

تأثیر نانو اکسید روی و باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، میزان روی، پروتئین و صفات وابسته به رشد دانه تریتیکاله

حسین کماری^۱، رئوف سید شریفی^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه محقق اردبیلی،

۲. دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۱)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، میزان روی، پروتئین و صفات وابسته به رشد دانه تریتیکاله، آزمایشی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سال ۱۳۹۲ اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل محلول پاشی با نانو اکسید روی در پنج سطح (عدم محلول پاشی به عنوان شاهد، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) و چهار سطح تلقیح بذر با PGPR (عدم تلقیح بذر با باکتری به عنوان شاهد، تلقیح بذر با ازتوباکتر کروکوکوم استرین ۵، آزوسپرلیوم لیوفروم استرین OF و سودوموناس پوتیدا استرین ۹) بودند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی (۱/۳۵ نانومول بر دقیقه)، میزان روی (۳۱/۴ میلی گرم بر کیلوگرم)، پروتئین (۱۳۴/۲ گرم بر کیلوگرم)، سرعت (۰/۰۱۷ گرم در روز) و طول دوره پر شدن دانه (۴۰/۷۴ روز) به ترکیب تیماری تلقیح بذر با آزوسپرلیوم در محلول پاشی ۱ گرم در لیتر نانو اکسید روی و کم‌ترین آن‌ها (به ترتیب ۰/۴۶ نانومول بر دقیقه، ۲۳/۱ میلی گرم بر کیلوگرم، ۱۰۸/۶ گرم بر کیلوگرم، ۰/۰۱۲ گرم در روز و ۲۴/۱۴ روز) در عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد × عدم محلول پاشی نانو اکسید روی (شاهد) به دست آمد. به نظر می‌رسد به منظور بهبود کیفیت بذر تولیدی و افزایش میزان عنصر روی، پروتئین دانه و طول دوره پر شدن دانه می‌توان پیشنهاد کرد که تلقیح بذر تریتیکاله با باکتری آزوسپرلیوم در محلول پاشی یک گرم در لیتر نانو اکسید روی به کار برده شود.

کلمات کلیدی: پر شدن دانه، تریتیکاله، روی، کود های زیستی.

Effects of Nano-Zinc oxide and plant growth promoting rhizobacteria on zinc and protein content, phosphatase activity and related traits to grain growth of *Triticale*

Hossien Kamari¹ and Raouf Seyed Sharifi^{2*}

1. Agronomy M.Sc. Student, University of Mohaghegh Ardabili.

2. Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili.

(Received: 02. Feb. 2017 – Accepted: 11. Jun.2017)

Abstract

In order to study of the effects of nano-zinc oxide and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on phosphatase activity, zinc and protein content and related traits to grain growth of *Triticale*, a factorial experiment was conducted based on a randomized complete block design with three replications in research greenhouse of faculty of Agriculture Sciences, University of Mohaghegh Ardabili in 2013. Factors were seed inoculation with plant growth promoting *rhizobacteria* in four levels (without inoculation as control, seed inoculation with *Azotobacter chroocococum* strain 5, *Azospirillum lipoferum* strain OF and *Pseudomonas putida* strain 9) and foliar application of nano-zinc oxide at five levels (0 as control, 0.25, 0.5, 0.75 and 1 g.lit⁻¹). Means comparisons showed that maximum of phosphatase activity (1.35 nmol.min⁻¹, zinc (31.4 mg.kg⁻¹ and protein (134.2 g.kg⁻¹) content, rate (0.10017 g.day⁻¹) and grain filling period (40.74 days) were obtained at application of 1 g.lit⁻¹ Nano-Zinc oxide and seed inoculation with *Azospirillum* and minimum of them (0.46 nmol.min⁻¹, 23.1 mg.kg⁻¹, 108.6 g.kg⁻¹, 0.0012 g.day⁻¹ and 24.12 days respectively) were recorded at no application of nano-zinc oxide and without of seed inoculation with PGPR. Therefore, it seems that in order to improve seed quality, increasing of grain filling period, zinc and protein content, it can be suggested that be applied 1 g.lit⁻¹ Nano-Zinc oxide × seed inoculation with *Azospirillum*.

Key words: Grain filling period; Bio fertilizers; *Triticale*, Zinc.

* Email: raouf_ssharifi@yahoo.com

مناطق خشک و نیمه خشک، خاک‌های شنی و فرسایش یافته و به خصوص در خاک‌های آهکی (Welch *et al.*, 1991)، خاک‌های سدیمی و غرقابی (Takker and Walker, 1993) شیوع بیش تری دارد. کشت مداوم، مصرف همه ساله و بیش از نیاز کودهای فسفره، آبشویی و سایر شرایط حاکم بر خاک‌های آهکی از جمله وجود مقادیر زیاد کربنات کلسیم، pH قلیایی و عدم مصرف کودهای حاوی عناصر ریز مغذی و کودهای آلی موجب کاهش ذخیره این عنصر در خاک و در نتیجه کاهش عملکرد شده است (Malakouti, 1998). مقدار برداشت و خروج عناصر غذایی کم مصرف به دلیل برداشت بیش تر محصول از خاک که با کاشت ارقام اصلاح شده، مصرف کودهای شیمیایی و مدیریت بهتر حاصل شده است، بسیار زیاد است و با توسعه کشاورزی هر روز مقدار بیش تری از عناصر کم مصرف از خاک خارج می‌شوند (Malakouti and Tehrani, 2000).

وزن دانه به عنوان یکی از اجزاء مهم تعیین کننده عملکرد دانه به شدت تحت تأثیر سرعت و طول دوره پر شدن دانه قرار می‌گیرد. ارتباط بین سرعت و طول دوره پر شدن دانه با وزن دانه می‌تواند راه گشایی برای محققان در جهت رسیدن به حداکثر عملکرد باشد. پر شدن دانه (رشد دانه بعد از گرده افشانی) از دو عامل سرعت و طول دوره پر شدن دانه از مواد پرورده که نتیجه آن افزایش وزن خشک دانه است پیروی می‌نماید (Kato, 1989). میزان مواد فتوسنتزی که به دانه‌ها می‌رسند به سرعت و طول دوره پر شدن دانه بستگی دارد (A'lvaroa *et al.*, 2008). در این راستا بهره‌گیری از نژادهای مختلف باکتری‌های محرک رشد، می‌تواند بسیار حایز اهمیت باشد چرا که با تولید هورمون‌های رشد و تأمین مقادیر کافی عناصر غذایی دوره مؤثر پر شدن دانه را افزایش می‌دهند (Banerjee *et al.*, 2006). دوره پر شدن دانه مرحله اصلی تشکیل عملکرد دانه است و طولانی تر بودن این دوره امکان انتقال مواد فتوسنتزی بیش تر از مبدأ به مقصد و در نتیجه افزایش عملکرد دانه را فراهم می‌سازد

مقدمه

تریتیکاله غله ای است که به وسیله انسان و در نتیجه تلاقی ژنوم‌های گندم و چاودار به وجود آمده است (Goshchi, 2000). این گیاه واجد خصوصیات مطلوب چاودار از جمله رشد سریع و قابلیت تولید در اراضی فقیر و کم بازده و از طرف دیگر دارای خصوصیات برتر کیفی و زراعی گندم می‌باشد (Goshchi, 2000). این خصوصیات ضرورت توجه به گسترش سطح زیر کشت و افزایش تولید در واحد سطح را در این گیاه بیش از پیش نمایان می‌سازد. امروزه یکی از شیوه‌های بیولوژیکی برای افزایش کمی و کیفی عملکرد، استفاده بالقوه از میکروارگانسیم‌های مفید خاکزی همانند باکتری‌های محرک رشد است که می‌توانند به روش‌های مختلف موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه شوند. این باکتری‌ها با تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفورها، کمپلکس کننده آهن، تولید هورمون‌های گیاهی مانند جبرلین، سیتوکینین و اکسین، سنتز آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات قارچ کش (Rudresha *et al.*, 2005)، افزایش پروتئین‌های محلول و نیز بهبود فعالیت آنزیم‌هایی مانند فسفاتاز و پراکسیداز، می‌توانند عملکرد و اجزای عملکرد را در گندم افزایش دهند (Shaukat *et al.*, 2006). این گروه از باکتری‌ها به طور طبیعی در خاک‌ها وجود دارند ولی تعداد و تراکم آن‌ها در خاک پایین است، بنابراین تلقیح بذر گیاهان با این باکتری‌ها می‌تواند جمعیت آن‌ها را به حد مطلوب رسانده و منجر به بروز اثر مفید آن‌ها در خاک شود (Cakmakci *et al.*, 2007). از میان این باکتری‌ها گونه‌هایی از آزوسپریلیوم، ازتوباکتر و سودوموناس به دلیل توانایی در برقراری ارتباط با گیاهان مهم زراعی نظیر ذرت، سورگوم و گندم توجه بیش تری را به خود جلب کرده‌اند (Mishra *et al.*, 1998).

روی عنصری ریز مغذی است که در مقادیر بسیار کم برای انجام فعالیت‌های فیزیولوژیک مثل فتوسنتز و سنتز پروتئین نیاز است (Marschner, 1995). کمبود آن در

واسطه تلقیح با *A.lipoferum* افزایش یافت. عنصر روی آنزیم‌های مختلفی از قبیل دهیدروژناز، آلدولاز، ایزومراز و همچنین DNA و RNA پلی‌مراز را تقویت می‌کند و برای کربنیک آنهیدراز، الکل دهیدروژناز، سوپر اکسید دسمیوتاز و RNA پلی‌مراز یک عنصر ضروری است. تأثیر تغذیه کافی با روی بر فعالیت RNA پلی‌مراز بسیار شدید است طوری که در تغذیه ناکافی به دلیل اختلال در سنتز RNA، تولید پروتئین تضعیف می‌شود (Prasad, 1984 ; Kisiel *et al.*, 1998). فسفات یک ترکیب ضروری در ساختار مولکول‌های DNA، RNA، فسفولیپیدهای دیواره سلولی، ATP و اجسام فیتین در بذر جوانه نژده است (Sharma *et al.*, 2005). فسفات‌ها مهم‌ترین آنزیم‌هایی هستند که فرایندهای فیزیولوژیک مثل تنظیم فسفات محلول را بر عهده دارند (Sharma *et al.*, 2004). فسفات‌ها در فضای درون و برون سلول فعالیت دارد و نقش آن دفسفریلاسیون فسفات آلی و تبدیل آن به فسفات معدنی است. اهمیت تریبتیکاله در استفاده دو منظوره از آن، نقش روی و باکتری‌های محرک رشد در بهبود کیفیت و عملکرد دانه، کمی بررسی‌های انجام شده در خصوص بر هم کنش توأم باکتری‌های محرک رشد و ریز مغذی روی موجب شد تا کاربرد توأم این دو عامل بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، میزان روی، پروتئین و صفات وابسته به رشد دانه تریبتیکاله مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و محلول پاشی با نانو اکسید روی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، میزان روی، پروتئین و صفات وابسته به رشد دانه تریبتیکاله، آزمایشی در گلخانه و آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد.

(Kato, 1999). کاربرد باکتری‌های محرک رشد با افزایش میزان آسیمیلایون، موجب بالا رفتن نقل و انتقال مواد به دانه شده و سرعت پر شدن دانه را افزایش می‌دهند (Banerjee *et al.*, 2006). کوماری و والارماسی (Kumari and Valarmathi, 1998) اظهار داشتند که دانه‌های با وزن بالاتر، از سرعت پر شدن بالاتری نسبت به دانه‌های با وزن کمتر برخوردار می‌باشند. ملکوتی و تهرانی (Malakouti and Tehrani, 2000) اظهار داشتند که در شرایط کمبود روی، تعداد رنگدانه‌های فتوسنتزی و مقدار کلروفیل برگ‌ها کاهش می‌یابد که نتیجه آن به کاهش سرعت انتقال ماده خشک به دانه و کاهش سرعت پر شدن دانه منجر می‌شود. نتایج مشابهی نیز حسنین و احمد (Hassanein and Ahmed., 1996) مبنی بر تأثیر روی (Zn) در افزایش وزن دانه به واسطه افزایش در انتقال ماده خشک گزارش کردند. محمد و همکاران (Mohamad *et al.*, 1990) اعلام کردند که بر اثر مصرف روی به دلیل افزایش مقدار کل کربوهیدرات، نشاسته و پروتئین ساخته شده توسط گیاه، سرعت و طول دوره پر شدن دانه افزایش می‌یابد. رز و همکاران (Rose *et al.*, 2002) بیان داشتند که محلول پاشی Zn^{2+} قبل از گلدهی، موجب افزایش عملکرد و درصد پروتئین دانه شد. تاکر و نایر (Takkar and Nayar., 1990) اعلام کردند کاربرد Zn^{2+} با افزایش اسید آمینه‌های لیزین و هیستیدین در گندم موجب افزایش ارزش بیولوژیکی آن از طریق افزایش پروتئین، چربی، ذخیره کربوهیدرات‌ها و همچنین اصلاح ساختار اسیدهای آمینه در گندم گردید. برخی از توباکترها افزون بر تثبیت بیولوژیک نیتروژن، با تولید انواع هورمون، آنتی بیوتیک و مواد دیگر می‌تواند عملکرد را تا ۴۰٪ افزایش دهد (Cakmakci *et al.*, 2007). همچنین بهبود درصد پروتئین دانه با تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و فراهمی آن در زمان پر شدن دانه با مصرف این کود توسط محققین دیگری نیز گزارش شده است (Gilick *et al.*, 2001). زمرانی و همکاران (Zemrany *et al.*, 2006) اظهار داشتند که مقدار پروتئین و عملکرد دانه ذرت به

یکنواخت و مشابه انتخاب گردید. هر بار دو خوشه از هر گلدان انتخاب و بعد از انتقال به آزمایشگاه دانه‌ها از خوشه جدا شده و به مدت ۲ ساعت در آون الکتریکی تهویه‌دار در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس وزن خشک تک بذر از محاسبه وزن خشک کل به تعداد بذر برآورد گردید (Rondanini et al., 2004). به منظور برآورد، تجزیه و تحلیل و تفسیر پارامترهای مربوط به پر شدن دانه از یک مدل رگرسیون خطی (دو تکه‌ای) براساس رویه DUD و دستورالعمل Proc Nlin نرم‌افزار SAS به صورت زیر استفاده گردید.

$$GW = \begin{cases} a + bt_0 & t < t_0 \\ a + bt & t > t_0 \end{cases}$$

رابطه ۱

در این رابطه GW وزن دانه، t زمان و b سرعت پر شدن دانه است، t_0 پایان دوره پر شدن دانه و a عرض از مبدأ است. این مدل تغییرات وزن دانه نسبت به زمان را به دو مرحله تفکیک می‌کند: مرحله اول که در حقیقت مرحله خطی پر شدن دانه است، وزن دانه تا رسیدن به حداکثر مقادیر خود در زمان t_0 که در حقیقت زمان رسیدگی وزنی است، به صورت خطی افزایش پیدا می‌کند. شیب خط رگرسیون در این مرحله ($t < t_0$) سرعت پر شدن دانه را نشان می‌دهد. با برآزش این مدل بر کلیه داده‌ها ابتدا دو پارامتر مهم پر شدن دانه یعنی سرعت پر شدن دانه (b) و زمان رسیدگی وزنی (t_0) به دست آمده و سپس مقدار عددی t_0 در قسمت دوم رابطه (۱) قرار داده شد و GW که وزن دانه است محاسبه گردید. برای تعیین دوره موثر پر شدن دانه از رابطه ۲ و به صورت زیر استفاده شد (Ellis and Pieta-Filho, 1992):

$$EFP = MGW / GFR \quad \text{رابطه ۲}$$

در این رابطه EFP دوره موثر پر شدن دانه، MGW حداکثر وزن دانه و GFR سرعت پر شدن دانه است.

فاکتورهای مورد بررسی شامل چهار سطح (عدم تلقیح بذر با باکتری به عنوان شاهد، تلقیح بذر با ازتوباکتر کروکوکوم^۱ استرین ۵، آزوسپریلوم لیپوفروم^۲ استرین OF و سودوموناس^۳ پوتیدا استرین ۹) و پنج سطح نانو اکسید روی (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) بود. نانو اکسید روی تولید کشور چین بود که از شرکت نوترینو تهیه شد و مشخصات آن در جدول ۱ درج شده است.

باکتری‌های فوق از موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شدند و رقم مورد استفاده جوانیلو بود که از موسسه نهال و بذر کرج تهیه شد. برای تلقیح بذرها با باکتری‌های مورد نظر، میزان هفت گرم مایه تلقیح که هر گرم آن حاوی 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بود استفاده شد. پس از تهیه خاک یک دست، ۱۵ کیلو گرم خاک به هر گلدان اضافه شده و تمامی گلدان‌ها تا ارتفاع ۴۰ سانتی‌متری از خاک پر شدند و به این ترتیب حجم یکسانی از خاک درون گلدان‌ها اضافه شد. سپس ۵۰ عدد بذر در هر گلدان برای اعمال تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع که تراکم مطلوب و توصیه شده برای رقم جوانیلو است، به صورت ردیفی کشت شد. از محلول صمغ عربی به نسبت ۱۰٪ وزنی - حجمی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. این محلول به مدت ۴ ساعت در تاریکی و دور از نور مستقیم قرار گرفت. محلول‌پاشی در دو مرحله از دوره رشد رویشی (مرحله ۳ تا ۴ برگگی و مرحله قبل از ظهور سنبله) انجام شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد با طول دوره روشنایی ۱۵-۱۶ ساعت (با استفاده از ترکیبی از لامپ‌های معمولی و مهتابی) و رطوبت نسبی $65 \pm 5\%$ نگهداری شدند، مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

به منظور ارزیابی صفات وابسته به رشد دانه، نمونه‌برداری از ۱۵ روز بعد از گلدهی در فواصل زمانی هر ۴ روز یک‌بار انجام شد. در این مرحله ۱۶ بوته به ظاهر

^۱ *Azotobacter chroococcum* strain 5

^۲ *Azospirillum lipoferum* strain OF

^۳ *Pseudomonas putida* strain 9

جدول ۱- مشخصات نانو اکسید روی

Table 1 - Characteristics of nano zinc oxide

وزن Weight	100 gr
خلوص Purity	99 %
میانگین اندازه ذرات Average Particle Size	< 30 nm
مساحت سطح ویژه ذرات Specific Surface Area	> 30 m ² /gr
رنگ Appearance	Red powder

جدول ۲- مشخصات فیزیکی شیمیایی خاک

Table 2 - Soil physico-chemical properties

Charact eristic صفت	pH	Saturation % درصد عصاره اشباع	درصد لوم Lime %	Clay درصد رس %	Silt درصد سیلت %	Sand درصد شن %	Texture بافت خاک	Organic carbon کربن الی %	N نیتروژن %	P فسفر (mg/kg)	K پتاسیم (mg/kg)
Amount مقدار	7.8	47	15	23	42	35	Silt loam سیلتی لوم	0.62	0.06	29.82	212

دو عامل بر صفات وابسته به رشد دانه (شامل سرعت، طول دوره و دوره موثر پر شدن دانه و حداکثر وزن دانه)، فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، میزان روی و پروتئین دانه معنی دار گردید (جدول ۳).

صفات وابسته به رشد دانه

بر اساس نتایج مشخص گردید که با افزایش میزان نانو اکسید روی (به مقدار یک گرم در لیتر)، سرعت و طول دوره پر شدن دانه در تمامی تیمارهای مورد بررسی افزایش یافت (جدول ۴). تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش طول دوره و سرعت پر شدن دانه در مقایسه با تیمار شاهد شد. تأثیر سطوح مختلف نانو اکسید روی بر سرعت و طول دوره پر شدن دانه تربیتکاله در تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در شکل ۱ و معادلات رگرسیونی برازش شده برای هر ترکیب تیماری در جدول ۴ آورده شده است. بررسی روند تغییرات سرعت پر شدن دانه در تلقیح بذر با PGPR در سطح ثابت از نانو اکسید روی، نشان داد که الگوی نمو بذر در کلیه ترکیب‌های تیماری مشابه است بدین ترتیب که ابتدا وزن دانه به صورت خطی افزایش یافت و به حداکثر خود

میزان روی دانه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی و مقدار پروتئین دانه با استفاده از روش کج‌لدال (AOAC¹, 2002) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی از روش پن و چن (Pan and Chen, 1988) استفاده شد. واکنش با افزودن پنج میلی مولار پارا نیترو فنل فسفات و ۱۰۰ میلی مولار سدیم استات بافر با اسیدیته برابر با ۵/۴ به ۵ میکرو لیتر نمونه استخراجی در اندازه کل ۲۰۰ میکرو لیتر شروع شد و این محلول برای هر تکرار آزمایشی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس به آن ۵۰ میکرو لیتر KOH یک مولار اضافه شده و در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها از نرم افزارهای SAS و Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر نانو اکسید روی، باکتری‌های محرک رشد و اثر ترکیب تیماری این

¹. Association of Official Analytical Chemists

نمودند که شواهدی دال بر افزایش فراهمی عناصر غذایی گیاه در ریزوسفر به دلیل فعالیت باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه وجود دارند. نتایج نشان داد طول دوره و دوره موثر پر شدن دانه با کاربرد باکتری‌های محرک رشد و افزایش سطح نانو اکسید روی افزایش یافت (جدول ۴). حداکثر طول دوره (۴۰/۷۴ روز) و دوره موثر پر شدن دانه (۲۹/۳۲ روز) به ترکیب تیماری ۱ گرم در لیتر نانو اکسید روی × تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و حداقل طول این دوره‌ها به ترتیب (۳۸/۴۷ روز و ۲۴/۱۴ روز) به ترکیب تیماری عدم محلول پاشی × عدم تلقیح بذر با باکتری (شاهد) تعلق داشت. سرعت پر شدن دانه یا همان شیب خط برازش شده در ترکیب تیماری عدم محلول پاشی و عدم تلقیح بذر با باکتری (شاهد) کم‌تر از حالت محلول پاشی و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد برآورد گردید (جدول ۴).

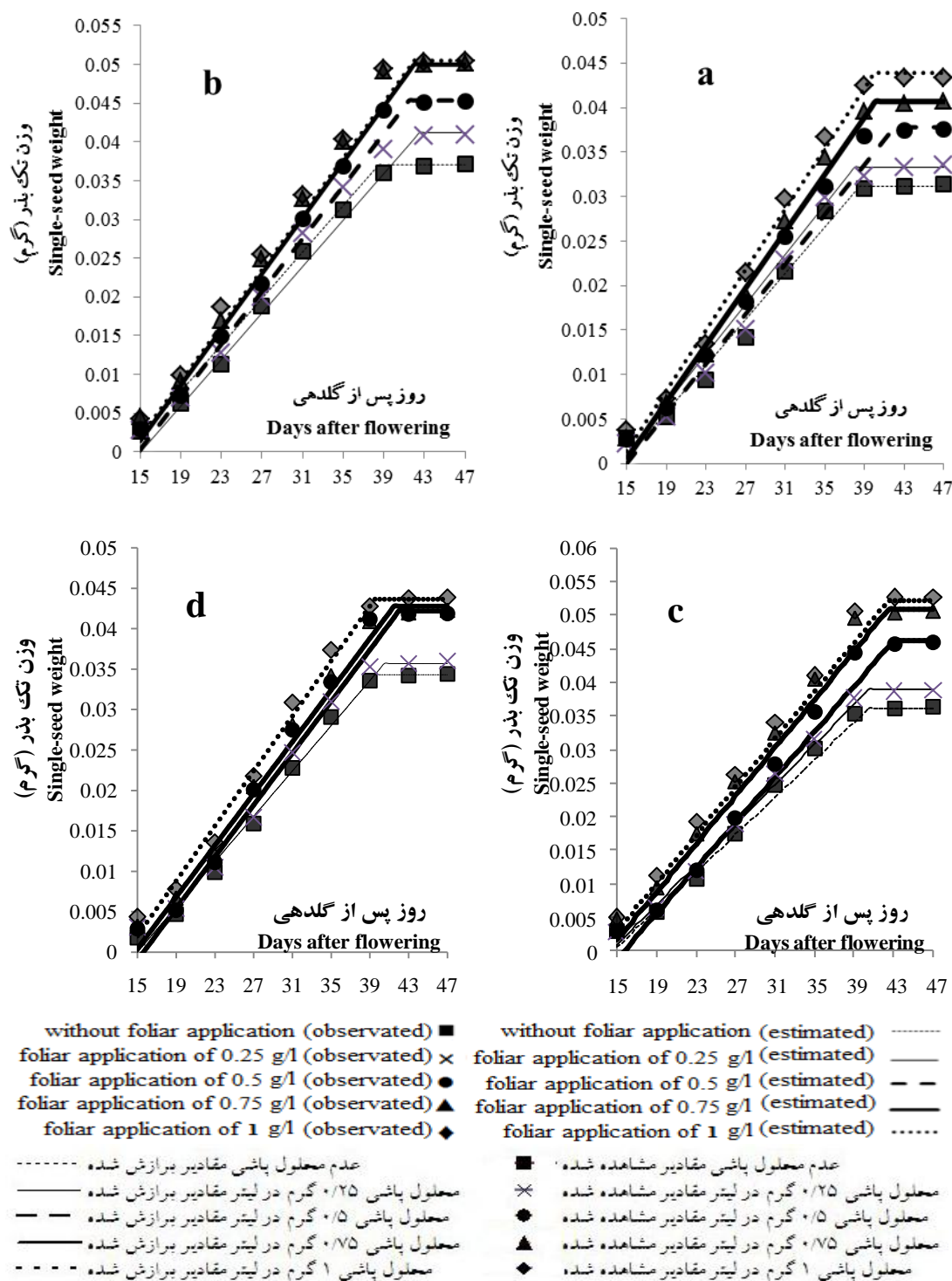
رسید (رسیدگی وزنی)، پس از این مرحله وزن دانه از تغییر چندانی برخوردار نبود و به صورت یک خط افقی در آمد. براساس نتایج به دست آمده مشخص گردید که بین باکتری‌های محرک رشد در سطح ثابتی از نانو اکسید روی، از نظر سرعت، دوره موثر پر شدن، حداکثر وزن دانه و طول دوره پر شدن دانه تفاوت‌های وجود داشت. به عبارتی شیب خطی برازش شده برای ترکیبات تیماری مختلف یکسان نبود (جدول ۴). حداکثر وزن تک بذر (۰/۰۵۲۷ گرم) در کاربرد یک گرم در لیتر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری آزوسپریلیوم و حداقل آن (۰/۰۳۱۳ گرم) در تیمار شاهد مشاهده شد. به عبارتی با افزایش نانو اکسید روی، وزن تک بذر افزایش و با کاهش آن کاهش یافت. به نظر می‌رسد با کاربرد باکتری، میزان آسیمیلایون افزایش یافته و موجب بالا رفتن نقل و انتقال مواد به دانه شده و پر شدن دانه افزایش می‌یابد.

گلیک و همکاران (Glick *et al.*, 1998) اعلام

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر نانو اکسید روی و باکتری‌های محرک رشد بر فعالیت آنزیم فسفاتاز، میزان روی، پروتئین و صفات وابسته به رشد دانه تریتیکاله
Table 3- Analysis of variance of the effects of nano zinc oxide and plant growth promoting rhizobacteria on phosphatase activity, zinc and protein content and related traits in grain growth of *Triticale*

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات M.S						
		سرعت پر شدن دانه Grain filling rate	دوره موثر پر شدن دانه Effective grain filling period	طول دوره پر شدن Grain filling period	حداکثر وزن دانه Maximum of grain weight	پروتئین دانه Grain protein	میزان روی دانه Seed zinc	اسید فسفاتاز دانه Seed acid phosphatase
تکرار Replication	2	8.2**	139.9**	315.41 **	0.000346**	2949.7 **	147.4 **	0.1265 **
باکتری PGPR	3	1 **	13.29**	2.56 **	0.000215**	116.5 **	11.42 **	0.1277 **
روی Zinc	4	3.11 **	6.72 **	1.326 **	0.000363 **	579.2 **	67.49 **	0.8122 **
روی*باکتری PGPR* Zinc	12	8.33 **	1.84 **	0.021 **	0.0000068 **	1.95 *	0.199 **	0.0099 **
خطا Error	38	3.157	0.015	0.0027	0.00000038	0.943	0.053	0.0006
ضریب تغییر C.V	-	1.179	0.47	0.132	1.474	0.794	0.854	3.22

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.
ns, * and ** are no-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.



شکل ۱- تغییرات سرعت و طول دوره پر شدن دانه در سطوح مختلف محلول پاشی نانو اکسید روی در عدم تلقیح بذر با باکتری (a)، تلقیح با ازتوباکتر (b)، آزوسپریلیوم (c) و سودوموناس (d).

Fig. 1- Variation of rate and grain filling period at various levels of foliar application of nano zinc oxide in without seed inoculation (a), inoculation with *Azotobacter* (b), *Azosprillium* (c) and *Psedomonas* (d).

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف نانو اکسید روی و باکتری‌های محرک رشد بر دوره موثر، سرعت و طول دوره پر شدن دانه
Table 4- Mean comparison of the effects of various levels of nano zinc oxide and plant growth promoting rhizobacteria on rate, grain filling period and effective grain filling period of *Triticale*.

ترکیب تیماری Treatment combination	سرعت پر شدن دانه (گرم در روز) Grain filling rate (g.day)	دوره موثر پر شدن دانه (روز) Effective grain filling period (day)	طول دوره پر شدن دانه (روز) Grain filling period (day)	حداکثر وزن دانه (گرم) Maximum grain weight (g)	معادله برازش شده The fitted equation
B ₀ × Zn ₀	0.0012 ^f	24.14 ^o	38.47 ⁿ	0.0313 ^m	Y= -.0189+.0013X
B ₁ × Zn ₀	0.0013 ^e	26.5 ^{gh}	39.33 ^{kl}	0.037 ^{ij}	Y= -.0207+.0014X
B ₂ × Zn ₀	0.0013 ^e	26 ^{ij}	39.67 ^{fg}	0.0363 ^{jk}	Y= -.0205+.0014X
B ₃ × Zn ₀	0.0013 ^e	24.56 ⁿ	39.44 ^{ij}	0.0343 ^l	Y= -.021+.0014X
B ₀ × Zn ₁	0.0012 ^f	25.75 ^k	39.2 ^m	0.0334 ^l	Y= -.0199+.0013X
B ₁ × Zn ₁	0.0014 ^d	27.25 ^d	39.72 ^{ef}	0.0408 ^{fg}	Y= -.0225+.0015X
B ₂ × Zn ₁	0.0014 ^d	25.8 ^{jk}	39.8 ^e	0.0386 ^h	Y= -.0217+.0015X
B ₃ × Zn ₁	0.0013 ^e	25.7 ^{kl}	39.26 ^{lm}	0.036 ^k	Y= -.021+.0014X
B ₀ × Zn ₂	0.0013 ^e	26.77 ^f	39.51 ^{hi}	0.0374 ⁱ	Y= -.021+.0014X
B ₁ × Zn ₂	0.0016 ^b	26.63 ^{fg}	39.8 ^e	0.0452 ^c	Y= -.0252+.0017X
B ₂ × Zn ₂	0.0016 ^b	27 ^e	40.73 ^a	0.0458 ^c	Y= -.0268+.0017X
B ₃ × Zn ₂	0.0015 ^c	26.17 ⁱ	39.9 ^d	0.0418 ^{ef}	Y= -.025+.0016X
B ₀ × Zn ₃	0.0015 ^c	25.42 ^m	39.6 ^{gh}	0.0406 ^g	Y= -.0232+.0016X
B ₁ × Zn ₃	0.0017 ^a	27.82 ^c	40.1 ^b	0.05 ^b	Y= -.0256+.0018X
B ₂ × Zn ₃	0.0017 ^a	28.15 ^b	40.17 ^b	0.0506 ^b	Y= -.0255+.0018X
B ₃ × Zn ₃	0.0015 ^c	26.42 ^h	39.96 ^{cd}	0.0422 ^e	Y= -.0236+.0016X
B ₀ × Zn ₄	0.0016 ^b	25.51 ^{lm}	39.4 ^{jk}	0.0433 ^d	Y= -.0241+.0017X
B ₁ × Zn ₄	0.0017 ^a	28.04 ^b	40 ^c	0.0504 ^b	Y= -.0251+.0018X
B ₂ × Zn ₄	0.0017 ^a	29.32 ^a	40.74 ^a	0.0527 ^a	Y= -.0242+.0018X
B ₃ × Zn ₄	0.0016 ^b	25.81 ^{jk}	39.36 ^{jk}	0.0438 ^d	Y= -.0235+.0017X
LSD _{5%}	294	0.206	0.0869	0.001	؟

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری با هم بر اساس آزمون LSD ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different according of LSD test

پنج سطح محلول پاشی نانو اکسید روی (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) به ترتیب به صورت Zn₀, Zn₁, Zn₂, Zn₃ و Zn₄ و چهار سطح تلقیح (عدم تلقیح بذر با باکتری به عنوان شاهد، تلقیح بذر با ازتوباکتر کروکوکوم استرین ۵، آزوسپریلیوم لیوفروم استرین OF و سودوموناس پوتیدا استرین ۹) به ترتیب به صورت B₀, B₁, B₂ و B₃ می‌باشد

Five levels of Folliar application with nano zinc oxide (0, 0.25, 0.5, 0.75, and 1 g/lit) as Zn₀, Zn₁, Zn₂, Zn₃ and Zn₄ respectively and four levels of seed inoculation (no seed inoculation, inoculation with *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Pseudomonas* as B₀, B₁, B₂ and B₃ respectively

بانرجی و همکاران (Banerjee et al., 2006) گزارش کردند که کاربرد باکتری با افزایش میزان آسیمیلایسون، موجب بالا رفتن نقل و انتقال مواد به دانه شده و سرعت پر شدن دانه افزایش می‌یابد. کوماری و والارماتی (Kumari and Valarmathi, 1998) اظهار داشتند که دانه‌های با وزن بالاتر، از سرعت پر شدن بالاتری نسبت به دانه‌های با وزن کم‌تر برخوردار می‌باشند. در این بررسی به نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد با تولید

بهره‌گیری از نژادهای مختلف باکتری‌های محرک رشد، می‌تواند بسیار حایز اهمیت باشد چرا که با تولید هورمون‌های رشد و تأمین مقادیر کافی عناصر غذایی، عملکرد و دوره مؤثر پر شدن دانه را افزایش می‌دهند (نقل از Abasspour, 2012). دوره پر شدن دانه مرحله اصلی تشکیل عملکرد دانه است و طولانی‌تر بودن این دوره امکان انتقال مواد فتوسنتزی بیش‌تر از مبدأ به مقصد و در نتیجه افزایش عملکرد دانه را فراهم می‌سازد (Kato, 1999).

ریشه‌ای گیاه، تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، تولید اسیدهای آمینه ضروری در سنتز پروتئین، تولید بوته‌های مقاوم به بیماری‌ها و افزایش سطح سبز مزرعه مرتبط باشد (Nieto and Frankenberger, 1991). گلپیک و همکاران (Gilick *et al.*, 2001) بهبود درصد پروتئین دانه را در حالت تلقیح بذر با باکتری‌ها به تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و فراهمی آن در زمان پرشدن دانه نسبت دادند.

مارشسر (Marshner, 1986) اظهار داشت که در شرایط کمبود روی، به دلیل کاهش فعالیت آنزیم RNA پلیمرز و انتقال اسیدهای آمینه، تجزیه و تخریب RNA شدت یافته و همین امر منجر به کاهش سنتز پروتئین می‌شود. چاکماک و همکاران (Chakmak *et al.*, 1996) بهبود پروتئین دانه با مصرف ریزمغذی روی را، به نقش مؤثر روی در فرایندهای بیولوژیکی موثر در سنتز پروتئین نسبت داده و اظهار داشت که ریزوم‌ها از جمله ارگانیزم‌هایی هستند که در سنتز پروتئین نقش دارند، بنابراین کاهش یا ناپایداری این مواد باعث اختلال در سنتز پروتئین می‌شود و روی از جمله عناصری است که از این پدیده جلوگیری می‌کند. نتایج تحقیقات همانترانجان و گراگ (Hemantaranjan and Grag, 1988) نشان داد که مصرف آهن و روی موجب افزایش معنی‌داری در تعداد خوشه در متر مربع، طول خوشه و وزن هزار دانه شد. این محققین اعلام نمودند که در اثر مصرف این عناصر مقدار کل کربوهیدرات، نشاسته و پروتئین دانه افزایش می‌یابد و با افزایش کربوهیدرات وزن هزار دانه و تعداد دانه در خوشه بالا می‌رود که این عوامل موجب افزایش عملکرد دانه می‌گردند. یلماز و همکاران (Yilmaz *et al.*, 1997) با استفاده از روش‌های مختلف مصرف سولفات روی در ارقام مختلف گندم مشاهده کردند که مصرف سولفات روی نه تنها عملکرد را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد بلکه غلظت این عنصر در دانه گندم هم افزایش می‌یابد و موجب غنی شدن دانه می‌گردد.

هورمون‌های رشد و تامین عناصر غذایی، امکان تداوم بیش‌تر دوره پر شدن دانه را فراهم ساخته‌اند.

اگر چه نیاز گیاهان به روی اندک است ولی اگر مقدار کافی از این عنصر در دسترس نباشد گیاهان از تنش‌های فیزیولوژیکی حاصل از ناکارایی سیستم‌های متعدد آنزیمی و دیگر اعمال متابولیکی مرتبط با روی متأثر خواهند شد (Baybordi, 2007). محمد و همکاران (Mohamad *et al.*, 1990) گزارش کردند که کاربرد روی به طرق مختلف به خصوص به طریقه محلول پاشی، عملکرد را نسبت به شاهد افزایش داد. این محققین اعلام کردند که در اثر مصرف این عنصر مقدار کل کربوهیدرات، نشاسته و پروتئین ساخته شده توسط گیاه افزایش می‌یابد و با افزایش کربوهیدرات سرعت و طول دوره پر شدن دانه افزایش و در نتیجه وزن هزار دانه بالا می‌رود که این عوامل در نهایت موجب افزایش عملکرد دانه می‌گردند.

دولین و ویتان (Devlin and Withan, 1983) نیز چنین اظهار داشتند که با توجه به نقش اساسی این عنصر در گیاه که به طور مستقیم در بیوسنتز مواد رشد همانند اکسین دخالت دارد. بنابراین می‌تواند با تولید مواد خشک بیش‌تر در مخازن (دانه‌ها) موجب افزایش بیش از حد انتظار عملکرد شوند.

میزان پروتئین و روی دانه

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در سطوح مختلف نانو اکسید روی حاکی از آن است که بیش‌ترین میزان پروتئین (g/kg) ۱۳۴/۲ و روی دانه (۳۱/۴ mg/kg) در ترکیب تیماری ۱ گرم بر لیتر نانو اکسید روی و تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و کم‌ترین آن‌ها به ترتیب معادل (۱۰۸/۶ g/kg) و (۲۳/۱) در تیمار عدم محلول پاشی نانو اکسید روی × عدم تلقیح بذر با باکتری به دست آمد (جدول ۵). با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد میزان پروتئین دانه افزایش یافت به نظر می‌رسد علت این افزایش با توسعه سیستم

جدول ۵- مقایسه میانگین برخی صفات متأثر از تحت سطوح مختلف محلول پاشی نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد

Table 5- Mean comparison of some traits as affected by various levels of foliar application of nano zinc oxide and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria.

ترکیب تیماری Treatment Compond	پروتئین (گرم بر کیلوگرم) Protein (g/kg)	روی (میلی گرم بر کیلوگرم) Zinc (mg/kg)	فسفاتاز اسیدی (نانو مول بر دقیقه) Acid phosphatase (n mol/min)
B ₀ × Zn ₀	108.6 ^m	23.1 ^l	0.46 ⁿ
B ₁ × Zn ₀	110.7 ^l	23.9 ^k	0.52 ^{lm}
B ₂ × Zn ₀	115.3 ^j	24.6 ^j	0.56 ^{kl}
B ₃ × Zn ₀	112.8 ^k	24.1 ^k	0.51 ^m
B ₀ × Zn ₁	116.2 ^j	24.5 ^j	0.52 ^{lm}
B ₁ × Zn ₁	119.4 ^{hi}	26.2 ⁱ	0.58 ^{jk}
B ₂ × Zn ₁	123.1 ^{fg}	26.9 ^h	0.64 ^{hi}
B ₃ × Zn ₁	120.4 ^h	26.1 ⁱ	0.61 ^{ij}
B ₀ × Zn ₂	119.2 ⁱ	26.3 ⁱ	0.68 ^h
B ₁ × Zn ₂	123.5 ^f	27.2 ^{gh}	0.79 ^g
B ₂ × Zn ₂	126.7 ^d	28.1 ^f	0.86 ^f
B ₃ × Zn ₂	122.3 ^g	27.4 ^g	0.81 ^g
B ₀ × Zn ₃	123.6 ^f	27.5 ^g	0.78 ^g
B ₁ × Zn ₃	127.1 ^d	28.3 ^f	0.92 ^e
B ₂ × Zn ₃	128.6 ^c	29.6 ^c	1.08 ^c
B ₃ × Zn ₃	125.4 ^e	29.1 ^d	0.99 ^d
B ₀ × Zn ₄	126.5 ^{de}	28.7 ^e	0.93 ^e
B ₁ × Zn ₄	129.8 ^b	29.8 ^c	1.18 ^b
B ₂ × Zn ₄	134.2 ^a	31.4 ^a	1.35 ^a
B ₃ × Zn ₄	130.1 ^b	30.3 ^b	1.14 ^b
LSD _{5%}	1.132	0.383	0.042

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری با هم بر اساس از مومن LSD ندارند

Means with similar letters in each column are not significantly different according of LSD test

پنج سطح محلول پاشی نانو اکسید روی (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر) به ترتیب به صورت Zn₀, Zn₁, Zn₂, Zn₃, Zn₄ و چهار سطح تلقیح (عدم تلقیح بذر با باکتری به عنوان شاهد، تلقیح بذر با ازتوباکتر کروکوکوم استرین ۵، آزوسپریلیوم لیوفوروم استرین OF و سودوموناس پوتیدا استرین ۹) به ترتیب به صورت B₀, B₁, B₂ و B₃ می‌باشد

Five levels of Foliar application with nano zinc oxide (0, 0.25, 0.5, 0.75, and 1 gr/lit) as Zn₀, Zn₁, Zn₂, Zn₃ and Zn₄ respectively and four levels of seed inoculation (no seed inoculation, inoculation with Azotobacter, Azospirillum and Pseudomonas as B₀, B₁, B₂ and B₃ respectively

افزایش داد. بگوم و همکاران (Begum et al., 2003) گزارش کردند کاربرد روی در برنج تعداد پنجه بارور، تعداد دانه در خوشه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیکی، محتوای پروتئین و غلظت عنصر روی را در دانه و اندام

سادانا و نایر (Sadana and Nayyar, 1991) اظهار داشتند که مصرف خاکی و محلول پاشی گندم با استفاده از کودهای ریز مغذی، رشد و عملکرد گندم را نسبت به شاهد افزایش داده و مقدار این عناصر در دانه و کاه را

جوانه‌زنی در شرایط متغیر محیطی دارند (Lee, 2000). تحت شرایط تنش و اثر هورمون‌های گیاهی معمولاً این آنزیم‌ها افزایش می‌یابند (Sharma *et al.*, 2005). پراساد (Prasad, 1984) اعلام کرد که کمبود روی فعالیت چندین آنزیم از جمله فسفاتاز، الکل دی هیدروژناز، دیمیدین کیناز، کربوکسی پپتیداز، DNA و RNA پلی‌مراز را کاهش می‌دهد. مطالعه اثر تلقیح با سویه‌هایی از باکتری‌های سودوموناس و آزوسپریلیوم نشان داد این باکتری‌ها از طریق تثبیت نیتروژن، تولید تنظیم‌کننده‌های رشدی مانند اکسین، افزایش پروتئین‌های محلول و نیز بهبود فعالیت آنزیم‌هایی مانند اسید فسفاتاز و پراکسیداز، می‌توانند عملکرد و اجزای عملکرد را در گندم افزایش دهند (Shaukat *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری کل

افزایش سطوح نانو اکسید روی و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، میزان روی، پروتئین دانه و افزایش نقل و انتقال مواد به دانه شده و سرعت و طول دوره پر شدن دانه را افزایش داد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی، میزان روی، پروتئین دانه و صفات وابسته به رشد دانه در ترکیب تیماری تلقیح بذر با آزوسپریلیوم × محلول پاشی ۱ گرم در لیتر نانو اکسید روی و کم‌ترین آن‌ها در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری و عدم محلول پاشی (شاهد) برآورد گردید. به نظر می‌رسد تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و محلول پاشی با نانو اکسید روی با افزایش میزان روی و پروتئین دانه موجب افزایش کیفیت بذور حاصله می‌گردد.

هوایی افزایش داد. عزیززاده فیروزی و همکاران (Aziz Zadeh Firozi *et al.*, 2004) گزارش نمودند کاربرد روی موجب افزایش روی، آهن و پروتئین در دانه گندم گردید و مقدار آن‌ها به ترتیب ۴۴/۷۲، ۴۲/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۱۹/۶٪ نسبت به شاهد افزایش یافتند. افزایش درصد پروتئین دانه با کاربرد سولفات روی و پتاسیم تا ۱۴/۳۳٪ نیز توسط ملکوتی و ثوابی (Malakote and Savagebi, 2000) گزارش شده است. در آزمایش دیگری مصرف ۴۰ کیلوگرم سولفات روی در هکتار در مزارع آبی علاوه بر افزایش ۲۰ درصدی تولید، غلظت روی در دانه و کلش را افزایش داده و درصد پروتئین دانه از ۱۰/۶ به ۱۴٪ افزایش داد (Malakote, 1998). با توجه به قطر نانو ذرات، انتظار می‌رود سرعت جذب، انتقال و تجمع ذرات نانو بسیار بیشتر از ذرات معمول باشد و بالا بودن کارایی جذب و سطح مخصوص نانو ذرات در مقایسه با ذرات معمول، می‌تواند اثر گذاری بیشتر این ذرات را توجیه نماید (Monica and Cremonini, 2009). صالحی و طهماسبی (Salehi and Tamaskoni, 2008) برتری ذرات نانو را به حلالیت بیشتر، سبک و کوچک بودن و شانس برخورد بیشتر این ذرات با گیاه نسبت دادند.

فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی دانه

با افزایش غلظت محلول پاشی نانو اکسید روی، فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در دانه افزایش یافت. بیش‌ترین فعالیت این آنزیم ($1/35 \text{ n mol/min}$) در ترکیب تیماری ۱ گرم بر لیتر نانو اکسید روی در تلقیح بذر با آزوسپریلیوم و کم‌ترین آن ($0/46 \text{ n mol/min}$) در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۵). آنزیم‌های فسفاتاز نقش فیزیولوژیک مهمی را در سازگاری بذرهای در حال

Reference

منابع

- Abasspour, S. 2012.** Effects of nitrogen rates and seed priming by plant growth promoting rhizobacteria on yield and some agronomic traits in *Triticale*. (In Persian, with English Abstract.) MSc thesis of agronomy, Univ. Mohaghegh Ardabili, 126 pp
- A'Ivaroa, F., J. Isidrob, D. Villegasa, L. del Moralb, and C. Royo. 2008.** Breeding effect on Grain filling, biomass partitioning, and remobilization in Mediterranean durum wheat. *Agron J.* 100: 361-370.
- AOAC, 2002.** Official methods of analysis. 17th Ed. Assoc. Official Analytical Chemists. Arlington. VA. USA.
- Aziz Zadeh Firozi, F., M. Bahmanyar., A. Momeni, and A.Gasempour.2004.** Effects of potassium and zinc fertilizers on agronomic traits and content of zinc, iron and phosphor in two wheat cultivars. (In Persian, with English Abstract.) 10th Soil Sci. Congr. in Iran. Karaj.
- Banerjee, M., R.L.Yesmin, and J.L. Vessey. 2006.** Plant-growth-promoting rhizobacteria as bio fertilizers and bio pesticides., PP. 137-181. In: Handbook of microbial bio fertilizers. Ed., Rai, M., K., Food production Press, U.S.A.
- Baybordi, A. 2007.** Role of Zinc in Plant Nutrition. (In Persian.) Parivar press. 179 pp
- Begum, M., M. Noor, H. Miah, and M.D. Mainul Basher. 2003.** Effect of rate and method of zinc application on growth and yield of aus Rice. *Pakistan J. Biol. Sci.* 6 (7): 688-692.
- Cakmakci, R., M. Erat, U.G. Erdoman, and M.F. Donmez. 2007.** The influence of PGPR on growth parameters, antioxidant and pentose phosphate oxidative cycle enzymes in wheat and spinach plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 170: 288-295.
- Chakmak, I., H. Ekiz, A. yilmaz, B. Torun, and H.J. Braun. 1996.** Zinc deficiency as a criticale problem in wheat production in central anatolia. *Plant Soil.* 180: 165-172.
- Devlin, R.M., and F.H. Withan. 1983.** Plant physiology. 4th Ed. Wadsworth Publishing Company. A division of wadsworth. Inc. Belmont, California.
- Ellis, R.H., and C. Pieta-Filho. 1992.** The development of seed quality in spring and winter cultivars of barley and wheat. *Seed Sci. Res.* 2: 19-25.
- Gilick, B.E., D. Penrose, and M. Wenbo. 2001.** Bacterial promotion of plant growth. *Biotechnol. Adv.* 19: 135-138.
- Glick, B.R., D.M. Penrose, and L.I. Jiping. 1998.** A model for the loweiring of plant ethylene concentration by plant growth – promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190: 63-68.
- Goshchi, F.2000.** *Triticale*. Islamic Azad University, (In Persian.) Varamin Branch press.76 pp.
- Hassanein, M.S., and M.A. Ahmed. 1996.** Growth and yield response of two soybean cultivars to some micronutrients. *Annu. Agric. Sci.* 34: 1389-1403.
- Hemantaranjan, A., and O.K. Grag. 1988.** Iron and zinc fertilization with reference to the grain quality of *Triticum aestivum* L. *J. Plant Nutr.* 11: 1439-1450.
- Kato, T. 1989.** Relationship between grain filling process and sink capacity in rice. *Jpn. J. Breed.* 39: 431-438.
- Kato, T. 1999.** Genetic environmental variations and association of the characters related to the grain filling processing rice cultivars. *Plant Prod. Sci.* 2 (1): 32-36.
- Kisiel, R.D., D. Borzacka, and D. Kaliszewicz. 1998.** Effect of nitrogen and copper fertilizer application on yield and direct production costs of wheat. *Acta Acad. Agric. Tech. Olstensis Econ.* 31: 33-45.
- Kumari, S.L., and G. Valarmathi. 1998.** Relationship between grain yield grain filling rate and duration of grain filling in rice. *Madras Agric. J.* 85: 210-211.
- Lee, T.M. 2000.** Phosphate starvation induction of acid Phosphatase in *Ulva lactuca* L. *Bot. Bull. Acad.* 39: 29-32.
- Malakote, M. 1998.** Optimal Application of Chemical Fertilizers. (In Persian with English Abstract.) Tarbiat Moddares press. 68 pp.

- Malakote, M.J., and G. Savagebi. 2000.** Practical methods for decreasing of phytic acid in wheat in order to improve the quality. Res. Inst. Soil Water, Vol 99.
- Malakouti, M.J., and M.M. Tehrani. 2000.** Effects of micronutrients on the yield and quality of agricultural products. Micro-nutrients with macro-nutrients. (2nd edition). Tarbiat Modarres Univ. Press 43. 299 pp.
- Marschner, H. 1995.** Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press, Boston, USA. 889 pp.
- Mishra, M., A.K. Patjoshi, and D. Jena. 1998.** Effect of biofertilization on production of maize (*Zea mays*). Indian J. Agron. 43: 307–310.
- Mohamad, W., M. Ighbal, and S.M. Shal. 1990.** Effect of mode of application to zinc and iron on yield of wheat. J. Agric. 6: 615- 618.
- Monica, R.C. and R. Cremonini. 2009.** Nano particles and higher plants. Caryologia. 62: 161-165.
- Nieto, K.F., and W.T. Frankenberger. 1991.** Influence of adenine, isopentyl alcohol and *Azotobacter chroococcum* on the vegetative growth of *Zea mays*. Plant Soil. 135: 213-221.
- Pan, S.M., and Y.R. Chen. 1988.** The effects of salt stress on acid phosphatase activity of *Zea mays* seedling. Agron. J. 29: 33-38.
- Prasad, A.S. 1984.** Discovery and importance of zinc in human nutrition. Feed Products. 43: 2829-2834.
- Rondanini, D., R. Savin, and A.J. Hall. 2004.** Dynamic of fruit growth and oil quality of sunflower (*Helianthus annuus* L.) exposed to brief interval of high temperature during grain filling. Field Crop Res. 83: 79-90.
- Rose, L.A., W.L. Feltion, and L.W. Banks. 2002.** Responses of four soybean variations to foliar zinc fertilizer. Aust J. Exp. Agric. Animal Husbandry. 21: 236-240.
- Rudresha, D.L., M.K. Shivaprakasha, and R.D. Prasad. 2005.** Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Appl. Soil Ecol. 28: 139–146.
- Sadana, U.S., and V.K. Nayyar. 1991.** Response of wheat on manganese deficient soils to the method and rates of manganese sulphate application. Fert. News. 36: 55-57.
- Salehi, M., and F. Tamaskoni. 2008.** Effect nanocid at seed treatment on germination and seedling growth of wheat under salinity. Seed Sci. Technol., 2: 204-209.
- Sharma, A.D., M. Thakur, M. Rana and K. Singh. 2004.** Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphates activities in *Sorghum bicolor* L. Moench seeds. Afr. J. Biotechnol. 6: 308-312.
- Sharma, A.D., N. Singh, and J.K. Kong. 2005.** Short-term water logging-induced changes in phosphatase activities in shoots and roots of sorghum seedling: role of phosphatase during water logging in relation to phosphorus. Plant Physiol. 31: 71-79.
- Shaukat, K., S. Affrasayab, and S. Hasnain. 2006.** Growth response of *Triticum aestivum* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. Res. J. Microbiol. 1(4): 330-338.
- Takkar, P.N., and V.K. Nayar. 1990.** Response of wheat grain grown on manganese deficient soil on method and rate of manganese sulphate application. Fert. News. 36: 55-57.
- Takker, P.N., and C.D. Walker. 1993.** The distribution and correction of zinc deficiency. In: Robson, A.D. (ed). Zinc in soil and plants. Kluwer. Academic Publisher, Dordrech, Netherland, PP: 151-166.
- Yilmaz, A., H. Ekiz, B. Torun., I. Guttekin., S. Karanlik., S.A. Baggi, and I. Cakmak. 1997.** Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat cultivars grown on zinc deficient calcareous soils. J. Plant Nutr. 20: 461-471.
- Zemrany, H.El., J. Cortet, M.P. Lutz., A. Chabert., E.K. Baudoin., J. Haurat., N. Maughan., D. Fe´ Lixf., G. De´ fago, R. Bally, and Y. MoeNne-Loccoz. 2006.** Field survival of the phytostimulator *Azospirillum lipoferum CRT1* and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal indicators in a context of decreasing nitrogen fertilization. Soil Biol. Biochem. 38: 1712–1726.

