

بررسی تاثیر دو باکتری *Pseudomonas sp* و *Enterobacter cloacae* بر اشکال کربن خاک در کشت دو گیاه ذرت و گندم در ریشه‌دان (ریزوباکس)

مرضیه مزرعه^۱، رویا زلغی^{۲*} و نعیمه عنایتی ضمیر^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخچه مقاله	چکیده
دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۴ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۸/۲۹	
کلمات کلیدی: اجزاء کربن خاک، انتروباکتر کلواسه، ریزوسفر گیاه، سودوموناس، ویژگی های بیولوژیک خاک.	به منظور بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر برخی ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی خاک تحت کشت ذرت و گندم، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل دو گیاه ذرت و گندم و سه سطح مایه‌زنی شامل بدون باکتری، <i>Pseudomonas sp. strain Rhizo_9</i> و <i>Enterobacter cloacae strain Rhizo_33</i> در ۳ تکرار در گلدان‌های تقسیم شده (ریزوباکس) و در شرایط گلخانه اجرا گردید. در پایان دوره کشت، گیاه برداشت و خاک‌های ریزوسفری ۱ (چسبیده به ریشه)، ریزوسفری ۲ (چسبیده به مش) و غیرریزوسفری (دور از مش) جدا و برخی ویژگی‌های خاک اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد میزان هر یک از اجزاء کربن و همچنین تنفس پایه و برانگیخته در تیمارهای دارای باکتری بیشتر از شاهد و در خاک تحت کشت ذرت بیشتر از خاک تحت کشت گندم بود. بیشترین میزان تنفس پایه میکروبی (۰/۳۱ میلی گرم CO ₂ بر گرم بر روز)، تنفس برانگیخته (۱/۶۵ میلی گرم CO ₂ بر گرم بر روز)، کربن قابل اکسید با پرمنگنات (۲۱۳/۱ میلی گرم بر کیلوگرم) و کربن زیتوده میکروبی (۱۷/۵۳ میلی گرم بر صد گرم) در خاک ریزوسفری ۱ در کشت ذرت مایه‌زنی شده با باکتری سودوموناس و بیشترین مقدار کربن آلی (۰/۸۲ درصد)، کربن محلول در آب سرد (۱۷۲۷ میلی گرم بر کیلوگرم) و کربن محلول در آب داغ (۹۵۵ میلی گرم بر کیلوگرم) در خاک ریزوسفری ۱ در کشت ذرت مایه‌زنی شده با باکتری انتروباکتر به دست آمد که نشان‌دهنده تاثیر متفاوت دو باکتری بر افزایش اجزاء گوناگون کربن خاک می‌باشد. همچنین کاربرد هر دو باکتری موجب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی هر دو گیاه شد که در این میان تاثیر انتروباکتر بیشتر از سودوموناس بود.
* عهده دار مکاتبات E-mail: r.zalaghi@scu.ac.ir	

کربن خاک عامل مهمی در چرخه‌های بیوژئوشیمیایی کربن است. بنابراین مطالعات مربوط به تغییرات کربن در خاک باید در مقیاس‌های جهانی مورد بررسی قرار گیرد

مقدمه

کربن از عناصر مهمی است که تاثیر زیادی روی سیستم‌های اکولوژیکی از جمله تغییرات اقلیمی دارد. مقدار

طبیعی در آب، خاک و مواد در حال فساد و تجزیه وجود دارند. کودهای زیستی به عنوان مایه تلقیح میکروبی که توانایی متحرک سازی عناصر غذایی خاک را برای گیاه زراعی از حالت غیرقابل دسترس به حالت قابل دسترس از طریق فرآیندهای بیولوژیک دارند بیان می‌شوند (۳۶). از سوی دیگر این ریزجانداران در خاک قادر به تحریک و افزایش شاخص‌های زیستی همانند کربن زیتوده میکروبی، تنفس میکروبی و بهره میکروبی می‌باشند و ممکن است بر توزیع اشکال کربن در خاک نیز تاثیرگذار باشند. برای ارزیابی تغییرات زیستی خاک در اثر باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد، بهتر است ویژگی‌ها و نمایه‌های زیست-شیمیایی خاک (تنفس میکروبی و کربن زیتوده) که نشان‌دهنده تنوع، توزیع زیستی و فعالیت ریزجانداران خاک هستند، در ریزوسفر گیاه اندازه‌گیری شوند.

استفاده از ریشه‌دان^۳ از جمله روش‌هایی است که برای مطالعه تغییرات ریزوسفر مورد استفاده قرار می‌گیرد، چرا که با محدود کردن ریشه‌ها در حجم معینی از خاک، منجر به افزایش تراکم ریشه شده و نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری را آسان می‌سازد. با توجه به اینکه پژوهش‌های کمی در ارتباط با تلقیح میکروبی در ریزوباکس انجام گرفته و نیز با توجه به اهمیت روز افزون کودهای زیستی، هدف از این تحقیق بررسی تاثیر ریزوسفر و نیز برخی باکتری محرک رشد گیاه بر برخی ویژگی‌های بیولوژیکی و شیمیایی خاک در شرایط ریشه‌دان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز به صورت آزمون گلخانه‌ای در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه مرکبی از عمق ۰ تا ۳۰ سانتیمتری خاک مزرعه در دانشگاه شهید چمران جمع‌آوری و به میزان ۲ درصد کمپوست نیشکر به آن اضافه شد. برای کشت گیاه از ریشه‌دان (ریزوباکس) استفاده گردید. ریشه

(۵). کربن یا مواد آلی به‌طور عام بر روی کیفیت و جنبه‌های مختلف خاک تاثیر بسزایی دارد، برخی از این جنبه‌ها عبارتند از فعالیت بیولوژیکی پایدار و باروری، متعادل نمودن حرکت آب و املاح در خاک، فیلتر نمودن، بافر کردن، انهدام، تثبیت و سمیت زدایی مواد آلی و غیر آلی شامل تولیدات صنعتی و رسوبات اتمسفری و ذخیره نمودن تعدیل چرخه عناصر غذایی در بیوسفر (۱). ماده آلی خاک شامل دو بخش مواد هوموسی و ترکیبات قابل دسترس می‌باشد. ذخایر مواد آلی تعریف شده در بخش قابل دسترس عبارتند از: ذرات مواد آلی (POM^۱)، کربن زیتوده میکروبی، کربن محلول در آب، کربن قابل اکسید شدن با پرمنگنات و کربن محلول در آب داغ (۲۰).

باکتری‌های محرک رشد (PGPR^۲) از جمله باکتری‌های مفید ریزوسفری می‌باشند که تلقیح گونه‌های مختلف گیاهان با این باکتری‌ها، باعث افزایش ترشح هورمون اکسین و به دنبال آن افزایش سطح موثر ریشه و بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه شده و رشد و عملکرد گیاه را بهبود می‌دهند (۲۴،۳۰). در حال حاضر استفاده از باکتری‌های محرک رشد به عنوان کودهای زیستی به منظور افزایش حاصلخیزی خاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح شده‌اند. همچنین استفاده از کودهای زیستی گزینه‌ای مناسب برای کاهش یا حذف کودهای شیمیایی می‌باشد. از جمله باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد می‌توان به *ازتوباکتر*، *آزسپریلیوم* و *سودوموناس* اشاره نمود (۳۸). *سودوموناس*‌ها از جمله باکتری‌هایی هستند که در همه خاک‌های زراعی وجود دارند و دارای ویژگی‌های محرک رشدی مختلفی هستند. موثرترین دسته *سودوموناس*‌ها، *سودوموناس*‌های گروه فلورسنت هستند (۳۲). برخی سویه‌های *سودوموناس* با ترشح سیدروفور جذب آهن و برخی دیگر از عناصر کم مصرف نظیر روی را امکان‌پذیر می‌سازند. خانواده *انتروباکتریاسه* گروه بزرگی از باکتری‌ها هستند که به طور

1- Particulate Organic Matter

2- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

3- Rhizobox

طول مدت رشد، مراقبت‌های زراعی لازم انجام و آبیاری تا حد ۷۵ درصد ظرفیت زراعی صورت گرفت. بخش هوایی و ریشه گیاهان ۱۲ هفته بعد از کاشت، برداشت گردید و پس از شستشو و خشک شدن در آون، وزن خشک آنها توزین شد. با توجه به اینکه از دو بخش ریزوسفری و یک قسمت غیرریزوسفری خاک نمونه برداری صورت گرفت، جمعاً ۵۴ نمونه خاک مورد آزمایش قرار گرفت. در نمونه های خاک، تنفس پایه (۳)، تنفس برانگیخته (۴)، کربن آلی خاک بر پایه اکسیداسیون به روش والکی بلک (۳۵)، کربن زیتوده میکروبی به روش تدخین-استخراج (۸)، کربن محلول در آب سرد و آب داغ به روش عصاره گیری و سپس والکی و بلک (۳۵)، کربن قابل اکسید شدن به وسیله پرمنگنات با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر (۱۷) اندازه گیری شده و برای محاسبه ضریب متابولیکی از نسبت تنفس پایه بر کربن زیتوده میکروبی استفاده شد (۱۳).

آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن صورت گرفت.

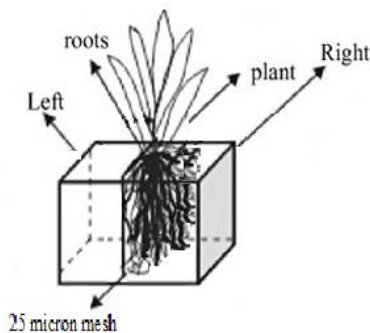
نتایج و بحث

نتایج برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مطالعه شده در جدول ۱ آورده شده است. بیشترین میانگین تنفس پایه ۰/۳۱ میلی گرم CO₂ بر گرم بر روز و مربوط به خاک مایه‌زنی شده با سودوموناس در خاک زیرکشت ذرت بود (جدول ۲). تاثیر سودوموناس در هر سه خاک مورد مطالعه بر افزایش تنفس پایه بیشتر از *انتروباکتر کلوآسه* بود. میزان این شاخص در تیمارهای دارای باکتری به شکل معنی‌داری بالاتر از تیمار بدون باکتری بود. در خاک ریزوسفری کمترین مقدار تنفس مربوط به خاک تحت کشت ذرت بدون مایه‌زنی (۰/۱۷ میلی گرم CO₂ بر گرم بر روز) بود که با گندم بدون مایه‌زنی تفاوت معنی‌داری نداشت.

دان سیستمی است که برای بررسی ریزوسفر و تغییرات ناشی از فعالیت ریشه در ویژگی‌های خاک و رفتار عناصر مورد استفاده قرار می‌گیرد. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی از جمله pH، قابلیت هدایت الکتریکی، کربنات کلسیم معادل خاک، نیتروژن کل، بافت (۱۸) و فسفر قابل استفاده (۲۹) تعیین شد. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار گیاه در دو سطح شامل ذرت (رقم سینگل گراس) و گندم (رقم چمران) و تیمار مایه‌زنی میکروبی در سه سطح شامل بدون باکتری، سودوموناس^۱ و *انتروباکتر کلوآسه*^۲ و در سه تکرار و جمعاً در ۱۸ گلدان دو قسمتی در شرایط گلخانه‌ای اجرا گردید. گلدان‌های با ابعاد ۱۰ سانتی متر عرض و ۲۰×۲۰ سانتی متر مربع ارتفاع×طول استفاده شد. خاک گلدان توسط یک مش با اندازه ۲۵ میکرومتر به شکل عمودی به دو بخش تقسیم شد (شکل ۱). اندازه منافذ این مش به اندازه‌ای می‌باشد که ریشه گیاه امکان عبور ندارد ولی ریزجانداران خاک و ترشحات ریشه می‌توانند عبور کنند. از سه جایگاه در هر گلدان نمونه برداری خاک صورت گرفت. از بخش سمت راست گلدان که گیاه کشت می‌شود خاک چسبیده به ریشه به عنوان خاک ریزوسفری^۱ برداشت شد و از بخش سمت چپ گلدان دو نمونه گرفته شد، خاک چسبیده به مش تا حدود یک سانتی‌متری به عنوان خاک ریزوسفری^۲ (در این بخش ریشه حضور ندارد ولی ترشحات ریشه می‌توانند حضور داشته باشند به همین دلیل با نام خاک ریزوسفری^۲ خوانده می‌شود) و بخش دورتر از مش که امکان حضور ترشحات ریشه کمتر است به عنوان خاک غیرریزوسفری یا توده نمونه برداری شدند. باکتری‌ها از کلکسیون میکروبی گروه خاکشناسی تهیه و کشت شبانه آنها در محیط مایع مغذی تهیه شده و از زادمایه تهیه شده به اندازه (۱۰^۶ cfu g⁻¹) به خاک اضافه شد (۲۱). قبل از کشت بذر در عمق ۲ سانتی‌متری از سطح خاک، تلقیح باکتری انجام و سپس به تعداد ۱۰ بذر در بخش ریزوسفری گلدان کشت شد. در

1- Pseudomonas sp. strain Rhizo_9

2- Enterobacter cloacae .strain Rhizo_33



شکل (۱) شکل شماتیک ریشه‌دان (ریزوباکس)
Figure (1) schematic picture of Rhizobox

جدول (۱) برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک

Table (1) Some of the physical and chemical properties of the studied soils

پتاسیم (میلی گرم بر کیلوگرم)	فسفر قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم)	نیتروژن کل (درصد)	مواد آلی (درصد)	بافت <i>texture</i>	هدایت الکتریکی عصاره اشباع (دسی زیمنس بر متر)	پ هاش (عصاره اشباع)
<i>Potassium</i> ($mg\ kg^{-1}$)	<i>Available</i> <i>phosphorus</i> ($mg\ kg^{-1}$)	<i>Total N</i> (%)	<i>Organic</i> <i>matter</i> (%)		<i>EC (saturated</i> <i>extraction)</i> ($dS\ m^{-1}$)	<i>pH</i> (<i>saturated</i> <i>extraction)</i>
323.73	11.50	0.05	0.50	Clay loam	1.40	6.90

ریشه (شکل ۲) و یا ترشحات ریشه‌ای ذرت نسبت به گندم باشد. در واقع تفاوت‌های مورفولوژیکی ریشه از طریق افزایش حجم خاک در دسترس ریشه، افزایش سطوح جذب کننده، افزایش ترشحات ریشه‌ای و همچنین افزایش وزن و یا طول ریشه باعث افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه می‌شوند (۷). تفاوت در نوع گیاه موجب تغییر در کمیت و کیفیت تراوش‌های ریشه‌ای می‌گردد و هر عامل مؤثر در کمیت و کیفیت تراوش‌های ریشه‌ای ممکن است موجب تغییر در نوع و مقدار سیدروفور تولید شده توسط سویه‌های *سودوموناس* و در نهایت تغییر ترکیب جمعیت میکروبی خاک گردد که این عامل سبب جذب بهتر مواد غذایی شده و در کل منجر به تولید بیشتر در گیاه می‌گردد. با دور شدن از ریشه از مقدار تنفس برانگیخته کاسته شد. متفاوت بودن تنفس برانگیخته در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری می‌تواند وابسته به فراوانی ریزجانداران در این جایگاه و افزایش

گاریا و همکاران^۱ (۲۰۰۵) همبستگی چشم گیر میان اندازه کربن زیتوده ریزجانداران و کارکرد و تنفس پایه آنها گزارش کردند. در خاک ریزوسفری، تراوش‌های ریشه‌ای سوبسترای آلی برای کارکرد ریزجانداران فراهم نموده و یک ریززیستگاه شایسته را برای ریزجانداران پدید می‌آورد (۱۶). در این مطالعه با افزایش فاصله از ریشه (از خاک ریزوسفری ۱ به سمت ریزوسفری ۲ و غیر ریزوسفری)، تنفس خاک کاهش یافت که علت آن را می‌توان به فعالیت بیشتر ریزجانداران خاک تحت کشت گیاه نسبت به محیط بدون کشت نسبت داد.

بیشترین میانگین تنفس برانگیخته (جدول ۲)، ۱/۶۵ میلی‌گرم CO_2 بر گرم بر روز و مربوط به خاک ریزوسفری ۱ ذرت مایه‌زنی شده با *سودوموناس* بود. تنفس برانگیخته در خاک تحت کشت ذرت نسبت به گندم بیشتر بود که می‌تواند به دلیل بیشتر بودن حجم

1-Garcia-Orenes *et al.*

بیشتر بود (جدول ۲) و کمترین مقدار مربوط به خاک ریزوسفری ۱ در حضور باکتری سودوموناس بود. هرگاه که منابع کربن و عناصر غذایی خاک متوسط و یا کم باشد مقدار ضریب متابولیک افزایش می‌یابد، چرا که کربن و عناصر غذایی موجود صرف اعمال حیاتی می‌شوند و کمتر صرف تشکیل بافت‌های جدید میکروبی می‌گردند (۳۴). خاکی که ضریب متابولیکی بالایی دارد نشان‌دهنده شرایط محیطی ناپایدار و یا وضعیت نامناسب آن است (۳۱). مقدار این شاخص با تغییر در نوع سوبسترا، ترکیب جامعه میکروبی و نیز تغییر وضعیت فیزیولوژی ریزجانداران در خاک تغییر می‌یابد (۳۴). افزایش جمعیت باکتری‌ها در خاک باعث افزایش کربن زیتوده میکروبی شده و در نتیجه از افزایش ضریب متابولیکی جلوگیری می‌شود (۴).

جزء بندی کربن

بیشترین مقدار کربن آلی مربوط به خاک ریزوسفری ۱ ذرت مایه‌زنی شده با انتروباکتر می‌باشد (جدول ۲). همچنین مقدار کربن آلی در خاک ریزوسفری نسبت به خاک غیرریزوسفری افزایش یافت. کربن قابل عصاره‌گیری با آب سرد به عنوان یکی از منابع در دسترس کربن آلی شناخته می‌شود که حساسیت بسیار زیادی به آشفتگی و تنش در اکوسیستم‌های خاک-گیاه دارد (۱۴). در مطالعه حاضر، کربن محلول در آب سرد در خاک‌های ریزوسفری در مقایسه با خاک غیرریزوسفری افزایش یافت (جدول ۲). میزان کربن محلول در آب سرد در هر دو خاک تحت کشت ذرت و گندم در تیمارهای مایه‌زنی شده با انتروباکتر بیشتر بود.

اسیدهای آلی آنیونی که عمدتاً از ریشه ترشح می‌شوند، می‌توانند کربن محلول ناشی از مواد آلی خاک را به صورت غیرمستقیم با افزایش فعالیت میکروبی و تجزیه مواد آلی خاک و یا به طور مستقیم افزایش دهند (۱۹، ۳۷).

زیتوده آنها باشد که با گزارش زیمرمن و فری^۱ (۲۰۰۴) هم‌خوانی دارد (۳۹).

اضافه کردن باکتری به خاک منجر به افزایش معنی‌دار کربن زیتوده میکروبی در خاک شد. بیشترین مقدار کربن زیتوده (جدول ۲) مربوط به خاک ریزوسفری ۱ ذرت مایه‌زنی شده با سودوموناس بود. در هر سه جایگاه نمونه برداری خاک باکتری سودوموناس بیشترین اثر را بر افزایش کربن زیتوده داشت. افزایش کربن زیتوده میکروبی در خاک ریزوسفری ۱ (و به دنبال آن در خاک ریزوسفری ۲) در کشت گندم و ذرت می‌تواند وابسته به افزایش تراوش‌های ریشه‌ای به ویژه کربن آلی محلول در آب از این گیاهان در این جایگاه باشد که بیشتر از تراوش‌های ریشه و مانده‌های ریشه در خاک ریزوسفری سرچشمه می‌گیرد و باعث افزایش اندازه کربن زیتوده در خاک ریزوسفری می‌شود (۱۱). افزایش کربن زیتوده میکروبی در خاک‌های ریزوسفری این تحقیق در توافق با نتایج گزارش شده توسط محققان دیگر در خاک‌های ریزوسفری ذرت (۲۲) و چاودار (۱۷) بود. زائو و همکاران^۲ (۲۰۱۰) مقادیر بالاتر کربن زیتوده میکروبی و همچنین کربن آلی محلول بیشتر در خاک‌های ریزوسفری سه درخت بومی چین را نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری گزارش کردند (۴۰). بالاتر بودن مقدار کربن زیتوده در خاک تحت کشت ذرت نسبت به خاک تحت کشت گندم می‌تواند به دلیل زیتوده بیشتر ریشه ذرت (شکل ۲) و یا بیشتر بودن ترشحات ریشه‌ای ذرت نسبت به گندم باشد.

ضریب یا بهره متابولیکی شاخص مناسبی برای ارزیابی اثر تنش‌های محیطی، از جمله شوری، بر جمعیت و فعالیت میکروبی خاک است. نسبت تنفس پایه به کربن زیتوده میکروبی به عنوان بهره متابولیکی بیان می‌شود (۳۱، ۳۴). در این تحقیق میزان بهره متابولیکی در خاک غیرریزوسفری نسبت به خاک ریزوسفری ۱ و ریزوسفری ۲

1- Zimmermann and Fery
2- Zhao et al.

جدول (۲) مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری و گیاه بر اجزاء کربن در سه جایگاه متفاوت خاک

Table (2) The means of interaction of bacteria and plant on carbon components in three different soil sites

			R1	R2	R3
تنفس پایه (میلی گرم CO ₂ بر گرم بر روز) Basal respiration (mg CO ₂ g ⁻¹ day ⁻¹)	P1	B1	0.17c	0.15c	0.14b
		B2	0.31a	0.25a	0.22a
		B3	0.25b	0.17c	0.12b
	P2	B1	0.20c	0.18bc	0.14b
		B2	0.25b	0.22ab	0.21a
		B3	0.26b	0.22a	0.21a
تنفس برانگیخته (میلی گرم CO ₂ بر گرم بر روز) Substrate induced respiration (mg CO ₂ g ⁻¹ day ⁻¹)	P1	B1	0.79c	0.72c	0.64c
		B2	1.65a	1.53a	1.33a
		B3	1.59a	1.35ab	1.32a
	P2	B1	0.81c	0.71c	0.63c
		B2	1.38b	1.22ab	1.21ab
		B3	1.26b	0.94bc	0.86bc
کربن بیومس میکروبی (میلی گرم بر صد گرم) Microbial Carbon biomass (mg 100g ⁻¹)	P1	B1	11.19c	11.04c	9.36b
		B2	17.53a	16.10a	12.76a
		B3	12.03c	11.31c	10.56ab
	P2	B1	11.68c	10.95c	8.92b
		B2	14.93b	13.66b	12.56a
		B3	11.48c	10.36c	10.08ab
ضریب متابولیک (یک بر روز) Metabolic quotient (day ⁻¹)	P1	B1	0.02ab	0.03ab	0.03ab
		B2	0.01bc	0.02bc	0.02bc
		B3	0.01bc	0.01bc	0.02bc
	P2	B1	0.03a	0.03a	0.03a
		B2	0.01c	0.01c	0.02c
		B3	0.01bc	0.02bc	0.02abc
کربن قابل اکسید با پرمنگنات پتاسیم (میلی گرم بر کیلوگرم) Permanganate Oxidable carbon (mg kg ⁻¹)	P1	B1	134.75c	126.48b	110.57c
		B2	213.09a	174.77a	157.5ab
		B3	192.49ab	162.82a	112.94c
	P2	B1	110.73c	169.63a	132.6bc
		B2	189.26ab	182.43a	170.61a
		B3	175.75b	163.29a	145.65abc
کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	P1	B1	0.74b	0.73a	0.71a
		B2	0.73b	0.71a	0.79a
		B3	0.82a	0.77a	0.73a
	P2	B1	0.73ab	0.72a	0.68a
		B2	0.71b	0.75a	0.71a
		B3	0.78ab	0.74a	0.78a
کربن محلول در آب داغ (میلی گرم بر کیلوگرم) Carbon soluble in hot water (mg kg ⁻¹)	P1	B1	485.91c	458.81b	347.85b
		B2	810.61b	756.16a	550.59a
		B3	955.31a	826.31ab	550.59a
	P2	B1	485.91c	439.22b	332.94b
		B2	654.51bc	563.11ab	396.47b
		B3	736.51bc	550.62ab	366.07b
کربن محلول در آب سرد (میلی گرم بر کیلوگرم) Carbon soluble in cold water (mg kg ⁻¹)	P1	B1	1186.71c	1093.31a	873.33ab
		B2	1726.71ab	1186.71a	876.67b
		B3	1840.00a	1480.00a	1206.67a
	P2	B1	1186.71c	1126.71a	863.33b
		B2	1400.00bc	1273.31a	1053.33ab
		B3	1546.72abc	1360.00a	910.00b

در هر ستون و برای هر ویژگی اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری در سطح ۵ درصد می باشند. مخفف ها: R₁، خاک ریزوسفری ۱؛ R₂، خاک ریزوسفری ۲؛ nR، خاک غیر ریزوسفری؛ B₁، بدون باکتری؛ B₂، سودوموناس؛ B₃، انتروباکتر؛ P₁، ذرت و P₂، گندم.

For each parameter, means within each column with the same letter are not significantly different at the 5% level. Abbreviations: R₁, rhizosphere 1 soil; R₂, rhizosphere 2 soil; nR, non-rhizosphere soil; B₁, non-inoculated; B₂, *Pseudomonas*; B₃, *Entrobacter*; P₁, maize; and P₂ wheat.

ریزوسفری ۱ ذرت می‌باشد (جدول ۲). اثر سودوموناس نسبت به انتروباکتر بر افزایش این شاخص بیشتر بوده است. هر دو باکتری مورد استفاده در این پژوهش محرک رشد بوده‌اند اما سودوموناس به علت وسعت انتشار و تنوع گونه‌ای و متحمل بودن برخی گونه‌های آن به تنش‌های محیطی عملکرد بهتری نسبت به انتروباکتر داشته، زیرا باکتری سودوموناس با ترشح اسیدهای آلی و فسفاتاز منجر به آزادسازی عناصر از کمپلکس‌های موجود در خاک می‌گردد و در نتیجه دسترسی گیاه به عناصر غذایی افزایش پیدا می‌کند (۲۳). به علاوه افزایش میزان عناصر غذایی در گیاه پس از تلقیح با باکتری سودوموناس عمدتاً می‌تواند به دلیل تنظیم کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آن بر رشد ریشه باشد (۲۸) که جذب آب و مواد غذایی را از خاک بهبود می‌بخشد. کربن قابل اکسید شدن با پرمنگنات پتاسیم یک شاخص از کربن آلی ناپایدار قابل اکسیداسیون شیمیایی خاک است که شدیداً تحت تأثیر مدیریت خاک است (۲۶). در بیشتر مطالعات به صورت ریزوباکس، کربن قابل اکسید شدن توسط پرمنگنات پتاسیم اندازه‌گیری نشده است اما در پژوهش‌های دیگر (۳۳) با مقایسه سیستم‌های مختلف کاربری اراضی گزارش کردند که مقدار آن در اراضی کشاورزی بیشتر از اراضی عاری از پوشش گیاهی بوده است که تا حدودی قابل تعمیم به خاک‌های ریزوسفری و توده می‌باشد.

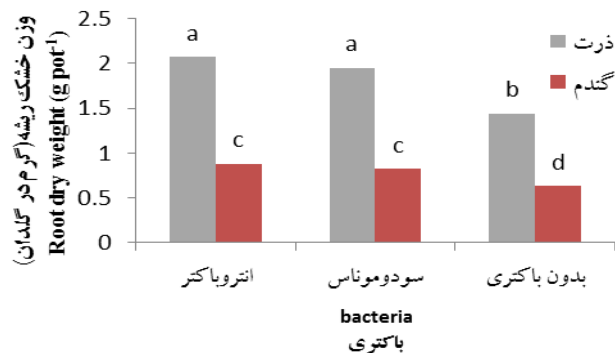
وزن خشک ریشه و اندام هوایی در ذرت نسبت به گندم بیشتر بوده (اشکال ۲ و ۳). از نتایج مقایسه میانگین چنین استنباط می‌شود که کاربرد ماده تلقیح حاوی باکتری موجب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی نسبت به تیمار بدون باکتری می‌گردد. نتایج آزمایش نشان داد که سویه انتروباکتر نسبت به سودوموناس اثر بیشتری بر افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه داشته است.

بنابراین، با توجه به اینکه مقدار کربن محلول خاک ارتباط نزدیکی با ترشحات آلی ریشه گیاهان دارد، احتمالاً مقدار ترشحات ریشه ذرت بیشتر از گندم بوده است (۱۱). این شکل از کربن با فاصله از ریشه با یک روند تقریباً کاهشی تغییر یافت. لاسرجولین و همکاران^۱ (۲۰۰۱) مقادیر بیشتر کربن آلی محلول را در ریزوسفر نسبت به توده خاک مشاهده کردند (۲۵). چنگ و همکاران^۲ (۱۹۹۶) نیز گزارش کردند که غلظت کربن محلول در آب در خاک‌های ریزوسفری ذرت نسبت به خاک غیرریزوسفری بالاتر بود (۱۰). تنفس ریشه و آزاد شدن گاز CO₂ و ترشح انواع اسیدهای آلی از ریشه و تشدید فعالیت میکروبی بر اثر فعالیت ریشه باعث کاهش pH و افزایش کربن محلول خاک در ریزوسفر می‌شود (۶ و ۲۷).

روش استخراج با آب داغ به عنوان یک روش ساده برای برآورد قابلیت معدنی شدن کربن در اراضی زراعی پیشنهاد می‌شود. بیشترین مقدار کربن محلول در آب داغ مربوط به سطح باکتری انتروباکتر خاک ریزوسفری ۱ ذرت و کمترین مقدار مربوط به سطح بدون باکتری خاک غیرریزوسفری گندم می‌باشد (جدول ۲). با مقایسه بین میزان کربن زیتوده میکروبی و کربن محلول در آب داغ می‌توان گفت که میزان کربن استخراج شده با آب داغ در همه تیمارها بیشتر از کربن استخراج شده از زیتوده میکروبی است. از دلایل این امر می‌توان به این مورد اشاره کرد که کربن محلول در آب داغ نه تنها شامل کربن زیتوده میکروبی بلکه شامل ترشحات ریشه‌ای، قندهای محلول، کربوهیدرات‌های محلول و آمینواسیدها است و از آنجا که اکثر آنزیم‌های خاک در دمای ۸۰ درجه سانتی-گراد ماهیت خود را از دست می‌دهند، شامل آن بخشی که با آنزیم‌های خاک در ارتباط است نیز می‌باشد (۹).

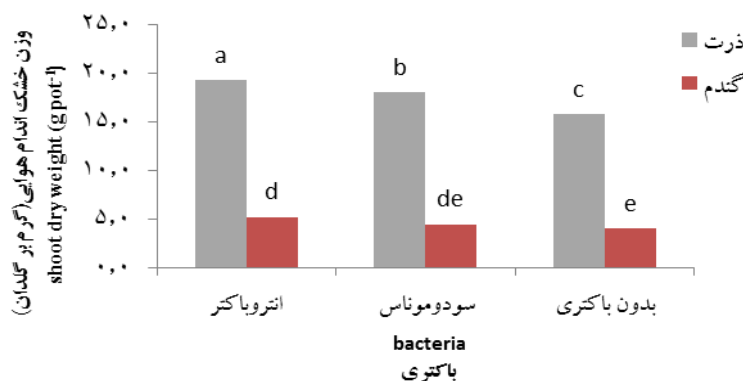
بیشترین مقدار کربن اکسیدشده با پرمنگنات ۲۱۳/۰۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مربوط به سویه سودوموناس خاک

1- Lasserre-Joulin *et al.*
2- Cheng *et al.*



شکل (۲) آزمون میانگین برهمکنش باکتری و گیاه بر وزن خشک ریشه

Figure (2) The means of bacterial and plant interaction on the root dry weight



شکل (۳) آزمون میانگین برهمکنش باکتری و گیاه بر وزن خشک اندام هوایی

Figure (3) The means of bacterial and plant interaction on the dry weight of the shoot

در این پژوهش نکته قابل توجه در مورد تمامی ویژگی‌های اندازه‌گیری شده این است که، خاک ریزوسفری ۱ و ۲ تفاوت زیادی با هم ندارند در حالی که خاک غیرریزوسفری کاهش شدیدی را نسبت به این دو نشان می‌دهد. مثلاً درباره کربن بیومس میکروبی خاک ریزوسفری ۲ نسبت به خاک ریزوسفری ۱ تنها ۱/۳۴ درصد کاهش داشته (از ۱۱/۱۹ به ۱۱/۰۴) در حالی که خاک غیرریزوسفری نسبت به خاک ریزوسفری ۲ حدود ۱۵/۲۲ درصد کاهش داشته است (از ۱۱/۰۴ به ۹/۳۶). این موضوع درباره تمامی ویژگی‌های اندازه‌گیری شده دیده می‌شود و نشان‌دهنده محدوده ترشحات ریشه است که در این آزمایش تا یک سانتی‌متر دورتر از ریشه (خاک ریزوسفری ۲) ترشحات ریشه به خوبی نفوذ کرده و جامعه میکروبی به خوبی رشد کرده (کربن زیتوده

فو و همکاران^{۱۱} (۲۰۱۰) دریافتند که در گیاهان تلقیح شده با سودوموناس میزان وزن خشک به طور معنی‌داری بالاتر از گیاهان تیمار نشده بود (۱۵). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد با تولید هورمون‌های رشد مانند اکسین، سیتوکینین، جیبرلیک اسید باعث افزایش سطوح ریشه‌ای از طریق افزایش وزن توده ریشه، افزایش رشد طولی و انشعابات فرعی، تولید ریشه‌های نازک‌تر و افزایش تولید تارهای کشنده شده و در نتیجه باعث افزایش جذب آب و مواد غذایی می‌شوند (۲). همچنین کوهن و همکاران^{۱۲} (۱۹۸۰) افزایش وزن خشک ذرت در اثر تلقیح با باکتری محرک رشد گیاه را گزارش کردند (۱۲).

11- Fu *et al.*12- Cohen *et al.*

باشد. در این پژوهش رشد گیاه ذرت با زیتوده ریشه و اندام هوایی بالاتر، سبب افزایش بیشتر اجزاء کربن خاک نسبت به گیاه گندم شد. همچنین مایه زنی با باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش رشد و عملکرد گیاه و نیز افزایش اجزاء کربن در خاک شد. به نظر می‌رسد این افزایش عمدتاً به دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آنها بر رشد ریشه بود که جذب آب و مواد غذایی را از خاک بهبود می‌بخشد. استفاده از ریزجانداران محرک رشد، نه تنها سبب فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌شود، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک محیط مناسب برای رشد ریشه، موجب افزایش رشد گیاه و در نهایت افزایش عملکرد نیز می‌شود.

بطور کلی نتایج نشان داد که تلقیح هر دو باکتری به خاک، موجب بهبود ویژگی‌های بیولوژیکی اندازه‌گیری شده گردید. در این میان مایه‌زنی با سودوموناس سبب افزایش بیشتر در تنفس پایه، تنفس برانگیخته، کربن زیتوده میکروبی و کربن قابل اکسید با پرمنگنات در هر دو گیاه شد. در حالی که مایه زنی با *انتروباکتر* سبب افزایش بیشتر در کربن آلی، کربن محلول در آب سرد و کربن محلول در آب گرم در هر دو گیاه شده است. این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده ترشحات متفاوت دو باکتری و تاثیر متفاوت آنها بر افزایش اجزاء کربن خاک باشد و حتی ممکن است حضور باکتری‌های متفاوت در ریزوسفر بر نوع ترشحات گیاه نیز تاثیرگذار باشد و مجموعه گیاه-باکتری تاثیر متفاوتی بر هر کدام از اجزاء کربن خاک داشته باشد و نیاز به پژوهش‌های بیشتر در این زمینه لازم به نظر می‌رسد. همچنین سهم دو جزء کربن محلول در آب سرد و آب گرم در افزایش کربن آلی خاک بیشتر از دیگر اجزاء کربن خاک (کربن قابل اکسید با پرمنگنات و کربن زیتوده میکروبی) بود که تحت تاثیر *انتروباکتر* ایجاد شد. در نهایت با اینکه کربن زیتوده میکروبی سودوموناس بیشتر بود اما باکتری *انتروباکتر* سبب افزایش بیشتری در زیتوده اندام هوایی

میکروبی) و تاثیر خود را نشان داده است در حالی که خاک غیرریزوسفری از حدود ۸ تا ۱۰ سانتی متر دورتر از ریشه نمونه برداری شد و تاثیر ریزوسفر در این بخش بسیار ضعیف شده و در نتیجه تفاوت زیادی از نظر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در خاک غیرریزوسفری با خاک ریزوسفری ۲ دیده می‌شود.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی متفاوت ریزوسفر در مقایسه با توده خاک به طور قابل ملاحظه‌ای بر اجزاء کربن خاک تأثیر گذار بود. نتایج نشان داد که ویژگی‌های زیستی مورد مطالعه (به جز ضریب متابولیک) در خاک‌های ریزوسفری نسبت به خاک‌های غیرریزوسفری بیشتر بود. اجزاء کربن خاک با دور شدن از ریشه (از خاک ریزوسفری به سمت خاک غیرریزوسفری) کاهش یافت که بیانگر تاثیر ترشحات ریشه گیاه و ریزجانداران ریزوسفری بر اجزاء کربن خاک می‌باشد. با افزایش فاصله از ریشه، ترشحات ریشه و CO_2 آزاد شده از تنفس ریشه و باکتری‌ها کاهش می‌یابد. در نتیجه تأثیر فعالیت ریشه بر ویژگی‌های خاک با افزایش فاصله از ریشه کاهش می‌یابد. حضور گیاه همراه با ترشحات ریشه‌ای (اثر ریزوسفری) در تشدید فعالیت‌های زیستی خاک و در نتیجه افزایش بیومس میکروبی خاک نقش بسزایی دارد. مقدار کربن آلی در خاک ریزوسفری نسبت به خاک توده افزایش یافت. شرایط تغذیه‌ای خاک و متعاقب آن، تعادل کاتیون و آنیون و توانایی جذب عناصر در ریزوسفر، نقش مهمی در ترکیب و مقدار تراوش‌های ریشه به خصوص اسیدهای آلی، رشد ریزجانداران و تأثیر آنها بر گیاه میزبان دارد.

تفاوت بین دو گیاه ذرت و گندم در افزایش اجزاء کربن کاملاً مشهود بود که بیانگر تاثیر متفاوت گیاهان مختلف بر اجزاء کربن خاک می‌باشد که می‌تواند ناشی از سیستم ریشه‌ای متفاوت و یا مقدار ترشحات متفاوت

در آب سرد، کربن محلول در آب گرم، کربن آلی خاک و در افزایش وزن خشک گیاه داشت.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از گروه خاکشناسی دانشگاه شهید چمران اهواز که امکانات انجام این پژوهش را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌نماید.

هر دو گیاه ذرت و گندم شد. در اینجا افزایش کربن محلول در آب سرد، آب گرم و کربن آلی خاک به سبب مایه‌زنی با انتروباکتر بر دیگر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده ارجحیت داشته و سبب تاثیر بیشتر بر رشد گیاه شد.

درکل مایه‌زنی با هر دو باکتری محرک رشد در این پژوهش سبب افزایش اجزاء کربن، کاهش بهره متابولیک و بهبود رشد هر دو گیاه شد که تاثیر هر باکتری بر هر کدام از اجزاء کربن خاک متفاوت بود و باکتری انتروباکتر تاثیر بیشتری بر افزایش کربن محلول

منابع

1. Al-Kaisi, M. (2001). Impact of Tillage and Crop Rotation Systems on Soil Carbon Sequestration. University Extension, Impact of Tillage and Crop Rotation Systems on Soil Carbon Sequestration. University Extension, 1-6.
2. Amooaghaie, R., Mostajeran, M., and Emtiazi, G. 2002. The effect of strain and concentration of *Azospirillum brasilense* bacterium on growth and development of root in wheat cultivars. Iranian Journal of Agriculture Sciences, 33(2) : 213-222.
3. Anderson, J.P.E. 1982. Soil Respiration. PP. 831-872. In: A.L. Page et al. (eds). Methods of Soil Analysis. 2nd ed. Part 2. American Society of Agronomy, U.S.A.
4. Anderson, T.H. and Domsch, K.H. (1990). Application of eco-physiological quociente (qCO_2 and Dq) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. Soil Biology and Biochemistry, 22, 251-255.
5. Aubert, M., Bureau, F., Alard, D., and Bardat, J. 2004. Effect of tree mixture on the humic epipedon and vegetation diversity in managed beech forests (Normandy, France). Canadian Journal of Forest Reserch, 34:233-248.
6. Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., and Vivanco, J.M. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annual Review of Plant Biology, 57: 233-66.
7. Baghban-Tabiat S. and Rasouli-Sadaghiani, M. 2012. Investigation of Zn utilization and acquisition efficiency in different wheat genotypes at greenhouse conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 23 (2): 17-32. (In Persian).
8. Barajas-Aceres, M. 2005. Comparison of different microbial biomass and activity measurement methods in metal-contaminated soils. Journal of Bioresource Technology, (96):1405-1414.

9. Cheshire, M. (1979). Nature and origin of carbohydrates in soils. Academic Press, London.
10. Cheng, W.Q., Zhang, Q., Coleman, D.C., Ronald Carrol, C., and Hoffman, C.A. 1996. Is available carbon limiting microbial respiration in the rhizosphere? *Soil Biology and Biochemistry*, 28: 1283-1288.
11. Chen, C.R., Condron, L.M. Davis, M.R. and Sherlock, R.R. 2002. Phosphorus dynamics in the rhizosphere of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and radiate pine (*Pinusradiata* D. Don.). *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 487-499.
12. Cohen, E., Okon, Y., Kigel, J., Nur, I., and Henis, Y. 1980. Increase in dry weight and total nitrogen content in *Zea mays* and *Setaria italica* associated with nitrogen-fixing *Azospirillum*. *Plant Physiology*, 66: 746-749.
13. Dilly, O. and Munch, J.C. 1996. Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus Glutinosa* (L). Gaertn.) Forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 28: 1073-1081.
14. Doran, J. and Parkins, T. (1994). Defining and assessing soil quality. In: Doran, J. W., Coleman, D. C., Bezdicek, D. F., Stewart, B. A. (eds.), and Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Science Society of America, Madison, 3-21.
15. Fu, U., Liu, C., Ding, N., Lin, Y., and Guo, B. 2010. Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas sp. DWI* on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stress. *Agricultural Water Management*, 97: 1994-2000.
16. Garcia-Orenes, F., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Navarro-Pedreno, J., Gomez, I., and Mataix-Beneyto, J. 2005. Factors controlling the aggregate stability and bulk density in two different degraded soils amended with biosolids. *Soil and Tillage Research*, 82: 65-76.
17. Ghani, A., Dexter, M., and Perrott, K.W. 2003. Hot-water extractable carbon in the soil: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: 1231-1243.
18. Gupta, P.K. 2007. Soil, Plant, Water and fertilizer analysis. 2th ed. Agrobios (india), 36: 3119-3121.
19. Hauser, L., Tandy, S., Schulin, R., and Nowack, B. 2005. Column extraction of heavy metals from soils using the biodegradable chelating agent EDDS. *Environmental Science Technology*, 3: 6819-6824.
20. Haynes, R.J. 2005. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: An Overview *Advances in Agronomy*, 85: 221-268.
21. He, L.Y., Chen, Z.J., Ren, G.D., and Sheng, X.F. 2009. Increased cadmium and lead uptake of a cadmium hyperaccumulator tomato by cadmium-resistant bacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1343-1348.

22. Helal, H.M. and Sauerbeck, D. 1984. Influence of plant roots on C and P metabolism in soil. *Plant and Soil*, 76(1-3): 175-182.
23. Jutur, P.P. and Reddy, A.R. 2007. Isolation, purification and properties of new restriction endonucleases from *Bacillus badius* and *Bacillus lentus*. *Microbiological Research*, 162: 378-383.
24. Kasim, W.A., Osman, M.E., Omar, M.N., El-Daim, I.A.A., Bejai, S., and Meijer, J. 2013. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(1), 122-130.
25. Lasserre-Joulin, F., Vong, P.C., and Guckert, A. 2001. Evolution of soluble organic carbon in the rhizosphere and in corresponding non-rhizosphere soil in field-grown oilseed rape and barley. Immobilisation and turn-over of sulphur-35 in the rhizosphere soil. *Plant nutrition*, 624-625.
26. Mandal, U.K., Yadav, S.K., Sharma, K.L., Ramesh, V., and Venkanna, K. 2011. Estimating permanganate-oxidizable active carbon as quick indicator for assessing soil quality under different land-use system of rainfed Alfisols, *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81 (10): 927-931.
27. Miller, H.J., Henken, G., and Van Veen, J.A. 1989. Variation and composition of bacterial population in the rhizosphere of maize, wheat and grass cultivars. *Canadian Journal of Microbiology*, 15: 657-660.
28. Naseri R., Barary M., Zarea M.J., Khavazi K., and Tahmasebi Z. 2017a. Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria and Mycorrhizal fungi on some activities of antioxidative enzymes, physiological characteristics of wheat under dry land conditions. *Iranain Journal of Dryland Agriculture*, 6 (1): 1-34. (In Persian).
29. Olsen, S.R. and L.E. Sommers. 1982. Phosphorus. In: A. Klute (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part1 chemical and biological properties*. SSSA, Madison, Wisconsin, USA. pp. 4013-430.
30. Patten, C. L. and Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3795-3801.
31. Pereira, J.L., Picanco, M.C., Silva, A.A., Santos, E.A., Tome, H.V.V., and Olarte, J.B. 2008. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. *Planta Daninha*, 26: 56-62.
32. Saharan, B.S. and Nehra, V. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Science and Medicine Research*, 21: 1-30.
33. Sharma, V., Hussain, S., Sharma, K., and Arya, V. 2014. Labile carbon pools and soil organic carbon stocks in the foothill Himalayas under different land use systems. *Geoderma*, 232: 81-87.

34. Suman, A., Lal, M., Singh, A.K., and Gaur, A. 2006. Microbial biomass turnover in Indian subtropical soils under different sugarcane intercropping systems. *Agronomy Journal*, 98: 698–704.
35. Walkley, A., and Black, C.A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soils organic matter and a proposed modification of chromic acid titration method. *Soil Science*, 33:29-38.
36. Wu, B., Cao, S.C., Li, Z.H., Cheung, Z.G., and Wong, K.C. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth. *Geoderma*, 125: 155-162.
37. Yang, Y., Ratt, D., Smets, B.F., Pignatello, J.J., and Grasso, D. 2001. Mobilization of soil organic matter by complexing agents and implications for polycyclic aromatic hydrocarbon desorption. *Chemosphere*, 43: 1013-1021.
38. Zahir, A.Z., Arshad, M., Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81:97-168.
39. Zimmermann, S. and Fery, B. (2001). Soil respiration and microbial properties in an asid forest soil. *Soil Biol. Biochem.* 34: 1727-1773.
40. Zhao, Q., Zeng, D., and Fan, Z. 2010. Nitrogen and phosphorus transformations in the rhizospheres of three tree species in a nutrient-poor sandy soil. *Applied Soil Ecology*, 46: 341–346.