

بررسی تأثیرات جدایه ازتوباکتر بومی خاک شور و آزوسپریلوم بر برخی شاخص‌های میکروبی خاک در سطوح مختلف شوری

رضا خدادادی^۱، محسن علمائی^۲، سید علیرضا موحدی نائینی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

جداسازی جدایه‌های ازتوباکتر از خاک‌های شور صورت گرفت. بعد از انجام آزمایشات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی تعداد ۲۳ جدایه منسوب به ازتوباکتر انتخاب گردید. جدایه‌ها از نظر توانایی رشد در غلظت‌های ۲,۵,۱۰ درصد نمک و برخی فاکتورهای محرک رشدی سنجیده شدند. جدایه برتر آزوسپریلوم از بانک میکروبی دریافت شد، رشد باکتری در غلظت‌های ۲,۵,۱۰ درصد نمک سنجیده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل باکتری (بدون تلقیح باکتری، تلقیح ازتوباکتر، تلقیح آزوسپریلوم، تلقیح ازتوباکتر و آزوسپریلوم) و شوری (۸,۱۶ دسی زمینس بر متر) بر روی گیاه جو رقم کارون در شرایط گلخانه‌ای اجرا گردید. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تلقیح باکتری در سطوح مختلف شوری به طور معنی‌داری سبب افزایش تنفس و کربن زیتوده میکروبی در خاک گردید. نتایج نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی تأثیر توام باکتری ازتوباکتر و آزوسپریلوم به مقدار بهینه‌تر آثار منفی شوری بر شاخص‌های میکروبی خاک را کاهش دادند.

کلمات کلیدی: تنفس میکروبی، کربن زیتوده میکروبی، سطوح نمک، محرک رشدی

مقدمه:

جمعیت میکروبی خاک مهم‌ترین بخش زنده خاک می‌باشد که نقش مهمی در چرخه عناصر غذایی، حاصلخیزی دراز مدت و جریان انرژی در خاک دارند (Glick et al., 1997). ارزیابی ریزجانداران خاک می‌تواند به عنوان ابزاری برای بررسی کیفیت بیولوژیک خاک به کار رود، در واقع جمعیت میکروبی خاک به عنوان زیست‌توده میکروبی در نظر گرفته می‌شوند (Hoffman et al., 2003). شوری خاک یکی از مهم‌ترین عواملی است که می‌تواند شرایط تنش‌زایی را برای زیست‌جانداران خاک به وجود آورد (Liang et al., 2005). نتایج نشان می‌دهد که شوری زیاد منجر به ایجاد جمعیت میکروبی کوچکتر و با کارایی زیستی کم‌تر می‌شود (Yuan et al., 2007). اضافه کردن باکتری‌های مقاوم به شوری با افزایش میزان تجزیه مواد آلی و افزایش میزان کربن به شکل CO₂ سبب افزایش تنفس و نیز افزایش میزان کربن تثبیت شده در سلول‌های میکروبی به دلیل افزایش تعداد و اندازه جمعیت میکروبی در خاک می‌گردد (Rietz et al., 2003). باکتری‌های مقاوم به شوری و جدا شده از محیط‌های شور دارای فعالیت‌های تنظیمی برای سازگاری با تنش شوری هستند که مهم‌ترین آن‌ها تشکیل سیستم در غلظت بالای نمک و موجب بقا و فعالیت آن‌ها در شرایط تنشی می‌گردد. ازتوباکتر دارای سلول‌های متابولیکی فعال بوده که قادر به تولید سطح بالایی از پلی‌ساکارید نسبت به دیگر ریزجانداران بوده که می‌تواند یک ساختار ژلاتینی سخت و محکم اطراف سلول به نام سیستم را بوجود آورده و سبب یک سازوکار برای بقای جدایه باکتریایی در شرایط تنش باشد (Gasisa et al., 1994). هدف از انجام این پژوهش بررسی تغییر برخی شاخص‌های میکروبی خاک با افزایش میزان شوری و نیز تأثیر اضافه کردن باکتری‌های مقاوم به شوری ازتوباکتر و آزوسپریلوم بر شاخص‌های میکروبی خاک در تنش شوری می‌باشد.

جهت جداسازی جدایه‌های ازتوباکتر بومی خاک‌های شور استان گلستان، نمونه‌برداری از خاک‌های مناطق شور استان انجام گرفت و ۱۵ نمونه خاک از مزارع با شوری‌های مختلف جهت جداسازی و خالص سازی باکتری به آزمایشگاه بیولوژی خاک منتقل گردید، از هر نمونه خاک ریزوسفری یک گرم به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب شهر استریل در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری اضافه و یک ساعت روی شیکر با دور (150 rpm) قرار داده شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت انتخابی وینوگرادسکی مایع فاقد نیتروژن و حاوی ۰.۵٪ نمک اضافه شد. به منظور شناسایی نسبی باکتری ازتوباکتر، تست‌های بیوشیمیایی مختلف که شامل آزمون گرم، آزمون اکسیداز، آزمون کاتالاز و آزمون تولید اسید از قند انجام گرفت (Krieg et al., 2005).

توانایی رشد در غلظت‌های مختلف نمک

به منظور سنجش رشد باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف نمک، محیط کشت وینوگرادسکی جامد، حاوی غلظت‌های ۰، ۲، ۵، ۷، ۱۰ درصد نمک (کلرید سدیم^۱) تهیه شد و جدایه‌های باکتریایی در شرایط مناسب (۳۰-۲۸ درجه سلسیوس) انکوباسیون شدند. پس از گذشت ۷-۵ روز، قطر کلنی‌ها با شاهد (بدون کلرید سدیم) مقایسه شده و به صورت کیفی به سه گروه حساس، نیمه مقاوم و مقاوم گروه‌بندی شدند (Merchan et al., 2003).

جدایه ازوسپریلیوم از بانک میکروبی گروه علوم خاک دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان دریافت شد، برتری این جدایه از نظر فاکتورهای محرک رشد گیاه در گذشته به اثبات رسیده است، به منظور سنجش رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نمک، محیط کشت جامد نوترینت برات^۲ حاوی غلظت‌های نمک یاد شده تهیه گردید و توانایی رشد جدایه در درصد‌های مختلف نمک سنجیده شد.

آزمایش گلخانه‌ای

با توجه به آزمون رشد جدایه‌های ازتوباکتر در سطوح مختلف نمک و خصوصیات محرک رشدی جدایه‌ها، یک جدایه به عنوان باکتری برتر از نظر خصوصیات محرک رشد گیاه و مقاوم به شوری انتخاب و همراه با جدایه ازوسپریلیوم برای آزمایش گلخانه‌ای استفاده شدند. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل چهار سطح باکتری (بدون تلقیح باکتری، تلقیح ازتوباکتر، تلقیح ازوسپریلیوم، تلقیح ازتوباکتر و ازوسپریلیوم) و دو سطح شوری (۱۶، ۸ دسی زیمنس بر متر) بود. خاک مورد استفاده در این پژوهش از اراضی شور استان گلستان با شوری ۱۶ دسی-زیمنس بر متر جمع‌آوری شد و با اعمال آبشویی به سطوح مورد نظر رسید. گیاه مورد استفاده در این پژوهش جو رقم کارون بوده که در هر گلدان ۱۰ بذر کاشته شد. هم‌زمان با کاشت بذر تیمارهای باکتری اعمال گردید. در طول دوره رشد آبیاری با آبی با شوری کمتر ۱ دسی زیمنس بر متر صورت گرفت. پس از گذشت ۷۰ روز (اواخر دوره رشد رویشی) مقداری از خاک تازه هر گلدان برداشت و جهت تعیین شاخص‌های میکروبی به آزمایشگاه بیولوژی خاک منتقل شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی

برای اندازه‌گیری تنفس میکروبی از روش ظرف درب بسته با روش تیتراسیون استفاده شد. در این روش ۲۰ گرم خاک داخل ظرف ریخته شد و ۲۰ میلی‌لیتر سود ۰/۵ نرمال داخل لوله ریخته و در ظرف قرار داده شد. رطوبت نمونه‌ها در ۵۰ تا ۶۰ درصد ظرفیت نگهداری آب توسط خاک تنظیم شد. سپس درب ظرف را با چوب پنبه و پارافیلیم بسته گردید. یک نمونه بدون

¹ NaCl

² -Nutrient Broth

خاک به عنوان شاهد هم قرار داده شد. ظروف دمای ۲۵-۳۰ درجه سلسیوس گرماگذاری شد. پس از گذشت ۵ روز CO₂ پدید آمده از تنفس میکروبی در سود را با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار تیترا گردید (veior et al., 2008).

برای اندازه گیری کربن زیست توده میکروبی ۵۰ گرم خاک مرطوب هر گلدان در دسیکاتور قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت با کلروفرم گاز دهی شد. سپس خاک تدخین شده با محلول سولفات پتاسیم عصاره گیری شد. یک نمونه خاک بدون تدخین به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمارها بر تنفس میکروبی و کربن زی توده میکروبی خاک

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تنفس میکروبی		کربن زی توده میکروبی
باکتری	۳	۰/۱۰۵**
شوری	۱	۰/۲۳۸**
باکتری*شوری	۳	۰/۰۰۷**
خطا	۱۶	۰/۰۰۰۱۲
		۱۰۷۰/۳۹**
		۶۱۱/۸۵**
		۳/۰۲ ^{n.s}
		۶/۲۵

نتایج و بحث

بعد از تهیه سری رقت و کشت بر روی محیط جامد وینوگرادسکی، تعداد ۳۲ جدایه که از لحاظ ریخت شناسی به جدایه های /زئوباکتر شباهت داشتند، جداسازی و خالص سازی شد. پس از انجام آزمون های بیوشیمیایی و ارزیابی تولید سیست در کشت کهنه (جدول ۲)، تعداد ۲۳ جدایه منسوب به /زئوباکتر انتخاب و برای انجام آزمایش های مختلف در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از میزان تحمل جدایه های مختلف /زئوباکتر در درصد های مختلف شوری نشان داد که با افزایش میزان نمک، رشد جدایه ها کاهش یافت، میزان کاهش رشد جدایه ها متفاوت بود. تمامی جدایه ها به جز جدایه ۷ توانستند تا غلظت ۵ درصد نمک را تحمل نمایند. جدایه های (۵، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۹، ۲۱) توانایی رشد نسبتا ضعیف تا متوسطی در غلظت ۱۰ درصد نمک از خود نشان دادند (جدول ۳). جدایه /آزوسپریلیوم با افزایش میزان شوری رشد آن کاهش یافت، به طوریکه توانایی رشد در سطح شوری ۱۰ درصد را نداشت. و به ترتیب در سطوح شوری ۷، ۵، ۲ درصد نمک، رشد ضعیف، متوسط و مطلوبی داشت.

مطابق نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان تنفس میکروبی خاک در سطح یک درصد آماری معنی دار بود (جدول ۱)، تیمارهای باکتری، شوری بر روی میزان کربن زیست توده در سطح یک درصد آماری معنی دار بودند، ولی تاثیر متقابل باکتری شوری از لحاظ آماری معنی دار نبود. مطابق (شکل ۱) سطوح مختلف شوری تاثیر متفاوت و معنی داری بر میزان تنفس میکروبی خاک داشتند. بیشترین میزان تنفس میکروبی مربوط به تیمار اثر تلفیقی باکتری /زئوباکتر و /آزوسپریلیوم با میانگین ۰/۶ میلی گرم CO₂ در کیلوگرم خاک در سطح شوری ۸ دسی زیمنس بر متر بود. با افزایش شوری میزان تنفس میکروبی روند کاهشی نشان داد به طوریکه بیشترین مقدار در سطح شوری ۱۶ دسی زیمنس بر متر با میانگین ۰/۵ میلی گرم CO₂ در کیلوگرم خاک مربوط به تیمار اثر تلفیقی /زئوباکتر و /آزوسپریلیوم بود (شکل ۱). آثار گوناگون نمک ها در خاک، بر تنفس میکروبی، به دلیل تنش اسمزی و سمیت یونی است که بر فیزیولوژی و مسیرهای متابولیکی سلول های میکروبی تاثیر می گذارد (Rietz et al., 2003). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در هر دو سطح شوری ۱۶، ۸ دسی زیمنس- بر متر تیمار اثر تلفیقی باکتری ها بر روی تنفس به ترتیب با افزایش ۵۹/۳، ۵۷/۳ درصدی نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی دار با شاهد بودند. تاثیر تلفیق باکتری بر میزان تنفس میکروبی خاک معنی دار شد (جدول ۳)، به طوریکه در تیمار تلفیق توام /زئوباکتر، /آزوسپریلیوم به طور معنی داری بالاتر از تیمار بدون باکتری بود. بعد از تیمار اثر توام باکتری ها، به ترتیب

تیمارهای *ازتوباکتر*، *آزوسپریلیوم* قرار گرفتند و نسبت به شاهد دارای اختلاف آماری معنی دار بودند. (Hoffman et al., 2003) گزارش کردند در اثر تلقیح توام باکتری‌ها در شرایط تنش شوری، تنفس میکروبی نسبت به شاهد افزایش یافت، آن‌ها بیان داشتند که این شاخص بیانگر وضعیت مطلوب جمعیت میکروبی در خاک می‌باشد.

سطوح مختلف شوری تاثیر متفاوت معنی‌داری بر میزان کربن زیست‌توده میکروبی خاک داشتند (شکل ۲). بیشترین میزان کربن زیست‌توده میکروبی خاک مربوط به تیمار اثر تلفیقی باکتری *ازتوباکتر* و *آزوسپریلیوم* با میانگین ۸۲/۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر بود. با افزایش شوری میزان کربن زیست‌توده میکروبی روند کاهشی نشان داد به طوریکه بیشترین مقدار در سطح شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر با میانگین ۷۱/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مربوط به تیمار اثر تلفیقی *ازتوباکتر* و *آزوسپریلیوم* بود. کربن زیست‌توده میکروبی یک واحد مستقیم برای بیان تعداد ریز جانداران به ویژه باکتری‌ها می‌باشد (Vance et al., 1987). (Rietz et al., 2003) گزارش کردند که تلقیح باکتری سبب افزایش میزان کربن زیست‌توده میکروبی در خاک شد، به طوریکه میزان این شاخص در تیمارهای حاوی باکتری تفاوت معنی‌داری با تیمار بدون باکتری داشت. نتایج مقایسه میانگین بین تیمارهای باکتری بر میزان کربن زیست‌توده میکروبی نشان داد که بیشترین میزان کربن زیست‌توده میکروبی مربوط به تیمار تلقیح توام باکتری‌ها بوده، بعد از آن به ترتیب تیمارهای *آزوسپریلیوم*، *ازتوباکتر* قرار گرفتند و هرکدام از این تیمارها با شاهد دارای اختلاف آماری معنی‌دار بودند. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در هر دو سطح شوری ۱۶،۸ دسی‌زیمنس بر متر تیمار اثر تلفیقی باکتری‌ها بر روی کربن زیست‌توده میکروبی به ترتیب با افزایش ۳۷/۹، ۴۱/۸ درصدی نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد بودند. (Rasul et al., 2006) گزارش کردند کربن زیست‌توده میکروبی به شدت تحت تاثیر جمعیت میکروبی خاک قرار دارد، آن‌ها بیان داشتند تلقیح باکتری‌ها سبب بهبود چرخه عناصر غذایی، چرخه مواد آلی و ذخیره عناصر غذایی در خاک می‌شوند و از این طریق سبب افزایش میزان کربن زیست‌توده میکروبی در خاک می‌گردد.

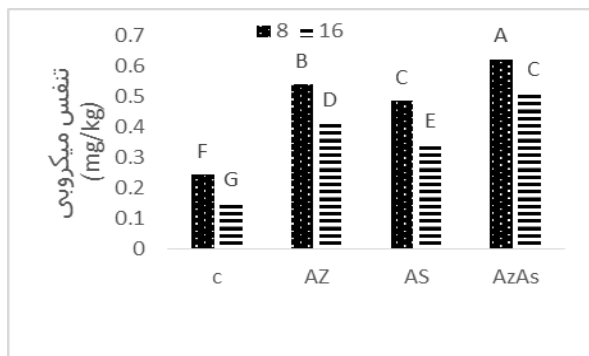
جدول ۲- آزمون‌های انجام شده جهت شناسایی باکتری‌های *ازتوباکتر*

ویژگی‌ها	تست‌ها
تمامی جدایه‌ها توانایی رشد در محیط فاقد نیتروژن وینوگراسکی را داشتند	رشد در محیط کشت وینوگراسکی
تشکیل سیست به رنگ زرد و قهوه‌ای تا مایل به سیاه	کشت کهنه
گرم منفی	آزمون گرم
تمامی جدایه‌ها توانایی تولید آنزیم سیتوکروم اکسیداز را داشته و رنگ کلنی را به بنفش تیره تغییر دادند.	آزمون اکسیداز
تمامی جدایه‌ها توانایی تولید آنزیم کاتالاز و تشکیل حباب توسط محلول ۳ درصد پراکسید هیدروژن را داشتند	آزمون کاتالاز
تمامی جدایه‌ها توانایی تولید اسید از قند و تغییر رنگ معرف برموتیمول بلو از آبی به زرد را داشتند.	آزمون تولید اسید از قند

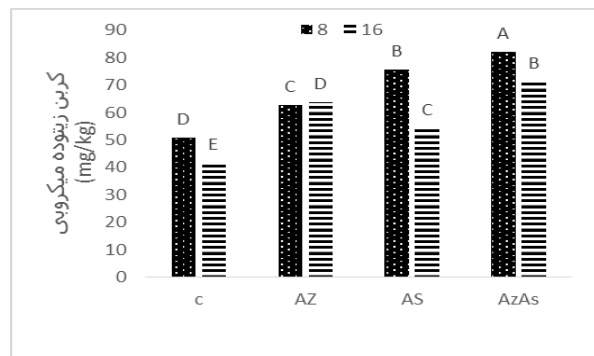
جدول ۳- ارزیابی رشد کیفی جدابه‌های باکتریایی در سطوح مختلف شوری

سطوح نمک					جدایه					سطوح نمک					جدایه									
۱۰					۷					۵					۲					۰				
++	+++	+++	++++	++++	۱۳	-	++	+++	+++	++++	۱	-	++	+++	+++	++++								
-	-	+	++	+++	۱۴	-	-	++	+++	++++	۲	-	-	++	+++	++++								
+	+	++	+++	+++	۱۵	-	-	++	++++	++++	۳	-	-	++	++++	++++								
-	+	+	+++	+++	۱۶	-	-	+++	++++	++++	۴	-	-	+++	++++	++++								
-	-	++	+++	++++	۱۷	+	++	+++	++++	++++	۵	+	++	+++	++++	++++								
-	+	++	+++	++++	۱۸	-	+	++	+++	++++	۶	-	+	++	+++	++++								
+	+	+++	++++	++++	۱۹	-	-	-	++	+++	۷	-	-	-	++	+++								
-	+	++	+++	+++	۲۰	-	+	++	+++	++++	۸	-	+	++	+++	++++								
+	++	+++	+++	++++	۲۱	-	+	++	+++	++	۹	-	+	++	+++	++								
-	+	++	++++	++++	۲۲	-	+	+++	++++	++++	۱۰	-	+	+++	++++	++++								
-	-	+	+	++	۲۳	-	-	+	++	+++	۱۱	-	-	+	++	+++								
						+	++	+++	++++	++++	۱۲	+	++	+++	++++	++++								

++++ بسیار خوب +++ خوب ++ متوسط +ضعیف بدون رشد
NO growth, Weak, Fair, Good, Very good



شکل ۱. تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان تنفس میکروبی



شکل ۲. تاثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان کربن زیست توده

C: شاهد، Az: ازتوباکتر، As: آزوسپریلیوم، AzAs: تلفیق ازتوباکتر و آزوسپریلیوم

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که شوری تاثیرات منفی بر اندازه و فعالیت جمعیت میکروبی خاک و فرآیندهای بیولوژیکی خاک دارد. این موضوع منجر به کاهش سرعت تجزیه و معدنی شدن مواد آلی در خاک و در نتیجه کاهش تنفس میکروبی و کربن زیست توده میکروبی خاک در خاک می شود. تلفیق باکتری مقاوم به شوری و دارای خصوصیات محرک رشدی سبب بهبود شاخص های میکروبی در خاک گردید. میزان تنفس و کربن زیست توده میکروبی به ترتیب در تیمارهای تلفیق توام و تلفیق انفرادی باکتری ها نسبت به تیمار بدون باکتری بیشتر بود. اضافه شدن باکتری ها به ریزوسفر گیاه سبب کاهش اثرات تنش شوری شده و با افزایش جمعیت میکروبی خاک در ریزوسفر گیاه سبب بهبود شاخص های میکروبی در شرایط تنش شوری شد. باکتری های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به عنوان باکتری های تثبیت کننده نیتروژن و داشتن اثرات سینرژیستی با



یکدیگر می‌توانند جهت کاهش اثرات منفی شوری بر شاخص‌های میکروبی در خاک به کار برده شوند، به خصوص جدایه ازتوباکتر که با داشتن فعالیت‌های تنظیمی برای سازگاری با تنش شوری از جمله تشکیل سیست و همچنین دارا بودن فاکتورهای محرک رشدی به عنوان یک باکتری مقاوم به شوری در خاک‌های شور توصیه می‌شود.

منابع

- Glick B.R., Karaturovic D.M., Newell P.C. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *pseudomonads*. Canadian Journal of Microbiology, 41: 533-536.
- Liang Y., Nikolic M., Peng Y., Chen W., and Jiang Y. 2005. Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization. Soil Biology and Biochemistry, 37: 185-195.
- Merchan F., Breda C., Perez Hormaeche J. A. 2003. A transcription factor gene is involved in salt stress responses in *Medicago* spp. Plant soil, 257: 1
- Rasul G., Appuhn, A., Muller T., and Joergensen R.G. 2006. Salinity-induced changes in the microbial use of sugarcane filter cake added to soil. Applied Soil Ecology, 31: 1-10.
- Rietz D.N., and Haynes R.J. 2003. Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. Soil Biology and Biochemistry, 35: 845-854.
- Vanessa N.L., Wong Ram C., Dalal Richard S., and Greene B. 2008. Salinity and sodicity effects on respiration and microbial biomass of soil. Biology and Fertility of Soils, 44: 943-953.
- Krieg N. R. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins, 1136p.
- Macagnan D., Romeiro R.S., Pomella A.W.V., deSouza J.T. 2008. Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora* (ex *Crinipellis*) *Perniciosa* by phylloplane actinomycetes. Biological Control, 47: 309-314.
- Yuan B.C., Li, Z.Z., Liu H., Gao, M., and Zhang Y.Y. 2007. Microbial biomass and activity in salt affected soils under arid conditions. Applied Soil Ecology, 35: 319-328.

Effect of *Azotobacter* spp. And *Azospirillum* isolate on some microbial indices at different soil salinity levels

R. Khodadadi¹, M. Olamaee², S. A.R. Movahedi Naeini²

1-M.Sc. Student, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

2- Associate Professor, Department of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

Abstract

Thirty-two *Azotobacter* isolates were obtained from some saline soils and purified using physiological and biochemical tests. Isolates screened for their ability to grow in 2-5-10% salt concentrations and some PGPR factors. A superior *Azospirillum* isolate was obtained from microbial bank, and their growth was measured at 2-5-10% salt concentrations. Factorial experiment used a completely randomized design with two bacterial factors including inoculation (without inoculation, inoculation of *Azotobacter*, inoculation of *Azospirillum*, inoculation of *Azotobacter* and *Azospirillum* combined) and salinity (8 and 16 dS m⁻¹) on barley (Karun cultivar) in greenhouse conditions. The results of analysis of variance showed that inoculation of bacteria with both levels of salinity significantly increased respiration and microbial carbonation in soil. The results showed that, combined application of *Azotobacter* and *Azospirillum* reduced negative effects of salinity on soil microbial indices.

Keywords: microbial respiration, microbial biomass carbon, salinity levels, PGPR