نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد چهارم، شماره اول، ۱۳۹۳
http://ejsms.gau.ac.ir

تأثیر تلقیح تلفیقی باکتری *سینوریزوبیوم* (*Sinorhizobium* sp.) و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر تثبیت نیتروژن و رشد یونجه

مهدیه ابراهیمی[۱] و *عبدالرضا اخگر[۲]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان،
[۲] استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۲۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۱۰

چکیده

تثبیت بیولوژیک نیتروژن از طریق همزیستی گیاهان خانواده لگومینوز با باکتری‌های ریزوبیومی تثبیت‌کننده نیتروژن به لحاظ نقشی که می‌تواند در افزایش عملکرد، کاهش هزینه‌های تولید، بهبود حاصلخیزی خاک و ممانعت از آلودگی آب‌های زیرزمینی داشته باشد از اهمیّت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. در این مطالعه ابتدا کارایی همزیستی (S.E) ۳۱ جدایه *سینوریزوبیوم* با گیاه یونجه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد ۲۷ درصد جدایه‌ها خیلی مؤثر، ۲۳ درصد مؤثر، ۱۶ درصد نسبتاً مؤثر و ۳۶ درصد غیرمؤثر بودند. جدایه SR42 بیشترین کارایی همزیستی و جدایه SR40 کمترین کارایی همزیستی را به خود اختصاص دادند. همچنین جدایه‌های SR8، SR14، SR15، SR26، SR51، SR52 و SR75 همزیستی خیلی مؤثری با گیاه یونجه ایجاد کردند. بر مبنای نتایج مربوط به ارزیابی فاکتور مؤثر بودن همزیستی (S.E.)، جدایه SR42 انتخاب و در یک آزمون گلخانه‌ای اثر تلقیح تلفیقی جدایه *سینوریزوبیوم* و دو باکتری ریزوسفری محرک رشد گیاه شامل *P. fluorescence* P9 و *P. fluorescence* P52 (به‌ترتیب جدا شده از ریزوسفر کلزا و پسته) بر میزان گره‌زایی، تثبیت نیتروژن، وزن خشک توده گیاهی و جذب برخی عناصر غذایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، وزن خشک

* مسئول مکاتبه: arakhgar@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

اندام هوایی، تعداد گره و جذب نیتروژن اندام هوایی یونجه تلقیح شده با باکتری *سینوریزوبیوم* جدایه SR42 را به‌طور معنی‌داری افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: تثبیت نیتروژن، *سینوریزوبیوم*، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، یونجه

مقدمه

کشت متوالی گیاهان در اراضی باعث کاهش حاصل‌خیزی خاک و ایجاد کمبود عناصر غذایی برای گیاه خواهد شد. در این میان کمبود نیتروژن که یکی از عناصر پرمصرف برای گیاهان به‌ویژه گیاهان زراعی می‌باشد، از اهمیّت ویژه‌ای برخوردار است. کمبود نیتروژن بر رشد و نمو گیاه اثر منفی گذاشته و در نهایت به کاهش عملکرد منتهی می‌شود (ماشنر، ١٩٩٥). استفاده از کودهای شیمیایی نظیر کودهای نیتروژنه، فسفره، پتاسه و عناصر کم مصرف ممکن است در کوتاه مدت اثر مثبتی بر افزایش محصول داشته باشند، اما به مرور زمان بر روی ساختمان خاک اثر منفی گذاشته و مازاد آن با آب باران و یا آبیاری شسته شده و موجب آلودگی آب‌های زیرزمینی خواهد شد. ادامه این روند مشکلات بسیاری را برای محیط‌زیست، انسان و حیوانات به‌ویژه دام‌های اهلی ایجاد نموده و هزینه‌های گزافی را به بار خواهد آورد. یکی از روش‌های سودمند برای پیش‌گیری از ضرر و زیان ناشی از به‌کارگیری کودهای شیمیایی نیتروژنی، استفاده از باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشد (پیپولز و همکاران، ١٩٩٥). در این شرایط علاوه‌بر تأمین نیتروژن موردنیاز گیاه، حاصلخیزی خاک افزایش و ساختمان خاک نیز بهبود خواهد یافت. در این راستا با کشت گیاهان لگوم، نیتروژن هوا به واسطه همزیستی گیاه با سویه‌های ریزوبیومی در گره‌های ریشه تثبیت شده و در اختیار گیاه قرار خواهد گرفت. مازاد آن نیز در پایان فصل رویشی با جدا شدن گره‌ها از ریشه به خاک اضافه شده و حاصل‌خیزی خاک را افزایش خواهد داد. در شروع فصل رویش بعد نیز، باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن دوباره فعال شده و به تثبیت نیتروژن ادامه خواهند داد. در این زمینه از پژوهش‌گران زیادی گزارش شده است که عوامل متعددی مانند نوع گیاه، قدرت تثبیت‌کنندگی باکتری، مقدار نیتروژن معدنی، میزان فسفر، پتاسیم، اسیدیته، وجود عناصر غذایی قابل استفاده در خاک و شرایط آب و هوایی در تثبیت نیتروژن اثر زیادی دارند (تیئز و همکاران، ١٩٩٥؛ بروکول و همکاران، ١٩٩٥).

Archive of SID

www.SID.ir

در سال‌های اخیر به تلقیح تلفیقی باکتری‌های ریزوبیومی با باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] به‌منظور افزایش پتانسیل گره‌زایی و نهایتاً رشد گیاه توجه بیشتری شده است (پارمر و داداروال، ۱۹۹۹). حضور باکتری‌های محرک رشد در محیط ریشه گیاه، مزایایی برای رشد گیاه در پی دارند که از آن جمله جذب بیشتر مواد غذایی است (گری و اسمیت، ۲۰۰۵). این باکتری‌ها با ساخت انواع ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه باعث افزایش رشد و کیفیت محصول شده و از طریق مکانیسم‌های مختلف باعث ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاهان می‌شوند. باکتری‌های محرک رشد گیاه باکتری‌هایی هستند که می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مختلف شامل تثبیت نیتروژن، افزایش انحلال فسفات‌های نامحلول، تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها، تولید فیتوهورمون‌هایی چون اکسین، سیتوکینین، جیبرلین و کم کردن اتیلن باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه شوند (کلوپر و همکاران، ۱۹۸۹). پژوهش‌های انجام شده توسط دشتی و همکاران (۱۹۹۸) نشان داد که تشکیل گره و تثبیت نیتروژن در سویا به‌وسیله باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن در اثر کاربرد هم‌زمان با باکتری‌های محرک رشد گیاه افزایش یافت. در پژوهش‌های دیگر نشان داده شد که اثر متقابل بین *برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم* و باکتری‌های محرک رشد گیاه، گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در سویا و ***Lupinus albus*** را افزایش داد (دشتی و همکاران، ۱۹۹۸؛ گارسیا و همکاران، ۲۰۰٤). هم‌چنین تلقیح همزمان *باسیلوس پلی‌میکسا* و *ریزوبیوم اتلی*، جمعیّت *ریزوبیوم اتلای* و گره‌زایی را در ریزوسفر لوبیا افزایش داد (پترسون و همکاران، ۱۹۹٦). چانوی و همکاران (۱۹۸۹) نشان دادند که سویه‌های سودوموناس فلورسنت محرک رشد گیاه در ترکیب با سویه‌های ریزوبیوم، رشد و تثبیت نیتروژن در گیاهان عدس (***Lenesculenta moench***) و ارقام نخودفرنگی (***Pisum sativum***) در شرایط مزرعه و گلخانه را افزایش دادند.

با عنایت به مطالب فوق و با توجه به اثرات مثبت تلقیح تلفیقی باکتری‌های ریزوبیومی و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، هدف از این پژوهش که همانا بررسی تلقیح هم‌زمان باکتری‌های *سینوریزوبیوم* و باکتری‌های PGPR در افزایش تثبیت نیتروژن و رشد گیاه یونجه رقم بمی بود شکل گرفت.

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های *سینوریزوبیوم* از گره‌ها: به‌منظور جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های *سینوریزوبیوم* همزیست با گیاه یونجه از تعداد زیادی مزرعه زیر کشت یونجه در استان کرمان به‌صورت تصادفی بوته‌هایی سالم و شاداب همراه با ریشه جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان منتقل گردید. پس از شستشوی کامل ریشه گیاهان، گره‌های درشت، سالم و ارغوانی رنگ از ریشه‌ها جدا و به‌مدت ١٠ ثانیه با الکل اتیلیک ٩٦ درصد و سپس ٣ دقیقه با محلول هیپوکلرورسدیم ٥ درصد ضدعفونی شدند. با انتقال چند گره به لوله‌های اپندورف ١/٥ میلی‌لیتری و اضافه کردن ١٠٠ میکرولیتر آب مقطر استریل به آن‌ها، سوسپانسیون‌هایی یکنواخت تهیه شد. سپس مقدار کافی محیط کشت اختصاصی باکتری ریزوبیوم YMA[1] تهیه گردید. این محیط در هر لیتر شامل مانیتول (١٠ گرم)، عصاره مخمر (٠/٥ گرم)، $MgSO_4.7H_2O$ (٠/٢ گرم)، KH_2PO_4 (٠/٥ گرم)، NaCl (٠/١ گرم)، آگار (١٨ گرم) بود که در pH=٧/٢ تنظیم گردید. آنگاه سوسپانسیون‌های مذکور در پلیت‌های دارای محیط YMA کشت داده شدند. بعد از گذشت ٧٢ ساعت از کشت، برای هر نمونه یک کلنی شاخص به رنگ شیری و لزج انتخاب و به‌منظور اطمینان از خلوص آن چند بار بازکشت شد (وینسنت، ١٩٧٠). جدایه‌های خالص شده تا زمان استفاده بر روی محیط کشت شیبدار دارای YMA دارای کربنات کلسیم (٣ گرم در لیتر) کشت داده و در دمای ٤ درجه سلسیوس درون یخچال نگه‌داری شدند.

بررسی توان گره‌زایی و تعیین کارایی همزیستی باکتری‌های *سینوریزوبیوم*: به‌این منظور یک آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ٣١ تیمار باکتری *سینوریزوبیوم* و یک تیمار شاهد مثبت (بدون باکتری *سینوریزوبیوم* همراه با کود نیتراتی) و یک تیمار شاهد منفی (بدون باکتری *سینوریزوبیوم* و بدون کود نیتراتی) در ٥ تکرار انجام شد. جهت تهیه زادمایه، تمام سویه‌های ریزوبیومی خالص‌سازی شده به محیط کشت YMB (محیط کشت YMA فاقد آگار) تلقیح و در دمای ٢٧ درجه سلسیوس در ١٥٠ دور در دقیقه تکان داده شدند. آنگاه مقادیر کافی بذور گیاهان میزبان (یونجه رقم بمی) پس از استریل سطحی با محلول هیپوکلرور سدیم ٥ درصد، روی پلیت‌های دارای آب- آگار[2] در دمای ٢٥ درجه سلسیوس جوانه‌دار شدند. تعداد ١٢ بذر جوانه‌دار در هر گلدان

1- Yeast Manitol Agar
2- Water Agar

Archive of SID

www.SID.ir

۵۰۰ گرمی حاوی شن شسته شده با اسید و استریل کشت داده شدند. هر بذر با ۳۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری تلقیح و گلدان‌ها برای مدت دو ماه در گلخانه نگه‌داری شدند. در طول دوره رشد از محلول غذایی هوگلند (هوگلند و آرنون، ۱۹۵۰) فاقد نیتروژن به‌منظور تأمین عناصر غذایی موردنیاز گیاه یونجه استفاده گردید. در آخر وزن خشک اندام هوایی اندازه‌گیری و کارایی همزیستی با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید.

$$S.E = (W_B-W_C)/(W_N-W_C)\times 100$$

که در آن؛ S.E= کارایی سیستم همزیستی

W_B= وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه تلقیح شده با هر جدایه

W_C= وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه در تیمار شاهد منفی

W_N= وزن خشک اندام هوایی گیاه یونجه در تیمار شاهد مثبت

می‌باشد.

آزمون گلخانه‌ای بررسی کاربرد تلفیقی باکتری‌های PGPR با باکتری *سینوریزوبیوم*: به‌منظور بررسی تأثیر تلقیح تلفیقی باکتری‌های PGPR با باکتری *سینوریزوبیوم* منتخب (جدایه‌ای که در بین جدایه‌های *سینوریزوبیوم* مورد آزمون بیشترین کارایی همزیستی داشت) بر گره‌زایی، تثبیت نیتروژن و رشد یونجه، یک آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح باکتری PGPR شامل دو تیمار باکتری سودوموناس فلورسنت (*P. fluorescens* P9 و *P. fluorescens* P52 به‌ترتیب جدا شده از ریزوسفر کلزا و پسته (جدول ۱) و یک تیمار بدون باکتری PGPR به‌عنوان شاهد انجام گرفت. باکتری‌های PGPR از بانک باکتری گروه علوم خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان تهیه گردیدند. برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی، ابتدا جدایه *سینوریزوبیوم* و باکتری‌های PGPR به‌ترتیب بر روی محیط کشت جامد YMA و KingB کشت داده شدند. محیط کشت KingB در هر لیتر شامل ۲۰ گرم پروتئوز پپتون، ۱/۵ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۱/۵ گرم K_2HPO_4، ۱۰ گرم گلیسرول و ۱۵ گرم آگار بود که در pH=۷/۲ تنظیم گردید. سپس جدایه سینوریزوبیوم و باکتری‌های PGPR به‌ترتیب در محیط کشت‌های مایع YMB و TSB[1] و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به‌ترتیب به‌مدت ٤٨ و ۷۲ ساعت روی شیکر با ۱۵۰ دور در دقیقه رشد داده شدند. جهت اجرای آزمون گلخانه‌ای ابتدا گلدان‌های یک

1- Trypton Soya Bean

Archive of SID

www.SID.ir

کیلوگرمی با یک خاک غیر شور با بافت لوم شنی پر شدند. براساس آزمون خاک و به‌منظور بر طرف کردن نیاز گیاهان یونجه به عناصر فسفر و پتاسیم، ٢٢ میلی‌گرم KH_2PO_4 به هر کیلوگرم خاک اضافه گردید. بذور یونجه (رقم بمی) با محلول هیپوکلرورسدیم ٥ درصد استریل سطحی شده بر روی محیط آب- آگار جوانه‌دار شدند. در هر گلدان تعداد ٢٠ بذر یونجه جوانه‌دار شده در ٣ تکرار کشت گردید. تمامی بذرهای یونجه با ٣٠٠ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری *سینوریزوبیوم* جدایه SR42 تلقیح شدند و هم‌زمان همین مقدار از سوسپانسیون باکتری‌های PGPR برای تلقیح تیمارهای مربوطه مورد استفاده قرار گرفت. آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر و تا حد ٧٠ درصد ظرفیت زراعی (به روش وزنی) انجام گرفت. دو هفته پس از کشت و پس از استقرار کامل نهال‌ها، در هر گلدان تعداد ١٢ نهال که از نظر اندازه مشابه بودند نگه داشته و بقیه نهال‌ها از گلدان خارج شدند. پس از گذشت سه ماه، اندام هوایی گیاه از منطقه طوقه جدا و بعد از تعیین وزن تر، نمونه‌ها در دمای ٦٥ درجه سلسیوس تا ثابت شدن وزن خشک شدند. گلدان‌ها داخل تشت آب قرار داده شدند تا ریشه‌ها به راحتی همراه با خاک از درون گلدان خارج شوند آن‌گاه ریشه بوته‌ها روی یک غربال قرار داده شده و با دوش آب کاملاً شسته شدند. گره‌ها با دقت کامل از ریشه جدا و شمارش گردیدند. پس از تعیین وزن خشک اندام هوایی گیاهان، نمونه‌ها آسیاب و عصاره‌گیری انجام گردید و غلظت عناصر نیتروژن به‌وسیله دستگاه کجلدال مدل WD40، فسفر به روش رنگ‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T80UV/VIS Spectrometer، پتاسیم به‌وسیله فلیم‌فتومتر Jenway مدل PFP7، کلسیم، منیزیم، آهن، روی، مس و منگنز به‌وسیله دستگاه جذب اتمی Awanta مدل GBC-932 اندازه‌گیری شد (کوتینی، ١٩٨٠). جذب عناصر از حاصل‌ضرب غلظت عناصر در وزن خشک اندام هوایی گیاه به‌دست آمد.

جدول ١- برخی خصوصیّات محرک رشد سویه‌های *سودوموناس فلورسنس* مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای (اخگر و همکاران، ٢٠١١؛ حسنی و همکاران، ٢٠١٢).

سویه‌های باکتری	توان مصرف ACC- دآمیناز	مقدار فسفر آزاد شده mgl^{-1}	توان تولید سیدروفور (قطرکلونی/ قطرهاله)	تولید اکسین μgml^{-1}
P9	+	٥٠٢/١٦	١/٧٣	٤/٠٧
P52	+	٥٠٥/٧٥	١/٨٧	٣/٠١

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

بررسی کارایی همزیستی جدایه‌های *سینوریزوبیوم*: نتایج تجزیه واریانس تأثیر جدایه‌های *سینوریزوبیوم* بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه یونجه نشان داد که این جدایه‌ها بر وزن تر و خشک اندام هوایی در سطح ۰/۱ درصد اثر معنی‌داری داشتند. (جدول ۲)

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر جدایه‌های *سینوریزوبیوم* بر وزن تر و خشک اندام هوایی یونجه.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی
جدایه	۳۳	۰/۰۰۴۹***	۰/۰۴۷۸***
خطا	۱۳۶	۰/۰۰۰۹	۰/۰۱۲۱
CV	-	۱۷/۱۷۰۱	۱۵/۹۴۵۳

*** معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد.

نتایج همچنین نشان داد به‌جز جدایه SR40 سایر جدایه‌های مورد آزمایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهان تیمار شده را نسبت به شاهد منفی افزایش دادند. در بین باکتری‌های مورد آزمون، جدایه‌های SR8، SR14، SR15، SR19، SR26، SR37، SR38، SR42، SR46، SR50، SR51، SR52، SR69، SR70،SR71، SR75، SR78، SR89 و SR90 وزن خشک اندام هوایی را نسبت به شاهد منفی به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. هم‌چنین در بین جدایه‌های مورد آزمون بیشترین وزن تر و خشک مربوط به جدایه SR42 و کمترین آن مربوط به تیمار SR40 بود (شکل ۱).

شکل ۱- مقایسه میانگین اثر باکتری‌های *سینوریزوبیوم* بر وزن خشک اندام هوایی یونجه.

www.SID.ir

مادّه خشک گیاه بهترین پارامتر برای ارزیابی فعالیّت همزیستی لگوم- ریزوبیوم است (سوماسگاران و هوبن، ١٩٩٤). در آزمایش‌هایی که توسط اسدی‌رحمانی و صالح راستین (٢٠٠٠) بر روی ارقام لوبیا صورت گرفت نشان داده شد که تلقیح این گیاهان با سویه‌هایی از باکتری *ریزوبیوم فازئولی* باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در وزن خشک اندام هوایی شد. طبق نتایج آن‌ها سویه شماره ١٠٠ که از استان همدان و منطقه لالجین جداسازی شده بود با کارایی ٢١٨ درصد در تولید وزن خشک مؤثرترین سویه شناخته شد. سیواراماياه و همکاران (٢٠٠٧) گزارش کردند که تلقیح گیاهان نخود با ریزوبیوم به‌طور معنی‌داری موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و عملکرد نخود گردید. رودریگز- ناوارو و همکاران (٢٠٠٠) گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در خصوص مقادیر وزن خشک اندام هوایی رقم لوبیا کائیلنی در تلقیح با سویه‌های مختلف *ریزوبیوم* وجود داشت. بر طبق این گزارش باکتری *ریزوبیوم اتلی* سویه $2lpr_2$ توانست بیشترین وزن خشک لوبیا را به خود اختصاص دهد.

فاکتور مؤثر بودن همزیستی: نتایج ارزیابی مؤثر بودن همزیستی جدایه‌های *سینوریزوبیوم* نشان داد که ٢٧ درصد جدایه‌ی‌ها خیلی مؤثر، ٢٣ درصد مؤثر، ١٦ درصد نسبتاً مؤثر و ٣٦ درصد غیرمؤثر بوده‌اند (جدول ٣). جدایه SR42 بیشترین کارایی همزیستی و جدایه‌های SR4 و SR40 کمترین کارایی همزیستی را به خود اختصاص دادند. دلیل کاهش وزن خشک گیاهان یونجه تیمار شده با جدایه‌های SR4 و SR40 نسبت به شاهد منفی را می‌توان چنین توضیح داد که این جدایه‌ها با وجود تولید گره، گره فعالی تولید نکرده‌اند و چون تولید گره نیاز به صرف انرژی دارد گیاه مقداری از انرژی حاصل از فتوسنتز را صرف تولید گره کرده است (سوماسگاران و هوبن، ١٩٩٤). هم‌چنین جدایه‌های SR8، SR14، SR26، SR42، SR51، SR52 و SR75 نسبت به سایر جدایه‌ها از کارایی همزیستی بالایی برخوردار بودند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- مؤثر بودن همزیستی جدایه‌های *سینوریزوبیوم*.

کارایی همزیستی	S.E (درصد)	تیمار
غیر مؤثر	-*	SR4
خیلی مؤثر	۱۲۹/۷۳	SR8
خیلی مؤثر	۱۱۸/۹۲	SR14
غیر مؤثر	۱۶/۲۲	SR16
نسبتاً مؤثر	٦٤/٨٦	SR19
خیلی مؤثر	۱۱۰/۸۱	SR26
غیر مؤثر	٤٨/٦٥	SR31
غیر مؤثر	٤٠/٥٤	SR34
غیر مؤثر	۲۷/۰۳	SR36
مؤثر	۹۷/۳۰	SR37
غیر مؤثر	۳۸/٤۹	SR38
غیر مؤثر	-	SR40
خیلی مؤثر	۱٤٥/۹٤	SR42
مؤثر	۸۳/۷۸	SR46
غیر مؤثر	۲۹/۷۳	SR47
نسبتاً مؤثر	۷۰/۲۷	SR50
خیلی مؤثر	۱۱۰/۸۱	SR51
خیلی مؤثر	۱۱۰/۸۱	SR52
غیر مؤثر	٤٥/۹٤	SR56
غیر مؤثر	۱۳/٥۱	SR61
نسبتاً مؤثر	٥٦/۷٦	SR65
مؤثر	۹٤/٥۹	SR69
مؤثر	۸٦/٤۷	SR70
مؤثر	۱۰۰	SR71
خیلی مؤثر	۱۰۲/۷۰	SR75
نسبتاً مؤثر	٦۷/٥۷	SR78
نسبتاً مؤثر	٦۲/۱٦	SR81
غیر مؤثر	۱۳/٥۱	SR82
نسبتاً مؤثر	٥٦/۷٦	SR83
مؤثر	۸٦/٤۷	SR89
مؤثر	۷٥/٦۷	SR90

* به‌دلیل کمتر بود وزن خشک تیمارهای تلقیح شده با باکتری سینوریزوبیوم نسبت به شاهد، میزان مؤثر بودن همزیستی (S.E) قابل ارائه نیست.

Archive of SID

www.SID.ir

گزارش شده است که باکتری‌های ریزوبیومی خاک شامل سویه‌هایی با فعالیّت کم تا فعالیّت زیاد می‌باشند و در صورتی‌که جمعیّت قابل ملاحظه‌ای در خاک داشته باشند قادرند با ایجاد رابطه همزیستی، نیاز نیتروژن گیاه را برآورده سازند (سینگلتون و کیسر، ٢٠٠٠). همچنین چنانچه جمعیّت باکتری‌های ریزوبیومی در خاک کم ولی از کارایی بالایی برخوردار باشند، باز گیاه از طریق رابطه همزیستی با این سویه‌ها قادر خواهد بود بخشی از نیاز نیتروژن خود را تأمین نماید (بردمن و همکاران، ١٩٩٧). اطلاعات کمی در مورد سویه‌هایی که از کارایی همزیستی بالایی با گیاه یونجه برخوردار هستند وجود دارد ولی مشخص شده که سویه‌های با کارایی همزیستی بالا میتوانند سبب بهبود عملکرد یونجه شوند (ژائوهای و همکاران، ٢٠٠٧). نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های مختلف بیانگر آن است که وزن خشک شاخساره یکی از معیارهای پذیرفته شده برای تعیین کارایی همزیستی لگوم- ریزوبیوم می‌باشد (هانگریا و بوهرر، ٢٠٠٠؛ آپونو و دار، ٢٠٠٦). ژائوهای و همکاران (٢٠٠٧) از منطقه‌ای در چین ١٧ سویه باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* همزیست با گیاه یونجه جمع‌آوری و سویه‌های با کارایی همزیستی بالا را شناسایی کردند.

تلقیح تلفیقی جدایه *سینوریزوبیوم* و باکتری‌های PGPR

الف) تأثیر کاربرد باکتری‌های PGPR بر وزن خشک اندام هوایی و تعداد گره: نتایج تجزیه واریانس کاربرد باکتری‌های PGPR بر وزن خشک اندام هوایی و تعداد گره گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه *سینوریزوبیوم* SR42 نشان داد که این باکتری‌ها اثر معنی‌داری بر این دو صفت داشتند (جدول ٤).

جدول ٤- تجزیه واریانس تأثیر باکتری‌های PGPR بر وزن خشک اندام هوایی و تعداد گره گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه *سینوریزوبیوم*.

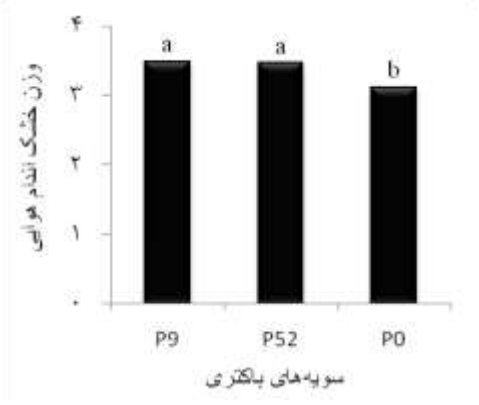
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین	مربعات
		وزن خشک اندام هوایی	تعداد گره
سویه	٢	٠/١٣٧*	٣٠٢٢/٣٣٣*
خطا	٦	٠/٠٢٤	٣٧٥/٢٢٢
CV	-	٤/٥٩٣	١١/٩٣٢

* معنی‌دار بودن در سطح ٥ درصد.

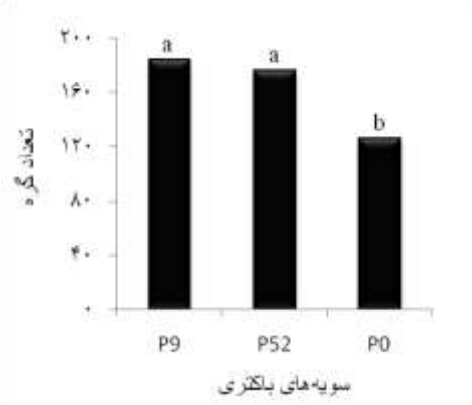
Archive of SID

www.SID.ir

وزن خشک اندام هوایی گیاه: چنانچه در شکل‌های ۲ و ۳ مشاهده می‌شود کاربرد هر یک از سویه‌های P9 و P52 وزن خشک اندام هوایی و تعداد گره در گیاه یونجه تلقیح شده با جدایه سینوریزوبیوم SR42 را نسبت به تیمار شاهد افزایش داده است؛ به‌طوری‌که این افزایش از لحاظ آماری در سطح پنج درصد معنی‌داری شد. در واقع تأثیر مثبت تلقیح توأم گیاه با جدایه *سینوریزوبیوم* و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر وزن خشک اندام هوایی را می‌توان به اثرات سینرژیستی بین آن دو مربوط دانست. یکی از مکانیسم‌های احتمالی این است که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با افزایش مقدار عناصر قابل دسترس، باعث افزایش تثبیت نیتروژن در گره‌های ریشه‌ای و در نتیجه افزایش رشد گیاه و به‌خصوص بخش هوایی آن شده باشند. در مطالعه‌ای که توسط بردمن و همکاران (۱۹۹۷) صورت گرفت تلقیح هم‌زمان لوبیا با *ریزوبیوم* و *آزوسپریلیوم* مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش تلقیح هم‌زمان لوبیا با این دو باکتری منجربه افزایش معنی‌داری در تعداد گره، میزان تثبیت نیتروژن و وزن خشک اندام هوایی نسبت به گیاهانی شد که تنها با ریزوبیوم تلقیح شده بودند. پژوهش‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای با جدایه‌های PGPR افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن را در سویا (دشتی و همکاران، ۱۹۹۸) و لوبیا (فیگوئیرو و همکاران، ۲۰۰۷) نشان داده است. روزاس و همکاران (۲۰۰۲) در آزمایش مزرعه‌ای بر روی سویا، آثار متقابل بین باکتری همزیست سویا و سویه‌ای از باکتری *سودوموناس پوتیدا* را که حل کننده فسفات بود، مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که تلقیح توأم این باکتری‌ها افزایش معنی‌داری را در وزن خشک بخش هوایی گیاه به‌وجود آورد.



شکل ۲- تأثیر کاربرد باکتری‌های PGPR بر وزن خشک اندام هوایی یونجه تلقیح شده با باکتری سینوریزوبیوم SR42.



شکل ۳- تأثیر کاربرد باکتری‌ها PGPR بر تعداد گره در ریشه یونجه تلقیح شده با باکتری سینوریزوبیوم SR42.

www.SID.ir

ب) تأثیر کاربرد باکتری‌های PGPR بر جذب عناصر غذایی: نتایج تجزیه واریانس کاربرد باکتری‌های PGPR بر جذب عناصر غذایی توسط گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه *سینوریزوبیوم* SR42 نشان داد که این باکتری‌ها بر جذب عناصر نیتروژن، کلسیم، منیزیم، آهن و منگنز در سطح ٥ درصد اثر معنی‌داری داشتند (جدول‌های ٥ و ٦).

جدول ٥- تجزیه واریانس تأثیر باکتری‌های PGPR بر جذب عناصر پرمصرف توسط گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه سینوریزوبیوم.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		نیتروژن	فسفر	پتاسیم	کلسیم	منیزیم
سویه	٢	٧٨٦٢/ ٧٨٦*	٠/٤٤٧ns	٣٠٤/٤٣٥ns	٥٧١/٤٤٤*	١٤/٢٨٥*
خطا	٦	٧٢٣/٠٠٥	٠/٢٣٣	١٢١/٦٣٤	١١١/٠٥٢	١/٩٣٤
CV	-	١٩/٧٩١	١٥/٩٦٩	٧/٨٣٨	١٥/١٠٩	٥/٩٢٣

* معنی‌دار بودن در سطح ٥ درصد.

جدول ٦- تجزیه واریانس تأثیر باکتری‌های PGPR بر جذب عناصر کم مصرف توسط گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه سینوریزوبیوم.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		آهن	روی، مس	مس	منگنز
سویه	٢	٨٩٥/٤٩٧*	١٣٧/٨٤١ns	٦/٦٠٩ns	٢٩٥٥/٢٥٧*
خطا	٦	١٦٤/٣٠٢	١٠٢/١٠٢	٥/٠٩٤	٦١٢/٥٨٩
CV	-	٨/٢٩١	١٤/٠٧٢	٨/٣٧٣	١١/ ٩٦٦

* معنی‌دار بودن در سطح ٥ درصد.

تأثیر کاربرد باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر جذب نیتروژن اندام هوایی گیاه یونجه تلقیح شده با جدایه *سینوریزوبیوم* SR42 نشان داد که کاربرد هر یک از سویه‌های P9 و P52 توانست جذب نیتروژن در بخش هوایی گیاه را نسبت به تیمار شاهد افزایش داده از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را در سطح پنج درصد ایجاد کند (جدول ٧). به‌نظر می‌رسد این سویه‌ها از طریق افزایش تعداد گره یا افزایش اندازه گره و در کل افزایش کارایی همزیستی باعث افزایش جذب نیتروژن در گیاه یونجه شده باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

تأثیر کاربرد باکتری‌های PGPR بر جذب فسفر اندام هوایی نشان داد اگر چه اختلاف معنی‌داری بین دو سویه P9 و P52 با تیمار شاهد مشاهده نشد ولی این دو سویه توانستند جذب فسفر اندام هوایی را نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب به‌میزان ۲۹ و ۱۲/۵ درصد افزایش دهند. خان و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که تلقیح هم‌زمان ریزوبیوم‌های تثبیت کننده نیتروژن با باسیلوس‌های حل‌کننده فسفات، فسفر قابل استفاده خاک و تثبیت نیتروژن را افزایش داد. در پژوهشی دیگر نشان داده شد که تلقیح هم‌زمان گیاه با باکتری *مزوریزوبیوم سیسری* و جدایه‌ای از باکتری *ازتوباکتر کروکوکوم* به‌دلیل تولید اسیدهای آلی و کاهش pH توسط باکتری PGPR جذب فسفر و در نتیجه تثبیت نیتروژن افزایش یافت (الکوکا و همکاران، ۲۰۰۸).

هم‌چنین بر اساس نتایج جدول ۷ سویه‌های PGPR جذب کلسیم و منیزیم اندام هوایی را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند و این افزایش برای سویه P52 در سطح ۵ درصد معنی‌داری شد. در مورد پتاسیم، کاربرد سویه‌ها نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ولی سویه‌های P9 و P52 توانستند جذب پتاسیم اندام هوایی را نسبت تیمار شاهد به‌ترتیب به‌میزان ١٤ و ١٣ درصد افزایش دهند. یکی از مکانیسم‌های مهم باکتری‌های محرک رشد گیاه، بهبود رشد ریشه از طریق تولید و ترشح تنظیم کننده‌های رشد گیاه مانند اکسین و جیبرلین است (پروبانزا و همکاران، ۲۰۰۲). اکسین سطح مفید ریشه را در تماس با خاک افزایش می‌دهد، بنابراین از یک طرف می‌تواند باعث افزایش مکان‌های مناسب قابل دسترس برای آلودگی باکتری‌های ریزوبیومی شود و از طرف دیگر جذب مواد غذایی را افزایش دهد (گوتیرز- مانرو و همکاران، ١٩٩٦). به عقیده چابوت و آنتون (١٩٩٦) این امکان وجود دارد که باکتری‌های PGPR از طریق تغییر در مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه گیاهان تلقیح شده موجب افزایش جذب عناصر غذایی و متعاقباً افزایش تثبیت نیتروژن شوند.

جدول ۷- مقایسه میانگین کاربرد باکتری‌های PGPR بر جذب عناصر غذایی پرمصرف.

تیمار	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	کلسیم	منیزیم
P9	١٦٧/٢٥^{A}	٣/٤٢٥٢^{A}	١٤٧/١٥٩^{A}	٧٣/٨٠٥^{AB}	٢٥/٣٣٣^{AB}
P52	١٦٣/٥٥^{A}	٢/٩٨٧٢^{A}	١٤٥/٨٥٧^{A}	٨١/٠٦٥^{A}	٢٥/٧٣١^{A}
P0	٧٦/٧٩^{B}	٢/٦٥٥١^{A}	١٢٩/٠٩٧^{A}	٥٤/٣٧٢^{B}	٢١/٣٧٤^{B}

* در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

مقایسه میانگین اثر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر جذب آهن و منگنز اندام هوایی گیاه یونجه تلقیح شده با جدایه *سینوریزوبیوم* SR42 نشان داد که سویه P52 بیشترین جذب را در بخش هوایی گیاه ایجاد کرد؛ به‌طوری که این افزایش در مورد منگنز جذب شده توسط یونجه در تیمار با سویه P52 نسبت به شاهد در سطح پنج درصد معنی‌داری شد (جدول ٨). به‌نظر می‌رسد که سویه P52 از طریق تولید سیدروفور و اسیدهای آلی باعث افزایش جذب آهن و منگنز در بخش هوایی گیاه نسبت به تیمار شاهد شده باشد. کاسی (١٩٨٨) گزارش کرد که تحت شرایط مزرعه، گیاهان تلقیح شده با *Penicilium bilaii* آهن و مس بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده جذب کردند.

جدول ٨- مقایسه میانگین کاربرد باکتری‌های PGPR بر جذب عناصر غذایی کم‌مصرف.

تیمار	آهن	منگنز	مس	روی
P9	١٣٨/٩٨^{B}	١٩١/٦٦^{B}	٢٥/٩١٤^{A}	٧٨/٨٣٣^{A}
P52	١٧٣/١٦^{A}	٢٤٢/٩٣^{A}	٢٨/٦٥٥^{A}	٦٥/٣٠٧^{A}
P0	١٥١/٦٥^{AB}	١٨٥/٩٣^{B}	٢٦/٢٩٨^{A}	٧١/٢٧٨^{A}

* در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

منابع

1.Akhgar, A. Khavazi, K., and Khakipour, N. 2011. Isolation, Identification and Effectiveness of ACC deaminase producing rhizobacteria on the alleviation of salinity stress effects on canola growth. J. Water Soil. 25(1): 29-41.

2.Asadi Rahmani, H., and Rastin. N.S. 2000. Prediction of the necessity of soybean inoculation based on the numbers of *Bradyrhizobium japonicum.* Ninth Congress of African Association for Biological N_2 Fixation.

3.Appunu, C., and Dhar. B. 2006. Differential symbiotic response of *Bradirhizobium japunicum* phage typed strain with soybean cultivars. J. Microbiol. 44: 4186-4190.

4.Brockwell, J., Bottomley, P.J., and Thies, J.E. 1995. Manipulation of *rhizobia* microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. Plant Soil. 174: 143-180.

5.Burdman, S., Kigel, J., and Okon, Y. 1997. Effects of *Azospirillum Brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Soil Biol Biochem. 29: 923-929.

6.Chanway, C.P., Hynes, R.K., and Nelson, L.M. 1989. Plant growth-promoting rhizobacteria: effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens* esculenta Moench) and pea (*Pisum sativum* L.). Soil Biol Biochem. 21: 511-517.

Archive of SID

www.SID.ir

7.Chabot, R., and Antoun, H. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli.* Plant Soil. 9.Cottenie, A. 1980. Methods of Plant Analysis. In: Soil and Plant Testing. FAO Soils Bulletin 38: 64-100.
8.Dashti, N., Zhang, F., Hynes, R., and Smith, D.L. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field Plant grown soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under short season conditions. Plant Soil. 200: 205-213.
9.Elkoca, E., Kantar, F., and Sahin, F. 2008. Influence of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria on nodulation, plant growth and yield of chickpea. J. Plant Nutr. 33: 157-171.
10.Figueiredo, M.V.B., Martinez, C.R., Burity, H.A., and Chanway, C.P. 2007. Plant growth promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*phaseolus vulgaris L.*) World J. Microbiol Biothechnol. Online publication, DOI 10.1007/s11274-007-9591-4.
11.Garcia, J.A., Probanza, A., Ramos, B., Barrso, J., and Gutierrez, F.J. 2004. Effect of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and *Sinorhizobium freddii*on biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Glycin max*. Plant Soil. 267: 143-153
12.Gutierrez-Manero, F.J., Acero, N., Lucas, J.A., and Probanza, A. 1996. The influence of native rhizobacteria on European (*Alnus glutinosa* L. Gaertn) Growth. II. Characterization and biological assay of metabolites from promoting and growth inhabiting bacteria. Plant Soil. 182: 67-74
13.Gray, E.J., and Smith, D.L. 2005. Intracellular and extra cellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. Soil Biol. Biochem. 37: 395-410.
14.Hasani, G., Akhgar, A., Tajabadipour, A. 2012. Effectiveness of fluorescent Pseudomonads able to produce IAA and ACC-deaminase on growth of pistachio seedlings. Soil Res. 26(1): 89-97
15.Hoagland, D.R., and D.I., Arnon. 1950. The water–culture method for growing plants without soil. College of Agriculture, Univ of Cal Berkeley, Cal. Cicrcular 347p.
16.Hungria, M., and Bohrer, T.R.J. 2000. Viability of nodulation and denitrogen fixation capacity among soybean cultivars. Biol. Fert Soils. 31: 45-52.
17.Khan, M.S., Zaidi, A., and Wani, P.A. 2006. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: A review. Agron. 26: 1-15.
18.Kloepper, J.W., Lifshitz, R., and Zablotowicz, R.M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. Trends Biotechnol. 7: 39-44.
19.Kucey, R.M.N. 1988. Effect of *penicillium bilaii* on the solubility and uptake of P. and micronutrients from soil by wheat. Can J. Soil Sci. 68: 261-270.

Archive of SID

www.SID.ir

20.Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic press, London, Pp: 379-396.
21.Parmar, N., and Dadarwal, D.K.R. 1999. Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid like compounds by rhizobacteria. J. Appl Microbiol. 86: 36-44.
22.Peoples, M.B., Ladha, J.K., and Herridge, D.F. 1995. Enhancing legume N_2 fixation 239n through plant and soil management. Plant Soil. 174: 83-101.
23.Petersen, D.J., Srinivasan, M., and Chanway, C.P. 1996. Bacillus polymyxa stimulates increased *Rhizobium etii* populations and nodulation when co-resident in the rhizosphere of *phaseolus vulgaris*. FEMS Microbiol Lett. 142: 271-276.
24.Rodriguez Navarro, D.N., Buendia, A.M., Camacho, M., and Lucas, M.M. 2000. Characterization of *Rhizobium* spp. bean isolates from southwest spain. Soil Biol Biochem. 32: 1601- 1613.
25.Rosas, S., Rovera, M., Anders, J., and Correa, N. 2002. Effect of phosphorus solubilizing bacteria on the rhizobia-legume symbiosis. Proceeding of the 15th International Meeting on Microbial phosphate Solubilization. Salamanca University, 16-19 July, Salamanca, Spain.
26.Probanza, A., Lucas Garcia, J.A., Ruiz Palomino, M., Ramos, B., and Gutierrez Manero, F.J. 2002. *Pinus pinea* L. Seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR Bacillus (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). Appl Soil Ecol, 20: 75-84.
27.Singelton, P.W., and Keyser, H.H. 2000. Report on liquid Rhizobia inoculants formulations. Personal Communications.
28.Sivaramaiah, N., Malik, D.K., and Sindhu, S.S. 2007. Improvement in symbiotic efficiency of chickpea (*Cicer arietinum*) by coinoculation of *Bacillus* strains with *Mesorhizobium* sp. *Cicer*. Indian, J. Microbiol, 47: 51–56.
29.Somasegaran, P., and Hoben. H.J. 1994. Handbook for Rhizobia, Methods in *Legume-Rhizobium* Technology 1-450. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. conditions. Applied Soil Ecol. 19: 57-64.
30.Thies, J.E., Woomer, P.L., and Singleton, P.W. 1995. Enrichment of *Bradyrhizobium* spp. populations in soil due to cropping of the homologous host legume. Soil Biol. Bioch. 27: 633-636.
31.Vincent, J.M. 1970. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. International biological programme handbook. Blackwell, Oxford, Pp: 73-97
32.Zhao-Hai, Z., Wen-Xin, C., Yue-Gao, H., Xin-Hua, S., and Dan-Ming. C. 2007. Screening for highly effective *Sinorhizobium meliloti* strains for Vector Alfalfa and testing of its competitive nodulation ability in the field. *Pedosphere*, 17: 219-228. influenced by N- fertlizer rate. Canadian J. Plant Sciences, 72: 1049-1056.

Archive of SID

www.SID.ir

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 4(1), 2014
http://ejsms.gau.ac.ir

Effect of co-inoculation of *Sinorhizobium* sp. and plant growth-promoting rhizobacteria on N-fixation and growth of alfalfa

M. Ebrahimi[1] and *A.R. Akhgar[2]
[1]M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan,
[2]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan
Received: 11/17/2012 ; Accepted: 04/30/2013

Abstract

Symbiotic biological nitrogen fixation (BNF) is beneficial for increasing yield of legums, reduction of production expenses, increment of soil fertility, and prevention of underground water pollution. In the first stage of this study, the symbiotic effectiveness (S.E.) of 31 *Sinorhizobium* isolates with alfalfa plant was evaluated. The results indicated that 27% was very efficient, 23% efficient, 16% relatively efficient and 36% non efficient. The SR42 and SR40 were the most and least effective isolates on alfalfa, respectively. Isolates SR8, SR14, SR15, SR26, SR51, SR52 and SR75 were effective on alfalfa plant as well. According to the results obtained from evaluation of effective indices in symbiosis, SR42 isolate was chosen and then in a greenhouse experiment the effect of co-inoculation S*inorhizobium* isolate (SR42) and two plant growth-promoting rhizobacteria including P. *fluorescens* P9 and P. *fluorescens* P52 (isolated from canola and pistachio rhizosphere, respectively) on nodulation, nitrogen fixation, plant biomass weight and uptake of some elements was investigated. The results showed that application of PGPRs significantly increased shoot dry weight, nodulation number and total N uptake in Alfalfa inoculated with *Sinorhizobium* sp. SR42.

Keywords: Nitrogen fixation, *Sinorhizobium* sp., PGPR, Alfalfa

* Corresponding Authors; Email: arakhgar@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir