تفاوت معنادار داشتند و افزایش ٥٤ – ٦٨ درصدی را نسبت به کنترل نشان دادند (جدول ٦).

قطر طوقه یکی از پارامترهای رویشی مهم می‌باشد و هر قدر که قطر طوقه بیشتر باشد، پتانسیل تولید مطلوب در گیاه افزایش خواهد یافت. باکتری‌های محرک رشد با تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه از جمله اکسین به‌طور مستقیم سبب افزایش رشد ساقه شده و با تولید سیتوکینین بر آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز اثر منفی گذاشته و مانع تجزیه پروتئین در محیط داخلی سلول شده که به این وسیله باعث تقسیم سلولی گشته و از این طریق به‌طور غیرمستقیم در افزایش قطر طوقه موثر واقع می‌شوند (محمدورزی و همکاران ۲۰۱۱).

محمدورزی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تیمارهای آفتابگردان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاه، قطر طوقه را به‌طور معناداری افزایش دادند. افزایش قطر طوقه توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (اصغر و همکاران ۲۰۰٤ و پورابراهیمی فومنی و همکاران ۲۰۱٤).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر شاخص‌های رشد گیاهی شامل شاخص کلروفیل، قطر طوقه، ارتفاع بوته ، حجم ریشه در بوته و تعداد دانه در بوته

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		شاخص کلروفیل	قطر طوقه	ارتفاع بوته	حجم ریشه در بوته	تعداد دانه در بوته
تیمار	۱۲	۱۵/۷۸**	۰/۰۱**	۱۲۹/۰۳**	٤۸/۲۱**	۱۲٤۳۸۰/٤۹**
خطای آزمایشی	۲٦	۲/٦۳	۰/۰۰۱	٤۱/٤۹	۲/۲۸	۱۹٤۹۳/۳٤
ضریب تغییرات (٪)		۰/۹/٦۳	٥/۷۱	٦/۳۳	۱۲/۱۸	۱٥/۰٥

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشد.

ارتفاع بوته

اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر ارتفاع بوته کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول۳). بر اساس مقایسه میانگین انجام شده مشخص شد تمام حامل‌های جامد در یک گروه آماری قرار داشتند و در میان آنها بیشترین ارتفاع بوته با مقدار ۱۱۱/٤ سانتی‌متر مربوط به حامل باگاس بود (جدول ٦).

افزایش ارتفاع بوته شاخصی از رشد رویشی گیاه است که افزایش آن در اثر کاربرد زادمایه‌های *انتروباکتر* نشان می‌دهد که این ویژگی تحت تأثیر تلقیح قرار گرفته است. می‌توان بیان کرد که باکتری‌های محرک رشد با تأثیر بر سیستم ریشه سبب افزایش جذب آب و عناصر غذایی در گیاه می‌شوند، همچنین از طریق تولید هورمون‌هایی مثل جیبرلین که روی رشد طولی سلول‌ها به ویژه میان‌گره‌های ساقه، و اکسین و سیتوکنین که روی تقسیم سلولی نقش دارند، اثر گذاشته، که نتیجه آن افزایش ارتفاع بوته است (احتشامی و همکاران ۲۰۱٤).

مایه‌زنی با *E. Cloacae* به‌ترتیب موجب افزایش ٤۱/٦۷ و ٦/۲٥ درصدی ارتفاع بوته در سویا و گندم شد (رامش و همکاران ۲۰۱٤). در یک بررسی، ارتفاع بوته ذرت تلقیح شده با *Azospirillum* افزایش یافت (روستا و همکاران ۱۹۹۸). ارتفاع بوته ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری *Pseudomonas* حدود ٥/۸ درصد بیشتر شد (زهیر و همکاران ۲۰۰۲). افزایش ارتفاع بوته در اثر باکتری‌های محرک رشد توسط دیگر پژوهشگران نیز گزارش شده است (عباس‌زاده دهجی و همکاران ۲۰۱٤، کوچکی و همکاران ۲۰۰۹ و برهام و همکاران ۲۰۱۷).

باگاس به عنوان ضایعات حاصل از گیاه نیشکر (در فرایند استخراج شکر از این گیاه)، از یک ویژگی بسیار خوب برخوردار است که حتی پیت‌های مرغوب نیز از این خاصیت برخوردار نمی‌باشند و آن عدم نیاز به تنظیم‌کننده‌های pH است، چون در مورد پیت از کربنات کلسیم استفاده می‌شود (قاسمی پیرانلو و همکاران ۲۰۱۹).

همچنین باگاس می‌تواند از نظر ویژگی‌های فیزیکی شرایط مطلوبی را برای زنده‌مانی باکتری فراهم نماید. باگاس دارای فیبر زیاد و ساختمان نرم بوده و ترکیب بسیار ارزان، ساده و بدون ضرر برای محیط می‌باشد، به‌طوری که می‌توان از آن در نگهداری باکتری‌های موثر در کنترل‌گرهای زیستی استفاده کرد (اولیا و همکاران ۲۰۱۰).

وسی (۲۰۰۳) بیان کرد که کاربرد کودهای زیستی از طریق تولید هورمون های محرک رشد به ویژه

اکسین سبب افزایش رشد و ارتفاع بوته می‌شود. اولیا و همکاران (۲۰۰٦) در بررسی زنده‌مانی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از حامل‌های پرلیت، باگاس، ذغال سنگ، پوست ذرت به‌صورت منفرد و مخلوط با نسبت‌های معینی از ترکیبات استفاده کردند. آن‌ها نتیجه گرفتند که ترکیب پرلیت و باگاس با نسبت وزنی (۲:۱) بهترین فرمولاسیون بوده است. اولیا و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی فرمول‌های مختلف حامل از نظر نگهداری باکتری‌های *سودوموناس فلورسنس* و *اروینیا هربیکولا* به عنوان عوامل کنترل‌گرهای زیستی، ترکیب‌های مختلفی از حامل‌ها را تهیه نمودند. این ترکیب شامل پیت، باگاس، پرلیت، پرلیت – باگاس، پرلیت – باگاس – ذغال، باگاس – ذغال و محیط کشت مایع LB با غلظت یک سوم بود. آن‌ها نتیجه گرفتند که از میان ترکیبات فوق، باگاس در دمای اتاق عملکرد بهتری داشته است.

حجم ریشه در بوته

با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها، اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر حجم ریشه گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین حجم ریشه در بوته مربوط به تیمار NPK100 و حامل بایوچار با مقادیر ۲۰/٥٦ و ۱۸/۸۹ سانتی‌متر مکعب بود که در یک گروه آماری قرار داشتند ولی با سایر تیمارها دارای تفاوت معنادار بودند و نسبت به کنترل افزایش قابل‌توجهی را نشان دادند. کمترین حجم ریشه در بوته مربوط به تیمارهای پیت، باگاس – پرلیت و بایوچار– پرلیت بود که باهم تفاوت معناداری نداشتند اما نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) تفاوت معنادار داشتند و حجم ریشه بیشتری در آنها اندازه‌گیری شد (جدول ٦). افزایش حجم ریشه در بوته بیانگر توسعه بیشتر ریشه است که افزایش توان جذب آب و عناصر غذایی بیشتر را در حجم وسیع‌تری از خاک امکان‌پذیر می‌سازد و در نتیجه رشد و نمو گیاه را بهبود می‌بخشد. اثباتی و همکاران (۲۰۱۵) افزایش ۵۵٪ در حجم ریشه‌های گوجه‌فرنگی را در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های باکتریایی عنوان داشتند. بانچیو وهمکاران (۲۰۰۸) نیز نتیجه مشابه را گزارش کردند. کاظمی اسکویی و همکاران (۲۰۱۸) برای بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتریایی (سویه S16-3) بر ارقام کلزا تحت تنش اسمزی تیمار شده با پلی‌اتیلن‌گلیکول، گزارش کردند که تلقیح باکتریایی حجم ریشه هایولا ۳۰۸ را تحت تنش اسمزی افزایش داد.

تعداد دانه در بوته

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر تعداد دانه در بوته کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). براساس مقایسه میانگین داده‌های حاصله تیمار کودی ۱۰۰٪ بیشترین تعداد دانه در بوته را داشته که نسبت به تیمار کنترل افزایش قابل توجهی را نشان داد. در میان حامل‌های به کار رفته تیمار هیدروچار با میانگین تعداد دانه در بوته ۱۰۸۷ بیشترین و بایوچار با مقدار ۷۷٤/۳ کمترین تعداد دانه در بوته را به خود اختصاص داد، با وجود اینکه بایوچار کمترین تعداد را در میان حامل‌ها داشت اما نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) افزایش ۱۰۰ درصدی را نشان داد (جدول ٦). با توجه به اینکه بایوچار نسبت به حامل‌های دیگر از C/N بالایی برخوردار می‌باشد می‌توان بیان کرد یکی از دلایل احتمالی کاهش تعداد دانه در بوته در بایوچار، این دلیل باشد. تأثیر بایوچار و هیدروچار بر زنده‌مانی ریزجانداران بستگی به مواد اولیه و شرایط فرآیند تولید دارد (محمد و همکاران ۲۰۱٤). از آنجا که هیدروچارها در دمای پایین (۲۰۰ درجه سلسیوس) تولید می‌شوند، بنابراین برای تولید به انرژی کمتری نیاز دارد و همچنین دارای بازدهی بالاتر و توانایی جذب بهتر می‌باشند. با این حال، اسیدیته پایین آن می‌تواند نگران‌کننده باشد که با تعدیل pH می‌توان این مشکل را برطرف نمود.

حکم علی‌پور و سید شریفی (۲۰۱٦) گزارش کردند در بالاترین سطح کاربرد کود نیتروژن به‌همراه تلقیح توأم با باکتری‌های محرک رشد در جو بهاره، بالاترین تعداد دانه در بوته و در سطوح شاهد کمترین میزان این صفت حاصل گردید. مسعود و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که استفاده از کودهای زیستی در کلزا موجب افزایش تعداد دانه در بوته و عملکرد دانه شد.

یساری و همکاران (۲۰۰۸) و ذبیحی و همکاران (۲۰۰۹) نیز نتیجه مشابهی را گزارش کردند. حجتی‌پور و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی تأثیر تلفیق کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد دانه، اجزای عملکرد و شاخص‌های رشدی گندم گزارش کردند که در تیمار مصرف کود زیستی، بالاترین (۳۳/۱۳) و کمترین (۳۰/۱۹) تعداد دانه در بوته به ترتیب در شرایط مصرف ۲۰۰ گرم کود زیستی نیتروکارا و عدم مصرف کود حاصل شد.

وزن تر و خشک شاخساره در بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، حاکی از آن است که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن تر و خشک شاخساره گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ٤). مقایسه میانگین داده‌های حاصل، نشان داد که تیمار NPK100 بیشترین و تیمار شاهد کمترین وزن خشک شاخساره را به خود اختصاص دادند. زادمایه‌های جامد به کار رفته همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند و همگی نسبت به شاهد افزایش وزن خشک شاخساره را نشان دادند (جدول ٦).

اثباتی و همکاران (۲۰۱۵) افزایش ۷٦ درصدی در وزن تر و خشک شاخ و برگ گوجه فرنگی بر اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه را گزارش کردند. عباس-زاده دهجی و همکاران (۲۰۱٤) نیز چنین نتیجه‌ای را ارایه کردند. افزایش عملکرد بیولوژیک جو در نتیجه‌ی استفاده از این باکتری‌ها توسط ذبیحی و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش شده است. آن‌ها اثر باکتری در افزایش عملکرد ماده‌ی خشک را به مصرف بهتر فسفر نسبت دادند. زیدی (۲۰۰۳) و کوچکی و همکاران (۲۰۰۹) نیز در آزمایش‌های خود اثرهای مثبت کودهای زیستی را در افزایش وزن خشک بوته گیاه گزارش کردند.

وزن تر و خشک ریشه در بوته

تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن تر و خشک ریشه گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ٤). پس از مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که بالاترین وزن تر و خشک ریشه مربوط به تیمار NPK100 بود و با سایر تیمارها دارای تفاوت معناداری بود. در بین زادمایه‌های جامد، خاکاره با میانگین ۱/۷۷ گرم بیشترین، پیت با میانگین ۱/۳۲ گرم کمترین وزن خشک ریشه را به خود اختصاص داد (جدول ۷).

افزایش وزن تر و خشک ریشه هرچند نشان از بهتر بودن شرایط لنگرگاهی گیاه است اما دلیل قطعی بر تغذیه بهتر گیاه نخواهد بود. چون ریشه‌های موئین در عین جذب بهتر، وزن کمتری را به خود اختصاص می‌دهند. اثر مثبت این کودها بر وزن تر و خشک ریشه، به در دسترس قرار دادن مقدار زیادی عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف برای ریشه گیاهان، تثبیت N_2، تولید مواد محرک رشد گیاه (اکسین، سایتوکینین یا جیبرلین) و سرکوب بیماری‌های گیاهی نسبت داده شده است (زالوسکا و آنتکوویاک ۲۰۱۱).

خاورزی و رجالی (۲۰۰۰) قابلیت استفاده از بعضی مواد ارزان‌قیمت شامل کمپوست کاه، کمپوست باگاس، کمپوست فیلتر کیک، زغال‌سنگ، بنتونیت و ورمیکولایت به عنوان حامل باکتری *Bradyrhizobium japonicum* را ارزیابی کردند. آنان طبق نتایج شمارش‌های شش ماهه نشان دادند که تیمار کمپوست باگاس می‌تواند به عنوان بهترین حامل جهت تهیه مایه تلقیح سویا استفاده شود.

اشفق و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تلقیح با باکتری‌های محرک رشد بیش از ۲۵٪ باعث افزایش

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر شاخص‌های رشدی گیاه شامل وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک ریشه و وزن خورجین در بوته

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خورجین در بوته
تیمار	۱۲	٤٤/٢٤**	١١/٣١**	١٠/٣٧**	٠/٣٦**	٢/٩٣**
خطای آزمایشی	٢٦	٣/٩١	٠/٧١	١/٧٨	٠/٠٥٢	٠/٣٣
ضریب تغییرات (٪)		١١/٤٣	٨/٧٦	١٥/١٧	١٤/٥٩	١١/٧٢

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشد.

وزن خشک ریشه ماش شد. عباس‌زاده دهجی و همکاران (۲۰۱٤) و روسو و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کردند که استفاده از باکتری محرک رشد سبب افزایش وزن خشک و تر ریشه می‌گردد. واگار و همکاران (۲۰۰٤) ضمن بررسی اثر تلقیح باکتری‌های حاوی آنزیم ACC دآمینار بر رشد و عملکرد گندم دریافتند که باکتری‌های حاوی این آنزیم وزن ریشه را به‌طور معناداری نسبت به شاهد افزایش دادند.

وزن دانه و هزار دانه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن تر و خشک دانه گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ٥). مقایسه میانگین داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که تیمار NPK100 بیشترین و شاهد کمترین وزن تر و خشک دانه را داشت در میان زادمایه‌های جامد به کار رفته، حامل هیدروچار با مقدار ٢/٦٥ گرم بیشترین و حامل پیت با مقدار ٢/٠٧ گرم کمترین وزن خشک دانه را به خود اختصاص دادند. حامل پیت با اینکه در میان زادمایه‌های جامد کمترین وزن خشک دانه را داشت اما نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح (شاهد منفی) افزایش قابل‌توجهی را نشان داد (جدول ۷).

در بین حامل‌های مختلف، پیت به عنوان یک حامل غالب می‌باشد این حامل دارای رطوبت مناسب، دمای مناسب و مواد غذایی کافی است اما نقص اصلی این حامل تغییر در کیفیت آن است چون پیت یک ماده آلی نامحلول و پیچیده است، به‌علاوه در حین استریل شدن یک سری مواد سمی آزاد می‌کند که سبب کاهش جمعیت باکتری می‌شود، همچنین مستعد آلودگی است و ممکن است در هر مکانی دردسترس نباشد (باشان ۱۹۹۸). بیشتر ذخایر پیت، pH پایین دارند که باید با آهک برای رسیدن به pH ۷- ٦/٥ اصلاح شود (روقلی ۱۹۷٦).

اگامبردیوا و همکاران (۲۰۱۷) زنده‌مانی باکتری *B. japonicum* را پس از شش هفته با استفاده از بایوچار و هیدروچار به عنوان حامل، در شرایط تنش خشکی ارزیابی کردند. آن‌ها بیان کردند که زنده‌مانی این باکتری در حامل هیدروچار نسبت به بایوچارهایی که از ذرت و چوب به دست آمده، بیشتر بود.

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر شاخص‌های رشد گیاهی شامل وزن تر و خشک دانه، وزن هزاردانه در بوته، وزن تر و خشک کل و درصد روغن دانه کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن تر دانه	وزن خشک دانه	وزن هزاردانه	وزن تر کل	وزن خشک کل	درصد روغن کلزا
تیمار	۱۲	۰/۸۰**	۰/۷۶**	۰/۰۱^{ns}	۹۳/۱٤**	۱۵/٤۸**	۸/۸۳**
خطای آزمایشی	۲٦	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۰۲	۷/٤۰	۰/۸۹	۰/۳۲
ضریب تغییرات (٪)		۱۳/۳۲	۱٤/۱۵	۱٤/۹۳	۱۰/٤۳	۸/٤۲	۱/۲۷

ns و ** به‌ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشد.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، حاکی از آن است که که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن هزار دانه گیاه کلزا معنادار نبود (جدول ۷). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تمام تیمارهای به کار رفته در این طرح از نظر وزن هزار دانه در یک گروه آماری قرار گرفته و با هم تفاوت معناداری ندارند. از میان زادمایه‌ها، باگاس و پرلیت بیشترین و هیدروچار و خاکاره کمترین وزن هزاردانه را به خود اختصاص دادند. (جدول ۹).

وزن خورجین در بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، حاکی از آن است که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن خورجین به‌همراه بذر گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بوده و ضریب تغییرات حاصله هم بیانگر دقت بالا و خطای پایین آزمایش بود (جدول ٤). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمار NPK100 دارای بیشترین وزن خورجین در بوته بود و با تمام تیمارها اختلاف معنادار داشت. زادمایه‌های جامد در یک گروه آماری بودند و در میان آنها هیدروچار با میانگین وزن ٥/۳٦ بیشترین و پیت با میانگین ٤/٤٤ گرم کمترین وزن خورجین در بوته را به خود اختصاص دادند (جدول ٦).

وزن تر و خشک کل بوته

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر وزن تر و خشک کل گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ٥). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تیمار کودی ۱۰۰٪ بیشترین وزن تر و خشک کل گیاه را داشت که با تمام تیمارها تفاوت معناداری داشت. در میان حامل‌ها، هیدروچار بیشترین و پیت کمترین وزن تر و خشک کل گیاه را به خود اختصاص دادند و تمام حامل‌های به کار رفته از نظر وزن خشک کل در یک گروه آماری قرار داشتند (جدول ۷).

در آزمایش‌های گلخانه‌ای وزن کل گیاه می‌تواند شاخص مهم و مناسب‌تری از شرایط رشد گیاه باشد. ساریخانی و همکاران (۲۰۱۹) افزایش معناداری در وزن تر و خشک کل در گیاه ذرت در اثر تلقیح با برخی کودهای میکروبی فسفاته از جمله *انتروباکتر کلوآسه* را گزارش کردند. صادقی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که وزن خشک کل ذرت در تیمارهایی که کود زیستی به کار رفته بود، افزایش یافت.

جدول۶ – مقایسه میانگین اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر شاخص‌های رشد گیاهی شامل شاخص کلروفیل، قطر طوقه، ارتفاع بوته ، حجم ریشه در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن تر و خشک شاخساره و وزن خورجین در بوته

تیمار	شاخص کلروفیل	قطر طوقه	ارتفاع بوته	حجم ریشه در بوته	تعداد دانه در بوته	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	وزن خورجین در بوته
پیت	۱۵/۴۱^{cd}	۰/۶۳۰^{b}	۱۰۵/۳۳^{a}	۹/۴۴^{e}	۸۲۸/۹^{bc}	۴۵/۴۳^{d}	۹/۰۸^{b}	۴/۴۴^{b}
پرلیت	۱۷/۵۷$^{a-d}$	۰/۶۸۷^{ab}	۱۰۰^{a}	۱۳/۳۴^{bc}	۸۹۸/۳^{bc}	۴۶/۶۴^{cd}	۹/۷۵^{b}	۴/۹۷^{b}
باگاس	۱۷/۵۳$^{a-d}$	۰/۶۸۰^{ab}	۱۱۱/۴۴^{a}	۱۱/۱۱$^{c-e}$	۸۹۲/۷^{bc}	۵۶/۱۲$^{b-d}$	۹/۹۷^{b}	۵/۱۳^{b}
بایوچار	۱۹/۵۶^{a}	۰/۶۳۳^{b}	۱۰۴/۵۵^{a}	۱۸/۸۹^{a}	۷۷۴/۳^{c}	۵۶/۳۹$^{b-d}$	۱۰/۳۴^{b}	۴/۸۸^{b}
هیدروچار	۱۸/۸۶^{a}	۰/۶۸۰^{ab}	۹۹/۵۵^{a}	۱۱/۱۱$^{c-e}$	۱۰۸۷^{ab}	۵۹/۴۹^{ab}	۱۰/۳۸^{b}	۵/۳۶^{b}
خاک‌اره	۱۶/۸۴$^{a-d}$	۰/۶۷۳^{ab}	۹۹/۱۱^{a}	۱۲/۷۸$^{b-d}$	۱۰۴۷^{ab}	۵۶/۷۷$^{b-d}$	۹/۸۳^{b}	۵/۲۱^{b}
باگاس – پرلیت	۱۸/۵۷^{ab}	۰/۶۳۷^{b}	۱۰۴^{a}	۹/۴۴^{e}	۸۷۳/۸^{bc}	۵۱/۱۹$^{b-d}$	۱۰/۲۲^{b}	۴/۸۶^{b}
بایوچار – پرلیت	۱۵/۵۶$^{b-d}$	۰/۶۶۰^{ab}	۱۰۰/۱۱^{a}	۱۰^{de}	۱۰۱۲$^{a-c}$	۵۳/۸۶$^{b-d}$	۹/۷۷^{b}	۵/۱۶^{b}
هیدروچار – پرلیت	۱۶/۷۲$^{a-d}$	۰/۶۵۷^{b}	۱۰۶^{a}	۱۰/۵۶$^{c-e}$	۹۵۸/۴^{bc}	۵۱/۲۳$^{b-d}$	۹/۶۸^{b}	۴/۹۰^{b}
خاک‌اره – پرلیت	۱۷/۹۸$^{a-c}$	۰/۶۶۰^{ab}	۹۸/۹۹^{a}	۱۳/۸۹^{b}	۱۰۱۱$^{a-c}$	۵۱/۹۱$^{b-d}$	۹/۶۳^{b}	۴/۹۱^{b}
شاهد	۱۰/۸۷^{e}	۰/۴۰۷^{c}	۸۳/۷۷^{b}	۵/۵۶^{f}	۳۸۵/۸^{d}	۱۸/۸۲^{e}	۳/۸۳^{c}	۲/۱۶^{c}
NPK70	۱۴/۸۱^{d}	۰/۶۶۷^{ab}	۱۰۴^{a}	۱۴/۴۵^{b}	۱۰۵۷^{ab}	۵۷/۸۹$^{a-c}$	۹/۸۵^{b}	۵/۲۰^{b}
NPK100	۱۸/۵۳$^{a-c}$	۰/۷۲۰^{a}	۱۰۶/۷۷^{a}	۲۰/۵۶^{a}	۱۲۳۴^{a}	۶۸/۲۸^{a}	۱۲/۷۳^{a}	۶/۷۶^{a}

درصد روغن دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، حاکی از آن است که اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر درصد روغن گیاه کلزا در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمار کودی ۷۰٪ (NPK70) و بایوچار – پرلیت بیشترین و تیمارهای پیت و بایوچار کمترین درصد روغن را داشتند (جدول ۷).

در تیمارهای پیت و بایوچار وزن خشک دانه نسبت به شاهد افزایش داشته ولی درصد روغن کاهش یافته که دلیل این امر را می‌توان به اثر رقت ارتباط داد. یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی در کلزا، درصد روغن دانه آن است. درصد روغن دانه در ارقام مختلف کلزا علاوه‌بر ویژگی‌های ژنتیکی به عوامل محیطی چون دما، شرایط تغذیه گیاه و رطوبت نیز بستگی دارد (حسن‌زاده قورت تپه و جوادی ۲۰۱۶).

کدیور و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که میزان روغن ارقام مختلف کلزا بین ۴۵/۷۵ – ۳۷/۲۰ درصد است که میزان آن به واریته گیاهی، موقعیت مکان، حاصلخیزی خاک، کهنه و یا تازه بودن دانه بستگی دارد. در میان عوامل محیطی که بر مقدار روغن اثر دارند، دما مهم‌ترین عامل محسوب می‌شود که با افزایش آن درصد روغن کاهش پیدا می‌کند. آبیاری می‌تواند موجب افزایش مقدار روغن شود در صورتیکه غرقاب و تنش خشکی موجب کاهش آن می‌شود. استفاده از مقدار زیاد کود ازته نیز باعث کاهش درصد روغن می‌شود(عزیزی و همکاران ۲۰۰۲).

یساری و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشتند که با استفاده از کودهای زیستی *Azotobacter* و *Azospirillum*می‌توان مصرف کود شیمیایی را از ۱۵۰ به ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کاهش و عملکردی مشابه کودهای شیمیایی تولید کرد. در بررسی آنان با مصرف کودهای زیستی درصد روغن افزایش یافت. حسن‌زاده

قورت تپه و جوادی (۲۰۱٦) با بررسی‌های خود نشان دادند که کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن + تلقیح با *Azotobacter* و *Azospirillum* بیشترین عملکرد روغن معادل ۱۳۳٤/۵۵ کیلوگرم در هکتار را تولید کرد که نسبت به تیمار شاهد ۱۵۱/۰۲ درصد افزایش داشت. نتایج تحقیقات محمدورزی و همکاران (۲۰۱۱) نشان می‌دهد استفاده از باکتری‌های محرک رشد تأثیری مثبت بر درصد روغن داشته و سبب افزایش عملکرد روغن شده است. شهاتا و الخاواس (۲۰۰۳) و اکبری و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتیجه‌ی مشابهی را گزارش کردند.

نوع و درصد اسید چرب

نتایج مربوط به کروماتوگرافی گازی و آنالیز روغن دانه گیاه کلزا در جدول ۱۰ آمده است.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه* بر شاخص‌های رشد گیاهی شامل وزن تر و خشک ریشه، دانه، وزن هزاردانه و وزن تر و خشک کل و درصد روغن دانه کلزا

تیمار	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر دانه	وزن خشک دانه	وزن هزاردانه	وزن تر کل	وزن خشک کل	درصد روغن
پیت	۷/۲٦^{c}	۱/۳۲^{c}	۲/۲۳^{b}	۲/۰۷^{b}	۰/۸٤^{a}	۲۲/٤۱^{c}	۱۰/٤۰^{b}	٤۱/۱٦^{f}
پرلیت	۹/۱٦^{bc}	۱/۵۵^{bc}	۲/٦۱^{b}	۲/٤۱^{b}	۰/۹۸^{a}	۲٤/۷۱^{bc}	۱۱/۲۹^{b}	٤۳/۹٤^{e}
باگاس	۹/٤۹^{bc}	۱/٤۵^{bc}	۲/٦۲^{b}	۲/۳۹^{b}	۰/۹۸^{a}	۲۸/۲۰^{b}	۱۱/۵۰^{b}	٤٤/۵۲^{de}
بایوچار	۹/٤۰^{bc}	۱/۵٦^{bc}	۲/٤٤^{b}	۲/۲^{b}	۰/۸٤^{a}	۲۸/۱۹^{b}	۱۱/۹۰^{b}	٤۱/۳۱^{f}
هیدروچار	۸/٤٦^{bc}	۱/٦٤^{bc}	۲/۸۳^{b}	۲/٦۵^{ab}	۰/۷۸^{a}	۲۸/۲۹^{b}	۱۲/۰۲^{b}	٤٤/۷۰$^{c-e}$
خاکاره	۹/۷٦^{bc}	۱/۷۷^{b}	۲/۷۷^{b}	۲/۵۵^{ab}	۰/۷۸^{a}	۲۸/٦۸^{b}	۱۱/٦۰^{b}	٤۵$^{b-d}$
باگاس – پرلیت	۸/۰۸^{bc}	۱/۵۷^{bc}	۲/۵۰^{b}	۲/۲۹^{b}	۰/۹۱^{a}	۲۵/۱۵^{bc}	۱۱/۷۹^{b}	٤۵/۹۰^{ab}
بایوچار – پرلیت	۸/۱۱^{bc}	۱/٦۵^{bc}	۲/۷۱^{b}	۲/۵^{ab}	۰/۹۳^{a}	۲٦/۰٦^{bc}	۱۱/٤۲^{b}	٤٦/۳٦^{a}
هیدروچار –پرلیت	۸/۹۲^{bc}	۱/۵۸^{bc}	۲/۵۷^{b}	۲/۳۷^{b}	۰/۸۷^{a}	۲٦/۰۰^{bc}	۱۱/۲۵^{b}	٤۵/۱٤$^{b-d}$
خاکاره – پرلیت	۸/۵٤^{bc}	۱/۵٤^{bc}	۲/٦٤^{b}	۲/٤۵^{b}	۰/۸۵^{a}	۲۵/۸۵^{bc}	۱۱/۱٦^{b}	٤۵/۹۳^{ab}
شاهد	٤/٤۰^{d}	۰/٦٦^{d}	۱/۱٦^{c}	۰/۸۷^{c}	۰/۸۲^{a}	۱۰/٦۸^{d}	٤/٤۹^{c}	٤۳/۷۹^{e}
NPK70	۱۰/۰۱^{b}	۱/٦۹^{bc}	۲/۷۳^{b}	۲/۵۳^{ab}	۰/۸۲^{a}	۲۹/۳۰^{b}	۱۱/۵٤^{b}	٤٦/۵۸^{a}
NPK100	۱۲/۷۱^{a}	۲/۲٦^{a}	۳/۵۳^{a}	۳/۱۰^{a}	۰/۹۱^{a}	۳۵/٤٦^{a}	۱٤/۹۸^{a}	٤۵/۳۲^{bc}

جدول۸- اندازه‌گیری درصد اسید چرب روغن دانه در گیاه کلزا

تیمار	اسید پالمتیک (اشباع)	اسید استئاریک (اشباع)	اسید پالمیتولئیک (غیراشباع)	اسید اولئیک (غیراشباع)	اسید لینولئیک (غیراشباع)	اسید لینولنیک (غیراشباع)
شاهد بدون تلقیح	۵/۵۷	٤/٤۵	۰/۱۸	۵۱/۰۲	۱۵/۳۱	٦/۵٦
باگاس –پرلیت	۵/٤٤	۳/٤۹	۰/۱٤	۵۳/٤٤	۱۵/۳٤	٦/۵۷

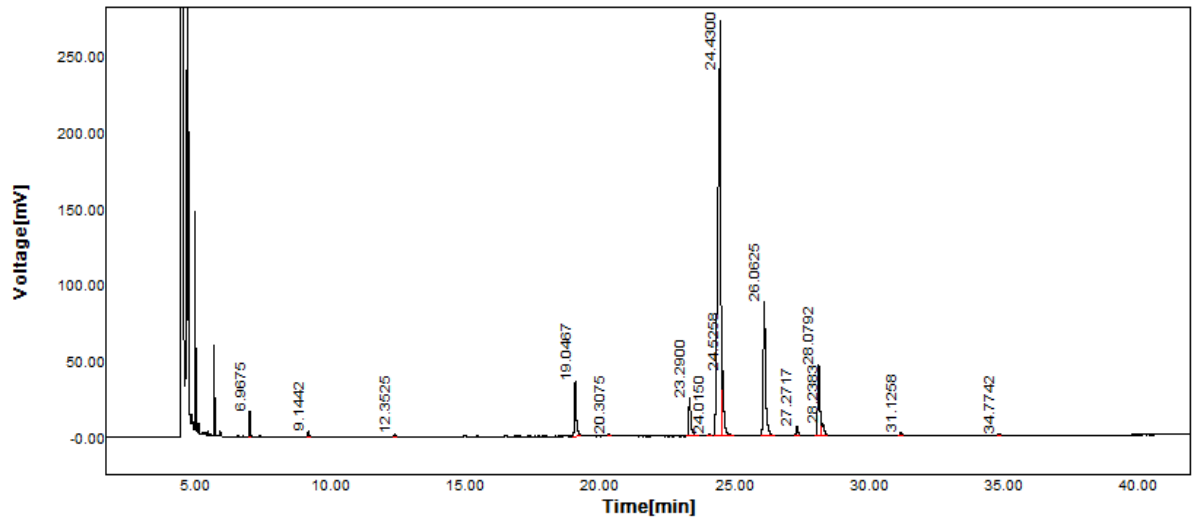
با آنالیز کروماتوگرافی گازی، چهار اسیدچرب غیراشباع شامل اسید پالمیتولئیک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک و دو اسیدچرب اشباع شامل اسید پالمتیک و اسید استئاریک در روغن کلزا شناسایی و تعیین شدند. در بین اسیدچرب‌های کلزا، اسید اولئیک و لینولئیک بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند (جدول ۸).

نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی نشان داد که تیمار باگاس-پرلیت نسبت به شاهد بدون تلقیح سبب افزایش اسیدهای چرب غیراشباع و کاهش اسیدهای چرب اشباع شده است. افزایش اسیدهای چرب غیراشباع نیز باعث افزایش کیفیت روغن کلزا می‌گردد (احمد و عابدین ۲۰۰۰).

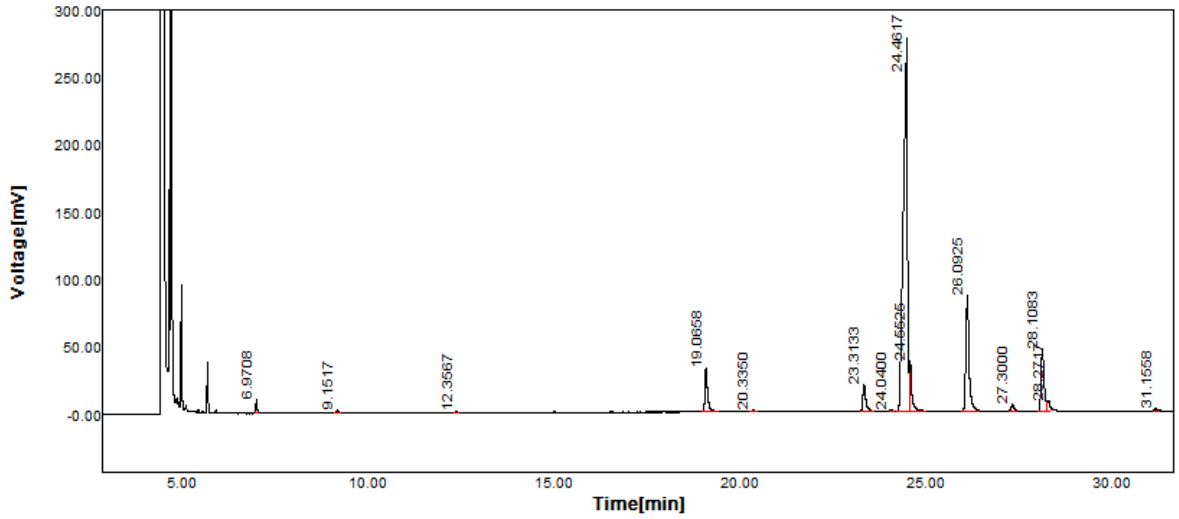
نلدا و همکاران (۲۰۰۷)، ترکیب اسیدهای چرب روغن کلزا را از طریق کروماتوگرافی گازی به دست آوردند و نتیجه گرفتند که روغن کلزا حدود ٦٠ درصد اسیدچرب اولئیک، مقدار کمی اسیدچرب اشباع و میزان متوسطی از اسیدچرب غیراشباع نظیر اسیدلینولئیک و اسیدلینولنیک را دارا است.

شش اسید چرب غیراشباع کلزا شامل پالمیتولئیک، اولئیک، لینولئیک، لینولنیک، گادولئیک و اروسیک می‌باشد که مهمترین اسید چرب اشباع نشده از لحاظ تغذیه‌ای، اسید لینولئیک است چون این اسید چرب در بدن سنتز نمی‌شود و باید از طریق جیره غذایی تأمین گردد. اسید اولئیک از جمله اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه می‌باشد که اثرهای آنتی‌اکسیدانی آن نیز اثبات شده است (بری و ریولاین ۱۹۹۷). اسید اروسیک برای انسان مضر است. روغن کلزا حاوی کمتر از ۲ درصد اسید اروسیک است و از نظر تغذیه‌ای مقادیر کم اسید اروسیک مطلوب است (رینارد و مک گریگور ۱۹۷٦).

وطن‌دوست و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند کاربرد باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش میزان اسید اولئیک و لینولنیک و کاهش اسیدهای چرب پالمتیک و اروسیک گردید. شهاتا و الخاواس (۲۰۰۳) در آفتابگردان و سیدشریفی (۲۰۱٦) در سویا گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد موجب کاهش اسیدهای چرب اشباع (پالمیتیک اسید و استئاریک اسید) و افزایش اسیدهای چرب غیراشباع (اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک) شد. نوشین و همکاران (۲۰۱۳) در کلزا گزارش کردند که باکتری *Azospirillum* میزان اسید اولئیک و اسید لینولنیک را افزایش داد ولی میزان اسید اروسیک را کاهش داد.



شکل ۱- کروماتوگرافی گازی حاصل از متیل استرهای اسیدهای چرب روغن دانه در تیمار شاهد بدون تلقیح گیاه کلزا



شکل ۲- کروماتوگرافی گاز حاصل از متیل استرهای اسیدهای چرب روغن دانه در تیمار باگاس – پرلیت گیاه کلزا

نتیجه‌گیری

استفاده از باکتری *انتروباکتر* در قالب فرمولاسیون-های حامل جامد باعث بهبود ویژگی‌های زراعی گیاه کلزا رقم هایولا ۳۰۸ اعم از تعداد دانه در بوته، قطر طوقه، ارتفاع بوته، شاخص کلروفیل برگ، حجم ریشه در بوته، وزن تر و خشک شاخساره، ریشه و دانه، وزن خورجین در بوته، وزن هزاردانه در بوته، مقدار روغن و درصد اسیدهای چرب روغن کلزا شد. چون توان باکتری در قالب زادمایه‌های جامد در توسعه اندام هوایی و بهبود شرایط تغذیه‌ای اندام هوایی بیشتر از ریشه اهمیت دارد، لذا تیمارهای باکتریایی در تمام پارامترهای اندازه‌گیری شده در مقایسه با تیمار شاهد نتیجه مناسب‌تری به‌دست دادند. با این تفاوت که برخی از زادمایه‌های جامد اثرگذاری بهتری داشتند. در پایان با توجه به یافته‌های این آزمایش از میان زادمایه‌های جامد *انتروباکتر کلوآسه*، زادمایه‌ی هیدروچار در افزایش زنده‌مانی باکتری در مدت ذخیره‌سازی و در نهایت اثرهای مفید باکتری بر رشد گیاه و افزایش بیشتر پارامترهای اندازه‌گیری شده بهترین نتیجه را به همراه داشت. تولید هیدروچار کمی مشکل می‌باشد اما شاید تهیه بایوچار امکان‌پذیرتر باشد با توجه به نتایج به دست آمده حامل‌های بایوچار–پرلیت و باگاس – پرلیت هم می‌توانند به عنوان حامل مناسب *انتروباکتر کلوآسه* مورد استفاده قرار گیرند.

منابع مورد استفاده

Abbaszadeh Dahaji P, Asadi Rahmani H, Khavazi K, Soltani Tolarod AA, Akhgar AR and Omidvari M. 2014. Plant growth promoting *Fluorescent Pseudomonads* effects on growth and development of canola. Soil Management and Sustainable Production. 4(1): 201- 217. (In Persian).

Ahmad A and Abdi MZ, 2000. Effect of sulphur application on lipid, RNA and fatty acid content in developing seeds of rapeseed (*Brassica Campestris* L.). Plant Sciences, 150: 71-76. (In Persian)

Akbari P, Ghalavand A and Modarres Sanavy SAM. 2010. Effects of different nutrition systems and biofertilizer (PGPR) on phenology period yield and yield components of sunflower (*Helianthus annuus* L.). 2 (3): 119-134. (In Persian).

Alipour ZT and Sobhanipour A, 2012. The effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescens* inoculation on maize growth and Fe uptake. Annals of Biological Research, 3: 1661-1666.

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

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

Azadmard Damirchi S. 2013. Food chemistry and decomposition. Publishers Amidi. 476. (In Persian)

Azimzadeh Y and Najafi NA, 2016. Effects of biochar on soil physical, chemical and biological properties. Land Management Journal, 4(2): 161-173. (In Persion)..

Azizi M, Soltani A and Khavari Khorasani S. 2002. Rapeseed (physiology, agriculture, breed and biotechnology). Academic Jihad Publications. (In Persian).

Banchio E, Bogino PC, Zygadlo J and Giordano W, 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Organum majorana* L. Biochemical Systematics and Ecology, 36: 766-771.

Barzegar Hafshejani Z, Mobli M, Khoshgoftarmanesh Ah and Abedi-Koupai J. 2015. The effects of adding pumice and bentonite to sawdust substrate on growth and productivity of greenhouse-grown bell pepper. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture. 6 (1):77-85. (In Persian).

Bashan Y, 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacterial for use in agriculture. Biotechnology Advances, 16(40):729-770.

Bashan Y, De-Bashan LE, Prabhu SR, and Hernandez JP, 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives. Plant and Soil, 378(1):1–33.

Bashyal LN, 2011. Response of cauliflower to nitrogen fixing biofertilizer and graded levels of nitrogen. Journal of Agriculture and Environmental Sciences, 12: 41-50.

Berry EM, and Rivlin RS, 1997. Dietary fatty acids in the management of diabetes mellitus. American Journal of Clinical Nutrition, 66 (4): 991-997.

Borham A, Belal E, Metwaly M and El-Gremy Sh, 2017. Phosphate Solubilization by *Enterobacter cloacae* and its Impact on Growth and Yield of Wheat Plants. Sustainable Agricultural Science, 43(2):89-103.

Dilmaghani M R and Hemmaty S. 2011. Effect of different substrates on nutrients content, yield and quality of strawberry cv. Selva in soilless culture. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 2 (3): 1-8. (In Persian).

Egamberdieva D, Reckling M and Wirth S, 2017. Biochar-based Bradyrhizobium inoculum improves growth of lupin (Lupinus angustifolius L.) under drought stress. European Journal of Soil Biology, 78: 38-42.

Ehteshami SMR, Kashani M and Yousefi Rad M. 2014. Effect of Seed inoculation with *Pseudomonas* and *Azotobacter* bacteria on quantitative and qualitative yield of two sesame cultivars. Seed Science and Research. 3(3): 47-57. (In Persian).

EsbatyM, akhavansepahy A, Asgharzadeh A and Khosrowshahli M. 2015. Isolation identification and evaluation of *Azospirillum* inoculation on tomato growth under green- house conditions. Journal of Soil Bioligy, 2(1): 43-54. (In Persian).

Etemadi F, Madah Hosseini S, Dashti H and Akhgar A. 2014. Investigtion of the effect of plant growth promoting rhizobacteria on some growth indices and yield parameters of safflower under different soil salinity levels. Journal of Crop Production and Processing, 4(11): 77- 87. (In Persian).

Fang J, Gao B, Chen J, and Zimmerman AR, 2015. Hydrochars derived from plant biomass under various conditions: Characterization and potential applications and impacts. Chemical Engineering Journal, 267: 253–259.

Ghadamkhani A, Enayatizamir N, Norouzi Masir M. 2017. Effect of plant growth promoting bacteria on soil available iron and its uptake by wheat. Agricultural Science and Sustainable Production. 28(2): 53-64. (In Persian).

Ghasemi Piranlo F, Sarikhani MR and Najafi NA. 2019. Study the Survival of *Enterobacter cloacae* bacteria in several solid carriers and effect of prepared inoculants on germination and growth of wheat. Agricultural Science And Sustainable Production. 29(3): 168- 180. (In Persian).

Habib AM and Zaghloul SM, 2012. Effect of chemical, organic and bio-fertilization on growth and flowering of *Chrysanthemum frutescens* plants. Journal of Horticlture Science and Ornamental Plants, 4(2): 186-194.

Hale L, Luth M, Kenney R and Crowley D, 2015. Biochar characteristics relate to its utility as an alternative soil inoculum carrier to peat and vermiculite. Soil Biology and Biochemistry, 81: 228-235.

Hasanzadeh Ghorttapeh A and Javadi H. 2016. Study on the effects of inoculation with biofirtilizers (*Azotobacter* and *Azospirillum*) and nitrogen application on oil, yield and yield components of spring canola in West Azerbaijan. Crop Production and Processing, 5 (18) :39-50. (In Persian).

Hojattipor E, Jafari B, Dorostkar M. 2013. The efeect of integration of biological and chemical fertilizers on yield, yield components and growth indexes of wheat. Plant Ecophsiology, 5(15): 63- 48. (In Persian).

Hokmalipour S and Sharifi RS. 2016. Effect of seed inoculation with plant growth promoting rhizobactria on dry matter remobilization of spring barley at different levels of nitrogen and phosphorus fertilizers. Soil Research (Soil and Water Science). 29(4): 407- 425, (In Persian).

Kadivar Sh, Ghavami M, Gharachorloo M, Delkhosh B. 2010. Chemical evaluation of oil extracted from different varieties of colza. Journal of Food Technology and Nutrition, 7(2):81-91. (In Persian).

Kalantari A, Aliasgharzad N, Najafi NA. 2017. Effects of two species of *Pseudomonas* and nitrogen levels on dry matter, chlorophyll index and N and Zn uptake by spinach plant. Applied Soil Research, 6(1): 62-72. (In Persian).

Kazemi Oskuei B, Bandehagh A, Sarikhani MR and Komatsu S, 2018. Protein profiles underlying the effect of plant growth-promoting rhizobacteria on Canola under osmotic stress. Journal of Plant Growth Regulation, 37:560-574.

Khavarzi K and Rejali F. 2000. Use of inexpensive and local materials as carriers for *bradyrhizobium japonicum*. Soil and Water Science, 14(1):36-45. (In Persian).

Khayavi M, Baghaei N and Nosrati S. 2017. Oilseed rape production guidelines. Ministry of Agriculture Jihad. Zanjan. (In Persian).

Khosravi H. 2015. Application of biofertilizers containing free-living nitrogen fixer micro organisms in agriculture. Land Management. 2(1): 51- 63. (In Persian).

Madhaiyan M, Peng N, Te NS, Hsin C, Lin C, Lin F, Reddy C, Yan H and Ji L, 2013. Improvement of plant growth and seed yield in *Jatropha curcas* by a novel nitrogen-fixing root associated Enterobacter species. Biotechnology for Biofuels, 6: 1-13.

Malassiotis A, Tanou G, Diamantidis G, Patakas A and Therios L, 2006. Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. Journal of Plant Physiology, 163: 176-185.

Masood M, Shamsi IH and Khan N, 2003. Impact of row spacing and fertilizer levels (*Diammonium phosphate*) on yield and yield components of canola. Asian Journal of Plant Sciences, 2 (6): 454-456.

Mohammad Varzi R, Habibi D, Wazan S and Pakzi AR. 2011. Effect of growth stimulant bacteria and nitrogen fertilizer on yield and yield components of sunflowers. 12 page. Fifth National Conference on New Ideas in Agriculture, Islamic Azad University of Khorasgan Branch (Isfahan). Faculty of Agriculture. 27- 28 February. (In Persian).

Moradi Sh and Sarikhani MR. 2017. Comparison of phosphate dissolution from rock phosphate and tricalcium phosphate sources by some phosphate solving bacteria, Second National Congress on 'Agricultural Science and Natural Resources Development'. Gorgan. 22 May. (In Persian).

Muhammad N, Dai Z, Xiao K, Meng J, Brookes PC, Liu X and Xu J, 2014. Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstocks and their relationships with soil chemical properties. Geoderma, 226: 270-278.

Naderifar M, Daneshyan N and Yusefi M. 2012. Effect of nitrogen and biological fertilizer on rapeseed yield. First National Conference on Modern Issues in Agriculture, Islamic Azad University Saveh. (In Persian).

Nelda R, Paz R, Masson L, Ortiz J, Gonzalez K, Tapia K and Dobaganes C, 2007. Effect of a-tocopherol, a-tocotrienol and rosa mosqueta shell extract on the performance of antioxidant-stripped canola oil (*Brassica* Sp.) at high temperature. Food Chemistry, 104, 383-389.

Nosheen A, Bano A and Ullah F, 2013. The role of plant growth promoting rhizobacteria on oil yield and biodiesel production of Canola (*Brassica napus* L.). Energy Sources, Part A, 35: 1574-1581.

Olia P, Melboby MA, Yeganegy P and Sharifi M. 2006. Preparation of suitable carrier for phosphate solubilizing bacteria, University of Tehran Jihad, Applied Microbiology Research Group. (In Persian).

Olia P, Salimi H, Melboby MA, Ahmadi AR, Fatemi Z and Alavi M. 2010. Preparation of appropriate carrier for anti-fire blight bacteria. University of Tehran Jahad . Department of Basic Sciences Research. (In Persian).

Pourebrahimi M, Ehteshami SMR, Khavazi K and Ramezani M. 2014. Evaluate the effect of seed inoculation with Pseudomonas Fluorescens strain 103 and application of phosphorus on nuttients uptake, chlorophyll content and biological yield if two frage barley cultivars, Applied Field Crops Research, 152:104- 159. (In Persian).

Renarid S and McGregor L, 1976. Antithormbogenic effects of erucic acid poor rapeseed oils in the rats. Review of Crops Cross, 23: 393-396.

Roosta H R, Bagheri V, Kian H. 2017. Effect of different planting substrates on vegetative and physiologic characteristics and nutrients content of rose (rosa hybrida var. grandgala) in hydroponic system. Science and Technology of Greenhouse Culture. 7 (4) :27-40. (In Persian).

Roughley R, 1976. The production of high quality inoculants and their contribution to legume yield. Symbiotic nitrogen fixation in plants, 7: 125-132.

Rousta M, SalehRastin N and MazaherAsadi, 1998. Effect of active *Azospirillum lipoferum* in some of soils in Iran. Iranian Journal of Crop Sciences, 29: 85-98.

Russo A, Vettori L, Felici C, Fiaschi G, Morini S and Toffanin A, 2008. Enhanced.

Sadeghi S, Heidari GhR, Sohrabi Y. 2015. Effect of biological fertilizer and fertilization management on some growth indices of two maize varieties. Agricultural Science and Sustainable Production .25(3): 43-60. (In Persian).

Sarikhani M.R, Oustan S, Ebrahimi M and Aliasgharzad N, 2018. Isolation and identification of potassium-releasing bacteria in soil and assessment of their ability to release potassium for plants. European Journal of Soil Science, 69: 1078-1086.

Sarikhani MR, Ali Asgharzad N and Khooshroo B. 2019. Fectiveness study of phosphate solubilizing bacteria in the formulation of phosphatic microbial fertilizers on Corn. Soil and Water Research. 1(49):71-81. (In Persian).

Seyed Sharifi R. 2016. Application of biofertilizers and zinc increases yield, nodulation and unsaturated fatty acids of soybean. Zemdirbyste-Agriculture, 103(3): 251-258.

Shehata MM and EL-Khawas S, A. 2003. Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield character, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower (Helianthus annus L. cv. Vedock) yield. Pakistan Journal of Biologic Sciences, 6: 14. 1257-1268.

Smith RS. 1992. Legume inoculant formulation and application. Canadian Journal of Microbiology, 38(6): 485-492.

Tittabutr P, Payakapong W, Teaumroong N, Singleton PW and Boonkerd N, 2007. Growth, survival and field performance of bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. Science Asia, 33(1): 69-77.

Vatan Doost H, Seyed Sharifi R, Farzaneh S and Hasanpanah D. 2017. Grain filling and some fatty acids composition of canola (*Brassica napus* L.) with application of biofertilizers and irrigation withholding. Agricultural Science and Sustainable Production, 27(4): 23-37. (In Persian).

Wagar A, Shahroona B, ZahiZ Ar and Arshad M, 2004.Inoculation with Acc deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 41: 119-124.

Yasari E, Azadgoleh MR, Mozafari S and Alashti M, 2009. Enhancement of growth and nutrient uptake of rapeseed (*Brassica napus* L.) by applying mineral nutrients and biofertilizers. Pakistan Journal of Biological Science, 12(2): 127-33.

Yasari E, Esmaeli A, Pirdashti AM and Mozafari S, 2008. *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculants as biofertilizers in canola (*Brassica napus* L.) cultivation. Asian Journal of Plant Sciences, 7(5): 490-494.

Zabihi HR, Savagebi GR, Khavazi K and Ganjali A. 2009. Effect of application of *Pseudomonas fluorescents* on yield and yield components of wheat under different soil salinity levels. Journal of Water and Soil, 23(1): 199- 208. (In Persian).

Zahir AZ, Arshad M and Frankenberger WF, 2002. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 81:97-168.

Zaidi SFA, 2003. Inoculation with Bradyrhizobium japonicum and fluorescent Pseudomonas to control Rhizoctonia solani in soybean [*Glycine max* (L) Merr].Annals-of-Agricultural-Research, 24: 151-153.