

بررسی اثرات کودهای زیستی باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و کود نیتروژنه بر پارامترهای کمی و کیفی گندم (*Triticum aestivum*)

علیرضا فلاح¹، سمیه مومنی²، شایان شریعتی³

(تاریخ دریافت: 1392/10/09 تاریخ پذیرش: 1393/02/24)

چکیده

با توجه به مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی نیتروژنه، آلودگی‌های ناشی از مصرف این کودها و هزینه تولید بالا، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات کودهای زیستی محرک رشد گیاه و کود نیتروژنه بر افزایش عملکرد کیفی و کمی گندم اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل شامل دو فاکتور: چهار سطح کود زیستی (T₀: بدون کود زیستی، T₁: کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس با جمعیت 10⁶ سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح، T₂: کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس با جمعیت 10⁸ سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح، T₃: کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با جمعیت 10⁸ سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) و پنج سطح کود نیتروژنه (N₀: صفر، N₁: 25، N₂: 50، N₃: 75 و N₄: 100 کیلوگرم بر هکتار نیتروژن خالص) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. نتایج نشان داد که در بین اثرات اصلی کودهای زیستی، بیشترین تأثیر را تیمار T₃ داشت و به ترتیب 13، 20/4، 8، 19/7 و 8 درصد مقادیر صفات وزن هزاردانه، ارتفاع گیاه، نیتروژن دانه، عملکرد دانه و پروتئین دانه را نسبت به گیاه شاهد افزایش داد. در بین اثرات اصلی کود شیمیایی بر صفات مورد بررسی به ترتیب دو تیمار 100 و 75 کیلوگرم در هکتار نیتروژن بهترین تیمارها بوده و تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند (P > 0.05). اثر متقابل تیمار T₃ با N₃ بالاترین مقادیر را داشت و توانست صفات وزن هزاردانه، ارتفاع گیاه، نیتروژن دانه، عملکرد دانه و پروتئین دانه را به ترتیب 50، 51، 57/3، 81/3 و 50/5 درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر، آزوسپیریوم، کودهای زیستی، گندم، کود شیمیایی

1- دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور (مکاتبه کننده)

پست الکترونیک: rezafayah@yahoo.com

2- گروه علوم خاک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

3- عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

مقدمه

با این که کودهای شیمیایی در 50 سال اخیر نقشی عمده در افزایش عملکرد محصولات کشاورزی داشته‌اند، ولی امروزه به تدریج اثرات منفی ناشی از مصرف بی‌رویه این کودها مانند وارد شدن نیترات به آب‌های زیرزمینی و یا انباشت فسفر در خاک‌ها منجر به اهتمام بیشتری در استفاده از ریزسازواره‌ها به صورت کودهای زیستی شده‌است (Bohlool *et al.*, 1992). در سال‌های اخیر استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه نظیر ازتوباکتر، باسیلوس، آزوسپیریوم و سودوموناس به منظور بهبود تغذیه، رشد گیاه و نیز کنترل عوامل بیماری‌زا در محیط ریشه، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌است. مکانیسم‌های عملکردی باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)¹ شامل توان تولید فیتوهورمون‌ها، تثبیت نیتروژن، روابط آنتاگونیستی با فیتوپاتوژن‌ها و حل کردن فسفات‌های غیرمحلول (Lugtenberg & Kamilova, 2009)، توان کلونیزه‌شدن، برقراری ارتباط با گیاهان، افزایش زیست‌توده محصول و رشد ریشه می‌باشد (Maddonni *et al.*, 2004). با توجه به این که نیتروژن یکی از عناصر اصلی مورد نیاز گیاه بوده و نیاز گیاه به این عنصر بیش از سایر عناصر می‌باشد، ریزسازواره‌های تثبیت کننده نیتروژن مولکولی هوا از رایج‌ترین کودهای زیستی محسوب می‌شوند. از جمله باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن، ازتوباکتر و آزوسپیریوم هستند که امروزه به تثبیت زیستی نیتروژن از طریق این باکتری‌ها در مدیریت کشاورزی پایدار توجه ویژه‌ای معطوف شده است (Tilak *et al.*, 2005). ازتوباکتر و آزوسپیریوم هم‌چنین در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین‌های ب (B)، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و غیره را دارند که در افزایش رشد ریشه نقش مفید و موثری ایفا می‌کنند (Kader *et al.*, 2002). ازتوباکتر بر حمل و نقل نیتروژن در خاک ریزوسفری اثر گذاشته (Das & Saha, 2000) و منجر به افزایش عملکرد محصول می‌گردد (Mishra & Sen, 1996). بررسی رجائی و همکارانش (Rajaei *et al.*, 2007) بر روی اثر باکتری ازتوباکتر کروکوکوم با قابلیت تولید اندول استیک اسید (IAA)²، سیانید هیدروژن

(HCN)³، سیدروفور و تثبیت نیتروژن بر روی گیاه گندم نشان داد تلقیح با این باکتری، تأثیر مثبت و قابل توجهی بر درصد پروتئین دانه، وزن هزار دانه و جذب نیتروژن داشت. افزایش رشد گندم بیشتر به تولید ایندول استیک اسید و بعضی ترشحات توسط گونه تلقیح شده مربوط می‌شود (Rajaei *et al.*, 2007). آزوسپیریوم نیز با تولید مواد محرک رشد، سبب بهبود رشد ریشه و متعاقب آن افزایش سرعت جذب آب و عناصر غذایی گردیده و از این طریق در افزایش عملکرد تأثیرگذار می‌باشد (Tilak *et al.*, 2005). تحقیقات براسینی و همکاران (Braccini *et al.*, 2012) نشان داد تلقیح گیاه ذرت با مایه تلقیح حاوی باکتری آزوسپیریوم برازیلنس باعث افزایش وزن خشک گیاه و عملکرد دانه در مقایسه با شاهد شد. بررسی پیسینین و همکاران (Piccinin *et al.*, 2013) نشان داد تلقیح باکتری تثبیت کننده نیتروژن آزوسپیریوم برازیلنس به بذر گیاه گندم به همراه نصف مقدار مصرفی کود نیتروژنه تأثیرات مثبتی را روی عملکرد زراعی و عملکرد گیاه گندم داشت. افزایش عملکرد در گیاهان تلقیح شده با آزوسپیریوم عمدتاً مربوط به تولید مواد محرک رشد و افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه تلقیح شده با این باکتری می‌باشد (Pereira *et al.*, 1988). بحرانی و همکاران (Bohrani *et al.*, 2007) بیان کردند استفاده توأم از باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریوم در کشت گندم باعث افزایش معنی‌دار وزن هزاردانه و درصد پروتئین دانه می‌شود. سودوموناس‌ها و باسیلوس‌ها گونه‌هایی از باکتری‌های محرک رشد گیاه هستند که از طریق تولید مواد محرک رشد و به ویژه انحلال فسفات‌های نامحلول موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Rodriguez & Fraga, 1999; Trivedi & Sa, 2008). بررسی رانی پور و همکاران (Rasipour *et al.*, 2009) نشان داد باکتری‌های حل کننده فسفات وزن خشک و نیتروژن بخش هوایی گیاه سویا را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. میا و همکاران (Mia *et al.*, 2010) نیز افزایش عملکرد، جذب عناصر غذایی و فعالیت فتوسنتزی را در اثر تلقیح با باکتری سودوموناس گزارش کردند. نتایج کار توران و همکارانش (Turan *et al.*, 2010) حاکی از آن است که تلقیح با گونه‌های باکتری‌های محرک رشد گیاه به تنهایی یا به صورت ترکیبی، میزان عناصر معدنی در گیاه به‌خصوص در دانه را

1- Plant growth promoting rhizobacteria

2- Indole-3-acetic acid

3- Hydrogen cyanide

برداشته، به محیط نوترینت برات اضافه گردید و با استفاده از انکوباتور شیکردار در دمای 28 درجه سانتیگراد و چرخش 100 دور در دقیقه تکثیر شد. با توجه به منحنی رشد باکتری‌ها، پس از رشد کافی و رسیدن به مرحله رشد ثابت OD بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج 600 نانومتر قرائت گردید و با استفاده از جدول استانداردهای مک فارلند، جمعیت سوسپانسیون 10^6 و 10^8 باکتری به ازای هر میلی لیتر تنظیم شد (Besharati *et al.*, 2004). سپس مایه تلقیح‌های ترکیبی از سوسپانسیون باکتری‌ها به نسبت مساوی تهیه گردید. برای انجام آزمون گلخانه‌ای نمونه برداری از عمق 0-30 سانتیمتری خاک منطقه قاسم‌آباد شهرستان ساوجبلاغ واقع در غرب استان البرز انجام گرفت. بعد از هوا خشک شدن فاکتورهای بافت خاک، پتاسیم قابل استفاده (استات آمونیوم) (Kunze & Dixon, 1986)، pH، قابلیت هدایت الکتریکی (Sparks, 1996)، نیتروژن کل خاک به روش کجلدال، کربنات کلسیم (روش کلسیمتری)، ماده آلی به روش والکی بلاک و فسفر قابل جذب به روش اولسن اندازه‌گیری گردید (Carter & Gregorich, 2008). در این پژوهش از گیاه گندم رقم کرج 1 که گندم پائیزه، دارای کیفیت نانوبی متوسط و نیمه زودرس بود، استفاده گردید. قبل از کاربرد کودهای مذکور بذرها به مدت تقریباً 24 ساعت خیس‌انده شد تا جوانه زده و آماده تلقیح با کود زیستی گردند. برای اعمال تیمارهای آزمایشی در زمان کاشت، هر کدام از کودهای زیستی مایع به میزان 2 لیتر در هکتار (زمان تلقیح، معادل کود زیستی آب به مایه تلقیح اضافه، آنگاه عمل تلقیح انجام گرفت) به صورت بذر مال تلقیح شد؛ سپس اقدام به خشک کردن کلیه بذور تیمار شده در سایه و به دور از نور خورشید گردید (Bashan, 1998). کشت به تعداد 30 بذر گندم در هر گلدان چهار و نیم کیلویی انجام گرفت. یک سوم کود اوره در شروع کاشت به گلدان‌ها اضافه گردید. دو سوم باقیمانده کود اوره هفته سوم بعد از کشت و همراه با آب آبیاری به صورت محلول اضافه شد. با توجه به این‌که پتاسیم موجود در خاک در حد مطلوب بود، از کود پتاسیمی استفاده نشد. برای تامین فسفر کافی برای رشد گندم (14 میلی گرم کیلوگرم خاک) نیز از کود سوپر فسفات تریپل استفاده گردید. آبیاری به صورت روزانه با آب مقطر و در حدود 70% ظرفیت زراعی (FC) به صورت

افزایش می‌دهد. بررسی بیاری و همکاران (Biari *et al.*, 2008) نشان داد که تلقیح ذرت با باکتری‌های محرک رشد گیاه (آزوسپیریوم لیوفروم و آزتوباکتر کروکوکوم) باعث تاثیر معنی‌داری در افزایش ارتفاع، وزن خشک ساقه، تعداد دانه و جذب نیتروژن می‌شود. بررسی جاراک و همکاران (Jarak *et al.*, 2012) نشان داد تلقیح ترکیبی گیاه ذرت با باکتری‌های سودوموناس پوتیدا، باسیلوس و آزتوباکتر کروکوکوم باعث افزایش معنی‌دار عملکرد گیاه گردید. با توجه به رشد جمعیت و افزایش نیاز به گندم به عنوان محصول پر مصرف جهانی و افزایش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، هدف از این پژوهش مقایسه اثر کود زیستی ترکیبی باکتری‌های آزادزی تثبیت کننده نیتروژن و محرک رشد گیاه (آزوسپیریوم برازیلنس و آزتوباکتر کروکوکوم) به تنهایی، به همراه باکتری‌های محرک رشد گیاه (سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس) و در ترکیب با پنج سطح کود نیتروژنه بر ویژگی‌های رشد و عملکردی گیاه گندم بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در شرایط گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل ترکیبی از دو فاکتور شامل فاکتور اول: کود زیستی در چهار سطح (T_0 : بدون کود زیستی، T_1 : کود زیستی حاوی آزتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس با جمعیت 10^6 سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح، T_2 : کود زیستی حاوی آزتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس با جمعیت 10^8 سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح، T_3 : کود زیستی حاوی آزتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس و باکتریهای محرک رشد شامل سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با جمعیت 10^8 سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) و فاکتور دوم کود شیمیایی نیتروژنه در پنج سطح (N_0 : صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار (عدم مصرف نیتروژن)، N_1 : 25 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N_2 : 50 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N_3 : 75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N_4 : 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) بود. گونه‌های باکتریایی مورد استفاده در این پژوهش از بانک ژن موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردید. برای تهیه مایه تلقیح باکتری‌ها یک کلونی از کشت تازه باکتری

($P < 0.01$). در مورد صفت ارتفاع، کمترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار عدم مصرف کود زیستی (T0) و بیشترین ارتفاع در مورد تیمار کود زیستی (T3) مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با سایر کودهای زیستی نشان داد ($P < 0.01$). در مورد عملکرد دانه، وزن هزار دانه، درصد نیتروژن، درصد پروتئین در هر سه کود زیستی T3 (کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریوم برازیلیس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس ساب‌تیلیس با جمعیت 108 سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح)، T2 (کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلیس با جمعیت 108 سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح)، T1 (کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلیس با جمعیت 108 سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) اختلاف معنی‌داری با تیمار عدم مصرف کود زیستی مشاهده شد ($P < 0.01$). در حالی که این تیمارها به ترتیب ذکر شده از نظر میزان عملکرد اختلاف معنی‌داری به لحاظ این صفت با همدیگر نداشتند (جدول 3) ($P > 0.01$). در مورد اثر اصلی کود شیمیایی نیتروژنه، مقایسه میانگین‌های سطوح کود نیتروژنه (جدول 4) نشان می‌دهد که مقدار صفات ارتفاع گیاه، عملکرد دانه و وزن هزاردانه به ترتیب با افزایش میزان کود نیتروژنه افزایش می‌یابد، به طوری که بالاترین مقدار با کاربرد 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار و کمترین مقدار در تیمار عدم مصرف کود نیتروژنه (صفر کیلوگرم نیتروژن) مشاهده شد. تیمارهای کاربرد 25، 50، 75، 100، 150 کیلوگرم (N_1, N_2, N_3) کیلوگرم کود نیتروژنه از نظر این صفات به ترتیب بعد از تیمار N_4 (100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) قرار می‌گیرند. در مورد صفات درصد نیتروژن دانه و پروتئین دانه تیمار N_3 (75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) بیشترین مقدار را داشت و بعد از آن به ترتیب تیمارهای 100، 50، 25 و صفر (N_0, N_1, N_2, N_4) کیلوگرم نیتروژن در هکتار قرار داشتند. تیمارهای N_4 (100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) و N_3 (75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) از نظر آماری در یک گروه قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها دارند ($P > 0.01$).

وزنی انجام پذیرفت. پس از دو هفته گل‌دان‌ها تنک شده و در هر گل‌دان تعداد 10 بوته تا پایان دوره کشت حفظ گردید. برداشت بخش هوایی گیاه در زمان خوشه‌دهی و رسیدگی کامل انجام پذیرفت و ارتفاع گیاه با سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. فاکتورهای وزن هزاردانه و عملکرد دانه بعد از خشک شدن اندام کامل گیاه به مدت 72 ساعت در دمای حدود 70 درجه در آون اندازه‌گیری گردید. اندازه‌گیری نیتروژن با روش هضم و تقطیر (سیستم کجلدال) انجام شد. درصد پروتئین از حاصل ضرب درصد نیتروژن در عدد ثابت 5/6 حاصل گردید. برای محاسبه وزن هزاردانه، چهار نمونه 100 تایی از هر گل‌دان انتخاب و میانگین وزن نمونه‌ها در عدد 10 ضرب شد (Rashidi *et al.*, 2011). آزمون آماری با هدف مقایسه چهار سطح کود زیستی و توآمان مقایسه اثر مصرف پنج سطح کود نیتروژنه (اوره) بر خصوصیات رشد و عملکرد گیاه گندم صورت گرفت. نتایج حاصل با کمک نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 0/01 انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه خاک گویای آن است (جدول 1) که میزان دو عنصر پرمصرف نیتروژن و فسفر پائین‌تر از حد کفایت برای رشد گیاه گندم است. pH خاک نیز نزدیک به قلیایی بود. هدایت الکتریکی خاک کمتر از 4 و غیر شور و درصد ماده آلی خاک پائین بود. بافت خاک سنگین می‌باشد که برای کشت گندم مناسب می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی کود زیستی و کود شیمیایی و هم‌چنین اثر متقابل تیمارهای کود زیستی و سطوح کود شیمیایی بر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار می‌باشد (جدول 2) ($P < 0.01$).

مقایسه میانگین اثر اصلی کود زیستی بر روی صفات مورد بررسی نشان داد (جدول 3) که در همه صفات کود زیستی سوم (T3: کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریوم برازیلیس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس ساب‌تیلیس با جمعیت 108 سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) بیشترین تاثیر را داشته و تفاوت معنی‌داری با تیمار عدم مصرف کود زیستی نشان داد

جدول ۱- نتایج فیزیکی و شیمیایی تجزیه خاک
Table 1- Physical and chemical results of soil analysis

آهک (%) Carbonate calcium	ماده آلی (%) Organic carbon	یاقت خاک Soil texture	یتاسیم قابل دسترس (mgkg ⁻¹) available K	فسفر قابل دسترس (mgkg ⁻¹) available P	نیتروژن (%) N	هدایت الکتریکی (dSm ⁻¹) EC	اسیدیته pH	ویژگی Parameter
9	0.78	لوم رسی	270	8	0.08	3.1	7.64	مقادیر (Values)

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات اندازه گیری شده
Table 2- Variance analysis of treatments effect on the measured indices

وزن هزاردانه 1000-grain weight	پروتئین دانه (%) Grain protein	نیتروژن دانه (%) Grain nitrogen	عملکرد دانه (g) Grain yield	ارتفاع گیاه (cm) Plant height	درجه آزادی Degrees of Freedom	منابع تغییرات Source of variance
94.448**	2.627**	0.070**	41.011**	313.724**	3	فاکتور A Factor A
346.178**	29.075**	0.949**	209.723**	397.571**	4	فاکتور B Factor B
13.814**	0.087**	0.03**	2.861**	6.201**	12	AB
0.808	0.023	0.000	0.044	0.478	40	خطا Error
1.1	1.15	1.35	0.92	0.81		ضریب تغییرات %CV

فاکتور A = اثر اصلی کود زیستی فاکتور B = اثر اصلی کود شیمیایی AB = اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی
Factor A= main effect of bio-fertilizer, Factor B= main effect of chemical fertilizer, Factor AB=Interactions of the bio fertilizer and chemical fertilizer

جدول 3- مقایسه میانگین اثر اصلی باکتری بر صفات بررسی شده

Table 3- Comparison of mean for bacterial main effect on the studied indices

پروتئین دانه (%) Grain protein	وزن هزاردانه 1000-grain weight	نیتروژن دانه (%) Grain nitrogen	عملکرد دانه (g) Grain yield	ارتفاع گیاه (cm) Plant height	تیمار Treatment
10.41 ^b	41.8 ^b	1.859 ^b	19.29 ^b	56.46 ^c	T ₀
10.95 ^a	46.49 ^a	1.955 ^a	21.96 ^a	59.84 ^b	T ₁
11.03 ^a	46.08 ^a	1.971 ^a	22.16 ^a	59.31 ^b	T ₂
11.24 ^a	47.26 ^a	2.007 ^a	23.09 ^a	65.61 ^a	T ₃

T₀ = بدون کود زیستی T₁ = کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس با جمعیت 10⁶ سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح، T₂ = کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس با جمعیت 10⁸ سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح، T₃ = کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابیتلیس با جمعیت 10⁸ سلول از هر باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح.

T₀: as control treatment without biofertilizer T₁: biofertilizer containing *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* with population density of 10⁶ cfu ml⁻¹ of inoculum, T₂: bio-fertilizer containing *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* with population density of 10⁸ cfu ml⁻¹ of inoculum, T₃: the bio-fertilizer containing *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis* with population density of 10⁸ cfu ml⁻¹ of inoculum.

لحاظ صرفه‌جویی در کاربرد کود نیتروژنه، بهترین گزینه 75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار به همراه کودهای زیستی می‌باشد. گواداریسیا و همکاران (Govedarica *et al.*, 2002) بیان کردند وارد کردن باکتری‌های مولد مواد محرک رشد به خاک، باعث افزایش ارتفاع و عملکرد گندم می‌گردد ($P < 0.01$). میکائوویچ و همکاران (Micatovic *et al.*, 2002) بیان کردند، طول ساقه نشاء گندم در شرایط تلقیح با باکتری‌های آزادزی تثبیت‌کننده نیتروژن بزرگتر از شرایط تلقیح نشده‌است و تلقیح اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه داشت ($P < 0.01$). بررسی بیاری و همکاران (Biari *et al.*, 2008) هم نشان داد که تلقیح ذرت با باکتری‌های محرک رشد گیاه (آزوسپیریوم لیپوفروم و آزتوباکتر کروکوکوم) تاثیر معنی‌داری در افزایش ارتفاع دارد ($P < 0.01$). مهاجر میلانی و کلهر (Mohajer-Molani & Kalhor, 2007) بیان کردند تلقیح همزمان بذور گندم و جو با کود حاوی ازتوباکتر و آزوسپیریوم با افزایش عملکرد دانه همراه بود. این افزایش عملکرد وابسته به تلقیح با میکروارگانسیم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن است، که باعث پیشرفت سیستم ریشه، تولید هورمون‌های رشد گیاه، جذب نیترات، بهبود وضعیت آب گیاه و افزایش در فعالیت احیای نیترات می‌گردد (Wani *et al.*, 1988). بررسی رجائی و همکاران (Rajaei *et al.*, 2007) نشان داد تلقیح بذر گندم بهاره با چند گونه ازتوباکتر کروکوکوم تأثیر مثبت و قابل توجهی بر وزن هزاردانه گندم داشت. جواد-اختر و همکاران (Javad-Akhtar *et al.*, 2009) نیز بیان کردند تلقیح دانه گندم با باکتری‌های محرک رشد گیاه و مصرف همزمان 120 کیلوگرم کود شیمیایی نیتروژنه وزن هزاردانه و درصد نیتروژن را نسبت به کاربرد تنها 120 کیلوگرم کود نیتروژنه به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0.05$). کادر و همکاران (Kader *et al.*, 2002) بیان کردند تلقیح با باکتری ازتوباکتر به تنهایی یا در ترکیب با اوره و یا کود گاوی اثر معنی‌داری در افزایش جذب نیتروژن در دانه، ریشه و کاه دارد. بحرانی و همکاران (Bohrani *et al.*, 2007) بیان کردند استفاده توأم از باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریوم در کشت گندم باعث افزایش معنی‌دار وزن هزاردانه و درصد پروتئین دانه می‌شود. بررسی جاراک و همکاران (Jarak *et al.*, 2011) نشان داد تلقیح ترکیبی گیاه ذرت با باکتری‌های سودوموناس پوتیدا، باسیلوس و ازتوباکتر کروکوکوم باعث

دو تیمار N_2 (50 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) و N_1 (25 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) نیز اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و با N_0 (صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار) داشته و در سه گروه آماری مختلف قرار گرفتند (جدول 4) ($P < 0.01$).

مقایسه میانگین‌ها در مورد اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی نیتروژن (جدول 5) نیز نشان می‌دهد که بیشترین مقدار در مورد صفات مورد بررسی از اثر متقابل کود زیستی حاوی 10^8 سلول از باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح با 75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (T_3N_3) حاصل گردید، که با اثر متقابل همین کود زیستی و 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (T_3N_4) تفاوت معنی‌داری نداشته ($P > 0.01$). در صورتی که با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهند ($P < 0.01$). کمترین مقدار در اثر متقابل عدم مصرف کود زیستی و عدم مصرف کود نیتروژن (T_0N_0) به‌دست آمده که با تیمارهای دیگر به غیر از تیمارهای عدم مصرف کود زیستی همراه با 25 کیلوگرم کود نیتروژن (T_0N_1) و کود زیستی حاوی 10^6 سلول از باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریوم در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح همراه با صفر کیلوگرم کود نیتروژن (T_1N_0) در صفات عملکرد دانه و وزن هزار دانه تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.01$). هم‌چنین این اثرات متقابل نشان داد در مورد تمام صفات مورد بررسی اگرچه تیمار کود زیستی حاوی 10^8 سلول از باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح با 75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (T_3N_3) بیشترین مقدار را داشته، ولی در مورد صفت عملکرد دانه با تیمارهای (T_2N_4)، (T_2N_3)، (T_1N_4)، (T_1N_3)، (T_1N_4)، (T_1N_3)، (T_2N_4) و درصد نیتروژن با تیمارهای (T_1N_4)، (T_2N_3)، (T_2N_2)، (T_1N_4)، (T_1N_3)، (T_2N_3)، (T_2N_2)، (T_1N_4)، (T_1N_3)، (T_2N_3) تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول 5) ($P > 0.01$). با توجه به نتایج می‌توان این‌گونه بیان کرد با افزایش میزان کود نیتروژنه در هر کدام از سه کود زیستی مقدار صفات اندازه‌گیری شده افزایش می‌یابد، ولی با افزایش مقدار کود نیتروژنه از 75 کیلوگرم به 100 کیلوگرم در هکتار مقدار صفات مورد بررسی بر خلاف روند موجود در اثر اصلی کود کاهش می‌یابد. بنابراین با توجه به نتایج به

(Turan *et al.*, 2010) بیان کردند تلقیح همزمان آزوسپیریلوم و دوگونه باسیلوس با مصرف کود اوره، محتوی نیتروژن در دانه، کاه، برگ و عملکرد دانه را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد.

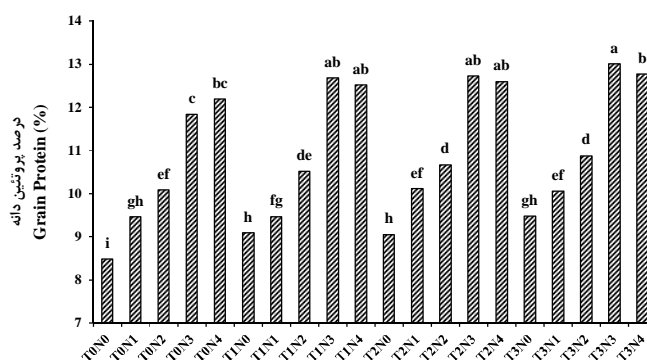
افزایش معنی‌دار عملکرد گیاه گردید. مطالعات زهیر و همکاران (Zahir *et al.*, 2007) نشان داد تلقیح بزرگندم با باکتری‌های محرک رشد (PGPR) و کاربرد همزمان کود نیتروژنه و کمپوست افزایش معنی‌داری بر محتوی نیتروژن دانه و کاه نشان می‌دهد. توران و همکاران

جدول 4- مقایسه میانگین اثر اصلی کود شیمیایی نیتروژنه بر صفات بررسی شده
Table 4- The main effect of nitrogen chemical fertilizer on the studied indices mean

پروتئین دانه (%) Grain protein	وزن هزاردانه 1000-grain weight	نیتروژن دانه (%) Grain nitrogen	عملکرد دانه (g) Grain yield	ارتفاع گیاه (cm) Plant height	تیمار Treatment
9.027 ^d	38.17 ^d	1.612 ^d	16.50 ^d	52.31 ^d	N ₀
9.896 ^c	41.75 ^c	1.767 ^c	18.47 ^c	55.99 ^c	N ₁
10.54 ^b	46.01 ^b	1.882 ^b	21.65 ^b	59.99 ^b	N ₂
12.54 ^a	50.21 ^a	2.243 ^a	25.46 ^a	64.92 ^a	N ₃
12.52 ^a	50.90 ^a	2.235 ^a	26.05 ^a	65.82 ^a	N ₄

N₀ صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N₁=25 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N₂=50 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N₃=75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N₄=100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار.

N₀: Control- 0 kg N ha⁻¹, N₁:25 kg N ha⁻¹, N₂:50 kg N ha⁻¹, N₃:75 kg N ha⁻¹, N₄:100 kg N ha⁻¹



شکل 1- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی بر درصد پروتئین دانه
Fig. 1- Mean comparison of biofertilizer and chemical fertilizer interaction effect on the grain protein percentage

جدول 5- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی نیتروژنه بر صفات مورد بررسی
Table 5- Mean comparison of interaction effect of biofertilizer and nitrogen chemical fertilizer on the studied indices

تیمار	ارتفاع گیاه (cm)	عملکرد دانه (g)	وزن هزاردانه	نیتروژن دانه (%)
Treatment	Plant height	Grain yield	1000-grain weight	Grain nitrogen
T ⁰ N ⁰	46.82 ⁱ	14.92 ⁱ	35.77 ^j	1.513 ^h
T ₀ N ₁	50.66 ^h	16.04 ^{hi}	37.62 ^{ij}	1.690 ^{f,g}
T ₀ N ₂	54.02 ^{g,h}	18.49 ^{e,f,g}	41.10 ^{g,h}	1.800 ^e
T ₀ N ₃	57.67 ^{e,f}	21.78 ^d	44.99 ^e	2.113 ^c
T ₀ N ₄	63.10 ^{b,c,d}	25.22 ^{b,c}	49.50 ^{b,c}	2.177 ^{b,c}
T ₁ N ₀	51.86 ^h	16.67 ^{g,h,i}	38.82 ⁱ	1.623 ^g
T ₁ N ₁	56.11 ^{f,g}	18.92 ^{e,f}	43.02 ^{e,f,g}	1.777 ^{e,f}
T ₁ N ₂	60.06 ^{d,e}	22.21 ^d	47.17 ^d	1.877 ^{d,e}
T ₁ N ₃	66.05 ^b	26.19 ^{a,b}	52.22 ^a	2.263 ^{a,b}
T ₁ N ₄	65.14 ^b	25.82 ^{a,b}	51.24 ^{a,b}	2.233 ^{a,b}
T ₂ N ₀	52.02 ^h	16.95 ^{g,h}	38.57 ⁱ	1.617 ^g
T ₂ N ₁	56.11 ^{f,g}	19.11 ^{e,f}	42.72 ^{f,g}	1.807 ^{d,e}
T ₂ N ₂	59.31 ^{e,f}	22.43 ^d	47.11 ^d	1.907 ^d
T ₂ N ₃	64.81 ^b	26.32 ^{a,b}	51.00 ^{a,b}	2.273 ^a
T ₂ N ₄	64.32 ^{b,c}	26.09 ^{a,b}	51.00 ^{a,b}	2.250 ^{a,b}
T ₃ N ₀	58.52 ^{e,f}	17.45 ^{f,g,h}	39.50 ^{h,i}	1.693 ^{f,g}
T ₃ N ₁	61.08 ^{c,d,e}	19.80 ^e	43.65 ^{e,f}	1.797 ^e
T ₃ N ₂	66.58 ^b	23.47 ^{c,d}	48.65 ^{cd}	1.943 ^d
T ₃ N ₃	71.16 ^a	27.67 ^a	52.62 ^a	2.323 ^a
T ₃ N ₄	70.71 ^a	27.06 ^{a,b}	51.86 ^a	2.280 ^a

ازتوباکتر و آزوسپیریوم از باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن هستند، احتمالاً یکی از دلایل افزایش درصد پروتئین با کاربرد این باکتری‌ها تثبیت نیتروژن توسط آن‌ها است (Bohrani *et al.*, 2007). تلقیح بذر گندم با باکتری‌های آزوسپیریوم و ازتوباکتر درصد پروتئین بالاتری را نسبت به عدم مصرف آن تولید می‌کند (Bohrani *et al.*, 2007). رجائی و همکاران (Rajaei *et al.*, 2007) بیان کردند تلقیح با گونه‌های ازتوباکتر کروکوکوم، تأثیر مثبت و قابل توجهی بر عملکرد بیولوژیکی، درصد پروتئین دانه، وزن هزاردانه، پهنای برگ، جذب نیتروژن، فسفر و روی داشت. عمو آقایی و همکاران (Amoaghaei *et al.*, 2003) گزارش کردند که وزن هزاردانه و درصد پروتئین دانه گندم تحت تأثیر باکتری آزوسپیریوم افزایش یافت.

مقایسه میانگین‌ها در اثر متقابل کود زیستی و کود نیتروژنه نشان می‌دهد که بالاترین درصد پروتئین در اثر متقابل کود زیستی سوم (T3) و سطح 3 (75 کیلوگرم در هکتار) کود نیتروژنه (T3N3) به دست آمده، که با اثرات دوگانه T1N4، T2N4، T1N3، T2N3، T3N4 در یک گروه قرار گرفته و تفاوت معنی‌داری ندارند ($P>0.01$). کمترین درصد پروتئین در عدم کاربرد کود زیستی و کود نیتروژنه (T0N0) مشاهده می‌گردد، که با تمام اثرات متقابل تفاوت معنی‌داری دارد (نمودار 1) ($P<0.01$). با در نظر گرفتن این نکته که درصد پروتئین دانه برابر با حاصلضرب درصد نیتروژن دانه در ضریب ثابت 5/6 می‌باشد، می‌توان معنی‌دار بودن تیمارها در مورد این صفت را به نوعی با درصد نیتروژن مرتبط دانست. نیتروژن به عنوان عنصر اصلی ماده اولیه تشکیل دهنده پروتئین، از عوامل تأثیر گذار روی پرشدن دانه و محتوی پروتئین دانه محسوب می‌شود (Zecevic *et al.*, 2005). با توجه به این که

نتیجه‌گیری کلی

پروتئین بالاتری نسبت به عدم مصرف کود زیستی در سطوح یکسان و حتی در سطوح پائین‌تر کود نیتروژنه نشان می‌دهد. این مطلب گویای آن است که استفاده هم‌زمان از کود زیستی و کود نیتروژنه باعث کاهش میزان کود نیتروژنه مصرفی می‌گردد. توصیه می‌گردد در کنار عرضه کودهای شیمیایی، کودهای زیستی نیز با توضیح روش درست استفاده از این کودها، به مصرف‌کننده عرضه گردند.

با توجه به نتایج می‌توان دریافت که استفاده از کود زیستی باعث پائین آمدن میزان مصرف کود شیمیایی شده، به طوری که کاربرد هر سه کود زیستی به خصوص مایه تلقیح سوم (حاوی 10^8 سلول از باکتری‌های ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابیتیلیس در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح)، ارتفاع گیاه، عملکرد دانه، وزن هزاردانه، درصد نیتروژن و درصد

References

- Amoaghaei R, Mostaejeran A and Emtiazi G. 2003. The effect of *Azospirillum* bacteria on some growth and yield parameters of three varieties of wheat, *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 7(2): 127-139. (In Persian).
- Besharati H, Saleh rastin N, Malakouti M and Alizade A. 2004. The investigation on viability potential of *Thiobacillus* on several kinds of carriers. *Iranian Journal of Soil Research*, 18(2):170-181. (In Persian).
- Bohrani A, Hosseini M, Meemar S and Tahmasbie Sarvestani, Z. 2007. The study of the effect of *Azospirillum* and *Azotobacter* along with micro elements use as foliar spraying and its use in the soil on qualitative and quantitative characters of five wheat varieties after maize cultivation in fars province. *Journal of Agricultural Sciences of Iran*, (6): 1-38. (In Persian).
- Bashan Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, 16(4): 729-770.
- Biari A, Gholami A and Rahmani HA. 2008. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of iran. *Journal of Biological Sciences*, 8(6):1015-1020.
- Bohlool BB, Ladha JK, Garrity DP and George T. 1992. Biological nitrogen fixation for sustainable: A perspective. *Plant and Soil*, 141:1-11.
- Braccini AL, Dan LG, Piccinin GG, Albrecht LP, Barbosa MC and Ortiz AH. 2012. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. *Revista Caatinga*, 25(2): 58-64.
- Carter MR and Gregorich EG. 2008. Soil sampling and methods of analysis. 2nd edition, Canadian Society of Soil Science, 1224p.
- Das AC and Saha D. 2000. Inoculation of diazotrophs on nitrogenase activity of roots and N-Transformations in the rhizosphere soils of rice. In Extended summaries. Proc. International Conference on Managing Natural Resources for Sustainable Agricultural Production in the 21st Century. New Delhi.
- Govedarica M, Milosevic N, Jarak M, Duric S, Hajnal T, Jelicic Z and Kuzevski J. 2002. Application of biofertilizers in agriculture production. Proceeding of 6th International Symposium Interdisciplinary Regional Research. Hungary-Romanian-Yugoslavia, 407 (Abst.)
- Jarak M, Mrkovacki N, Bjelic D, Josic D, Hajnal-Jafari T and Stamenov D. 2012. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on maize in greenhouse and field trial. *African Journal of Microbiology Research*, 6(27): 5683-5690.
- Javed Akhtar M, Asghar HN, Shahzad K and Arshad M. 2009. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria applied in combination with compost and mineral fertilizers to improve growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 41(1):381-390.
- Kader MA, Mian MH and Hoque MS. 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Science*, 2(4):259-261.
- Kunze GW and Dixon JB. 1986. Method of soil analysis, Part 1. Physical and mineralogical methods, American Society of Agronomy, Wisconsin, pp: 568-577.

- Lugtenberg BJ and Kamilova F. 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. Annual Review of Microbiology. (63):541-556.
- Mia MAB, Shamsuddin ZH, Wahab Z and Marziah M. 2010. Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa* spp.). Scientia Horticulturae, (126): 80–87.
- Micanovic D, Zecevic V, Urosevic D and Knezevic D. 2006. Nitrogen content in the seedlings of wheat as parameter for selection on nitrogen fixation. Kragujevac Journal of Science, (28):159-164.
- Mishra BK and Sen SP. 1996. Associative and nitrogen nutrition of rice. Current Agricultural Research. (9):71-76.
- Mohajer M, Kalhor P and Kalhor M. 2007. The study on inoculation of *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculants on wheat and barley yield, The 10th Congress on Soil Sciences of Iran. University of Tehran, Karaj. (In Persian).
- Pereira JA, Cavalcante VAR, Baldani JI and Dobreiner J. 1988. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* Spp. and *Hebiriillum* Seropedica. Plant and soil, (110):269-274.
- Piccinin GG, Braccini AL, Dan LGM, Scapim CA, Ricci TT and Bazo GL. 2013. Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. Industrial Crops and Products, (43):393– 397.
- Rajaei S, Alikhani HA and Raiesi F. 2007. Effect of plant growth promoting potentials of *Azotobacter Chroococcum* native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat. Journal of science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science. 11(41): 285-297. (In Persian).
- Rashidi Z, Zare MJ, Rejali F and Ashraf Mehrabi A. 2011. Effect of soil tillage and integrated chemical fertilizer and biofertilizer on quantity and quality yield of bread wheat and soil biological activity under dry land farming. Electronic Journal of Crop Production, 4 (2): 189-206. (In Persian).
- Rasipour L and Aliasgharzadeh N. 2008. Interactive effect of phosphate solubilizing bacteria and *Bradyrhizobium japonicum* on growth, nodule indices and some nutrient uptake of soybean. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science, 11 (40): 53-63. (In Persian).
- Rodriguez H and Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, (17):319-339.
- Sparks DL. 1996. Method of soil Analysis. Part 3. Chemical methods. American Society of Agronomy. Wisconsin, USA, 1390p.
- Tilak KV, Ranganayaki N, Pal KK, De R, Satena AK, Tripathi, AK and Johri BN. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science, 89:136-150.
- Trivedi P and Sa T. 2008. *Pseudomonas corrugata* (NRRL B-30409) mutants increased phosphate solubilization, organic acid production, and plant growth at lower temperatures. Current Microbiology, (56):140-144.
- Turan M, Gulluce M, Cacamakei R, Ostas T and Sahin F. 2010. The effect of PGPR strain on wheat yield and quality parameters. World Congress of Soil Science, Brisbane, Australia, pp: 140-143.
- Wani SP, Chandra palaiah S, Zambre MA and Lee KK. 1988. Association between nitrogen-fixing bacteria and pearl millet plants, responses mechanisms and resistance. Plant and Soil, (110):284-302.
- Zahir ZA, Naveed M, Zafar MI, Rehman HS, Arshad M and Khalid M. 2007. Evaluation of composted organic waste enriched with nitrogen and L-Tryptophan for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Botany, 39(5): 1739-1749.
- Zecevic V, Knezevic D, Micanovic D and Dimitrijevic B. 2005. Wheat mineral nutrition and quality. Proceedings of International Conference on sustainable Agriculture and European Integration, Novi Sad. Contemporary Agriculture, pp: 613-619.

Effect of PGPR Biofertilizers on the Qualitative and Quantitative Yield Parameters of Wheat (*Triticum aestivum*)

Alireza Fallah¹, Somayeh Momeni², Shayan Shariati³

(Received: December 2013 Accepted: May 2014)

ABSTRACT

Due to the indiscriminate use of nitrogen fertilizers, pollution caused by the use of fertilizers and high production costs, the present study examined the effects of plant growth promoting biofertilizers and nitrogen fertilizer on increasing the quality and quantity of wheat. The experiment was conducted in two-factor factorial design in three replications; (T₀: as control treatment without biofertilizer T₁: biofertilizer containing *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* with population density of 10⁶ cfu ml⁻¹ of inoculum, T₂: bio-fertilizer containing *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* with population density of 10⁸ cfu ml⁻¹ of inoculum, T₃: the bio-fertilizer containing *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas putida* and *Baillus subtilis* with population density of 10⁸ cfu ml⁻¹ of inoculum) and nitrogen fertilizer (N₀: Control, N₁:25, N₂:50, N₃:75, N₄:100 kg N ha⁻¹) in a completely randomized design. The results showed that the main effect of bio-fertilizer was related to treatment T₃ which resulted respectively in 13, 20.4, 8, 19.7 and 8% increase in the 1000-grain weight, plant height, grain nitrogen content, grain yield and grain protein content in comparison to the control. In the case of main effect of chemical fertilizer levels on the mentioned parameters, the treatments 75 and 100 kg N ha⁻¹ were the best treatments and they didn't show a significant difference ($P>0.05$). Regarding interactions of the treatment T₃ with N₃ had the highest amount and resulted respectively in 50, 51, 57.3, 81.3 and 50.5% increase in the 1000-grain weight, plant height, grain nitrogen content, grain yield and grain protein content.

Keywords: *Azotobacter*, *Azospirillum*, Bio-fertilizer, Chemical fertilizer, Wheat

1- Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran (Corresponding author)
rezafallah@yahoo.com

2- Soil Science Department, Islamic Azad University, Karaj Branch

3- Young Researchers Club Islamic Azad University, Rasht Branch