

بررسی تأثیر مصرف گوگرد همراه با مایه تلچیق تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم بر تثیت نیتروژن و شاخص‌های رشد سویا

رضا قربانی نصرآبادی^{*}، ناهید صالح راستین و حسینعلی علیخانی^۱

چکیده

در این تحقیق اثر مصرف گوگرد همراه با مایه تلچیق باکتریهای تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم بر عملکرد سویا و فرآیند تثیت نیتروژن مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. آزمون گلخانه ای براساس طرح بلوكهای کامل تصادفی به صورت فاکتوریل بر روی دو خاک آهکی تهیه شده از مزرعه دانشکده کشاورزی کرج (FF) و مزرعه مؤسسه تحقیقات خاک و آب واقع در کرج (SWRI) در چهار تکرار انجام بذیرفت. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح گوگرد (S_0) تا (S_3) به ترتیب معادل با ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ کیلوگرم در هکتار، دو سطح باکتری تیوباسیلوس (T_0 شاهد و T_1 مایه تلچیق تیوباسیلوس)، دو سطح باکتری برادی ریزوپیوم (R_0 شاهد و R_1 تلچیق با برادی ریزوپیوم) بودند. براساس نتایج حاصل، خاک FF با وجود داشتن ریزوپیوم بومی نسبت به تلچیق با ریزوپیوم پاسخ مثبت نشان داد. همچنین در هر دو خاک نتایج مثبتی در اثر کاربرد مایه تلچیق تیوباسیلوس حاصل شد. خاک FF در تیمار $S_2T_1R_1$ و خاک SWRI در تیمار $S_3T_1R_1$ بیشترین عملکرد بیولوژیک و تثیت نیتروژن را داشتند. مصرف توأم مایه تلچیق تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم غلظت نیتروژن و یا مقدار کل نیتروژن جذب شده در گیاه را نسبت به تلچیق هریک به تنها بی طور معنی دار ($P < 0.01$) افزایش داد. چنین اثرات سینرژیستی، در مورد کاربرد همزمان گوگرد با مایه تلچیق های تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم بر روی عملکرد بیولوژیک نیز در خاک های مورد مطالعه مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: تیوباسیلوس، برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم، سویا، گوگرد، کود بیولوژیک

مقدمه

برای گیاهانی مانند سویا که می‌توانند به اتكاء همیزیستی با باکتریهای تثیت کننده نیتروژن مولکولی، بدون نیاز به مصرف کودهای شیمیایی بالاترین بازده محصول را داشته باشند، استفاده از این توان ذاتی، به لحاظ جنبه‌های مفید اقتصادی و زیست محیطی آن، ضرورتی اجتناب ناپذیر به شمار می‌رود (اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۷۹). نیتروژن مهم ترین عنصری است که گیاه از خاک جذب می‌نماید و تثیت بیولوژیک نیتروژن (BNF) بهترین راهی است که به کمک آن، خاک به طور طبیعی از این عنصر غذایی غنی می‌گردد. انجام این فرآیند علاوه بر این که سالانه حدود ۱۷۰ میلیون تن نیتروژن اتمسفری را به بیوسفر وارد می‌نماید، هیچ یک از مشکلات اقتصادی و زیست محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی را به همراه ندارد. گوگرد نیز یکی از عناصر غذایی پرمصرف و ضروری برای گیاه می‌باشد که کمبود آن نه تنها عملکرد را درنتیجه تغذیه نامناسب کاهش می‌دهد، بلکه از ارزش کیفی محصولات (مانند درصد پروتئین و درصد روغن) نیز می‌کاهد. در مورد اثرات مفید مصرف گوگرد بر افزایش تثیت بیولوژیک نیتروژن در لگومهای همیزیست با ریزوپیوم ها نیز گزارش‌های متعددی ارائه شده‌اند. Liuch و همکاران (۱۹۸۳) در آزمایشی گلخانه‌ای، تأثیر نیتروژن، گوگرد و تلچیق با ریزوپیوم فازئولی (*Rhizobium*) را بر روی فاکتورهای مختلف رشد لوپیا بررسی کردند. نتایج نشان داد که افزودن گوگرد، گره‌زایی، متabolیسم نیتروژن و استرزپروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد و کیفیت محصول را بهبود می‌بخشد. Scherer و Lange (۱۹۹۶) تأثیر مثبت استفاده از گوگرد را در افزایش تعداد گره‌های ریشه‌ای، وزن خشک گره‌ها و مقدار نیتروژن تثیت شده در لگومهای دانه‌ای گزارش نمودند. Kachhave و همکاران (۱۹۹۷) تأثیر سطوح و منابع مختلف گوگرد را بر روی گره‌زایی، عملکرد و جذب عناصر غذایی نخود مورد بررسی قرار دادند.

^۱ به ترتیب کارشناس ارشد و اعضای هیات علمی گروه خاک‌شناسی دانشگاه تهران

* وصول: ۸۱/۱۱/۲۴ و تصویب: ۸۱/۱۱/۱۸

کرج و مؤسسه تحقیقات خاک و آب (کرج) انتخاب شدند. نمونه‌های کافی از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی متری برداشته شد و پس از هوا خشک کردن و گذراندن از الک ۴ میلی متری، برای انجام آزمایش گلدانی مورد استفاده قرار گرفت. برخی از ویژگیهای مهم خاکهای مزبور در جدول ۱ آمده است.

حضور باکتری برادی ریزوپیوم همzیست با سویا در این خاکها، با استفاده از آزمون تلچیع گیاه میزان با رقت‌های ده دهی سوسپانسیون خاک، تعیین گردید (Hoben و Somasegaran، ۱۹۹۶). تعداد باکتریهای تیوباسیلوس بومی این خاکها نیز با روش MPN بر روی محیط کشت مایع حاوی املاح ضروری، بدون کربن آلی و دارای گوگرد به عنوان تنها منبع تأمین انرژی برای باکتری، شمارش شدند (Page و همکاران، ۱۹۸۲). بررسی در شرایط گلخانه‌ای، در قالب طرح بلوكهای کامل تصادفی به صورت فاکتوریل و با درنظر گرفتن چهار تیمار گوگردی شامل S_0 تیمار بدون گوگرد، S_1 ، S_2 و S_3 به ترتیب معادل ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ کیلو گرم گوگرد در هکتار، دو سطح باکتری R_0 شاهد تلچیع نشده و R_1 تیمار تلچیع با برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم، دو سطح باکتری تیوباسیلوس T_0 شاهد بدون باکتری و T_1 کود میکروبی تیوباسیلوس (بر روی دو نوع خاک آهکی FF و SWRI) در چهار تکرار برای هر تیمار انجام گردید. کود میکروبی* گوگرد، حاوی باکتری تیوباسیلوس و همینطور کشت خالص باکتری برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم (سویه ریزوکینگ) از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شدند. جهت اعمال تیمارهای مختلف، ابتدا مقدار ۱/۵ کیلوگرم خاک در هر گلدان ریخته شد و سپس تیمارها به شرح زیر انجام شدند:

گوگرد عنصری از الک ۲۰ مش عبور داده شد و سپس با کود میکروبی گوگرد حاوی^۱ باکتری تیوباسیلوس در هر گرم ماده حامل به نسبت ۴ درصد، مخلوط گردید و آنگاه به طور یکنواخت در ۲ کیلوگرم خاک فوقانی گلدان ۴ کیلویی توزیع شد. گلدان‌ها به مدت دو هفته در دما و رطوبت مناسب (حدود ۷۰ درصد FC) نگهداری شدند. بذرهای سویا (رقم سحر) پس از ضدغوفونی سطحی و جوانه دار شدن در شرایط استریل، به تعداد ۶ عدد به فواصل مساوی در عمق ۲ سانتی متری از سطح خاک در هر گلدان کاشته شدند. هنگام کاشت، هر بذر با یک میلی لیتر از سوسپانسیون کشت تازه برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم، حاوی^۲ ۱۰ باکتری در میلی لیتر، تلچیع

* کود میکروبی گوگرد بصورت آماده از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید و جزئیات آن در اختیار تهیه‌کنندگان است.

براساس نتایج حاصل، افزودن گوگرد گره‌زایی را به طور معنی دار افزایش داد. همچنین مقدار نیتروژن، فسفر و گوگرد جذب شده، با افزایش مقدار گوگرد روندی افزایشی داشتند. شرط اصلی اثر بخشی گوگرد، سرعت مناسب اکسایش آن در خاک است، بنحوی که بتواند در طی دوره رویشی گیاه، علاوه بر تأمین یون سولفات، با خاصیت اسید زایی و کاهش pH، لاقل در مقیاس میکروسایت‌های ریزوستفری، قابلیت دسترسی سایر عناصر غذایی مانند فسفر و آهن را نیز بهبود بخشد (Tabatabai، ۱۹۸۶). از آنجا که اکسایش گوگرد فرآیندی عمدتاً بیولوژیک محسوب می‌شود (Tate، ۲۰۰۰)، تحقق این شرط مستلزم وجود جمعیت بالایی از میکروارگانیسم‌های اکسید کننده گوگرد عنصری است که باکتریهای جنس تیوباسیلوس از مؤثرترین انواع آنها هستند. در مورد مصرف همزمان گوگرد و تیوباسیلوس، گزارش‌های محدودی وجود دارد (Bardiya و همکاران، ۱۹۷۲؛ Deluca و همکاران، ۱۹۸۹؛ Pathirana و همکاران، ۱۹۸۶) که دراین موارد هم معمولاً از سوسپانسیون کشت خالص تیوباسیلوس‌ها استفاده شده است. بشارتی (۱۳۷۷) و بشارتی و همکاران (۱۳۷۹) با تحقیق بر روی مواد مختلفی که بتوانند توان نگهداری بلند مدت گونه‌های مختلف تیوباسیلوس را داشته باشند، موفق به تهیه فرمولاسیون ماده حامل این باکتری و تولید کود میکروبی گوگرد گردید. استفاده از این کود میکروبی به طور همزمان با گوگرد، تاکنون بر روی گیاهانی مانند ذرت و ذرت علوفه‌ای انجام شده و نتایج مشتبی به همراه داشته است (بشارتی کلایه و همکاران، ۱۳۷۹). تحقیق در مورد اثرات این کود میکروبی بر روی سیستم‌های همزیستی تثبیت کننده نیتروژن نیز ضرورت دارد، زیرا گذشته از جنبه‌های مثبتی که برای استفاده از آن ذکر شد، به دلیل حالت اسیدزاگی نسبتاً شدیدتر نسبت به گوگرد تلچیع نشده، احتمال اثرات منفی بر روی ریزوپیومها و یا بر مراحل مختلف فرآیند گره‌زایی و تثبیت نیتروژن نیز دور از انتظار نخواهد بود. براساس این فرض، بررسی اثرات مصرف توأم مایه تلچیع برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم و کود میکروبی تیوباسیلوس در سطوح مختلف گوگرد، بر روی شاخص‌های رشد سویا و همینطور توان گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در این گیاه، به عنوان هدف این تحقیق در نظر گرفته شد.

مواد و روشها

خاکهای FF و SWRI، مورد استفاده دراین بررسی به ترتیب از مزارع تحقیقاتی دانشکده کشاورزی

ریشه‌ای و نیز به کیفیت برتر سویه مورد استفاده در مایه تلقیح نسبت داده شود. درخاک SWRI (فاقد ریزوپیوم بومی) تأثیر تلقیح بسیار شدیدتر بود، بطوریکه در کل تیمارهای R_1 نسبت به R_0 ، مقدار وزن دانه‌ها، عملکرد بیولوژیک و درصد نیتروژن بخش هوایی گیاه به ترتیب حدود ۲۰، ۴ و ۴ برابر افزایش یافتند (شکل ۲). سطح نیتروژن این دو خاک پایین بود (جدول ۱) و این می‌تواند یکی از دلایل مهم برای پاسخ مثبت گیاه به مایه تلقیح‌های ریزوپیومی باشد. فراوانی ترکیبات ازتی درخاک بر روی فرآیندهای تشکیل گره و تثبیت نیتروژن اثر بازدارنده دارد و این تأثیر منفی توسط محققین به اثبات رسیده است (Herridge و Danso، ۱۹۹۵؛ Somasegaran و Bohlool، ۱۹۹۰).

کاربرد گوگرد بر روی تمام شاخص‌های اندازه گیری شده تأثیر مثبت داشته ولی در عین حال اثرات مفید آن بخصوص درسطوح پایین تر (S_1)، تنها در حضور باکتری تیوباسیلوس به سطح معنی دار رسیده است. شکل‌های ۳ و ۴ نشان می‌دهند که در صورت کاربرد همزمان گوگرد و کود میکربی تیوباسیلوس، میانگین وزن دانه، وزن غلاف و عملکرد بیولوژیک در تمام سطوح گوگرد نسبت به شاهد بدون گوگرد (S_0) و یا تیمارهای گوگردی بدون تیوباسیلوس (T_0) افزایش می‌یابد. مقدار این شاخص‌ها در خاک FF در تیمار S_1T_1 و درخاک SWRI در تیمار S_1T_1 به بالاترین سطح می‌رسند. این تفاوت در مقدار بهینه گوگرد می‌تواند به دلیل تفاوت در خاصیت بافری این خاکها باشد که خود تابعی از ویژگیهای مختلف، از جمله بافت خاک، مقدار ماده آلی و درصد آهک خاک می‌باشد (بشارتی کلایه، ۱۳۷۷؛ Nielsen و همکاران (۱۹۹۳) حاکی از این است که مقدار گوگرد اکسید شده، با مقدار شن خاک رابطه مستقیم و با مقدار سیلت رابطه معکوس دارد. شکل‌های ۵ و ۶ اثرات متقابل برادی ریزوپیوم و تیوباسیلوس را در خاکهای FF و SWRI نشان می‌دهند. در خاک FF به دلیل حضور ریزوپیوم بومی، تأثیر مصرف کود میکربی گوگرد به تنها یکی (T_1R_0) بطور معنی داری بیشتر از مصرف برادی ریزوپیوم بدون تیوباسیلوس (T_0R_1) است (شکل ۵). درحالیکه در خاک SWRI (فاقد ریزوپیوم بومی) عکس این حالت مشاهده می‌شود و این خود حاکی از اتكای گیاه به تأمین نیتروژن از مسیر تثبیت بیولوژیک است. در عین حال، در هر دو خاک بالاترین سطح شاخص‌های اندازه گیری شده مربوط به تیماری است که در آن برادی ریزوپیوم و تیوباسیلوس بطور همزمان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (تیمار T_1R_1). در خاک FF تیمار T_1R_1 موجب افزایش

گردید. گلدانها به اتاق رشد با درجه حرارت حداقل روزانه ۲۸ و حداقل شبانه ۱۸ درجه سانتی گراد، شدت نور معادل ۱۵۰۰۰ هزار لوکس و طول روز ۱۲ الی ۱۴ ساعت انتقال داده شدند. سطح خاک هر گلدان با شن استریل پوشانده شد و ۱۰ روز پس از استقرار کامل گیاهان، تعداد آنها در هر گلدان به ۴ عدد تقلیل داده شد. در طول دوره رشد، مراقبت‌های لازم شامل آبیاری با آب مقطر برای حفظ رطوبت گلدانها در حدود ۷۰ درصد FC، همچنین مبارزه با علفهای هرز احتمالی و جمع آوری برگهای خشک شده به صورت مجزا برای هر گلدان، صورت گرفت.

برداشت گیاهان پس از دانه دهی کامل در مرحله R_6^1 انجام شد. اندام هوایی گیاهان هر گلدان از محل طوقه قطع گردید و سپس غلاف آنها تفکیک و هرقسمت به طور جداگانه درون پاکهای کاغذی قرارداده شدند. سیستم ریشه‌ای گیاهان هر گلدان نیز با دقت از خاک خارج و پس از شستشوی کامل با آب و تعیین درجه گره‌بندی، تعداد گره‌ها شمارش شدند. وزن خشک هر قسمت پس از قرار دادن نمونه‌ها در آون با دمای ۶۵-۷۰ درجه سانتی گراد، تا رسیدن به وزن ثابت تعیین گردید. پس از تعیین وزن خشک هر قسمت، اجزاء مذکور جهت تعیین مقدار نیتروژن با آسیاب برقی پودر شدند. درصد نیتروژن اندام هوایی گیاه با استفاده از دستگاه میکروکلدا متعین شد و براساس آن کل نیتروژن جذب شده در اندام هوایی گیاه محاسبه گردید (Page و همکاران، ۹۸۲). محاسبات آماری مورد نظر (تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها) با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری MSTATC و رسم نمودارها با برنامه گرافیکی Excel انجام شدند.

نتایج و بحث

براساس جداول تجزیه واریانس، در هر دو خاک اثرات اصلی مایه تلقیح تیوباسیلوس، باکتری برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم و گوگرد بر وزن دانه، غلاف، عملکرد بیولوژیک و مقدار نیتروژن جذب شده توسط سویا، درسطوح ۱ درصد معنی دار شده است (جدوال ۲ و ۳). مقایسه میانگین تیمارهای تلقیح شده با برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم (R_1) و تلقیح نشده (R_0) نشان می‌دهد که تلقیح با این باکتری، شاخص‌های رشد سویا و همینطور تعداد گره‌های سیستم ریشه‌ای و مقدار ثبت نیتروژن را حتی در خاک FF که خود دارای این گونه باکتری بوده، به طور معنی دار افزایش داده است (شکل ۱). این تأثیر می‌تواند به افزایش جمعیت باکتری در حوزه فعالیت سیستم

¹Reproductive 6

مربوط به هنگامی است که گوگرد، مایه تلقیح تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم بطور همزمان مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در خاک FF گره‌های ریشه در تیمار $S_2T_1R_1$ و در خاک SWRI در تیمار $S_3T_1R_1$ به بیشترین تعداد خود رسیده‌اند، به طوریکه نسبت به تیمارهای بدون تلقیح با تیوباسیلوس ($S_3T_0R_1$ و $S_2T_0R_1$) به ترتیب $21/5$ و $16/7$ درصد افزایش گردد بنده داشته‌اند. یکی از دلایل تأثیر مثبت گوگرد بر وزن و تعداد گره‌ها این است که گوگرد به عنوان عنصری ضروری برای تغذیه گیاه محسوب می‌گردد (Rom Naidu و ۱۹۹۶). همچنین برخی از محققین بهبود گره‌بنده در تیمارهای گوگردی را ناشی از افزایش فتوسنتز از طریق توسعه سطح برگ، تثبیت مقدار بیشتر CO₂ در واحد سطح برگ و نیز افزایش قندها دانسته‌اند (Zaroug و Munns, ۱۹۷۹). شکل‌های ۷ و ۸ اثرات متقابل گوگرد و تیوباسیلوس را بر مقدار نیتروژن جذب شده توسط سویا در خاکهای مورد بررسی نشان می‌دهند. در این مورد نیز مصرف گوگرد در سطوح پایین (S_1 و S_2) بدون استفاده از مایه تلقیح تیوباسیلوس، اثر مثبتی بر مقدار S₃ نیتروژن جذب شده توسط سویا نداشته و حتی اثر سطح ۳ (در تیمار S_3T_0) نسبت به شاهد (S_0T_0) در مورد خاک SWRI به سطح معنی دار نرسیده است. در حالیکه در تمام سطوح گوگرد، مصرف آن به طور همزمان با کود میکربی تیوباسیلوس، مقدار نیتروژن جذب شده را به طور معنی دار، افزایش داده است. در خاک FF، حداکثر مقدار نیتروژن جذب شده در تیمار S_2T_1 و در خاک SWRI در تیمار S_3T_1 بوده که نسبت به سطوح مشابه تلقیح نشده (S_2T_0 و S_3T_0) به ترتیب حدود $36/19$ و $25/44$ درصد افزایش داشته‌اند. در هردوخاک، استفاده از مایه تلقیح تیوباسیلوس حتی بدون مصرف گوگرد (تیمار S_0T_1) مقدار نیتروژن جذب شده را نسبت به شاهد (S_0T_0) به ترتیب حدود $11/4$ و $7/8$ درصد افزایش داده است. دلیل این امر همانطور که قبلًاً اشاره شد وجود مقداری گوگرد در کود میکربی تیوباسیلوس می‌باشد. شکل‌های ۹ و ۱۰ اثرات متقابل باکتریهای تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم را بر مقدار

وزن دانه، وزن غلاف و عملکرد بیولوژیک به ترتیب برابر با $60/4$ ، $53/2$ و $30/7$ درصد نسبت به شاهد (T_0R_0) گردیده است. در خاک SWRI نیز چنین روندی قابل مشاهده است و مقادیر شاخص‌های فوق نه تنها نسبت به شاهد (T_0R_0) افزایش معنی داری داشته‌اند، بلکه حتی نسبت به تیمار تلقیح با برادی ریزوپیوم (T_0R_1) نیز به ترتیب معادل $33/16$ ، $21/94$ و $18/2$ درصد افزایش یافته‌اند. تأثیر مثبت و معنی داراستفاده از کود میکربی تیوباسیلوس، به دلیل پایین بودن تعداد انواع بومی این باکتری در خاکها است (جدول ۱). پایین بودن جمعیت انواع بومی نیز ناشی از وجود مقادیر جزیی از ترکیهای گوگردی احیاء شده، در خاک است که برای تأمین نیاز ارزی این باکتریها ضرورت دارند (Bardiya و همکاران، ۱۹۷۲؛ Lindman و Cifuentes, ۱۹۹۳). نتایج برخی تحقیقات حاکی از این است که تلقیح باکتریهای تیوباسیلوس بدون مصرف گوگرد نمی‌تواند تغییرات معنی داری را نسبت به شاهد ایجاد نماید (بشارتی کلایه، ۱۳۷۷؛ Bardiya و همکاران، ۹۷۲). در حالیکه در این آزمایش مصرف مایه تلقیح تیوباسیلوس بدون گوگرد (تیمار S_0T_0) نیز نسبت به شاهد (S_0T_0)، اثرات مثبتی بر روی شاخص‌های اندازه‌گیری شده نشان داده است. دلیل این امر کشت خالص آن می‌باشد. در این کود میکربی، باکتری تیوباسیلوس همراه با ماده نگهدارنده ای است که بخشی از آن را گوگرد تشکیل می‌دهد و اکسیده شدن سریع همین گوگرد می‌تواند دلیلی بر اثرات مثبت این کود بیولوژیک باشد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر گره‌بنده و مقدار نیتروژن جذب شده

جدول ۴ و ۵ اثرات متقابل گوگرد، تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم را بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در خاک FF و SWRI نشان می‌دهند. کاربرد گوگرد بر روی گره‌بنده در هردوخاک تأثیر مثبت داشته و این تأثیر به هنگام استفاده همزمان با باکتری تیوباسیلوس تشدید شده است. در خاکهای مذکور حداکثر تعداد گره‌ها

جدول ۱- برخی از ویژگیهای مهم خاکهای مورد بررسی

خاک	PH	EC _s (dS/m)	رس	سیلت	شن	بافت	Fe mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹	Total N (%)	O.M.	B.japonicum cells.g ⁻¹ soil	Thiobacillus cells.g ⁻¹ soil	P mg kg ⁻¹	CaCO ₃ (%)
			(%)	(%)	(%)		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
FF	۷/۲	۳/۰۳	۳۲/۶	۳۴	۳۳/۴	لوم رسی	۷/۹۶	۱/۲۴	۰/۰۶۴	۱/۱	<۱۰۰۰	۲۰۰	۴/۴	۸/۸
SWRI	۷/۱۲	۱/۱۱	۲۸/۸	۴۰/۸	۳۰/۴	لوم رسی	۴/۳۴	۰/۴۷	۰/۰۶	۱/۱۸	۰	۱۵۰	۶/۲	۱۰

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در اندام هوایی در خاک FF

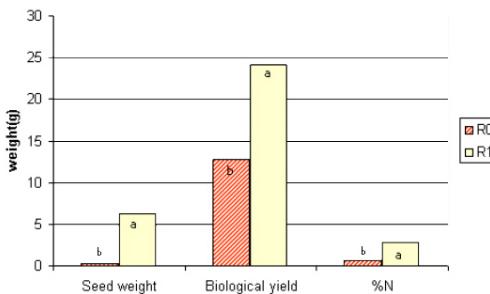
MS-Value							
شاخص‌ها تیمار	وزن دانه (گرم)	وزن گره (گرم)	تعداد گره	وزن غلاف (گرم)	عملکرد بیولوژیک (گرم)	غله‌ت نیتروژن (درصد)	نیتروژن جذب شده (میلی گرم در گلدان)
S	۱/۳۴۷**	۰/۳۹۴**	۵۸۶/۹۷۴ns	۱۲/۳۸۸**	۴۰/۲۳۶**	۰/۱۰۳ns	۴۸۹۴۷/۵۰۲**
T	۲۵/۵۲۸**	۱/۰۴۰**	۲۷۹۵/۷۶۷ns	۷۴/۵۶۳**	۳۰/۸۴۴**	۰/۰۰۴ns	۱۹۸۲۰۵/۷۳۱**
R	۱۴/۴۰۲**	۱۰/۶۲۸**	۷۹۴۵۳/۵۱۶**	۴۲/۵۴۳**	۴۰/۳۵۴**	۳/۲۸۱**	۳۱۰۵۷۵/۰۴۱**
S*T	۲/۷۸۲*	۰/۰۷۱**	۸۲۰/۶۸۲ns	۴/۸۸۳**	۱۵/۳۶۰**	۰/۰۸۳ns	۸۱۹۹/۲۶۸*
S*R	۲/۰۴۴*	۰/۰۸۸**	۵۹۰۳/۴۳۲**	۰/۳۴۷ns	۳/۸۴۵*	۰/۰۸۹ns	۵۴۱/۴۸۸ns
T*R	۰/۲۰۷ns	۰/۰۳۲۵**	۷۰/۱۴۱ns	۱/۱۴۵ns	۱۷/۰۳۶**	۰/۰۲۹ns	۱۱۲۸۱/۳۵۴*
S*T*R	۲/۱۹۱*	۰/۰۲۹ns	۵۷۴/۴۷۴ns	۱/۲۸۳ns	۲/۲۵۳ns	۰/۰۴۴ns	۳۷۰۸/۸۹۴ns
C.V	۹/۹۸	۱۱/۱۸	۲۴/۰۵	۷/۹۴	۵/۰۹	۷/۹۰	۸/۰۶

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در اندام هوایی در خاک SWRI

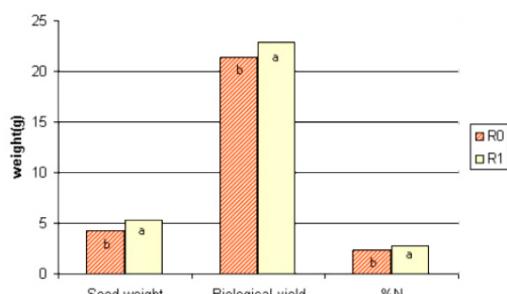
MS-Value							
شاخص‌ها تیمار	وزن دانه (گرم)	وزن گره (گرم)	تعداد گره	وزن غلاف (گرم)	عملکرد بیولوژیک (گرم)	غله‌ت نیتروژن (درصد)	نیتروژن جذب شده (میلی گرم در گلدان)
S	۰/۴۱۲**	۰/۰۹۴*	۴۴۸۷/۸۹۱**	۱/۸۶۴**	۱۱/۴۷۹**	۰/۱۶۲**	۳۶۱۳۳/۴۷۰**
T	۱۲/۹۹۶**	۰/۰۰۷ns	۱۵۳/۱۴۱ns	۲۶/۰۲۳**	۹۲/۴۰۰**	۰/۰۰۳ns	۵۹۷۰۸/۸۸۷**
R	۵۶۳/۱۱۳**	۷/۱۶۹**	۵۱۲۱۱۹/۱۴۱**	۱۶۰۵/۱۰۴**	۲۰۲۹/۷۲۸**	۷۰/۶۰۲**	۵۵۳۴۲۷۵/۷۹۱**
S*T	۰/۴۷۶**	۰/۰۳۰ns	۱۰۵۴/۳۰۷ns	۰/۳۱۷ns	۴/۹۷۰*	۰/۰۱۸ns	۶۱۱۹/۶۷۰**
S*R	۰/۶۴۹**	۰/۰۸۹*	۴۴۸۷/۸۹۱**	۲/۷۶۳**	۱۲/۹۹۹**	۰/۰۰۹ns	۴۷۸۳/۹۱۴**
T*R	۱۲/۰۲۴**	۰/۱۵۹*	۱۵۳/۱۴۱ns	۱۴/۹۲۹**	۴۱/۷۳۲**	۰/۰۰۰۰۱ns	۴۵۲۹۸/۰۹۷**
S*T*R	۰/۴۱۸**	۰/۰۳۵ns	۱۰۵۴/۳۰۷ns	۰/۷۶۱*	۵/۳۵۴*	۰/۰۲۵ns	۵۸۰۶/۰۵۰**
C.V	۸/۸۰	۵/۳۲	۲۳/۶۹	۹/۰۵	۷/۳۴	۷/۷۷	۷/۳۸

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل گوگرد، تیوباسیلوس و برادی ریزو بیوم ژاپنیکوم بر شاخص های اندازه گیری شده در خاک
FF

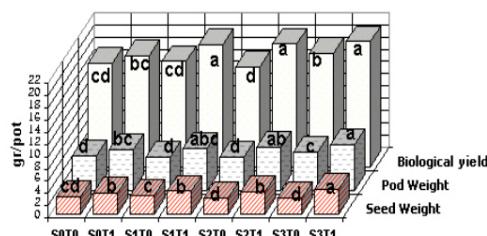
شاخص ها تیمار	وزن دانه (گرم)	وزن گره (گرم)	تعداد گره	وزن غلاف (گرم)	عملکرد بیولوژیک (گرم)	غاظت نیتروژن (درصد)	نیتروژن جذب شده (میلی گرم در گلدان)
S0T0R0	۳/۵۰ ^۱	۱/۱۶ ^{de}	۱۲۷ [*] / _۰ ^{deigh}	۷/۱۴۵ ^{fgh}	۲۰/۲۷ ^{gh}	۲/۰۸۲ ^d	۴۲۲/۵ ^g
S0T0R1	۴/۵۴۵ ^{eig}	۰/۵۲۷ ^{۵h}	۱۳۹/ ^a _۰ ^{cdeig}	۸/۰۵۲ ^{ef}	۱۸/۳۷ ⁱ	۲/۸۴۵ ^a	۵۲۲/۷ ^{def}
S0T1R0	۳/۹۸۷ [*] _۰ ^{ighi}	۱/۲۶ ^{cd}	۱۲۳ [*] / _۰ ^{deigh}	۷/۷۹۵ ^{gh}	۱۹/۷۶ ^{ghi}	۲/۲۱۳ ^d	۴۳۵/۷ ^g
S0T1R1	۵/۴۷۵ ^{bcd}	۰/۵۵۷ ^{۵h}	۱۵۰/ ^a _۰ ^{bcd ef}	۹/۸۱ ^{cd}	۲۲/۴۱ ^{ef}	۲/۷۵۶ ^a	۶۱۷/۵ ^{bc}
S1T0R0	۳/۳۶۰ ^۱	۱/۰۵۸ ^e	۸۷ [*] / _۰ ^{gh}	۷/۱۰۳ ^h	۱۸/۶۱ ^{hi}	۲/۳۲۲ ^{cd}	۴۲۹/۳ ^g
S1T0R1	۴/۴۶۵ ^{eigh}	۰/۵۸۲ ^{۵h}	۱۰۵/ ^a _۰ ^{bcd e}	۷/۵۸۲ ^{fg}	۱۸/۹۲ ^{hi}	۲/۸۷۸ ^a	۵۴۴/۲ ^{de}
S1T1R0	۴/۸۰۲ ^{de}	۱/۰۹۵ ^b	۱۲۳ [*] / _۰ ^{deigh}	۹/۲۷۸ ^d	۲۳/۲۱ ^{de}	۲/۲۰۱ ^d	۵۱۰/۸ ^{def}
S1T1R1	۷/۴۲۲ ^{de}	۰/۷۵ ^{igh}	۱۷۶/ ^a _۰ ^{abcd}	۱۰/۲۳ ^{bc}	۲۵/۳۵ ^{bc}	۲/۵۹ ^{abc}	۶۵۶/۴ ^b
S2T0R0	۳/۷۵ ^{hi}	۱/۴۱ ^c	۹۹/۵ ^{igh}	۷/۴۴۸ ^{fg}	۱۹/۷۲ ^{ghi}	۲/۳۹۷ ^{bcd}	۴۷۰/۲ ^{fg}
S2T0R1	۴/۶۹۵ ^{ef}	۰/۶۲۵ ^{gh}	۱۷۵/ ^a _۰ ^{abcd}	۹/۰۴۵ ^{de}	۲۱/۳ ^{lg}	۲/۶۵۷ ^{ab}	۵۶۵/۴ ^{cd}
S2T1R0	۵/۷۷۵ ^{abc}	۱/۸۱۳ ^a	۱۰۳/ ^a _۰ ^{eigh}	۱۰/۴۵ ^{bc}	۲۲/۹۸ ^{bc}	۲/۲۶۱ ^d	۵۶۴/۳ ^{cd}
S2T1R1	۵/۹۱۲ ^{ab}	۰/۷۸۲۵ ^{fg}	۲۱۳ [*] / _۰ ^a	۱۲/۰۳ ^a	۲۸/۳۵ ^a	۲/۷۹۴ ^a	۷۷۹/۴ ^a
S3T0R0	۳/۸۵۸ ^{ghi}	۱/۲۲۳ ^c	۸۳/ ^a _۰ ^h	۷/۷۴۵ ^{fg}	۲۰/۲۲ ^{gh}	۲/۳۸ ^{bcd}	۴۸۰/۷ ^{eig}
S3T0R1	۵/۰۷۳ ^{cde}	۰/۶۲۷۵ ^{gh}	۱۹۸/ ^a _۰ ^{ab}	۹/۲۷۳ ^d	۲۲/۳۴ ^{ef}	۲/۷۸۳ ^a	۶۲۱/۴ ^{bc}
S3T1R0	۵/۲۷۰ ^{bcd}	۱/۹۷۵ ^a	۸۹/۲۵ ^{gh}	۹/۶۲۲ ^d	۲۲/۱۹ ^{cd}	۲/۶۱۲ ^{abc}	۶۳۰/۸ ^{bc}
S3T1R1	۵/۵۰۵ ^{bcd}	۰/۸۲۲۵ ^f	۱۸۹/ ^a _۰ ^{abc}	۱۱/۳۸ ^a	۲۶/۳۲ ^b	۲/۸۳۵ ^a	۷۵۱/۷ ^a



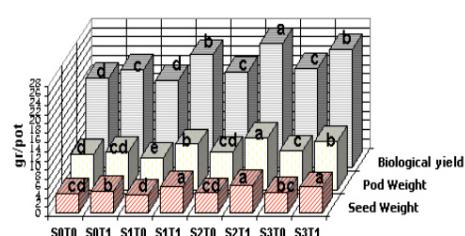
نودار-۲- اثر اصلی باکتری برادی ریزوپیوم بر شاخص های اندازه گیری شده سویا در خاک SWRI



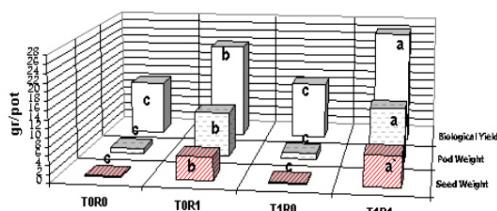
نودار-۱- اثر اصلی باکتری برادی ریزوپیوم بر شاخص های اندازه گیری شده سویا در خاک FF



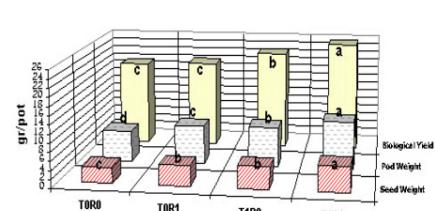
نودار-۴- اثر مقابله گوگرد و تیوباسیلوس بر وزن دانه، غلاف و عملکرد بیولوژیک سویا در خاک SWRI



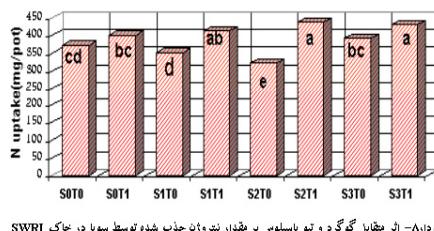
نودار-۳- اثر مقابله گوگرد و تیوباسیلوس بر وزن دانه، غلاف و عملکرد بیولوژیک سویا در خاک FF



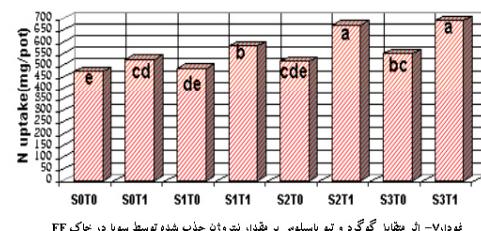
نودار-۶- اثر مقابله برادی ریزوپیوم و تیوباسیلوس بر وزن دانه، غلاف و عملکرد بیولوژیک سویا در خاک SWRI



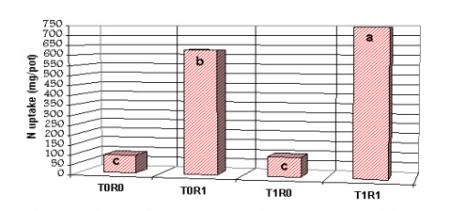
نودار-۵- اثر مقابله برادی ریزوپیوم و تیوباسیلوس بر وزن دانه، غلاف و عملکرد بیولوژیک سویا در خاک FF



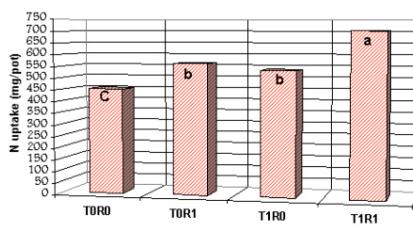
نودار-۸- اثر مقابله گوگرد و تیوباسیلوس بر مقدار نیتروژن جذب شده توسط سویا در خاک SWRI



نودار-۷- اثر مقابله گوگرد و تیوباسیلوس بر مقدار نیتروژن جذب شده توسط سویا در خاک FF



نودار-۹- اثر مقابله برادی ریزوپیوم و تیوباسیلوس بر مقدار نیتروژن جذب شده توسط سویا در خاک SWRI



نودار-۸- اثر مقابله برادی ریزوپیوم و تیوباسیلوس بر مقدار نیتروژن جذب شده توسط سویا در خاک FF

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات مقابله گوگرد، تیوباسیلوس و برادی ریزوپیوم ژاپنیکوم بر شاخص های اندازه گیری شده در خاک SWRI

شاخص‌ها تیمار	وزن دانه (گرم)	وزن گره (گرم)	تعداد گره	وزن غلاف (گرم)	عملکردبیولوژیک (گرم)	غله‌لت نیتروژن (درصد)	نیتروژن جذب شده (میلی گرم در گلدان)
S0T0R0	۰/۳۴۷۵ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^c	۱/۰۵۵ ^d	۱۲/۵۴ ^e	۰/۸۷۰ ^c	۱۰۹/۳ ^e
S0T0R1	۵/۲۹۵ ^e	۰/۵۴۵ ^b	۱۵۹/۵ ^c	۹/۷ ^c	۲۱/۲۷ ^{cd}	۲/۹۹۶ ^a	۶۳۵/۷ ^c
S0T1R0	۰/۴۸۵۰ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^c	۱/۸ ^d	۱۲/۷۸ ^e	۰/۸۷۰ ^c	۱۲۰/۲ ^e
S0T1R1	۷/۴۰۰ ^c	۰/۵۴۵ ^b	۱۲۱/۵ ^d	۱۱/۴ ^b	۲۲/۲۹ ^{bc}	۳/۰۴۱ ^a	۶۸۲/۰ ^b
S1T0R0	۰/۳۸۷۵ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^c	۰/۵۶ ^e	۱۲/۲۲ ^e	۰/۷۳۷۲ ^{cd}	۹۰/۱۸ ^e
S1T0R1	۵/۷۷۳ ^d	۰/۶۶۵ ^b	۱۵۴/۸ ^c	۱۰/۱۹ ^c	۲۲/۲۶ ^{cd}	۲/۷۵۵ ^b	۶۱۳/۵ ^e
S1T1R0	۰/۲۶۲۵ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^e	۱/۲۶۱ ^{de}	۱۳/۰۵ ^e	۰/۶۲۶۰ ^d	۸۲۷ ^e
S1T1R1	۷/۲۰۵ ^b	۰/۶ ^b	۱۸۱/۸ ^{bc}	۱۲/۴ ^a	۲۶/۸۵ ^a	۲/۷۶۶ ^b	۷۴۱/۰ ^a
S2T0R0	۰/۱۸۲۵ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^c	۱/۲۶۱ ^{de}	۱۱/۹۲ ^e	۰/۶۲۳۵ ^d	۷۶/۵۲ ^e
S2T0R1	۵/۰۳۲ ^c	۰/۷۳۲۵ ^{ab}	۱۸۵/۵ ^{bc}	۹/۶۲۸ ^c	۲۰/۶۷ ^d	۲/۷۳۶ ^b	۵۶۵/۲ ^d
S2T1R0	۰/۲۰۲۵ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^e	۱/۲۱ ^{de}	۱۳/۰۱ ^e	۰/۷۰۶۸ ^{cd}	۹۱/۹۶ ^e
S2T1R1	۷/۹۴۸ ^b	۰/۷۳۲۵ ^{ab}	۱۸۷/۵ ^{bc}	۱۲/۸۳ ^a	۲۷/۲۰ ^a	۲/۸۷۹ ^{ab}	۷۸۲/۴ ^a
S3T0R0	۰/۱۲۵ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^e	۱/۲۴۶ ^{de}	۱۳/۰۸ ^e	۰/۷۰۶۰ ^{cd}	۹۲/۲۷ ^e
S3T0R1	۵/۲۲۵ ^e	۰/۷۳۷۵ ^{ab}	۲۰۳/۵ ^b	۱۱/۲۹ ^b	۲۲/۱۵ ^b	۲/۸۷۹ ^{ab}	۶۹۳/۳ ^{bc}
S3T1R0	۰/۲۵ ^f	۰/۰ ^c	۰/۰ ^e	۱/۵۹۲ ^d	۱۳/۰۷ ^e	۰/۷۹۱۲ ^{cd}	۱۰۳/۲ ^e
S3T1R1	۷/۸۴۵ ^a	۰/۹۴ ^a	۲۳۷/۷ ^a	۱۳/۱۶ ^a	۲۷/۸۹ ^a	۲/۷۲۵ ^b	۷۵۹/۸ ^a

اساس ، مقدار نیتروژن تثبیت شده ، از حداقل ۵۲۶ میلی گرم / گلدان برای تیمار بدون گوگرد و مایه تلقیح تیوباسیلوس (S₀T₀R₁) تا حداکثر ۶۷۰ میلی گرم / گلدان برای تیمار S₂T₁R₁ بدست می آید که می تواند تأکیدی بر نقش مؤثر کود میکروبی گوگرد بر تثبیت نیتروژن مولکولی در گیاه سویا باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش مستخرج از طرح اثرات کود بیولوژیک گوگرد بر سیستم همزیستی سویا - برادی ریزوپیوم به شماره ۷۱۴/۳۵۰۴ است که بدینوسیله از حمایت مالی و مساعدتهای معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران و دانشکده کشاورزی قدردانی می شود. همکاری آقای مهندس حسین بشارتی برای تأمین کود میکروبی گوگرد و آقای دکتر اسدی رحمانی برای باکتری برادی ریزوپیوم نیز جای تقدیر و تشکر بسیار دارد.

نیتروژن جذب شده در اندام هوایی سویا نشان می دهد. در هر دو خاک ، حداکثر مقادیر نیتروژن جذب شده مربوط به تیمار T₁R₁ است که در آن باکتری برادی ریزوپیوم و کود میکروبی تیوباسیلوس ، به طور همزمان مورد استفاده قرار گرفته اند. مقدار نیتروژن جذب شده در تیمار T₁R₁ نسبت به شاهد (T₀R₀) (درخاک FF (دارای ریزوپیوم بومی) حدود ۱/۵ برابر و درخاک SWRI (بدون ریزوپیوم بومی) حدود ۸ برابر افزایش یافته است. با توجه به یافته های فوق می توان نتیجه گیری کرد که این دو باکتری نسبت به هم دارای اثرات سینزیتی می باشند و کاربرد توأم آنها می تواند در افزایش عملکرد سویا و بهبود تثبیت نیتروژن در این گیاه مؤثر باشد. برای خاک SWRI که بدون ریزوپیوم بومی و گیاه شاهد فاقد گره بندی و توان تثبیت نیتروژن بوده است ، می توان با استفاده از روش تفاوت نیتروژن (N-Difference Method) مقدار نیتروژن دریافت شده از اتمسفر را برای گیاهان تلقیح شده محاسبه نمود. براین

فهرست منابع

- اسدی رحمانی ، ه. ، ن. ، صالح راستین و ا. سجادی. ۱۳۷۹. بررسی امکان پیش بینی ضرورت تلقیح سویا براساس تعیین تعداد باکتری برادی ریزوپیوم ژاپونیکوم و شاخص فراهمی ازت درخاک. مجله خاک و آب. ۱۲ (۷) : ۲۱-۳۲.
- بشارتی کلایه ، ح. ۱۳۷۷. بررسی اثرات کاربرد گوگرد همراه با گونه های تیوباسیلوس درافزایش جذب برخی از عناصر درخاک . پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی ، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه تهران .

۲. بشارتی کلایه ، ح .، ک . خوازی و ن .، صالح راستین . ۱۳۷۹ . بررسی قابلیت چند نوع ماده برای تولید مایه تلقیح باکتریهای تیوباسیلوس و مطالعه اثر آن همراه با گوگرد برافراش جذب برخی از عناصر غذایی و رشد ذرت . مجله خاک و آب . ۱۲ (۱۱) : ۱-۹.
۴. علی اصغر زاده ، ن .، س . ساعدی و س . زمزمی . ۱۳۷۷ . بررسی کارآیی باکتریهای اسید دوست جنس تیوباسیلوس در اکسایش گوگرد و کاهش pH خاک . دانش کشاورزی شماره های او ۲: ۷۵-۸۹.
5. Bardiya, M.C., N. Narula and S.R.Vyas.1972.Effect of inoculation of *Thiobacillus* on the crop (*Medicago sativa L.*) grown in alkali soils. Haryana Agricultural University Journal of Research. 2(4): 286-290.
 6. Cifuentes, F.R. and W.C. Lindman. 1993. Organic matter stimulation of elemental sulfur oxidation in calcareous soil. Soil Sci.Soc.Am.J.57: 727-731.
 7. Deluca, T.H., E.O. Skogley and R.E.Engel.1989.Band-applied elemental sulfur to enhance the phytoavailability of phosphorus in alkaline calcareous soils. Biol. Fertil.Soils.7: 346-350.
 8. Herridge, D.F.and S.K.A.Danso.1995.Enhancing crop legume N2 fixation through selection and breeding. Plant and Soil.174: 51-82.
 9. Kachhave, K.G., S.D. Gawand, O.D. Kohire and S.S.Mane.1997.Influence of various sources and levels of sulfur on nodulation, yield and uptake of nutrients by chickpea. J. Indian Soc. Soil Sci.45: 590-591.
 10. 10-Liuch, C., J.A. Campos and F.Ligero.1983.Effect of nitrogen and sulfur fertilization and seed inoculation with *Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli* on the nitrogen –sulfur relationship of bean (*Phaseolus vulgaris L.*). J. of Plant Nutr. 6(12): 1033-1042.
 11. 11-Naidu, M.V.S. and H. Ram.1996. Effect of sulfur and *Rhizobium* inoculation on dry matter, grain yield and protein content in green gram (*Vigna radiata L.*). Legume Research. 19(1): 10-14.
 12. Neilsen, D., E.J. Hongue, P.B. Hoyt, and B.G.Drought.1993.Oxidation of elemental sulfur and acidulation of calcareous orchard soils in southern British Columbia. Can. J. Soil. Sci.73: 103-114.
 13. Page, A.L., R.H. Miller and D .R. Keeney. 1982.Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Second edition. Madison, Wisconsin, U.S.A.
 14. Pathiratna, L.S.S., U.P. De, S. Waidyanatha, and O.S. Peries. 1986. The effect of appatite and elemental sulfur mixtures on growth and P content of *Controcema pubescens*. Fertilizer Research.21: 37-43.
 15. Scherer H.W . and A. Lange. 1996. N₂ Fixation and growth of legumes as affected by sulfur fertilization. Biol. Fertil. Soils. 23:449-453.
 16. Shantaram, S. and A.K. Matto. 1997. Enhancing biological nitrogen fixation: An appraisal of current and alternative technologies for N input into plants. Plant and Soil.194: 205-216.
 17. Somasegaran, P. and H.J.Hoben.1994.Handbook for Rhizobia. Methods in Legume-Rhizobium Technology. Springer-Verlag, New York.
 18. 18- Somasegaran, P. and B.B. Bohllool. 1990.Single –Strain versus multistain inoculation: Effect of soil mineral N availability on rhizobial strain effectiveness and competition for nodulation on chickpea, soybean and dry bean. Applied and Environmental Microbiology. : 3298-3303.
 19. Stevenson, F.J. and M.A.Cole.1999.Cycles of soil.2nd edition, John Wiley and Sons, Inc. New York.
 20. Tabatabai, M.A.1986.Sulfur in Agriculture. Am. Soc.of Agronomy Inc., Madison, Wis. U.S.A.
 21. Tate, R.L.2000.Soil Microbiology. 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
 22. Zaroug, M.G. and D.N. Munns .1979. Nodulation, nitrogen fixation, leaf area and sugar content in *Lablab purpureus* as affected by sulfur nutrition. Plant and Soil.53: 319-328.

Effects of Sulfur Application with *Thiobacillus* and *Bradyrhizobium* Inoculants on Nitrogen Fixation and Growth Indices of Soybeans

R. Ghorbani Nasrabadi, N. Saleh Rastin and H. Alikhani¹

Abstract

In this study the effects of simultaneous application of sulfur with *Thiobacilli* and *B. japonicum* inoculants on the yield and nitrogen fixing capacity of soybeans were investigated. A greenhouse experiment was conducted based on randomized complete block design (RCBD) with four levels of sulfur at 0, 500, 1000 and 3000 kg.ha⁻¹ (S₀-S₃), two levels of *Thiobacilli*: T₀ (control) and T₁ (inoculated), two levels of *B. Japonicum*: R₀ (control) and R₁ (inoculated) and two calcareous soils (FF and SWRI) in four replicates. According to the results, in spite of having native *Rhizobium*, the FF soil showed positive response to *Rhizobium* inoculation. The positive results were also obtained with the use of *Thiobacilli* inoculant. Maximum biological yield and N₂ fixation were obtained at S₂T₁R₁ and S₃T₁R₁ treatments in FF and SWRI soils, respectively. Simultaneous application of *Thiobacillus* and *B. japonicum* significantly (P<0.01) increased the nitrogen concentration and /or nitrogen uptake in comparison with separate inoculation of each. Similar synergistic effects were also observed by simultaneous application of sulfur, *Thiobacilli* and *B. japonicum* inoculants on biological yield in the soils under study.

Keywords: *Thiobacillus*, *B. japonicum*, Soybean, Sulfur, Biological fertilizer

¹Master of Sci. Student and Sci. Faculty member of Soil Science Dept., Tehran Univ., respectively