نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲، ص. ۳۱۷-۳۰۸

Agroecology
Vol. 5, No. 3, Fall 2013, p. 308-317

بررسی عملکرد کمی و کیفی و برخی خصوصیات زراعی آفتابگردان (*Helianthus annus* L.) در پاسخ به تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در سطوح مختلف نیتروژن

حمید نظرلی[۱] و رئوف سید شریفی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۴/۳۱

چکیده

به‌منظور بررسی عملکرد کمی و کیفی و برخی خصوصیات زراعی آفتابگردان (*Helianthus annus* L.) در پاسخ به تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در سطوح مختلف نیتروژن، آزمایشی در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل کود نیتروژنه در سه سطح (صفر، ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار) از منبع اوره و تلقیح بذر با باکتری محرک رشد در چهار سطح (عدم تلقیح، تلقیح بذر با *ازتوباکتر کروکوکوم* استرین ۵، *آزوسپریلوم لیپوفروم* استرین OF و *سودوموناس* استرین ۱۸۶) بودند. نتایج نشان داد که کود نیتروژنه و باکتری‌های محرک رشد تأثیر معنی‌داری بر روی همه صفات مورد بررسی بجز وزن هزار دانه و قطر ساقه داشت. با افزایش سطوح کود نیتروژنه و کاربرد باکتری‌های محرک رشد عملکرد دانه، ارتفاع بوته، قطر طبق، تعداد دانه در طبق، درصد و عملکرد روغن، درصد و عملکرد پروتئین افزایش یافت. واکنش عملکرد دانه به تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و سطوح کود نیتروژنه یکسان نبود. بیشترین عملکرد به مصرف ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و تلقیح بذر با *ازتوباکتر* تعلق داشت. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که عملکرد دانه در ترکیب‌های تیماری $N_{۱۶۰}$ × عدم تلقیح با باکتری و $N_{۸۰}$ × تلقیح بذر با *ازتوباکتر* اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. بنابراین به منظور افزایش عملکرد دانه در شرایط اقلیمی اردبیل می‌توان پیشنهاد نمود که تلقیح بذر آفتابگردان با *ازتوباکتر* در سطح کودی ۸۰ کیلوگرم در هکتار به کار برده شود.

واژه های کلیدی: *ازتوباکتر*، درصد روغن، *سودوموناس*، کودهای زیستی، نیتروژن

مقدمه

افزایش روز افزون جمعیت جهان در چند دهه اخیر، محدودیت شدید منابع انرژی غذایی را به دنبال داشته است، در این راستا روغن های خوراکی وکنجاله‌های مقوی پروتئینی که حاصل فرایند روغن کشی هستند، بخشی از غذای روزانه انسان و دام را تشکیل می‌دهند ضمن آنکه از مصارف صنعتی و دارویی نیز برخوردار هستند.

آفتابگردان (*Helianthus annus* L.) یکی از مهمترین دانه های روغنی است که به دلیل مقاوم بودن در برابر خشکی، سازگاری با شرایط مختلف اقلیمی و خاکی، بالا بودن کیفیت روغن، سالانه در سطح وسیعی از کشور کشت می‌شود (Seyed Sharifi, 2010). این گیاه پر نیاز و کود پذیر بوده و در طول دوره رشدی خود مقادیر قابل توجهی عناصر غذایی از جمله نیتروژن از خاک برداشت می‌کند. نیتروژن از مهمترین عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد و تولید در گیاهان می باشد. کمبود آن در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور بیش از دیگرکودها مطرح می‌باشد، زیرا در این مناطق میزان مواد آلی خاک که عمده‌ترین منبع برای تأمین نیتروژن هستند، به دلایل مختلف از جمله بارندگی کم، تناوب زراعی نامناسب، پوشش گیاهی ناچیز و عدم مصرف کودهای دامی و کود سبز کم است. این مشکل بایستی با استفاده از کودهای نیتروژنی برطرف شود. بررسی‌های امام و همکاران (Emam et al., 2010) نشان داد که با افزایش نیتروژن مصرفی، درصد پروتئین، عملکرد دانه و بیولوژیک افزایش یافت. گلچین (Golchin, 2002) گزارش نمود که با افزایش مصرف نیتروژن، عملکرد دانه و تعداد دانه در طبق افزایش یافت. ماجدی و خادمی (Majedi & Khademi, 1999) اعلام کردند که در مقادیر بالاتر کود نیتروژنه، تعداد دانه در طبق و وزن هزار دانه بیشتر شد. این در حالی است که اشینر و همکاران (Scheiner et al., 2002) اظهار داشتند که مصرف زیاد نیتروژن، عملکرد کمی را به دلیل افزایش رشد رویشی و کیفیت دانه‌ها را به دلیل کاهش درصد روغن تحت تأثیر

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی
(*- نویسنده مسئول: Email: Raouf_ssharifi@Yahoo.com)

قرار می‌دهد. استیر و سیلر (Steer & Seiler, 1990) نیز کاهش درصد روغن را با کاربرد زیاد کودهای نیتروژنه گزارش کردند.

امروزه مشکلات زیست محیطی ناشی از کاربرد زیاد کودهای شیمیایی به خصوص کود نیتروژنی، انرژی و هزینه‌های تولید و مصرف آنها موجب شده است که گرایش به نظام‌های کشاورزی پایدار و ارگانیک بیش از پیش احساس شود. استفاده بالقوه از میکروارگانیزم‌های مفید خاکزی همانند باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] یکی از شیوه‌های بیولوژیکی برای افزایش کمی و کیفی تولید است که می‌توانند با روش‌های مختلف موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه شوند (Alikhani & Saleh Rastin, 2000). این گروه از باکتری‌ها به‌طور طبیعی در خاک‌ها وجود دارند، ولی تعداد و تراکم آن‌ها در خاک پایین است، بنابراین، تلقیح بذرهای گیاهان با این باکتری‌ها می‌تواند جمعیت آن‌ها را به حد مطلوب رسانده و در نتیجه منجر به بروز اثر مفید آن‌ها در خاک گردند (Cakmakci et al., 2007a). نتایج بررسی‌های اکبری و همکاران (Akbari et al., 2010) در آفتابگردان نشان داد که بذرهای تلقیح شده با باکتری‌های افزاینده رشد نسبت به بذرهای بدون تلقیح از افزایش نه درصدی عملکرد دانه برخوردار بودند. روستی و همکاران (Roesti et al., 2006) علت احتمالی افزایش عملکرد در پیش تیمار بذر با باکتری‌ها به افزایش جذب مواد غذایی قابل دسترس، افزایش سلامتی ریشه در طول دورهٔ رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه نسبت دادند. اکبری و همکاران (Akbari et al., 2010) گزارش کردند که در بذرهای تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد، درصد روغن نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافت ضمن انکه عملکرد بیولوژیک نیز از افزایش هشت درصدی در چنین حالتی نسبت به عدم تلقیح برخوردار بود. چاندراسکا و همکاران (Chandrasekar et al., 2005) افزایش ارتفاع ارزن (*Pennisetum camericaum* L.) را بر اثر تلقیح با *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* همراه با کاربرد اوره گزارش دادند. زاهیر و همکاران (Zahir et al., 2000) افزایش ۵/۸ درصدی ارتفاع بوته ذرت را به واسطه تلقیح آن با *ازتوباکتر* و *سودوموناس* گزارش نمودند. آنان تولید اسید ایندول-۳- استیک به وسیله سویه‌های مختلف باکتری‌های جنس *ازتوباکتر* را عامل افزایش قابل ملاحظه در رشد و عملکرد گزارش کردند. کادر و همکاران (Kader et al., 2002) تلقیح بذر با *ازتوباکتر* در سطوح مختلف کود نیتروژن را بر ارتفاع نهایی بوته مثبت و معنی‌دار ارزیابی نمودند. باداوی و آمر (Badawy & Amer, 1977) نیز به افزایش ۲۴ درصدی ارتفاع بوته به واسطه تلقیح بذر با *ازتوباکتر* اشاره نمودند. شوکت و ال خواز (Shehata & EL- Khawas 2003) افزایش معنی‌دار درصد روغن آفتابگردان را با کاربرد باکتری های محرک رشد گزارش نمودند. شوکت و همکاران (Shaukat et al., 2006) بیشترین درصد روغن آفتابگردان را در تلقیح بذر با باکتری *ازتوباکتر* (۳۰/۳۵ درصد) و *سودوموناس* (۲۷ درصد) گزارش نمودند. بررسی‌های سلیمان‌زاده و همکاران (Soleimanzadeh et al., 2010) در خصوص تأثیر تلقیح بذر آفتابگردان با *ازتوباکتر* در سطوح مختلف نیتروژن نشان داد که بذرهای تلقیح شده با *ازتوباکتر* نسبت به بذرهای تلقیح نشده دارای هفت درصد عملکرد روغن بیشتری بودند. ضمن آن‌که ارتفاع بوته، تعداد دانه در طبق و عملکرد دانه و بیولوژیک در اثر تلقیح با *ازتوباکتر* نسبت به عدم تلقیح از افزایش معنی‌داری برخوردار بود. شاتا و همکاران (shata et al., 2007)افزایش ۱۵ درصدی عملکرد بیولوژیک را در تیمار ۵۰ درصد کود شیمیایی همراه با کود آلی و زیستی گزارش کردند. فاکس و آرساک (Fages & Arsac, 1991) در آزمایش تأثیر کود زیستی بر پارامترهای رشدی و عملکرد آفتابگردان اظهار داشتند که کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد در مقایسه با تیمار شاهد منجر به افزایش عملکرد دانه، میزان روغن و پروتئین دانه شد. در این راستا، تلاش شده است تا عملکرد کمی و کیفی و برخی خصوصیات زراعی آفتابگردان در پاسخ به تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR در سطوح مختلف نیتروژن در شرایط اقلیمی اردبیل مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۰ دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی با ارتفاع ۱۳۵۰ متر در سال زراعی ۸۹- ۱۳۸۸ اجرا گردید. اقلیم محل اجرای آزمایش از نوع نیمه خشک سرد می‌باشد. متوسط بارش سالیانه آن بر اساس آمار ۳۰ ساله هواشناسی بین ۳۰۰-۲۸۰ میلی‌متر متغیر است. متوسط دما و میزان بارندگی در طول فصل رشد در جدول ۱ و نتایج حاصل از خصوصیات خاکی محل اجرای آزمایش در جدول ۲ آورده شده است.

عملیات تهیه زمین شامل شخم بهاره، دیسک و تسطیح بود. هر واحد آزمایشی شامل پنج ردیف پنج متری با فاصله بین ردیفی ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر بود. کاشت بذر در عمق پنج سانتی‌متری، به صورت هیرم‌کاری و به طریقه دستی و با کشت دو بذر در هر کپه در تاریخ ۳۱ اردیبهشت ماه انجام شد. در مرحله چهار برگی نسبت به تنک کردن مزرعه اقدام گردید. در طول دوره رشد هیچ علف‌کش و آفت‌کشی مورد استفاده قرار نگرفت. آبیاری بر اساس شرایط محیطی و نیاز گیاه زراعی انجام گرفت. کود نیتروژنه از منبع اوره در سه مرحله (هم‌زمان با کاشت، مرحله ۸-۶ برگی و مرحله رویت طبق) به‌کار برده شد. رقم مورد استفاده مستر بود که از مرکز تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل کود نیتروژنه در سه سطح (صفر، ۸۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار) از منبع اوره و باکتری-های محرک رشد در چهار سطح (عدم تلقیح، بیوتلقیح بذر با *ازتوباکتر کروکوکوم* استرین ۵، *آزوسپریلوم لیپوفروم* استرین OF و *سودوموناس*

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

استرین ۱۸۶) بودند.

جدول ۱- متوسط دما و میزان بارندگی ماهانه منطقه مورد آزمایش طی فصل رشد در سال ۱۳۸۹

Table 1- Minimum and maximum temperatures and rainfall recorded during the period of experiment in 2010

ماه‌های سال	میانگین حداکثر دما (درجه سانتی‌گراد) Mean of maximum temperature (°C)	میانگین حداقل دما (درجه سانتی‌گراد) Mean of minimum temperature (°C)	میانگین ماهانه دما (درجه سانتی‌گراد) Mean of monthly (°C)	میانگین بارندگی ماهانه (میلی‌متر) Mean of rainfall (mm)
خرداد	36.97	10.42	26.55	0.48
تیر	40.25	12.19	28.06	0.2
مرداد	39.9	10.68	29.22	0.09
شهریور	37.47	10.41	27.06	0.58

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 2- Soil physico-chemical properties at experimental field

عمق نمونه برداری (سانتی متر) Sampling depth (cm)	درصد اشباع Saturation percentage (%)	آهک (درصد) Lime (%)	بافت (درصد) Texture (%)	کربن (درصد) Carbon (%)	نیتروژن کل (درصد) Nitrogen (%)	فسفر قابل جذب (پی‌پی ام) Available phosphorus (ppm)	پتاسیم قابل جذب (پی‌پی ام) Available potassium (ppm)
0-30	46	18.06	سیلتی- لومی	1.71	0.11	20	700

این باکتری‌ها بومی خاک‌های کشور بوده و مایه تلقیح آن‌ها از بخش تحقیقات بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. برای تلقیح بذرها میزان هفت گرم مایه تلقیح که هر گرم آن دارای 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بود، استفاده گردید. همچنین از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها به نسبت۱۰ درصد وزنی حجمی استفاده شد. برای اندازه‌گیری روغن از روش سوکسله و به کمک حلال آلی متانول-کلروفرم (Joshi, et al., 1998) و پروتئین دانه از روش کجلدال استفاده گردید. عملکرد روغن از حاصل ضرب درصد روغن در عملکرد دانه و عملکرد پروتئین دانه با ضرب کردن درصد پروتئین در عملکرد دانه برآورد گردید. عملکرد دانه از سطحی معادل یک متر مربع از خطوط اصلی هر کرت بعد از حذف اثر حاشیه‌ای برآورد گردید. برای برآورد اجزای عملکرد و برخی دیگر از صفات از جمله قطر ساقه، وزن هزار دانه، تعداد دانه در طبق، ارتفاع بوته و قطر طبق از خطوط اصلی هر کرت با رعایت اثر حاشیه هشت بوته به صورت تصادفی واز بین بوته‌های رقابت‌کننده برداشت و میانگین داده‌های حاصل به‌عنوان ارزش آن صفت در تجزیه واریانس مورد استفاده قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها به ترتیب از نرم افزارهای SAS ver 9.2 و Excel استفاده کردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تأثیر نیتروژن و باکتری‌های محرک رشد برعملکرد، اجزای عملکرد و برخی خصوصیات زراعی آفتابگردان در جدول ۳ نشان داد که سطوح مختلف نیتروژن، بیوتلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و اثر ترکیب تیماری این دو عامل بر بیشتر صفات مورد بررسی به جزء وزن هزار دانه و قطر ساقه تأثیر معنی‌داری ($p\leq۰/۰۱$) داشت.

تعداد دانه در طبق

با افزایش سطوح نیتروژن، تعداد دانه در طبق افزایش یافت. تعداد دانه در طبق در بذور تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد نسبت به عدم تلقیح به طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($p\leq۰/۰۱$) (جدول ۴). بیشترین تعداد دانه در طبق (۱۰۵۰/۶ دانه در طبق) از ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × *ازتوباکتر* و کمترین آن (۷۷۵/۶ دانه در طبق) از ترکیب تیماری N_0 × عدم تلقیح بذر با باکتری بدست آمد (جدول ۵). این افزایش حدود ۲۶/۱۷درصد نسبت به شاهد می‌باشد. سلیمان-زاده و همکاران (Soleimanzadeh et al., 2010) نتایج مشابهی را گزارش کردند. آن‌ها افزایش تعداد دانه در طبق را در اثر تلقیح بذر با *ازتوباکتر* هفت درصد گزارش نمودند. حسن‌زاده و همکاران (Hassan Zadeh et al., 2008) افزایش ۱۷ درصدی تعداد دانه در سنبله جو را تحت تأثیر باکتری محرک رشد برآورد نمودند. رجایی و همکاران (Rajaee et al., 2007) در بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) تلقیحی با *ازتوباکتر* اظهار داشتند که در تلقیح بذر با *ازتوباکتر* با وجود اینکه بین مقایسه میانگین ترکیبات تیماری اختلافاتی وجود داشت هر چند که این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

قطر طبق

به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر فاکتورهای مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). در بین سطوح کود نیتروژنه مصرف ۱۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بیشترین افزایش را نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × *ازتوباکتر* دارای بیشترین قطر طبق (۳۱/۸ سانتی‌متر) و ترکیب تیماری N_0 × عدم تلقیح بذر با باکتری دارای کمترین قطر طبق (۲۰/۹۳ سانتی‌متر) بود (جدول ۵). احمد و همکاران (Ahmed et al., 2010) افزایش قطر طبق را در استفاده از کودهای بیولوژیک نسبت به شاهد گزارش نمودند. سلیمان زاده و همکاران (Soleimanzadeh et al., 2010) اثر باکتری و اثر متقابل باکتری در سطوح نیتروژن را بر قطر طبق نسبت به شاهد غیرمعنی‌دار گزارش کردند. این در حالی است که شاوکت و همکاران (Shaukat et al., 2006) تأثیر باکتری‌های محرک رشد را بر قطر طبق آفتابگردان معنی‌دار گزارش نمودند.

درصد و عملکرد روغن

افزایش روغن از اهداف اصلی تولید دانه‌های روغنی است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) حاکی از آن است که درصد روغن تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت. اثر ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × *ازتوباکتر* بیشترین محتوی روغن (۵۲/۴۷ درصد) و ترکیب تیماری N. × عدم تلقیح بذر با باکتری کمترین محتوی روغن (۴۱/۰۲ درصد) را نشان داد (جدول ۵). تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد تأثیر مثبت و معنی‌داری در افزایش روغن آفتابگردان داشت (Kasem & EL-Mesilby, 1992). استیر و سیلر (Steer & Seiler, 1990) گزارش کردند که با افزایش کاربرد نیتروژن، درصد روغن بذر کاهش می‌یابد. در حقیقت رابطه منفی بین افزایش نیتروژن و درصد روغن وجود دارد. در این آزمایش به نظر می‌رسد که مقدار کود نیتروژنه در حدی نبود که بتواند درصد روغن را کاهش دهد. بررسی اکبری و همکاران (Akbari et al., 2010) نشان داد که در تیمار تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد درصد روغن نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح) افزایش یافته است. شهاتا و ال-خاواس (Shehata & El-Khawas, 2003) افزایش معنی‌دار درصد روغن آفتابگردان را با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گزارش نمودند. شاوکت و همکاران (Shaukat et al., 2006) در تلقیح باکتری‌های محرک رشد با بذر آفتابگردان به این نتیجه رسیدند که درصد روغن در بیشتر سویه‌های باکتری‌های به‌کار برده شده افزایش یافت.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه آفتابگردان در مقادیر مختلف کود نیتروژنه و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد

Table 3- Analysis of variance studied characteristics in various levels of nitrogen fertilizer and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	عملکرد دانه Grain yield	وزن هزار دانه 1000-grain weight	قطر ساقه Stem diameter	ارتفاع بوته Plant height	قطر طبق Head diameter	درصد روغن Oil percentage	عملکرد روغن Oil yield	درصد پروتئین Protein percentage	عملکرد پروتئین Protein yield
تکرار Replication	2	427760.091**	3.04^{ns}	4.41^{ns}	1.86^{ns}	1.97*	6.24^{ns}	6930.404^{ns}	0.38^{ns}	2615.97^{ns}
نیتروژن Nitrogen fertilizer (A)	2	1853991.14**	1.21^{ns}	5.04^{ns}	954.1**	121.5**	110.99**	906316.753**	13.05*	165377.61**
باکتریهای محرک رشد Growth promoting rhizobacteria (b)	3	1113112.052**	2.79^{ns}	10.9^{ns}	83.78**	23.83**	25.41**	95846.731^{ns}	5.46**	29464.62**
A×B	6	370427.25**	1.59^{ns}	5.1^{ns}	213.15**	30.46**	28.104**	192205.773**	4.88**	37601.26**
خطا Error	22	1961.156	1.705	3.95	7.16	0.436	5.73	4215.391	0.29	453.18

^{ns}، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

* and **: are significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر کود نیتروژنه و تلقیح بذر با باکتری های محرک رشد بر عملکرد و صفات مورد بررسی در آفتابگردان

Table 4- Mean comparison of the effect of nitrogen fertilizer in seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on yield and some characteristics of sunflower

عملکرد پروتئین (کیلوگرم در هکتار) Protein yield ($kg.ha^{-1}$)	پروتئین (٪) Protein percentage (%)	عملکرد روغن (کیلوگرم در هکتار) Oil yield ($kg.ha^{-1}$)	روغن (%) Oil percentage (%)	قطر طبق (سانتی‌متر) Head diameter (cm)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	دانه در طبق Seed per head	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Grain yield ($kg.ha^{-1}$)	فاکتورها Factors
571.29 c	21.27 b	1175.7 c	43.76 c	22.32 c	157.65 c	804.1 c	2683.61 c*	عدم مصرف کود No fertilizer application
686.89 b	21.68 b	1464.95 b	46.24 b	23.56 b	167.51 b	937.151 b	3165.71 b	۸۰ سطوح کود نیتروژن 80 $kg.ha^{-1}$
806.072 a	23.25 a	1725.14 a	49.81 a	28.35a	175.47 a	1031.284 a	3462.42 a	۱۶۰کیلوگرم در هکتار 160 $kg.ha^{-1}$
633.92 c	21.2 c	1333.74 c	44.48 b	22.73 d	162.44 b	896.964 c	2978.84 c	No inoculationعدم تلقیح
754.94 a	23.09 a	1585.31 a	48.6a	26.55 a	169.3 a	953.19 a	3248.07 a	ازتوباکتر *Azotobacter*
683.32 b	21.94 b	1461.81 b	46.74 ab	24.27 c	168.32 a	926.65 b	3110.12 b	آزوسپریلیوم *Azospirillum*
680.16 b	22.03 b	1440.2 b	46.6 ab	25.43 b	167.44 a	919.91 b	3078.61 b	سودوموناس *Psedomunas*

* میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم برای براساس آزمون LSD ندارند ($P\leq 0.05$).

* Means with similar letters in each column have not significantly different based on LSD test ($P\leq 0.05$)

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح مختلف کود نیتروژنه در تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات در آفتابگردان

Table 5- Mean comparison of the effect of nitrogen fertilizer in seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on some characteristics of sunflower

عملکرد پروتئین (کیلوگرم در هکتار) Protein yield (kg.ha^{-1})	محتوی پروتئین (%) Protein content (%)	عملکرد روغن (کیلوگرم در هکتار) Oil yield (kg.ha^{-1})	محتوی روغن (%) Oil content (%)	قطر طبق (cm) Head diameter (cm)	ارتفاع بوته (cm) Plant height (cm)	تعداد دانه (عدد در طبق) Seed number (No.head^{-1})	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Grain yield (kg.ha^{-1})	باکتری Bacteria	کود Fertilizer
524.37g	20.34e	1057.20i	41.02e	20.93h	152.87g	775.6f	2577.3h*	عدم تلقیح No Inoculation	عدم مصرف کود No fertilizer application
607.21ef	21.65cd	1295.24fg	46.26cd	23.13gh	156.93fg	835.36e	2803.93f	ازتوباکتر *Azotobacter*	
575.58f	21.65cd	1160.39hi	43.78e	21.96gh	158.93ef	806.27ef	2657.07g	ازوسپیرلیوم *Azospirillum*	
578.01f	21.43cd	1189.96gh	44.13de	23.26f	161.90de	799.18f	2695.94g	سودوموناس *Pseudomonas*	
633.27e	21.21de	1343.17f	45.00cde	22.06gh	164.10cd	891.43d	2984.56e	عدم تلقیح No inoculation	80 kg.ha^{-1}
735.63c	22.04bcd	1572.86cd	47.13bcd	24.66de	170.00b	973.62b	3336.93c	ازتوباکتر *Azotobacter*	
695.45d	21.71cd	1488.54de	46.46bcd	23.56ef	167.16bc	948.02bc	3202.18d	ازوسپیرلیوم *Azospirillum*	
683.25d	21.76cd	1455.23e	46.36bcd	23.95ef	168.77bc	935.54c	3139.15d	سودوموناس *Pseudomonas*	
744.15bc	22.05bcd	1600.85cd	47.43bcd	25.20d	170.36b	10.2387a	3374.45c	عدم تلقیح No inoculation	160 kg.ha^{-1}
921.98a	25.59a	1887.81a	52.47a	31.80a	180.97a	1050.6a	3603.35a	ازتوباکتر *Azotobacter*	
778.95b	22.46bc	1736.50b	50.05ab	27.30c	178.87a	1025.66a	3471.12b	ازوسپیرلیوم *Azospirillum*	
779.21b	22.89b	1675.41bc	49.30abc	29.10b	171.66b	1025.00a	3400.75bc	سودوموناس *Pseudomonas*	

* میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم براساس آزمون LSD در سطح ۱٪ ندارند (p=0.01).

* Means with similar letters in each column have not significantly different based on LSD test (p=0.01).

بیشترین محتوی روغن (۳۰/۳۵ درصد) به *ازتوباکتر* تعلق داشت. همچنین افزایش محتوی روغن در اثر تلقیح سویه‌های مختلف باکتری در این آزمایش نسبت به شاهد بین ۰/۲۷ تا ۱۸ درصد برآورد گردید که به ترتیب به سویه‌هایی از باکتری *سودوموناس* و *ازتوباکتر* مربوط می‌شد (Shaukat et al., 2006). بررسی‌های سلیمان زاده و همکاران (Soleimanzadeh et al., 2010) نشان داد که عملکرد روغن در اثر *ازتوباکتر* به صورت معنی‌داری افزایش یافت؛ به طوری که بذرهای تلقیح شده با *ازتوباکتر* نسبت به بذور تلقیح نشده دارای هفت درصد عملکرد روغن بیشتری بودند. آن‌ها همچنین گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در عملکرد روغن بین ۱۰۰ درصد کود نیتروژنه توصیه شده (۲/۰۱۵ تن در هکتار) و ۷۵ درصد کود نیتروژنه توصیه شده (۱/۹۸۶ تن در هکتارعملکرد روغن) وجود ندارد. بنابراین، با اثر مثبت *ازتوباکتر* برعملکرد روغن می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از کودهای بیولوژیک در افزایش عملکرد روغن آفتابگردان نسبت به کودهای شیمیایی برتری دارد. این نتایج می‌تواند تا اندازه‌ای کشاورزان را در استفاده از کودهای بیولوژیک و به نوعی کشاورزی پایدار ترغیب نماید (Soleimanzadeh et al., 2010).

عملکرد روغن

اثر اصلی و متقابل تیمارهای مورد بررسی عملکرد روغن را نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد (جدول‌های ۴ و ۵). با توجه به این‌که درصد روغن و عملکرد دانه در اثر کاربرد تیمارها افزایش یافت، افزایش عملکرد روغن دور از انتظار نبود. بیشترین عملکرد روغن (۱۸۸۷/۸۱ کیلوگرم در هکتار) مربوط به ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$×*ازتوباکتر*وکمترین آن (۱۰۵۷/۲ کیلوگرم در هکتار) در ترکیب تیماری $N_{۰}$ × عدم تلقیح بذر با باکتری برآورد گردید. البته بین ترکیب‌های تیماری $N_{۱۶۰}$ × عدم تلقیح بذر با باکتری و $N_{۸۰}$ × *ازتوباکتر* اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر در عملکرد روغن وجود نداشت (جدول ۵).

بررسی‌های سلیمان زاده و همکاران (Soleimanzadeh et al., 2010) در خصوص تأثیر تلقیح بذر آفتابگردان با *ازتوباکتر* در سطوح مختلف نیتروژن نشان داد که عملکرد روغن در اثر تلقیح با *ازتوباکتر* به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. به طوری که بذرهای تلقیح شده با ازتوباکتر نسبت به بذور تلقیح نشده دارای هفت درصد عملکرد روغن بیشتری بودند. اثر سطوح کود نیتروژنه بر درصد روغن دانه در این آزمایش معنی‌دار بود. بنابراین، با اثر مثبت *ازتوباکتر* برعملکرد روغن، به نظر می‌رسد که استفاده از کودهای بیولوژیک در افزایش عملکرد روغن آفتابگردان نسبت به کاربرد کودهای شیمیایی مهم باشد.

درصد و عملکرد پروتئین

اثر اصلی نیتروژن و متقابل آن در باکتری‌های محرک رشد بر درصد پروتئین دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). درصد پروتئین دانه در ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × *ازتوباکتر* نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۵). بیشترین درصد پروتئین دانه (۲۵/۵۹ درصد) به ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × *ازتوباکتر* و کمترین آن (۲۰/۳۴ درصد) به ترکیب تیماری N_{0}× عدم تلقیح بذر با باکتری تعلق داشت (جدول ۵). زامبر و همکاران (Zamber et al., 1984) افزایش درصد پروتئین دانه گندم را در اثر تلقیح با *ازتوباکتر* به همراه کود نیتروژن گزارش نمودند. در حالی‌که زاید و همکاران (Zaied et al., 2003)اثر تلقیح ازتوباکتر را بر درصد پروتئین دانه گندم غیرمعنی‌دار گزارش کردند. مستأجران و همکاران (Mostajeran et al., 2005) در آزمایشی گزارش کردند که تلقیح بذر گندم قبل از کشت سبب افزایش درصد پروتئین می‌شود هر چند که میزان این تأثیر با اثر متقابل رقم زراعی و سویه‌های باکتری همبستگی مستقیمی داشت، ولی در همه شرایط، همیاری باکتری محرک رشد و گندم وضعیت بهتری عرضه نمود. رجایی و همکاران (Rajaee et al., 2007) در آزمایشی بر گندم گزارش کردند که در اثر تلقیح بذور گندم با *ازتوباکتر*، درصد پروتئین دانه به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. عملکرد پروتئین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تلقیح بذر با هر یک از باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش عملکرد پروتئین نسبت به تیمار شاهد گردید. بیشترین عملکرد پروتئین دانه (۹۲۱/۹۸ کیلوگرم در هکتار) به اثر ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × *ازتوباکتر* و کمترین آن (۵۲۴/۳۷ کیلوگرم در هکتار) در ترکیب تیماری $N_{۰}$ × عدم تلقیح بذر با باکتری حاصل گردید (جدول ۶).

ارتفاع بوته

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری فاکتورهای مورد بررسی نشان داد که حداکثر ارتفاع بوته (۱۸۰/۹۷ سانتی‌متر) به ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × *ازتوباکتر* و کمترین آن (۱۵۲/۸۷ سانتی‌متر) به ترکیب تیماری $N_{۰}$ × عدم تلقیح بذر با باکتری تعلق داشت (جدول ۶). باکتری‌های محرک رشد می‌توانند ارتفاع گیاه و قابلیت تولید را از طریق سنتز فیتوکروم‌ها، افزایش فراهمی مواد غذایی در یک محل، سهولت جذب مواد غذایی و القای مقاومت سیستماتیک به عوامل بیماری‌زا را افزایش دهند (Burd et al., 2000). چاندرسکا و همکاران (Chandrasekar et al., 2005) افزایش ارتفاع ارزن را بر اثر تلقیح با *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* همراه با کاربرد اوره گزارش دادند. زاهیر و همکاران (Zahir et al., 2000) افزایش ۵/۸ درصدی ارتفاع بوته

ذرت را به واسطه تلقیح آن با *ازتوباکتر* و *سودوموناس* گزارش نمودند. آن‌ها تولید اسید ایندول-۳- استیک به وسیله سویه‌های مختلف باکتری‌های جنس *ازتوباکتر* را عامل افزایش قابل ملاحظه در رشد و عملکرد گزارش کردند. کادر و همکاران (Kader et al., 2002) تلقیح بذر با *ازتوباکتر* در سطوح مختلف کود نیتروژن را بر ارتفاع نهایی بوته مثبت و معنی‌دار ارزیابی نمودند. باداوی و آمر (Badawy & Amer 1977) نیز به افزایش ۲۴ درصدی ارتفاع بوته به واسطه تلقیح بذر با *ازتوباکتر* اشاره نمودند. شایان ذکر است که ارتفاع بوته در ترکیب‌های تیماری $N_{۱۶۰}$ × عدم تلقیح با باکتری و $N_{۸۰}$ × *ازتوباکتر* در یک گروه قرار داشته و از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند (جدول ۵). این نتایج با یافته‌های سلیمان زاده و همکاران (Soleimanzadeh et al., 2010) در مورد تأثیر کود نیتروژنه و *ازتوباکتر* بر ارتفاع آفتابگردان مطابقت داشت.

عملکرد دانه

با افزایش سطوح کود نیتروژنه عملکرد دانه افزایش یافت. روند مشابهی نیز در پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با عدم تلقیح بذر مشاهده گردید. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و سطوح مختلف کود نیتروژنه حاکی از آن است که بیشترین عملکرد دانه (۳۶۰۳/۳۵ کیلوگرم در هکتار) در تلقیح بذر با ازتوباکتر و مصرف۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و کمترین آن (۲۵۷۷/۵ کیلوگرم در هکتار) در حالت عدم تلقیح بذر و بدون مصرف کود نیتروژنه برآورد گردید (جدول ۵). در ضمن عملکرد دانه در ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × عدم تلقیح با باکتری و $N_{۸۰}$ × *ازتوباکتر* اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. این بدان معنی است که با مصرف کم کود نیتروژنه همراه با استفاده از باکتری‌های محرک رشد می‌توان به عملکردی معادل ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × عدم تلقیح رسید به عبارتی به نظر می‌رسد که با این عمل می‌توان با مصرف کم کود شیمیایی ضمن صرفه جویی در هزینه و امکان کاهش آلودگی احتمالی منابع آب زیرزمینی در اثر آبشویی نیترات، به عملکرد قابل قبولی دست پیدا نمود. البته سلیمان زاده و همکاران (Soleimanzadeh et al., 2010) اثر ترکیب تیماری کود نیتروژنه و *ازتوباکتر* را بر عملکرد دانه آفتابگردان غیرمعنی‌دار گزارش کردند. آنان دلیل آن را pH خاک و نبودن زمان کافی برای رسیدن به حداکثر فعالیت *ازتوباکتر* نسبت دادند. به نظر می‌رسد که این افزایش عملکرد ناشی از افزایش جمعیت‌های میکروبی در خاک یا ریزوسفر است که به وسیله ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل دسترس ساختن آن، افزایش حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و افزایش جذب مواد غذایی موجب بهبود رشد گیاه و در نهایت افزایش عملکرد می‌شوند. روستی و همکاران (Roesti et al., 2006) علت افزایش عملکرد توسط باکتری‌های محرک رشد به همراه کود نیتروژنه را به نقش مثبت باکتری در تنظیم و تولید هورمون‌های محرک رشد و توسعه بهتر ریشه گیاه نسبت دادند که با افزایش امکان جذب بیشتر به بهبود عملکرد کمک می‌نماید. نتایج بررسی‌های اکبری و همکاران (Akbari et al., 2010) نشان داد که عملکرد بذرهای تلقیح شده آفتابگردان با باکتری‌های افزاینده رشد نسبت به عملکرد بذرهای بدون تلقیح از افزایش نه درصدی برخوردار بودند. کلوپر و بیجامپ (Kloepper & Beauchamp,1992) گزارش کردند که عملکرد گندم بین ۳۰ تا۴۰ درصد در تلقیح با باکتری‌های محرک رشد افزایش می‌یابد. کلوپر و بیجامپ در مطالعات مختلف (Kloepper et al., 1980a,b) اظهار داشتند که عملکرد گیاهانی همچون برنج (*Oryza sativa* L.)، ذرت (*Zea mays* L.) و نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) در تلقیح با باکتری‌های محرک رشد ۱۰ تا ۳۰ درصد افزایش می‌یابند. زاهیر و همکاران (Zahir et al., 1998) افزایش ۱۹/۸ درصدی عملکرد دانه ذرت را بر اثر تلقیح بذر با باکتری‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپریلوم* گزارش کردند.

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد که کاربرد توأم کود نیتروژنه و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد نسبت به مصرف مداوم کودهای نیتروژنه و یا استفاده منفرد از باکتری‌های محرک رشد بیش‌ترین تأثیر را در بهبود صفات مورد بررسی از جمله عملکرد و اجزای عملکرد دانه داشته است؛ به‌طوری‌که بیشترین عملکرد دانه در تلقیح بذر با ازتوباکتر و مصرف ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و کمترین آن در حالت عدم پرایمینگ بذر و بدون مصرف کود نیتروژنه برآورد گردید، ضمن آنکه عملکرد دانه در ترکیب تیماری $N_{۱۶۰}$ × عدم تلقیح با باکتری و $N_{۸۰}$ × *ازتوباکتر* اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. این بدان معنی است که با مصرف کم کود نیتروژنه همراه با استفاده از باکتری‌های محرک رشد می‌توان به عملکردی معادل ترکیب بالای کود نیتروژنه در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری های محرک رشد دست یافت. به عبارتی، به نظر می‌رسد که با این عمل می‌توان با مصرف کم کود شیمیایی ضمن صرفه جویی در هزینه و امکان کاهش آلودگی احتمالی منابع آب زیرزمینی در اثر آبشویی نیترات، به عملکرد قابل قبولی دست پیدا نمود.

منابع

1- Ahmed, A.G., Orabi, S.A., and Gaballah, M.S. 2010. Effect of bio-N-P fertilizer on the growth, yield and some biochemical components of two sunflower cultivars. International Journal of Aca Research 2(4): 271-277.

2- Akbari1, P., Ghalavand, A., and Modarres Sanavy, S.A.M. 2010. Effects of different nutrition systems and biofertilizer (PGPR) on phenology period yield and yield components of sunflower (*Helianthus annuus* L.).Electronic Journal of Crop Production 2(3): 119-134. (In Persian with English Summary)

3- Alikhani, H., and Saleh Rastin, N. 2000. Necessity of production of bio fertilizers (PGPR) in order to achieve to sustainable agriculture. Articles of industrial production of bio fertilizers in country. Agricultural Education Press,Karaj, Iran 370 pp. (In Persian)

4- Badawy, F.H., and Amer, S.B. 1977. The effect of inoculation with *Azotobacter* on the growth of wheat and tomato plants. Libyan Journal of Agriculture 3: 141-143.

5- Burd, G.I., Dixon, D.G., and Glick, B.R. 2000. Plant growth promoting rhizobacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. Canadian Journal of Microbiology 33: 237-245.

6- Cakmakci, R.I., Donmez, M.F., and Erdogan, U. 2007a. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on barely seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. Turkish Journal of Agriculture 31: 189-199.

7- Chandrasekar, B.R., Ambrose, G., and Jayabalan, N. 2005. Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of *Echinochloa frumentacea* (Roxb) Link. Journal of Agriculture Technology 1: 223-234.

8- Emam, Y., Salimi Koochi, S., and Shekoofa, A. 2010. Effect of nitrogen levels on grain yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.) under irrigation and rainfed conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 7(1): 321-332 (In Persian with English Summary)

9- Fages, J., and Arsac, J.F. 1991. Sunflower inoculation with *Azospirillum* and other Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Plant and Soil 137: 87-90.

10- Golchin, A. 2002. Study of effects of various levels of nitrogen fertilizer on grain yield of sunflower (*Helianthus annnus* L.). Agricultural Research Center Press of Zanjan, Zanjan, Iran 50 pp. (In Persian)

11- Hassan Zadeh, E., Mazaheri, D.,Chaichi, M.R., and Khavazi K. 2008. Efficiency of phosphorus solubilizing bacteria and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of barley cultivar (Karoon Dar Kavir). Pajouhesh and Sazandegi 77: 111-118 (In Persian with English summary)

12- Joshi, N.L., Mali, P.C., and Sexena, A. 1998. Effect of nitrogen and sulphur application on yield and fatty acid composition of mustard (*Brassica juncia* L.). Journal of Agronomy and Crop Science 180: 59-63.

13- Kader, M.A., Main, M.H., and Hoque, M.S. 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Science 2: 259-261.

14- Kasem, M.M., and EL-Mesilby, M.A. 1992. Effect of rates and application treatments of nitrogen fertilizer on sunflower (*Heliuntus annuus* L.): I. Growth characters. Journal of Agricultural Science 30: 653-663.

15- Kloepper, J.W., and Beauchamp, P. 1992. A review of issues related to measuring of plant roots by bacteria. Canadian Journal of Microbiology 38: 1219-1232.

16- Kloepper, J.W., Leong, L., and Teintze Mand Schroth, M.N. 1980a. Enhanced plant growth by siderophores produced by PGPR. Nature 268: 885-886.

17- Kloepper, J.W., Schroth, M.N., and Miller, T.D. 1980b. Effect of rhizosphere colonization by Plant Growth Promoting Rhizobacteria on potato plant development and yield. Phytopatology 70: 1078-1082.

18- Majedi, R., and Khademi, Z. 1999. Effect of placement of potassium and phosphorus fertilization crop yield. International symposium on balanced fertilization and crop response to potassium. Soil and Water Research. Tehran, Iran p.3-5. (In Persian with English Summary)

19- Mostajeran, A., Amoagaei, R., and Emtiazi, G. 2005. Effects of *Azosprilum* and irrigation water pH on grain yield and protein content in wheat cultivars. Iranian Journal of Biology 18(3): 248-260 (In Persian with English Summary)

20- Rajaee, H.A., Alikhani, F., 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 Agricultural Resources. Isfahan University of Technology 11(41): 285-297. (In Persian with English Summary)

21- Roesti, D., Gaur, R., Johri, B., Imfeld, G., Sharma, S., Kawaljeet, K., and Aragno, M. 2006. Plant growth stage, fertilizer management and bio inoculation of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the Rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. Soil of Biological and Biochemistry 38: 1111–1120. (In Persian with English Summary)

22- Scheiner, J.D., Gutierrez-Boem, F.H., and Lavado, R.S. 2002. Sunflower nitrogen requirement and ^{15}N fertilizer recovery in Western Pampas, Argentina. European Journal of Agronomy17: 73-79.

23- Seyed Sharifi, R. 2010.Industrial Plants. University of Mohaghegh Ardabili and Amidi Tabriz Press, Tabriz, Iran. (Second Edition). P. 107-133. (In Persian)

24- Shata, S.M., Mahmoud, A., and Siam, S. 2007. Improving calcareous soil productivity by integrated effect of

intercropping and fertilizer. Research Journal of Agriculture and Biological Science 3(6):733-739.
25- Shaukat, K., Afrasayad, S., and Hasman, S. 2006. Growth responses of *Helianthus annuus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. Journal of Agricultural Research 1: 573-581.
26- Shehata, M.M., and El-Khawas, S.A. 2003. Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower yield. Pakistan Journal of Biological Science 6: 1257- 1268.
27- Soleimanzadeh, H., Habibi, D.M., Ardakani, R., Paknejad, F., and Rejali, F. 2010. Response of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) to inoculation with *Azotobacter* under different nitrogen levels. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 7(3): 265-268.
28- Steer, B.T., and Seiler, G.I. 1990. Changes in fatty acid composition of sunflower seeds in response to time of nitrogen application, supply rates and defoliation. Journal of Science Food Agriculture 51: 11-26.
29- Zahir, A.Z., Arshad, M., and Khalid, A. 1998. Improving maize yield by inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. Pakistan Journal of Soil Science 15: 7-11.
30- Zahir, A.Z., Abbas, S.A., Khalid, A., and Arshad, M. 2000. Substrate dependent microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedling. Pakistan Journal of Biological Science 3: 289-291.
31- Zaied, K.A., Abd-El-Hady, A.H., Afify, A., and Nassef, M.A. 2003.Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. Pakistan Journal of Biological Science 6: 344-358.
32- Zamber, M.A., Konde, B.K., and Sonar, K.R. 1984. Effect of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* inoculation under graded levels of nitrogen on growth and yield of wheat. Plant and Soil 79: 61-67.