"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد دوم، شماره 1، بهار و تابستان 92
شماره صفحه: 125 -115

اثر سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج رقم خزر و توده بومی هاشمی

سید محمدرضا احتشامی[1*] و زهرا امین‌دلدار[2]

1- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، 2- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

چکیده

به‌منظور مطالعه اثر سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج رقم خزر و توده بومی هاشمی، آزمایشی در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار به‌اجرا درآمد. در این آزمایش بذرهای برنج رقم خزر و توده بومی هاشمی با سویه‌های 136، 103، 93، 177، 169، 168 و 4 باکتری *سودوموناس فلورسنس* تلقیح شدند. تیمار بدون تلقیح با باکتری به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. صفات مورد بررسی عبارت بودند از: طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، ضریب آلومتریک، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه. نتایج نشان داد که تلقیح بذر با سویه‌های 168 و 136 سبب بیشترین افزایش بر وزن خشک ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه شدند و کمترین مقدار این صفات به‌ترتیب مربوط به‌تیمار تلقیح بذر با سویه‌های 83، 103 و 4 و تیمار شاهد بود. به‌طور کلی مشخص شد سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* سبب بهبود جوانه‌زنی بذر برنج شدند که از میان این سویه‌ها، سویه 168 از اثر افزاینده رشد بیشتری برخوردار بود.

کلمات کلیدی: باکتری *سودوموناس فلورسنس*، جوانه‌زنی، بنیه گیاهچه و برنج

Archive of SID

*نویسنده مسئول: سید محمدرضا احتشامی، آدرس: رشت – دانشکده کشاورزی گیلان
E-mail: smrehteshami@yahoo.com
تاریخ دریافت: 91/10/1
تاریخ تصویب: 91/11/24

www.SID.ir

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی جهان محسوب می‌شود که سالیانه تقریباً 35 تا 70 درصد از کالری مورد نیاز 3 میلیارد نفر از جمعیت دنیا را تأمین می‌کند (FAO, 2011). برای تأمین نیاز غذائی جمعیت جهان تا سال 2025 نیاز به‌افزایش 60 درصد در تولید برنج است (Yang and Zhang, 2010). فائو، سطح زیر کشت برنج در سال 2009 را 161 میلیون هکتار و سهم ایران را حدود 536 هزار هکتار گزارش کرده است (FAO, 2009). با توجه به‌ازدیاد روزافزون جمعیت، استفاده صحیح و بهینه از کودها برای تأمین مواد غذایی و افزایش تولید در واحد سطح ضروری است. در چرخه زندگی گیاهان، مرحله جوانه‌زنی و سبز شـدن از اهمیت ویـژه‌ای برخوردار است، به‌طوری‌که در استقرار مطلوب و عملکرد نهائی، عامل مهم و تعیین‌کننـده به‌شمـار می‌رود (Murungu *et al*., 2003). مرحله جوانه‌زنی تضمین‌کننده دوام، استقرار بوته و عملکرد نهائی گیاهان بوده و تراکم نهایی بوته در واحد سطح زمانی به‌دست می‌آید که بذرهای کاشته شده به‌طور کامل و باسرعت کافی جوانه بزنند. استقرار گیاهچه یک مرحله حساس در فرآیند تولید محصولات زراعی است و از این رو یکنواختی و میزان درصد جوانه‌زنی بذرها می‌تواند تأثیر زیادی بر میزان عملکرد و کیفیت تولید داشته باشد. استقرار سریع گیاهچه موجب افزایش توان آن برای مقابله با شرایط نامساعد محیطی و مشکلات ناشی از آفات و بیماری‌ها می‌شود (Nascimento, 2003). علاوه بر این، ظاهر شدن سریع و یکنواخت گیاهچه‌ها موجب بهینه‌سازی نمو گیاه و مدیریت محصول تا زمان برداشت می‌شود.

در نظام‌های کشاورزی پایدار، کودهای زیستی[1] از اهمیت ویژه‌ای در افزایش تولید و حفظ حاصلخیزی پایدار خاک برخوردار اند (Sharma *et al*., 2007). اصطلاح کود زیستی به‌انبوه متراکم یک یا چند نوع موجود زنده مفید و یا فراورده متابولیکی آنها اطلاق می‌شود که به‌منظور تأمین عناصر غذایی و نیازهای هورمونی گیاه تولید و عرضه می‌شوند. باکتری‌های افزاینده رشد گیاه[2] (PGPB) از مهمترین کودهای زیستی هستند (Manafee and Klopper, 1994).

باکتری‌های خاک‌زی که موجب افزایش رشد گیاه و عملکرد گیاهان مهم زراعی می‌شوند، اصطلاحاً رایزوباکتری‌های محرک رشد گیاه[3] (PGPR) نامیده می‌شوند که باکتری‌های جنس *ریزوبیوم* (*Rhizobium* spp.)، *ازتوباکتر* (*Azotobacter spp.*)، *سودوموناس* (*Pseudomonas* spp.) و *آزوسپیریلوم* (*Azospirillium* spp.) نمونه‌هایی از آن‌ها هستند. آنها این عمل را ازطریق تولید و ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه[4] (PGRs) مثل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها و یا ازطریق فراهم نمودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه ازجمله فسفر یا نیتروژن انجام می‌دهند (Sharma, 2003). مصرف کودهای زیستی باکتریایی به‌صورت تلقیح بذر، مهمترین روش استفاده از این کودها است. بالاخص باکتری *سودوموناس فلورسنس* از مهمترین اعضای جامعه ریزجانداران ریزوسفری به‌شمار رفته و اثر مثبت ناشی از تلقیح آن‌ها بر رشد گیاه به‌اثبات رسیده است (Sharma, 2003). مزایای تلقیح بذر گیاه با باکتری‌های محرک رشد شامل افزایش سرعت

1. Biofertilizers
2. Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB)
3. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)
4. Plant Growth Regulators (PGRs)

Archive of SID
www.SID.ir

جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، سطح برگ، محتوی کلروفیل، مقاومت به‌خشکی، افزایش وزن ریشه و اندام هوایی و فعالیت میکروبی می‌باشد (Kaymak *et al*., 2009).

این باکتری‌ها ازطریق تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه تحریک‌کننده باعث افزایش رشد گیاهان، درصد جوانه‌زنی بذرها و گسترش ریشه می‌شوند (Glick *et al*., 2001). گزارش شده است که باکتری-های جنس *آزوسپریلیوم*، *سودوموناس* و *ازتوباکتر* می‌توانند باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی شوند (Shaukat *et al*., 2006). اثر تلقیح بذرها با باکتری‌ها در افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی ازقبیل درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، مثبت مشاهده شده است (Lugtenberg *et al*., 2002).

رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه با استفاده از باکتری‌های محرک رشد افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد (Kiers and Denison, 2008). همچنین مشاهده شد که با تیمار کردن بذرهای گندم با باکتری‌های جنس *سودوموناس* و *آزوسپریلوم*، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه حدود 20 تا 25 درصد نسبت به‌تیمار شاهد افزایش نشان داد (Bacilio *et al*., 2003). با انجام آزمایشی روی ذرت شیرین بیان شد که کاربرد باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا* و *آنتروباکترکلوکا* افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه را در پی دارد (Samina *et al*., 2010). گزارش شده است که *آزوسپریلوم لیپوفروم* (*Azospirillium lipofrrum*) (Govindarajan and Kavitha, 2001) و *باسیلوس امیلولیکوفاسینز* (*Bacillus amyloliquefaciens*) (Ng *et al*., 2012) باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج شده‌اند. همچنین باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش تراکم تارهای کشنده و طول ریشه‌چه (Ashrafuzzaman *et al*., 2009) و افزایش طول ساقه‌چه (Preeti *et al*., 2002) بذر برنج می‌گردد.

بیان شده است که این باکتری‌ها به‌دلیل سنتز مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند جیبرلین و همچنین تحریک تولید آنزیم آمیلاز و تجزیه نشاسته سبب بهبود جوانه‌زنی می‌شوند.

همچنین سنتز اکسین نیز باعث افزایش بنیه گیاهچه‌ها می‌شود (Gholami *et al*., 2009). هدف از این تحقیق، تعیین اثر تلقیح بذرهای برنج رقم خزر و توده بومی هاشمی با سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر شاخص‌های جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار به‌اجرا درآمد. در این آزمایش بذرهای برنج رقم خزر (بذر گواهی-شده تولیدی 1386) و توده بومی هاشمی (بذرهای مذکور از مؤسسه تحقیقات برنج کشور تهیه شده بودند) با سویه‌های 136، 103، 93، 177، 169، 168 و 4 باکتری *سودوموناس فلورسنس* تلقیح شدند و تیمار بدون تلقیح با باکتری به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. باکتری‌های مورد نظر در آزمایشگاه بخش بیولوژی خاک مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کرج فرموله و تهیه شدند. جمعیت باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح، $9/8 \times 10^7$ واحد تشکیل دهنده کلون[1] (CFU/ml) برآورد شد (براساس روش شمارش کلنی و با استفاده از محیط کشت مایع) (Becking, 2006).

1. Clone Formation Units

Archive of SID
www.SID.ir

برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت Sperber استفاده شد (Alef and Nannipieri, 1995).

ابتدا بذرها با هیپوکلریت سدیم 0/5 درصد به‌مدت 30 ثانیه ضدعفونی سطحی شدند، سپس چندین بار با آب مقطر شستشو انجام شد تا اثری از هیپوکلریت سدیم بر بذرها باقی نماند. پس از آن بذرهای مربوط به‌هر تیمار به‌صورت جداگانه با باکتری‌های مربوطه به‌مدت 30 دقیقه و با کمک ماده چسباننده صمغ تلقیح شدند. به‌تعداد 25 عدد بذر تلقیح شده درون ظرف پتری که کف آن حاوی کاغذ صافی بود، قرار داده شد. ظرف‌های پتری درون ژرمیناتور با دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تأمین رطوبت ظرف‌های پتری، هر روزه و به‌مقداری که کاغذ صافی نمناک باشد، انجام شد. اولین روز شمارش جوانه‌زنی، روز پنجم و آخرین روز شمارش، روز چهاردهم بود. در طول دوره شمارش هر روزه تعداد بذرهای جوانه‌زده برای محاسبه صفت سرعت جوانه-زنی شمارش شد. در روز آخر، طول ریشه‌چه و ساقه-چه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای تعیین وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، نمونه‌ها درون آون با دمای 75 درجهٔ سانتی‌گراد و به‌مدت 24 ساعت قرار گرفت. سپس توزین نمونه‌ها با استفاده از ترازوی الکتریک با دقت 0/001 گرم انجام شد. در این آزمایش صفاتی که مورد مطالعه قرار گرفت عبارت بودند از: طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، ضریب آلومتریک، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه.

برای اندازه‌گیری صفات ذکر شده از هر ظرف پتری 10 گیاهچه عادی انتخاب شده و اندازه‌گیری‌های لازم صورت گرفت. طول ساقه‌چه و ریشه‌چه با استفاده از خط‌کش انجام شد و سپس از 10 گیاهچه میانگین‌گیری شد. وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه پس از 24 ساعت قرار دادن درون آون با دمای 75 درجهٔ سانتی‌گراد، با استفاده از ترازوی الکتریک با دقت 0/001 گرم توزین شد. در محاسبه ضریب آلومتریک (Hussain, 1989)، شاخص بنیه (Abdual-baki and Anderson, 1973) و سرعت جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1980) به‌ترتیب از رابطه شماره 1، 2 و 3 استفاده شد.

(رابطه 1)

میانگین وزن خشک ساقه چه/میانگین وزن خشک ریشه چه= ضریب آلومتریک

(رابطه 2)

درصد جوانه‌زنی× (میانگین طول ساقه‌چه + میانگین طول ریشه‌چه)= شاخص بنیه

(رابطه 3)

$GR=\sum(Si/Di)$

Si تعداد بذر جوانه زده در هر روز

Diتعداد روز تا شمارش nام

محاسبات آماری این پژوهش با استفاده از نرم-افزار کامپیوتری SAS نسخه 9/2 انجام شد و آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) صورت گرفت.

نتایج و بحث

با توجه به‌نتیجه تجزیه واریانس، اختلاف معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی بذر رقم خزر و توده بومی هاشمی، سویه‌های باکتری و همچنین اثر متقابل رقم در باکتری مشاهده شد (جدول 1). همچنین بیشترین درصد جوانه‌زنی بذر در تیمار تلقیح با سویه 168 باکتری با درصد جوانه‌زنی 99 درصد و کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد با میانگین 40 درصد

Archive of SID
www.SID.ir

مشاهده شد (جدول 3). همچنین اثر متقابل رقم× باکتری در در سطح احتمال 5 درصد اختلاف معنی‌داری را نشان داد که مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است باکتری سویه 168 در توده بومی هاشمی با میانگین 99 درصد بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشته است. کمترین درصد جوانه‌زنی نیز در تیمار شاهد در توده بومی هاشمی مشاهده شد (جدول 4). بین رقم و توده بومی، سویه‌های باکتری ازلحاظ سرعت جوانه‌زنی، تفاوت معنی‌داری ($P\leq 0/05$) وجود داشت (جدول 1). به‌نظر می‌رسد که افزایش درصد جوانه‌زنی می‌تواند به‌واسطه افزایش سنتز مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی ازقبیل جیبرلین باشد که فعالیت آنزیم‌های خاصی ازجمله آلفاآمیلاز، پروتئاز و نوکلئاز را موجب می‌شود. این امر منتج به‌فعالیت بهتر آنزیم‌های میتوکندریائی می‌گردد که سبب افزایش مصرف اکسیژن و بالطبع جوانه‌زنی می‌گردد (Noumavo *et al.*, 2013).

جدول 1- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی ویژگی‌های مرتبط با جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد

Table 1- Analysis of variance (Mean square) of some of traits related to germination and seedlet growth of rice inoculated by growth promoting bacteria

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)									
		درصد جوانه زنی Germination percentage	سرعت جوانه زنی Germination speed	وزن تر ریشه چه Radicle wet weight	وزن تر ساقه چه Plumule wet weight	طول ریشه چه Radicle lentgh	طول ساقه چه Plumule lentgh	وزن خشک ریشه چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه چه Plumule dry weight	ضریب آلومتری Alometric coefficient	شاخص بنیه Vigour Index
رقم Cultivar	1	4261.64**	1623.48**	0.000005^{ns}	0.0003^{ns}	0.731^{ns}	0.180^{ns}	0.0000052**	0.000015**	0.159^{ns}	87.506**
باکتری Bacterium	7	2226.87**	82.61**	0.0003^{ns}	0.0001^{ns}	3.355**	2.08**	0.000001**	0.0000014*	0.250**	49.295**
باکتری×رقم Cultivar×Bacterium	7	111.98*	1.996^{ns}	0.0003^{ns}	0.00008^{ns}	1.273^{ns}	1.161^{ns}	0.0000007^{ns}	0.0000006^{ns}	0.0459^{ns}	2.61^{ns}
خطا Error	52	50.36	8.301	0.00022	0.0001	0.937	0.609	0.0000005	0.0000005	0.0595	2.141
ضریب تغییرات (%) CV%	-	10.47	18.856	35.48	43.61	14.81	12.08	25.40	22.50	26.886	16.45

^{ns}, **, *به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی دار در سطح احتمال 1 و 5 درصد

^{ns}, * and ** show nonsignificant, significant at level 5% and significant at level 1% respectively.

رقم خزر با میانگین 20/315 بذر در روز نسبت به‌توده بومی هاشمی با میانگین 10/242 بذر در روز دارای سرعت جوانه‌زنی بیشتری بود (جدول 3). بین سویه‌های باکتری نیز سویه 168 باکتری با مقدار 21/898 بذر در روز و تیمار شاهد با میانگین 10/921 بذر در روز به‌ترتیب بیشترین و کمترین سرعت جوانه‌زنی را نشان دادند (جدول 2).

وزن‌تر ساقه‌چه و ریشه‌چه به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر عوامل مورد بررسی قرار نگرفت (جدول 1). با این‌حال مقایسه میانگین نشان‌دهنده آن بود که تلقیح بذر با سویه 4 باکتری بیشترین وزن‌تر ساقه‌چه و ریشه‌چه را داشته است (جدول 2). باتوجه به‌این‌که این سویه باکتری بیشترین طول ساقه‌چه را سبب شده بود، این نتیجه که بیشترین وزن‌تر ساقه‌چه را داشته باشد، قابل انتظار بوده که این مورد بدون وزن‌تر ریشه‌چه هم صادق بود. کمترین مقدار وزن‌تر ساقه‌چه در باکتری سویه 93 و کمترین وزن‌تر ریشه‌چه به‌ترتیب در تیمار شاهد و سویه 93 باکتری که هر دو در یک گروه آماری قرار گرفته بودند، دیده شد (جدول 2).

Archive of SID
www.SID.ir

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که از لحاظ طول ساقه‌چه، بین سطوح دو رقم، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (جدول 1)، اما بین اثر سویه‌های باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر طول ساقه‌چه، اختلاف معنی‌داری ($P\leq0/05$) مشاهده شد، به‌طوری‌که بیشترین طول ساقه‌چه در تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه 103 با میانگین 7/193 سانتی‌متر و کمترین طول ساقه‌چه در تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه 4 با میانگین 5/778 سانتی‌متر دیده شد (جدول 2).

جدول 2- مقایسه میانگین بین سطوح باکتری‌های محرک رشد در جوانه‌زنی

Table 2- Mean comparisons between growth promoting bacteria levels in germination test

تیمار Treatment		سرعت جوانه زنی (بذر در روز) Germination speed	طول ریشه چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)	طول ساقه چه (سانتی‌متر) Plumule lentgh(cm)	وزن خشک ریشه چه (گرم) Radicle dry weight (g)	وزن خشک ساقه چه (گرم) Plumule dry weight (g)	ضریب آلومتری Alometric coefficient	شاخص بنیه Vigour Index
No inoculation	بدون تلقیح	10.921d	5.128c	5.902bc	0.0022b	0.0029bc	0.775bc	4.653c
Strain 4	سویه4	17.530b	7.358a	5.778c	0.0038 a	0.0031bc	1.263 a	11.586a
Strain 93	سویه93	14.210c	6.606ab	5.972bc	0.0024b	0.0027c	1.017b	8.422b
Strain 103	سویه103	14.439c	6.68ab	7.193a	0.0027b	0.0040a	0.693 c	8.625b
Strain 136	سویه136	14.778bc	6.678ab	6.782a	0.0026b	0.0029bc	0.920bc	8.244b
Strain 168	سویه168	21.898a	6.710ab	6.786a	0.0029b	0.0036ab	0.811bc	12.961a
Strain 169	سویه169	14.090c	6.240b	6.668 ab	0.0028b	0.0035abc	0.831bc	8.305b
Strain 177	سویه177	14.370c	6.872ab	6.600ab	0.0027b	0.0029bc	0.947b	8.353b
LSD		3.907	1.08	0.84	0.0007	0.0007	0.24	2.94

در هر ستون میانگین‌هائی که دارای حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Means in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using LSD Test

معنی‌دار نبودن اثر متقابل رقم × باکتری نیز می‌تواند نشان‌دهنده مستقل بودن این دو عامل از هم باشد. مشاهده شده که اسید ایندول استیک (IAA) نقش مهمی در افزایش طول ساقه‌چه دارد (Mantelin and Touraine, 2004; Mia *et al*., 2009). افزایش طول ساقه‌چه به‌تولید جیبرلین توسط باکتری محرک رشد نیز نسبت داده شده است (Cassan *et al*., 2009). طی مرحله جوانه‌زنی بذر، آنزیم آلفاآمیلاز در لایه آلورون نقش مهمی در هیدرولیز نشاسته بازی می‌کند که گلوکز حاصل، انرژی لازم برای رشد ساقه‌چه را فراهم می‌آورد (Akazawa and Hara-Mishimura, 1985; Beck and Ziegler, 1989).

در برخی منابع افزایش رشد به‌افزایش تولید آمونیم اشاره دارد (Yadav *et al*., 2010). در مطالعه طول ریشه‌چه نیز نتیجه‌ای مشابه با طول ساقه‌چه به‌دست آمد. در این صفت، بین ارقام مختلف، تفاوت معنی‌داری دیده نشد، اما بین سطوح باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری ($P\leq0/05$) وجود داشت (جدول 1)، به‌طوری‌که مقایسه میانگین‌ها نشان داد. که بیشترین طول ریشه‌چه با میانگین 7/358 سانتی‌متر مربوط به سویه 4 باکتری *سودوموناس فلورسنس* بود و کمترین طول ریشه‌چه نیز در تیمار شاهد (بدون تلقیح) با مقدار 5/128 سانتی‌متر مشاهده شد (جدول 2).

شاید بتوان این امر را به‌قابل استفاده شدن بیشتر مواد ذخیره‌ای بذر و نیز تحریک تقسیم و طویل شدن سلولی توسط مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی نسبت داد (Sharma *et al*., 2007). برخی از محققین نیز افزایش طول ریشه‌چه توسط این

Archive of SID

www.SID.ir

باکتری‌ها را به‌تولید اکسین نسبت داده‌اند (Patten and Glick, 2002; Verma *et al.*, 2010).

جدول 3- مقایسه میانگین‌های صفات مورد بررسی برای رقم خزر و توده بومی هاشمی تحت تأثیر باکتری‌های محرک رشد

Table3- Means comparison of investigated characteristics for Khazar's cultivar and Hashemi landrace affected growth promoting bacteria

رقم Cultivar	شاخص بنیه Vigour Index	سرعت جوانه زنی Germination speed	وزن خشک ریشه چه (گرم) Radicle dry weight (g)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم) Plumule dry weight (g)
هاشمی Hashemi	7.72b	10.24b	0.002b	0.003b
خزر Khazar	10.06a	20.31a	0.003a	0.004a
LSD	2.08	8.76	0.0004	0.0004

^{ns} ,**, *به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی دار در سطح احتمال 1 و 5 درصد

ns, * and ** show nonsignificant, significant at level 5% and significant at level 1% respectively.

جدول 4- مقایسه میانگین‌های برهمکنش رقم × باکتری درصد جوانه‌زنی برای رقم خزر و توده بومی هاشمی

Table4- Means comparison of interaction effect of cultivar×bacteri in germination percentage for Khazar's cultivar and Hashemi landrace

Treatment	سویه177 strain177	سویه 169 strain169	سویه 168 strain168	سویه 136 strain136	سویه 103 strain103	سویه 93 Strain93	سویه 4 Strain4	بدون تلقیح No Inoculation	LSD
رقم خزر Khazar cultivar	73.31cd	75.82c	99a	71.62d	71.5d	74.25cd	98.25a	43.49h	0.74
توده بومی هاشمی Hashemi landrace	51.00g	54.00f	93.00b	52.00fg	53.00fg	58.00e	75.00c	40.00i	2.56

در هر ستون میانگین‌هائی که دارای حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Means in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using LSD Test

البته گزارش شده است که اتیلن در غلظت‌های پائین، باعث تحریک رشد ریشه‌چه و در غلظت‌های بالا سبب جلوگیری از رشد ریشه‌چه می‌شود که باکتری محرک رشد ازطریق آنزیم 1- آمینوسیکلوپروپان 1- کربوکسیلیک دآمیناز[1] باعث کاهش غلظت اتیلن می‌گردد (Saleem *et al.*, 2007).

در مورد مقایسه میانگین‌های وزن خشک ساقه‌چه، نتایج نشان‌دهنده آن بود که بین ارقام از لحاظ وزن خشک ساقه‌چه، اختلاف معنی‌داری ($P\leq0/05$) وجود داشت، به‌طوری‌که رقم خزر با میانگین 0/0037 گرم، وزن خشک ساقه‌چه بیشتری را نسبت به توده رقم هاشمی با میانگین 0/0027 گرم، به‌خود اختصاص داد (جدول 3). با توجه به‌نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشخص شد که سویه‌های باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر وزن خشک ساقه‌چه تأثیرگذار بوده و بین باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری ($P\leq0/05$) وجود داشت (جدول 1)، به‌طوری‌که سویه 103 باکتری با میانگین 0/004 گرم، بیشترین وزن خشک ساقه‌چه را سبب شد و کمترین وزن خشک در تیمار مربوط به‌سویه 93 باکتری با مقدار 0/0027 گرم مشاهده گردید (جدول 2). وزن خشک ریشه‌چه بین سطوح ارقام و همچنین بین سطوح باکتری‌ها معنی‌دار بود (جدول 1). رقم خزر با میانگین 0/0031 گرم وزن خشک ریشه‌چه نسبت به‌توده بومی هاشمی با میانگین 0/0025 گرم وزن، در رتبه اول قرار گرفت (جدول 3). همچنین مقایسه میانگین بین سویه‌های باکتری بیانگر آن بود که سویه 4 باکتری با میانگین 0/0038 گرم، بیشترین وزن خشک ریشه‌چه را سبب شده و کمترین مقدار در تیمار شاهد با میانگین 0/0022 گرم

1- 1. aminocyclopropan-1-carboxylic deaminase (ACC deaminase)

Archive of SID
www.SID.ir

مشاهده شد (جدول 2). افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش شده است (Mishra *et al*., 2010).

افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌تواند به‌دلیل القای نمو جنینی توسط مواد تنظیم‌کننده رشد حاصل از باکتری‌های محرک رشد باشد که قابلیت نفوذ پوسته بذر نسبت به آب را افزایش داده‌اند (Cassan *et al*., 2009). تجزیه داده‌های ضریب آلومتری بیان‌کننده اختلاف معنی‌دار ($P\leq0/05$) بین سویه‌های باکتری بود، اما بین رقم و توده بومی برنج تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 1). مقایسه میانگین‌ها بین سویه‌های باکتری بیان کننده آن بود که سویه 4 و سویه 103 باکتری به‌ترتیب بیشترین و کمترین ضریب آلومتری را به‌خود اختصاص دادند (جدول 3). شاخص بنیه بیان کننده بنیه گیاهچه در زمین زراعی می‌باشد.

این شاخص بین رقم خزر و توده بومی هاشمی و سویه‌های باکتری اختلاف معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که رقم خزر با میانگین 10/063 نسبت به توده بومی هاشمی با میانگین 7/724 در سطح اول قرار گرفت (جدول 3).

بالاترین شاخص بنیه را سویه 168 باکتری با مقدار 12/961 به‌خود اختصاص داد و کمترین مقدار در تیمار شاهد با میانگین 4/653 دیده شد (جدول 2). افزایش شاخص بنیه بذر ذرت و گلرنگ در اثر تلقیح بذر آن‌ها با باکتری‌های محرک رشد توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (Noumavo et al., 2013; Govindappa *et al*., 2011; Gholami et al., 2009).

احتمالاً افزایش بنیه بذر به‌دلیل تولید بیشتر اکسین توسط باکتری بوده است (Bharathi *et al*., 2004) که منجر به‌طویل شدن سلولی می‌شود یا ممکن است به‌علت افزایش سیتوکینین باشد که سبب تحریک تقسیم سلولی می‌گردد (Anzala, 2006).

می‌توان این‌گونه استنباط کرد که با تولید و ترشح ترکیبات تحریک‌کننده رشد گیاه و یا برخی مواد تنظیم‌کننده که توسط باکتری‌های موجود در محیط رشد گیاه تولید شده، رشد گیاهچه بهبود یافته است. گزارش شده است که باکتری *سودوموناس فلورسنس* باعث افزایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در کلزا، کاهو و گوجه‌فرنگی شده است (Hall *et al*., 1996).

افزایش طول ساقه‌چه را می‌توان به‌تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی نسبت داد (Gholami *et al*., 2009)، زیرا این باکتری‌ها با آزاد کردن هورمون‌هایی مثل جیبرلین و اکسین و با تولید یک سری آنزیم‌ها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها (Ahmad and Khan, 2006) و مقاومت به‌شرایط نامساعد، باعث رشد و استقرار بهتر گیاه می‌شود. در آزمایشی دیگر بیان شد که کاربرد سویه‌های حل کننده فسفات باکتری *سودوموناس فلورسنس* باعث افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود شد که این افزایش رشد را به‌دلیل آزاد شدن تنظیم کننده‌های رشد توسط باکتری حل کننده فسفات و در اختیار گرفتن بهتر مواد غذایی توسط گیاه تشخیص دادند (Sharma *et al*., 2007). براساس نتایج تجزیه واریانس، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه تحت تأثیر باکتری‌های محرک رشد قرار نگرفت (جدول 1). طبق گزارش‌های موجود، سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس* تأثیری بر وزن تر برگ‌ها و ساقه‌ها نداشته است (Gholami *et al*., 2009). باتوجه به‌نتایج تجزیه واریانس مشخص شد که وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه نسبت به‌شاهد تحت‌تأثیر سویه‌های مورد بررسی باکتری *سودوموناس فلورسنس* قرار گرفت (جدول 1). این

Archive of SID
www.SID.ir

یافته‌ها با نتایج برخی محققین مطابقت دارد (Gholami *et al*., 2009). همچنین افزایش رشد در بعضی سویه‌ها نسبت به‌بقیه سویه‌ها و تیمار شاهد می‌تواند به‌دلیل اثرات مختلف این ریزموجودات در تثبیت نیتروژن و قابلیت دسترسی بهتر فسفر برای گیاه باشد. در گیاه *Vallisneria spiralis* کاربرد کودهای زیستی حاوی مخلوط باکتری‌های جنس *باسیلوس* و *سودوموناس* در ترکیب با کود آلی سبب 34 درصد افزایش وزن خشک گیاه نسبت به‌تیمارهایی شد که تنها از کود آلی استفاده شده بود و علاوه بر این، جمعیت باکتری‌های حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن در محیط ریشه گیاه در این تیمار افزایش یافت (Young *et al*., 2004). گزارش شده است که وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌های ذرت با استفاده از باکتری‌های *سودوموناس*، افزایش معنی‌داری داشته است (Gholami *et al*., 2009). همچنین باکتری‌های حل کننده فسفات همراه با سنگ فسفات توانایی گیاه را برای جذب بیشتر مواد غذایی افزایش می‌دهند و از این طریق بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارند (Goenadi *et al*., 2000). در آزمایشی گزارش شد که باکتری‌های حل کننده فسفات سبب افزایش تعداد، طول و سطح تارهای کشنده ریشه گندم شده است (Gahoonia *et al*., 1997). بیشترین ضریب آلومتریک را سویه 4 از آن خود کرد. این نتیجه را می‌توان به‌دلیل تأثیر بیشتر باکتری سویه 4 برافزایش طول ریشه‌چه دانست، زیرا باکتری سویه 4 بیشترین طول ریشه‌چه را شامل خود کرده بود و باتوجه به‌وزن خشک بالای تیمار مربوط به‌باکتری سویه 4 و فرمول ضریب آلومتریک (میانگین وزن خشک ریشه‌چه بر میانگین وزن خشک ساقه‌چه) قابل پیش‌بینی بود. همان‌طور که می‌دانیم اتیلن در رشد و توسعه گیاه و رسیدگی میوه اهمیت زیادی دارد، با این حال افزایش غلظت اتیلن در گونه‌های گیاهی می‌تواند باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد ریشه گردد (Belimov, *et al*., 2001). باکتری‌های محرک رشد رایزوسفری با توانایی تولید آنزیم آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلیک دی‌آمیناز (ACC-Deaminase) می‌توانند میزان اتیلن گیاه را کاهش دهند و جوانه‌زنی گیاه را بهبود بخشند. باکتری‌های محرک رشد وقتی به‌سطح بذرها می‌چسبند در پاسخ به‌ترشح اسیدهای آمینه ترشح شده در بذر، اسید ایندول استیک سنتز می‌کنند که این اسید باعث تحریک سلول‌های گیاه و طویل شدن آن‌ها می‌شود در نتیجه می‌تواند بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها مؤثر باشند. در تحقیقی دیگر روی جوانه‌زنی ذرت بیان شده است که افزایش جوانه‌زنی می‌تواند به‌دلیل تأثیر باکتری‌ها در افزایش تولید برخی مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی به‌ویژه جیبرلین باشد، زیرا این مواد با فعال کردن برخی آنزیم‌ها مانند آمیلاز که در سوخت و ساز نشاسته دخالت دارند، جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد مشخص شد که بیشترین شاخص بنیه را سویه‌ای از باکتری *سودوموناس* سبب شد (Gholami *et al*., 2009). همچنین این باکتری‌ها با سنتز بهتر مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی مثل اکسین، باعث افزایش بنیه، انرژی و استقرار بهتر گیاهچه می‌شود (Bharathi *et al*., 2004).

گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد از طریق آنزیم آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلیک دی‌آمیناز و کاهش تولید اتیلن توسط گیاهچه‌ها، مقاومت گیاه را به‌عوامل نامساعد مثل تنش خشکی و شوری افزایش و بنابراین بنیه و استقرار گیاهچه را در شرایط مزرعه افزایش می‌دهد.

Archive of SID
www.SID.ir

نتیجه‌گیری کلی

باتوجه به‌نتایج حاصل، مشخص شد که کاربرد سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* به‌صورت تلقیح بذر، تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج رقم خزر و توده بومی هاشمی داشت.

در این آزمایش افزایش طول ساقه‌چه توسط سویه‌های 103، 136 و 168 و همچنین افزایش رشد ریشه‌چه و وزن خشک بیشتر نسبت به‌شاهد توسط سویه 4 باکتری مشاهده شد. بیشترین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر نیز در تیمار تلقیح بذر با سویه 168 مشاهده گردید. در ضمن مشخص گردید که رقم خزر نسبت به‌توده بومی هاشمی واکنش بهتری نسبت به‌سویه‌های مورد بررسی باکتری *سودوموناس فلورسنس* داشته است.

منابع

References

Abdual-baki, A. A. and J. D. Anderson. 1973. Relationship between decarboxilation of glutamic acid and vigour in soybean seed. Crop Sci. 13: 222-226.

Ahmad, F. L. and M. S. Khan. 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbial. Res. 36: 1-9.

Akazawa, T. and I. Hara-Mishimura. 1985. Topographic aspects of biosynthesis, extracellular section and intracellular storage of proteins in plant cells. Ann. Rev. Plant Physiol. 70: 441-472.

Alef, K. and P. Nannipieri. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press.

Anzala, F. J. 2006. Contrôle de la vitesse de germination chez le maïs (*Zea mays*) : Etude de la Voie de Biosynthèse des Acides Aminésissus de l'Aspartate et Recherche de QTLs," Thèse de Doctorat, Université de Angers, Angers.

Ashrafuzzaman, M., F. A. Hossen, I. M. Razi, H. M. Anamul, I. M. Zahurul, S. M. Shahidullah and M. Sariah. 2009. Efficiency of plant growth- promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. Afr. J. Biotechnol. 8: 1247-1252.

Bacilio, M., P. Vazquez and Y. Bashan. 2003. Alleviation of noxious effects of cattle ranch composts on wheat seed germination by inoculation with *Azospirillum* spp. Biol.Fertil. Soils, 38: 261–266.

Beck, E. and P. Ziegler. 1989. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40: 95-117.

Becking, J. H. 2006. The Family Azotobacteraceae. Prokaryotes, 6: 759-783.

Bharathi, R., R. Vivekananthan, S. Harish, A. Ramanathan and R. Samiyappan. 2004. Rhizobacteria-based bio-formulations for the management of fruit rot infection in chillies. Crop Protec. 23: 835–843.

Belimov, A. A., V. I. Safronova, T. A. Sergeyeva, T. N. Egorova, V. A. Matveyeva, V. E. Tsyganov, A. Y. Borisov, I. A. Tikhonovin, C. Kluge, A. Preisfeld, K. J. Deitz and V. V. Stepanok. 2001. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. Can. J. Microbiol. 47: 642-652.

Cassana, F., D. Perriga, V. Sgroya, O. Masciarellia, C. Pennab and V. Lunaa. 2009. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). Eur. J. Soil Biol. 45, 28–35.

Ellis, R. H. and E. H. Roberts. 1980. Towards a rational basis for testing seed quality in seed production. 605-635, Butterworths, London.

FAO. 2009. *http://www.faostat.fao.org*

FAO. 2011. *http://www.faostat.fao.org*

Gahoonia, T. S., D. Care and N. E. Nielsen. 1997. Root hairs and phosphorus acquisition of wheat and barley cultivars. Plant and Soil, 191: 181–188.

Gholami, A., S. Shahsavani and S. Nezarat. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. World Academy Sci. Engin. Technol. pp:19-24.

Glick, B. R., D. Penrose and M. Wenbo. 2001. Bacteria promotion of plant growth. Biotechnol. Adv. 19: 135-138.

Goenadi, D. H., Y. Siswanto and Y. Sugiarto. 2000. Bioactivation of poorly soluble phosphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. Soil Sci. Soc. Am. J. 64: 927-932.

Govindappa, M., V. Ravishankar, N. Rai and S. Lokesh. 2011. Screening of *Pseudomonas fluorescens* Isolates for Bio-logical Control of *Macrophomina phaseolina* Root-Rot of Safflower. African J. Agric. Res. 29: 6256-6266.

Archive of SID

www.SID.ir

Govindharajan, K. and K. Kavitha. 2001. Studies of *Azospirillum* associated with rice varieties, workshop on recent developments in Biofertilizers for rice-based cropping system. Coimbatore. Pp: 9-10.
Hall, J. A., D. Pierson, S. Ghosh and B. R. Glick. 1996. Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Isr. J. Plant Sci. 44: 37–42.
Hussain, F. 1989. Field and laboratory manual of plant ecology. University Grants Commission, Islamabad.
Kaymak, H. A., I. Guvenc, F. Yarali and M. F. Denmez. 2009. The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. Turk. J. Agric. 33: 173-179.
Kiers, E. T. and R. F. Denison. 2008. Sanctions, cooperation, and the stability of plantrhizosphere mutualisms. Ann. Rev. Ecol. Environ. Sys. 39: 215-236.
Lugtenberg, B., T. Chin-A-Woeng and G. Bloemberg. 2002. Microbe–plant interactions: principles and mechanisms. Antonie van Leeuwenhoek. 81: 373–383.
Manafee, W. F. and J. W. Klopper. 1994. Application of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. In: Soil biota management in sustainable farming system, Pankburst, C. E., Doube, B. M., Gupta, V. V. S. R. and Grace, P. R., eds. Pp: 23-31. CSLRO, pub. East Melborne, Australia.
Mantelin, S. and B. Touraine. 2004. Plant growth promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. J. Expt. Bot. 55: 27-34.
Mia, M. A. B., Z. H. Shamsuddin, W. Zakaria and M. Mariah. 2009. The effect of rhizobacterial inoculation on growth and nutrient accumulation of tissue-cultured banana plantlets under low N-fertilizer regime. African. J. Biotechnol. 8: 5855-5866.
Mishra, M., U. Kumar, P. K. Mishra and V. Prakash. 2010. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of *cicer arietinum* l. growth and germination under salinity. Adv. Biol. Res. 2: 92-96.
Murungu, F. S., P. Nyamugafata, C. Chiduza, L. J. Clark and W. R. Whalley. 2003. Effects of seed priming, aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and maize (*Zea mays* L.). Soil Till. Res. 74: 161-168.
Nascimento, W. M. 2003. Muskmelon seed germination and seedling development in response to seed priming. Sci. Agric. 60: 71-75.
Ng, L. C., M. Sariah, O. Sariam, O. Radziah and M. A. Zainal Abidin. 2012. Rice seed bacterization for promoting germination and seedling growth under aerobic cultivation system. Australian Journal of Crop Sci. 6(1): 170-175.
Noumavo, P. A., E. Kochoni, Y. O. Didagbe, A. Adjanohoun, M. Allagbe, R. Sikirou, E. W. Gachomo, S. O. Kotchoni and L. Baba-Moussa. 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. Am. J. Plant Sci. 4: 1013-1021.
Patten, C. L. and B. R. Glick. 2002. The role of bacterial indoleacetic acid in the development of the host plant root system. Appl. Environ. Microbiol. 68: 3795–3801.
Preeti, V., M. S. Reddy, S. Kavitha, P. Velusamy, R. S. D. Paulraj, S. M. Purushothaman, V. B. Priyadarisini, S. Bharathkumar, J. W. Kloepper and S. S. Gnanamanickam. 2002. Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield. Curr. Sci. 83: 1140-1143.
Saleem, M., M. Arshad, S. Hussain and A. S. Bhatti. 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 34: 635–648.
Samina, M., T. Kowalik, B. Reynold and G. Lazarovits. 2010. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. Soil Biol. Biochem. 42: 1848-1856.
Sharma, K., G. Dak, A. Agrawal, M. Bhatnagar and R. Sharma. 2007. Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of *Cicer arietinum* seedes and seedling growth. J. Herbal Med. Toxicol. 1: 59-61.
Shaukat, K., S. Affrasayab and S. Hasnain. 2006. Growth responses of *Helianthus annus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. J. Agri. Res. 6: 573-581.
Sharma, A. K. 2003. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India.
Verma, J. P., J. Yadav and K. N. Tiwari. 2010. Application of Rhizobium sp. BHURC01 and plant growth promoting rhizobactria on nodulation, plant biomass and yields of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Int. J. Agric. Res. 5: 148-156.
Yadav, J., J. P. Verma and K. N. Tiwari. 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on seed germination and plant growth chickpea (*cicer arietinum l.*) under in *vitro* conditions. biol. Forum-Ann. Int. J. 2: 15-18.
Yang, J. and J. Zhang. 2010. Crop management technique to enhance harvest index in rice. J. Exp. Bot. 61 (12): 3177-3189.
Young, C. C., W. A. Lai, F. T. Shen, W. S. Huang and A. B. Arun. 2004. Characterization of multifuncational biofertilizer from Taiwan and biosafety considerations. International Symposium on Future Development of Agricultural Biotechnology Park. pp: 373-388.

Archive of SID

www.SID.ir