Archive of SID

Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 47, No 4, Winter 2017 (671-687)
DOI: 10.22059/ijfcs.2017.117506.653819

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۵ (ص ۶۸۷-۶۷۱)

ارزیابی تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد بر بهبود شاخص‌های رشد گیاه سویا

حسین بشارتی[1*]، شهلا پاشاپور[2] و محمود رضازاده[3]
۱. استاد، مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، خاک‌شناسی (بیولوژی خاک)، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران
۳. دانشیار، دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه ارومیه، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۱۲/۲٦)

چکیده

یکی از راهکارهای کاهش کاربرد کودهای شیمیایی، استفاده از باکتری‌های افزایندهٔ رشد گیاه است. در این تحقیق در آغاز ۵۱ جدایهٔ باکتری ریزوسفری یونجه از نظر ویژگی‌های محرک رشد گیاهی غربالگری شدند. با توجه به نتایج غربالگری، دو جدایهٔ ریزوبیوم، دو جدایهٔ باسیلوس و چهار جدایهٔ سودوموناس به‌عنوان جدایه‌های برتر انتخاب و تأثیر آن‌ها بر شاخص‌های رشد سویا در قالب آزمایش بلوک‌های کامل تصادفی با دوازده تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل چهار جدایهٔ سودوموناس، دو جدایهٔ باسیلوس، دو جدایهٔ ریزوبیوم، مخلوط جدایه‌های باسیلوس، سودوموناس و ریزوبیوم، شاهد بدون کود و باکتری، نصف توصیهٔ کودی بدون باکتری و توصیهٔ کودی بدون باکتری بودند. همهٔ تیمارهای حاوی باکتری‌های محرک رشد با باکتری برادی‌ریزوبیوم همراه بودند. نتایج نشان داد، همهٔ تیمارهای باکتری نسبت به تیمار شاهد، وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک‌ریشه، شمار گره، شمار غلاف، وزن خشک دانه، غلظت آهن، روی و منگنز بخش هوایی، جذب نیتروژن و فسفر بخش‌هوایی را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. بیشترین غلظت منگنز بخش‌هوایی سویا از تیمار ریزوبیوم و بیشترین غلظت فسفر و نیتروژن نیز از تیمار باسیلوس (T5)، ریزوبیوم (T8) و سودوموناس (T1) به دست آمد. کارایی باکتری‌های سودوموناس در افزایش شاخص‌های رشد سویا بهتر از کارایی جدایه‌های باسیلوس و ریزوبیوم بود، که دلیل احتمالی این موضوع به خاصیت محرک رشدی باکتری‌های سودوموناس مربوط می‌شود. با توجه به نتایج تحقیق، استفاده از باکتری‌های افزایندهٔ رشد گیاه باعث کاهش کاربرد کودهای شیمیایی به‌ویژه نیتروژن و فسفر می‌شود. بااین‌وجود کاربرد آن‌ها به‌عنوان کود زیستی در شرایط مزرعه به تحقیقات بیشتری نیاز دارد.

واژه‌های کلیدی: PGPR، برادی ریزوبیوم، توصیهٔ کودی، باسیلوس، سودوموناس، مایهٔ تلقیح.

The evaluation of plant growth promoting rhizobacteria effect for improving soybean growth indices

Hossein Besharati[1*], Shahla Pashapour[2] and Mahmoud Rezazadeh[3]
1. Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
2. Former M. Sc. Student, Soil Science (Soil Biology), Agricultural Collage Zanjan University, Iran
3. Associated Professor, Agricultural Collage Urmia University, Iran
(Received: Feb. 15, 2015 - Accepted: Mar. 16, 2016)

ABSTRACT

The use of plant growth promoting rhizobacteria, is a solution to reduce the application of chemical fertilizers. In this research, first 51 rhizobacteria isolated from alfalfa rhizosphere, were screened from plant growth promoting point of view. According to the results of the screening of bacteria, 2 *Rhizobium* isolates, 2 *Bacillus* isolates and 4 *Pseudomonas* isolates were selected as superior strains to prepare the inoculums. To evaluate the effect of selected isolates on soybean growth indices, a completely randomized block design was carried out with 12 treatments and 3 replications. Treatments were included 4 *Pseudomonas* isolates, 2 *Bacilli* isolates and 2 *Rhizobium* isolates, mix of *Bacillus*, *Rhizobium* and *Pseudomonas*, control without Fertilizer and bacteria, half of fertilizer recommendation and Fertilizer recommendation. All Plant Growth Promoting Rhizobacteria treatments were accompany with Bradyrhizobium. The results indicated that bacteria inoculation significantly increased soybean growth indices, such shoot dry weight, root dry weight, root nodules, pods, seed weight, Fe, Zn, Mn, concentration of shoot, shoot nitrogen and phosphorus uptake compared to the control and the highest shoot Mn concentration was related to T8 treatment and the highest shoot N and P concentrations resulted from T5 (Bacillus), T8 (Rhizobium) and T1 (Pseudomonas) treatments. Generally, Pseudomonas bacteria were more effective than *Bacillus* and *Rhizobium*, to increase soybean growth indices and it can be attributed to high plant growth promoting properties of bacteria. According to the results, the usage of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), can decrease consumption of chemical fertilizers, especially N and P fertilizers. However, their use in field conditions requires further investigation.

Keywords: Bacillus, Bradyrhizobium, Fertilizer recommendation, Inoculum, PGPR, Pseudomonas.

* Corresponding author E-mail: besharati1350@yahoo.com Tel: +98 912 3101247

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

استفادهٔ غیراصولی از منابع خاک، کاهش حاصلخیزی و تخریب آن و درنهایت کاهش تولید محصول را به دنبال دارد. کودهای شیمیایی به دلیل ارزان‌تر بودن، آسانی دسترسی و کاربرد، بازگشت سریع‌تر سرمایه، رقیب بسیار قدرتمندی برای کودهای زیستی (بیولوژیک) هستند، درحالی‌که فرسودگی زمین و از بین رفتن موجودهای زندهٔ میکروبی خاک درنتیجه کاربرد کودهای شیمیایی در نظر گرفته نمی‌شود. در سال‌های اخیر شناخت و کاربرد جمعیت‌های میکروبی در کشاورزی توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است (Lucy *et al.*, 2004; Barea *et al.*, 2005). همچنین افزایش بهای کودهای شیمیایی، لزوم بهره‌برداری پایدار از منابع آب‌وخاک و نیاز به تولید محصول سالم باعث توجه بیشتر به کودهای زیستی شده است. یکی از انواع کودهای زیستی، کودهای محتوی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR)[1] هستند. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌توانند به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم باعث افزایش رشد گیاه شوند. سازوکارهای مستقیم شامل تثبیت ناهمزیست نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش قابلیت فراهمی عنصرهای کانی نامحلول مانند فسفر و تولید آنزیم‌هایی چون ACC-دِآمیناز است (Glick, 1995). در سازوکارهای غیرمستقیم نیز این باکتری‌ها اثرگذاری‌های زیان‌آور یک یا شماری از بیمارگرهای گیاهی را از راه ایجاد مقاومت ساختارمند (سیستمیک) القایی یا اکتسابی، تعدیل یا خنثی می‌کنند (Schippers *et al.*, 1987). تثبیت نیتروژن مولکولی هوا، افزایش قابلیت جذب عنصرهای غذایی، تولید آهن‌بر (سیدروفور) و افزایش قابلیت استفاده آهن، اکسایش (اکسیداسیون) گوگرد، کاهش pH و افزایش قابلیت جذب عنصرهای غذایی، انحلال ترکیب‌های نامحلول فسفاته از راه ترشح اسیدهای آلی و فسفاتازها از جمله مثال‌های کاربردی این سازوکار هستند (Tilak, 2006). در بسیاری از موارد PGPR می‌تواند تلفیقی از اثرگذاری‌های بالا مانند تثبیت نیتروژن و حل‌کنندگی فسفات را به‌طور همزمان داشته باشد (Rai, 2006).

منابع کودهای فسفاته در جهان محدود و تولید آن‌ها هزینه‌بر است (Gyaneshwar *et al.*, 2002)، از سویی بازدهٔ کودهای فسفری در خاک‌های آهکی بسیار پایین است. ریزجانداران (میکروارگانیسم‌های) حل‌کنندهٔ فسفات که از باکتری‌های محرک رشد گیاه به شمار می‌آیند، با کاهش pH از راه ترشح اسیدهای آلی (استات، لاکتات، اکسالات، تارتارات، سوکسینات، سیترات، گلوکونات، کتوگلوکونات، گلیکولات و ...) و یا ترشح پروتون می‌توانند ترکیب‌های پیچیدهٔ فسفات‌های کلسیم را حل کنند. باکتری‌های ریزوبیوم که شریک‌های همزیست تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن در لگوم‌ها هستند، همانند دیگر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) می‌توانند ریشه‌های گیاهان غیرلگومی را اشغال کرده (Chabot *et al.*, 1996) و رشد گیاه را تحریک کنند (Yaani *et al.*, 2001). باکتری‌های ریزوبیوم می‌توانند فسفات‌های آلی و کانی را حل کنند (Antoun *et al.*, 1998). برتری اصلی کاربرد ریزوبیوم‌ها به‌عنوان ریزجانداران حل‌کنندهٔ فسفات، تأثیر دوگانهٔ سودمندی بر وضعیت تغذیه‌ای گیاه است که منجر به تثبیت نیتروژن و حل‌کنندگی فسفات می‌شوند (Peix *et al.*, 2001) و روابط متقابل هم‌افزایی (سینرژیستی) آن‌ها با قارچ‌ریشهٔ (میکوریزا) آربسکولار به اثبات رسیده است (Barea *et al.*, 2002).

بسیاری از ریزجانداران ریزوسفری در شرایط کمبود آهن، برای رویارویی با کمبود و جذب آهن از خاک ترکیب‌هایی به‌نام آهن‌بر را تولید می‌کنند که از ویژگی‌های بارز باکتری‌های PGPR است. آهن‌برها می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از راه افزایش قابلیت استفاده از آهن و یا غیرمستقیم از راه محروم کردن عامل‌های بیماریزا از آهن در رشد گیاه مؤثر باشند. گسترش نظام ریشه‌ای گیاه و تغییر ریخت‌شناختی (مرفولوژی) ریشه از راه تولید متابولیت‌های مختلف از دیگر ویژگی‌های باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به شمار می‌شود. اکسین تولیدشده توسط باکتری‌ها از راه افزایش شمار

1. Plant Growth Promoting Rrhizobacteria

www.SID.ir

Archive of SID

ریشه‌های مویین و ریشه‌های ثانویه می‌تواند رشد گیاه را افزایش دهد (Kapulnik *et al*., 1987). ایندول استیک اسید (IAA) متابولیت رایج ناشی از سوخت‌وساز (متابولیسم) L- تریپتوفان بوده که توسط ریزجانداران چندی از جمله ریزوبیوم تولید می‌شود (Mandal *et al*., 2007; Ghosh & Basu, 2006). تأثیر تلقیح آزوسپریلیوم روی ریخت‌شناختی ریشه می‌تواند از راه تولید اکسین یا مخلوطی از اکسین، جیبرلیک اسید و کینتین باشد (Tien *et al*., 1979).

سویا گیاهی است از خانوادهٔ بقولات، یک‌ساله و خودگشن که سطح زیر کشت آن در جهان حدود ۷۶میلیون هکتار و در ایران ۹۰هزار هکتار بوده و مقام نخست در تأمین روغن گیاهی در جهان را دارد. دانهٔ سویا یک منبع غنی از پروتئین با کیفیت مناسب است. سویا همچنین منبع خوب کلسیم، آهن، روی، فسفات، منگنز، ویتامین‌های B و فولات است (Deputy of Economy and Planning, 2006). بنابراین برای تولید محصول مناسب بایستی به میزان کافی عنصرهای غذایی در اختیار این گیاه قرار گیرد. یکی از مهم‌ترین مشخصه‌های گیاهان خانوادهٔ لگومینوز از جمله سویا، توانایی برقراری همزیستی تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن با باکتری‌های ریزوبیوم است و این همزیستی می‌تواند بخش عمدهٔ نیاز نیتروژنی گیاه را تأمین کند. استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه همراه با باکتری‌های همزیست سویا به‌صورت کود زیستی می‌تواند در تأمین دیگر عنصرهای غذایی، کاهش کاربرد کودهای شیمیایی، بهبود رشد گیاه و درنهایت افزایش تولید محصول مؤثر باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی امکان جایگزینی بخشی از کودهای شیمیایی با کودهای زیستی حاوی باکتری‌های PGPR در کشت سویا انجام شد.

مواد و روش‌ها

بررسی ویژگی‌های محرک رشد گیاهی در جدایه‌های مورد آزمایش

در این تحقیق از ۵۱ جدایهٔ باکتری جداسازی‌شده از ریزوسفر یونجه استفاده شد. از بین جدایه‌های مورد آزمایش، دو جدایهٔ باسیلوس، ۴۵ باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی و چهار جدایهٔ باکتری سودوموناس فلورسنت بودند. ویژگی‌های محرک رشد گیاهی (PGP) در جدایه‌های باکتری اندازه‌گیری و در نهایت هشت سویهٔ برتر برای تلقیح به بذرها در کشت گلخانه‌ای سویا انتخاب شدند. تولید اکسین با روش ارائه‌شده توسط Glick *et al*. (1999)، تولید آنزیم ACC- دِآمیناز با استفاده از روش پیشنهادی Amico *et al*. (2005)، توانایی تولید سیانید هیدروژن (HCN) در باکتری‌ها با استفاده از روش ارائه‌شده توسط Donate-Corre *et al*. (2004) ارزیابی شد. بررسی تولید آهن‌بر بر پایهٔ روش اصلاح‌شده Alexander & Zuberer (1991) با استفاده از محیط CASB.A[1] انجام گرفت. تولید آنزیم کیتیناز توسط روش Boller & Mauch (1988) اندازه‌گیری شد. برای بررسی توان حل‌کنندگی فسفات کانی نامحلول از روش Sperber (1985) استفاده شد. سنجش کمی توان حل‌کنندگی فسفات کانی در محیط اسپربر مایع با استفاده از روش Bano & Musarrat (2003) صورت گرفت. روش‌های کمی و کیفی مورد استفاده برای ارزیابی توانایی انحلال فسفات آلی توسط جدایه‌های باکتری همسان روش‌هایی بود که برای اندازه‌گیری توان حل‌کنندگی فسفات کانی استفاده شد، با این تفاوت که از اینوزیتول هگزا فسفریک اسید (نمک کلسیم فیتیک اسید) به‌عنوان منبع فسفات آلی به‌جای تری کلسیم فسفات استفاده شد (Sperber, 1985).

انتخاب سویه‌های برتر باکتری‌ها

پس از انجام آزمایش‌های بالا بر پایهٔ نتایج آزمون‌های انجام‌شده، دو جدایهٔ ریزوبیومی مؤثر (Rm42 و Rm43)، دو جدایهٔ باسیلوس (Bv1 و Bv2) و چهار جدایهٔ سودوموناس فلورسنت (pf12، pf29، pf39، pf54) برای تهیهٔ مایهٔ تلقیح و استفاده در کشت گلخانه‌ای سویا انتخاب شدند (جدول ۱).

انتخاب خاک برای کشت گلخانه‌ای سویا

پس از بررسی‌های مقدماتی، یک خاک زراعی آهکی

1. CAS Blue Agar

www.SID.ir

Archive of SID

که از لحاظ عنصرهای غذایی به نسبت فقیر بود، از اطراف جادهٔ بند (ارومیه) نمونه‌برداری و میزان فسفر قابل‌جذب (Olsen & Sommers, 1982)، نیتروژن کل (Walkley, 1974)، پتاسیم قابل‌جذب (قابل‌استخراج با استات آمونیوم، (Richards, 1954)، هدایت الکتریکی، pH و رطوبت ظرفیت زراعی (Emami, 1997)، کربن آلی (Nelson & Sommers, 1982)، بافت خاک به روش آی‌سنجی (هیدرومتری، Bouyoucos, 1951) اندازه‌گیری شد (جدول۳).

تهیهٔ مایهٔ تلقیح باکتری‌های منتخب و تلقیح بذرهای سویا

در آغاز ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط نوترنت براس تهیه و به نسبت برابر در ۱۹ ارلن ۲۰۰ میلی‌لیتری توزیع شد. ارلن‌های حاوی محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجهٔ سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر) سترون (استریل) شدند. هشت سویهٔ باکتری انتخاب شده و نیز مخلوط آن‌ها در دو تکرار کشت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند. باکتری برادی ریزوبیوم[1] جاپونیکوم انتخاب شده برای تلقیح بذرهای سویا نیز به روش بالا کشت و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت. تراکم باکتری‌ها در مایهٔ تلقیح 10^8 یاخته در هر میلی‌لیتر مایهٔ تلقیح بود. در ضمن باکتری همزیست سویا از مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. بذرهای سویا رقم سحر به مدت ده دقیقه در محلول ۲/۵ درصد هیپوکلریدسدیم سترون سطحی شده و پس از آن ده بار با آب مقطر سترون شستشو شدند. بذرهای سترون‌شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند. بذرهای جوانه‌دار سویا درون ارلن‌های محتوای دروایهٔ (سوسپانسیون) باکتری‌های منتخب ریخته شده و به مدت دو ساعت روی دستگاه لرزا (شیکر) با چرخش ۶۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. شمار پنج بذر تلقیح‌شده در عمق حدود ۳ سانتی‌متری خاک هر گلدان کشت شد. ۱ میلی‌لیتر از مایهٔ تلقیح باکتری برادی‌ریزوبیوم به هر بذر اضافه و سپس روی آن با خاک پوشانده شد. لازم به یادآوری است که همهٔ تیمارهای حاوی باکتری‌های محرک رشد گیاه با باکتری‌های برادی‌ریزوبیوم جاپونیکوم همراه بودند. در شاهد و تیمارهای توصیهٔ کودی تلقیح باکتری برادی‌ریزوبیوم انجام نشد. پس از یک هفته شمار گیاهان هر گلدان به سه بوته کاهش یافت. در کشت گلخانه‌ای سویا از طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد. تیمارهای مورد نظر به شرح جدول ۱ بودند.

با توجه به نتایج اندازه‌گیری غلظت عنصرها و برخی ویژگی‌های دیگر، توصیهٔ کودی برای سویا در خاک مورد آزمایش به‌صورت اوره، سوپرفسفات تریپل و سولفات پتاسیم به ترتیب ۴۰کیلوگرم، ۱۰۰ کیلوگرم و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (به ترتیب معادل ۵۳/۳، ۱۳۳/۳ و ۲۰۰میلی‌گرم در گلدان) بود. به خاک گلدان تیمارهای باکتری میزان یک‌سوم توصیهٔ کودی فسفر (سوپر فسفات تریپل) و یک‌سوم نیتروژن (اوره) و کل توصیهٔ کودی پتاسیم (سولفات پتاسیم) همراه با آب آبیاری اضافه شد. لازم به یادآوری است میزان ۲۰ کیلوگرم در هکتار استارتر اوره نیز به همهٔ گلدان‌ها به استثنای شاهد منفی اضافه شد. آزمایش در اتاقک رشد (فیتوترون) با دما، نور و رطوبت قابل تنظیم انجام شد. در طول مدت‌زمان کاشت تا برداشت دمای اتاقک رشد ۲۵ تا ۲۸ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی هوای ۵۰ تا ۷۰ درصد و ۱۲ ساعت نور ۶۰۰۰۰ لوکس (روز) و ۱۰ ساعت بدون نور (شب) تنظیم شد. رطوبت گلدان‌ها در طول آزمایش در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی تنظیم شد. گیاهان هشتاد روز پس از تاریخ کاشت برداشت شده و شاخص‌های ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه، شمار گره و غلاف و وزن خشک دانه و نیز میزان غلظت عنصرهای نیتروژن، فسفر، آهن، منگنز و روی در اندام‌های هوایی گیاهان اندازه‌گیری شد (Emami, 1996). برای شمارش شمار گره‌های ریشه، در آغاز گلدان‌ها به مدت چند دقیقه در ظرف آب قرار گرفته، سپس به‌آرامی وارونه شده و کل نظام ریشه‌ای گیاه در ظرف آب قرارگرفته و با تکان‌های آرام و جدا شدن خاک از ریشه‌ها و شستشوی ریشه‌ها، گره‌ها با دقت از ریشه‌ها

1. *Bradyrhizobium japonicum*

www.SID.ir

Archive of SID

جدا و شمارش شدند. داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار آماری MSTATC تجزیه‌وتحلیل آماری شدند و مقایسهٔ میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد و به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

جدول۱. تیمارهای مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای سویا

Table 1. Treatments which used in soybean green house experiment

Treatment	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
Treatments description	*Pseudomonas fluoresces* Pf54	*Pseudomonas fluoresces* Pf12	*Pseudomonas fluoresces* Pf39	*Pseudomonas fluoresces* Pf29	*Bacillus isolate* BV1	*Bacillus isolate* BV2	*Rhizobium isolate* Rm42	*Rhizobium isolate* Rm43	Mixture of Bacteria	Control (without Fertilizer& Inoculation)	50% Fertilizer Recommendation	100% Fertilizer Recommendation

نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های محرک رشدی باکتری‌های مورد بررسی در جدول ۲ ارائه شده است.

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای سویا در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول۲. برخی ویژگی‌های محرک رشدی (PGP) سویه‌های باکتری مورد استفاده در کشت سویا

Table 2. Some plant growth characteristics (PGPR) of bacterial strains which used in soybean cultivation

						Organic-P Dissolving				Mineral –p Dissolving	
Bacteria	IAA (µg/ml)	Siderophore*	-ACC Deaminase (µg/ml)	HCN**	Kitinase	Dissolved-P (µg/ml)	pH	Hallo/Colony ratio	Hallo/Colony ratio	Dissolved-P (µg/ml)	pH
Bv1	4.15	-	-	2	-	82.22	4.33	1.9	2.97	144.28	4.15
Bv2	4.04	-	0.64	2	-	85.72	4.36	2.01	2.71	127.14	4.30
Rm42	4.04	1.8	0.16	4	-	96.41	4.67	1.2	-	-	-
Rm43	4.74	2.0	0.23	2	-	84.0	5.86	1.5	-	-	-
Pf12	2.09	6.02	1.01	3	-	52.5	4.82	3.86	2.23	68.24	4.92
Pf54	3.09	4.96	0.25	3	-	63.21	4.91	3.63	2.71	70.12	4.79
Pf29	4.61	4.33	-	3	-	64.12	4.36	2.73	2.36	90.43	4.21
Pf39	4.82	4.46	0.67	2	-	32.01	5.65	1.5	2.43	43.39	6.13

- : بدون تولید

*: نسبت قطر هالهٔ نارنجی به قطر کلونی در محیط CAS آگار.

**: رنگ کاغذ صافی ا، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب زرد، کرمی، قهوه‌ای روشن و قهوه‌ای تیره بوده است.

- No production

The Ratio of Orange colored Hallo to Colony in CAS media

1, 2, 3 and 4 are yellow, pale yellow, white brown and dark brown respectively

جدول ۳. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده برای کشت گلدانی سویا

Table 3. Physical and chemical properties of the soil used to pot cultivate of soybean

عمق (Cm)	pH (1:2/5)	EC (dS/m)	OC %	OM %	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Soil Texture	FC %
0-30	7.2	0.5	0.42	0.7	8.2	201.6	Sandy clay loam	30

جدول ۴. تجزیهٔ واریانس تأثیر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در گیاه سویا

Table 4. Analysis variance of different treatments on measured parameters in soybean

S.O.V	df	Plant Height	Root length	Shoot dry weight	Root dry weight	Seed dry weight	N	P	Fe	Mn	Zn	No. of Nodule	No. of Pod
Rep.	3	83.20	62.7	0.092	0.005	0.002	7.069	0.007	1.684	7.498	29.13	1.715	0.56
Treatment	11	15.77 ns	36.49	0.415**	0.017**	0.028**	238.2**	4.38**	25.89**	15.59**	151.06**	52.28**	4.35**
Error	33	39.35	16.41	0.067	0.001	0.001	74.54	0.068	1.33	3.63	5.77	2.86	0.29
CV (%)		7.60	12.13	11.62	5.99	7.36	14.59	6.36	8.22	9.24	6.86	31.63	11.08

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ درصد، معنی‌دار در سطح ۱ درصد و غیر معنی‌دار هستند.

*, ** and ns: are significant at 5% level, significant at 1% level and non significant respectively.

www.SID.ir

Archive of SID

تأثیر تیمارهای مختلف بر طول ریشهٔ سویا

تحلیل آماری نتایج نشان داد، تأثیر تیمارهای مختلف بر طول ریشهٔ سویا در سطح ۵ درصد معنی‌دار است (جدول۴). مقایسهٔ میانگین تیمارهای مختلف نشان داد که تیمارهای T1، T2، T3، T6، T8، T11 و T12 نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری طول ریشهٔ سویا را افزایش دادند. بیشترین و کمترین طول ریشه به ترتیب در تیمارهای T2 (۳۸/۸۶ سانتی‌متر) و T10 (۲۵/۷۴ سانتی‌متر) مشاهده شد. تیمار T2 طول ریشهٔ سویا را در مقایسه با گیاه شاهد۶۰ درصد افزایش داد. در مجموع، چهار باکتری سودوموناس به‌طور میانگین ۳۹/۵۹ درصد، دو باکتری باسیلوس ۳۲/۸۶ درصد و دو باکتری سینوریزوبیوم ۳۴/۵۴ درصد موجب افزایش طول ریشهٔ سویا در مقایسه با تیمار شاهد شدند. تیمار توصیهٔ کودی (T12) در مقایسه با شاهد ۴۱/۸۸ درصد و تیمار نصف توصیه کودی (T11) نیز نسبت به شاهد ۲۱/۷۶ درصد طول ریشهٔ سویا را افزایش دادند ولی این افزایش‌ها معنی‌دار نبود. درحالی‌که این افزایش طول ریشه در تیمار برادی‌ریزوبیوم هم تلقیح‌شده با باکتری‌های ریزوبیوم، باسیلوس و سودوموناس تنها ۹/۴۶ درصد بود (شکل۱). در آزمایشی تلقیح برنج با باکتری *B. subtilis* باعث افزایش ۵۰ درصدی طول ریشهٔ برنج شد (Preeti *et al.*, 2002). Xie *et al.* (1996) گزارش کردند که تلقیح نشاهای کلزا با سودوموناس پاتیدا[1] سویهٔ GR12-2 منجر به افزایش ۲ تا ۳ برابری طول ریشه‌های گیاه شد. تلقیح تربچه با برادی‌ریزوبیوم به‌عنوان باکتری آزادزی منجر به افزایش تولید اکسین و افزایش رشد ریشه گیاه شد (Galleguillose *et al.*, 2000). در تحقیقی تلقیح بذرهای ذرت با سودوموناس اورنتیاکا[2] سویهٔ SR1 موجب افزایش ۲۸ و ۳۲ درصدی طول ریشه‌های ذرت شد و این افزایش رشد با تولید ایندول استیک اسید (IAA)، حل‌کنندگی فسفات و تولید مواد ضد قارچی توسط باکتری‌ها مرتبط بود (Rosas *et al.*, 1998). در این تحقیق، افزایش طول ریشه در گیاهان سویا تلقیح‌شده با باکتری‌ها می‌تواند در نتیجهٔ تولید هورمون‌هایی همچون اکسین و سیتوکنین به ریزوسفر باشد، زیرا نقش اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها در پیدایش ریشه، افزایش تقسیم یاخته‌ای و گسترش ریشه به‌خوبی شناخته شده‌است (Gray & Smith, 2005).

تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک بوتهٔ سویا

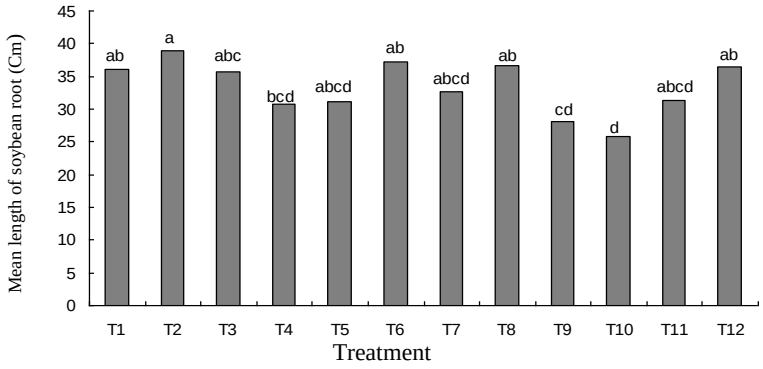
تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن خشک اندام‌های هوایی سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). همهٔ تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری وزن خشک اندام‌های هوایی سویا را افزایش دادند (شکل ۲). تیمار T2 (۲/۶۶گرم در گلدان) بیشترین و تیمار T10 (۱/۳۶گرم در گلدان) کمترین میزان وزن خشک بوتهٔ سویا را داشتند. تیمار T2 تنها با تیمارهای T11, T7, T9, T10 در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌دار داشت ولی بین T2 با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری از نظر وزن خشک بوته مشاهده نشد (شکل۲). میانگین افزایش وزن خشک بوته در مقایسه با تیمار شاهد، توسط سودوموناس فلورسنت‌های هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T1، T2، T3، T4) ۷۸/۰۸درصد، توسط باسیلوس‌های هم تلقیح با برادی ریزوبیوم (T5, T6) ۷۱/۲۵درصد و توسط ریزوبیوم‌های هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T7، T8) ۶۶/۴۰ درصد بود. تیمار T12 (توصیهٔ کودی کامل) در مقایسه با تیمار شاهد، وزن خشک بوتهٔ سویا را ۸۱/۴۹ درصد، تیمار T11 (نصف توصیهٔ کودی) در مقایسه با تیمار شاهد، وزن خشک بوته را ۵۷/۱۲ درصد و تیمار T9 که مخلوطی از باکتری‌های سودوموناس، ریزوبیوم، باسیلوس و برادی ریزوبیوم بود، در مقایسه با تیمار شاهد وزن خشک بوتهٔ سویا را ۳۸ درصد افزایش دادند. این نتایج شایان مقایسه با نتایجی است که Duffy & Defago (1997) با استفاده از سودوموناس فلورسنت تلقیح‌شده به سیب‌زمینی و تأثیر آن در افزایش وزن خشک بوتهٔ سیب‌زمینی مشاهده کردند. تأثیر مثبت تلقیح مشترک برخی از جدایه‌های باکتری باسیلوس و ریزوبیوم در افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی گیاهانی مانند یونجه، بادام‌زمینی و لوبیا چشم‌بلبلی گزارش شد (Podile *et al.*, 1995). سویه‌های PGPR تلقیح‌شده به گیاهان لگوم با تولید

1. *Pseudomonas putida*
2. *Pseudomonas aurantiaca*

www.SID.ir

Archive of SID

متابولیت‌های تنظیم‌کنندهٔ رشد گیاه و متابولیت‌های ناهمسازی (آنتاگونیستی) موجب افزایش وزن خشک بوتهٔ این گیاهان شدند (Silo-Suh, *et al.*, 2002). در آزمایشی تلقیح گیاه مرزنگوش با سودوموناس فلورسنت و برادی‌ریزوبیوم، وزن تر اندام هوایی را ۳/۲ برابر افزایش داد (Zhang *et al.*, 2007). از سازوکارهای دخیل در افزایش وزن تر بوتهٔ سویا می‌توان افزایش طول ریشهٔ گیاهان تلقیح‌شده با باکتری را نام برد که موجب افزایش دسترسی به آب و مواد غذایی خاک شده و رشد گیاه را افزایش می‌دهند.

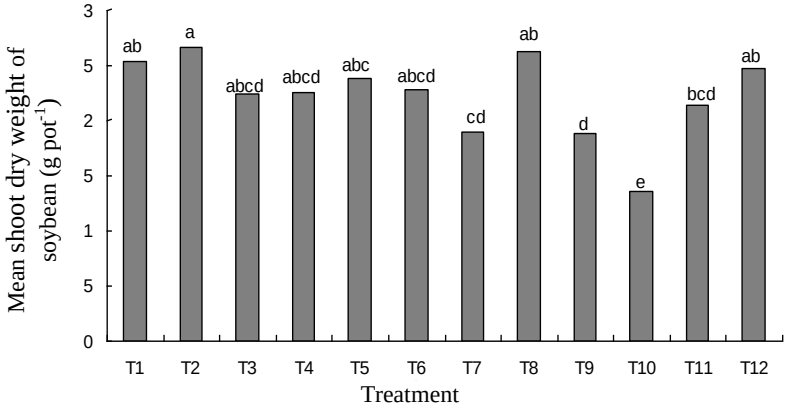


شکل ۱. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر طول ریشهٔ سویا

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔBv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔ Rm42، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیه کودی هستند.

Figure 1. Mean comparison of soybean root length in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.



شکل ۲. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک بوتهٔ سویا

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12 ، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔ Rm42 ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 2. Mean comparison of soybean shoot dry weight in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

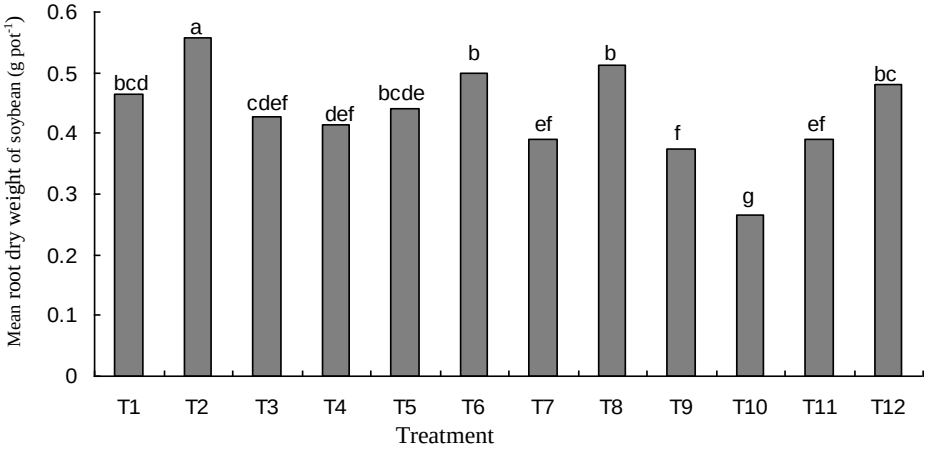
تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشهٔ سویا

تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج نشان داد، تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشهٔ سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). همهٔ تیمارها نسبت به شاهد وزن خشک ریشهٔ سویا را به‌طور معنی‌دار افزایش دادند (شکل ۳). شایان گفتن است که تفاوت تیمار

www.SID.ir

Archive of SID

T2 با دیگر تیمارها نیز معنی‌دار بود. بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه نیز به ترتیب در تیمار T2 (۰/۵۶ گرم در گلدان) و T10 (۰/۲۷ گرم در گلدان) مشاهده شد (شکل۳). تیمار T2 به میزان ۱۱۱/۳۶ درصد در مقایسه با تیمار شاهد باعث افزایش وزن خشک ریشهٔ سویا شد.



شکل ۳. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشهٔ سویا

T12, T11,T10,T9,T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54 ، Pf12 ، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔRm42 ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 3. Mean comparison of soybean root dry weight in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

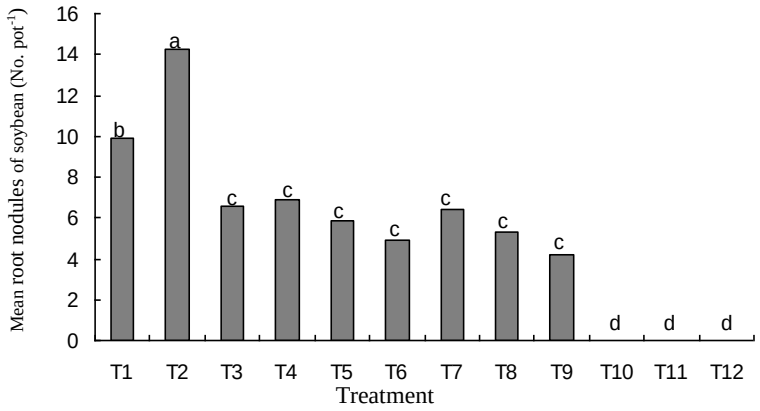
باکتری‌های سودوموناس هم تلقیح با باکتری برادی ریزوبیوم (T1، T2، T3، T4) در مقایسه با شاهد به‌طور میانگین ۷۶ درصد، باکتری‌های باسیلوس هم تلقیح با باکتری برادی‌ریزوبیوم (T5، T6) ۷۷/۱۴ درصد و باکتری‌های ریزوبیوم هم تلقیح با باکتری برادی‌ریزوبیوم (T7، T8) ۷۰/۳۷ درصد وزن خشک ریشهٔ سویا را افزایش دادند. در تحقیقی تلقیح گندم با باکتری‌های ریزوبیوم و برادی‌ریزوبیوم موجب افزایش وزن خشک ریشه شد (Gaur *et al*., 1980). تلقیح بذرهای لوبیا با باکتری *R. leguminosarum bv. Phaseoli* موجب کاهش پوسیدگی ریشه در نتیجهٔ آلوده شدن قارچ‌های بیماریزا (پاتوژن)شده و وزن خشک ریشهٔ گیاه را افزایش داد (Buonassisi *et al*., 1986). افزایش وزن تر و خشک ریشهٔ سویا که به دنبال ایجاد نظام ریشه‌ای انبوه‌تر در بیشتر تیمارهای باکتری ایجاد شد، ممکن است ناشی از توانایی رقابتی مناسب باکتری‌های تلقیح‌شده برای استقرار در ریزوسفر گیاه و تولید اکسین توسط باکتری‌ها باشد که باعث افزایش رشد و تقسیم یاخته‌های ریشه شده به‌طوری‌که در گیاهان دارای نظام ریشه‌ای گسترده‌تر، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی نیز بیشتر است. این نتایج نشان می‌دهد که باکتری‌های تلقیح‌شده با بذرها توانایی خوبی برای رقابت با باکتری‌های بومی خاک داشته‌اند. نتایج همسان برخی از بررسی‌های گذشته نشان می‌دهد، تلقیح باکتری‌های PGPR با گیاهان لگوم موجب افزایش وزن تر و خشک بوتهٔ گیاه شده‌است که نشان‌دهندهٔ کارایی باکتری‌ها در افزایش عملکرد و کارایی جذب و تثبیت نیتروژن بود (Dobbelaere *et al*., 2003).

تأثیر تیمارهای مختلف بر شمار گره در گیاه سویا

تأثیر تیمارهای مختلف بر شمار گرهٔ سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). همهٔ تیمارها به استثنای تیمارهای T11 و T12 در مقایسه با تیمار شاهد موجب افزایش معنی‌دار تشکیل گره شدند (شکل ۴).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۴. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر شمار گره در گیاه سویا.

T12, T11, T10, T9, T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔRm42 ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 4. Mean comparison of soybean root nodules numbers in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control (without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

بیشترین شمار گره در تیمار T2 (۱۴/۲۲ عدد در گلدان) مشاهده شد. در تیمارهای توصیهٔ کودی کامل (T12) و تیمار نصف توصیهٔ کودی (T11) گره تشکیل نشد. تشکیل نشدن گره نشان داد که باکتری‌های بومی خاک ریزوسفری قادر به آلوده کردن گیاه میزبان (Infective) نیستند. باکتری‌های محرک رشد گیاه تأثیر سودمندی روی رشد گیاهان لگوم داشته و با افزایش تشکیل گره و تثبیت نیتروژن موجب افزایش روابط متقابل گیاهان با باکتری‌های ریزوبیوم می‌شوند (Dadarwal & Parmar, 1999). در تحقیقی، تلقیح مشترک ریزوبیوم و باسیلوس به گیاه لوبیا چشم‌بلبلی موجب افزایش شمار و وزن گره‌های گیاه شد (Geetha *et al.*, 2008). نتایج آزمایش Dadarwal & Parmar (1999) و نشان داد، تلقیح مشترک برخی از سویه‌های باکتری سودوموناس و باسیلوس با ریزوبیوم به نخودفرنگی موجب افزایش رشد و تشکیل گره شد.

تأثیر تیمارهای مختلف بر شمار غلاف‌های سویا

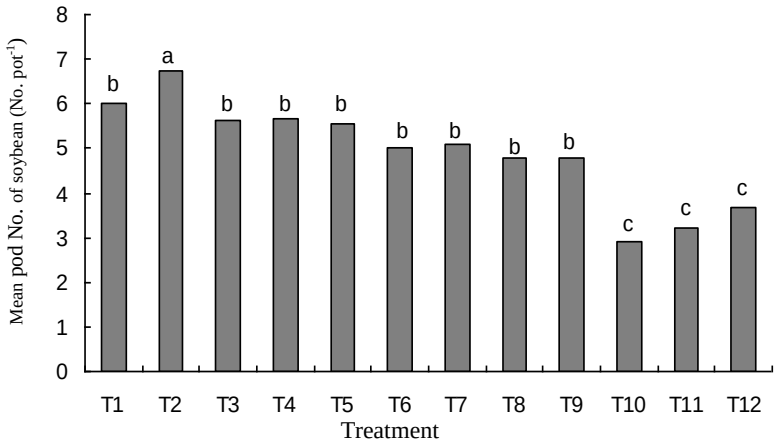
تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج نشان داد، تأثیر تیمارهای مختلف (به استثنای T11 و T12) بر شمار غلاف‌های بوتهٔ سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بین تیمار T2 با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار وجود داشت. بیشترین شمار غلاف در تیمار T2 (۶/۷ عدد در گلدان) و کمترین شمار در تیمار شاهد T10 (۲/۸۹ عدد در گلدان) بود و بین این دو تیمار اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت (شکل۵). تیمار T2 موجب افزایش ۱۳۲ درصدی شمار غلاف‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد. باکتری‌های سودوموناس هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T1، T2، T3، T4) شمار غلاف‌های تشکیل‌شده را ۱۰۷ درصد، باسیلوس‌های هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T5، T6) ۸۲/۵ درصد، ریزوبیوم‌های هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T7، T8) ۷۰ درصد و تلفیق باکتری‌ها ۶۵ درصد نسبت به تیمار شاهد، شمار غلاف را افزایش دادند.

در تحقیقی همسان Zali & Yazdisamadi (1975) و Zhang *et al.* (2007) در بررسی‌های جداگانه‌ای به این نتیجه رسیدند، باکتری برادی‌ریزوبیوم جاپونیکوم هم تلقیح با آزوسپریلیوم باعث افزایش معنی‌دار شمار غلاف در سویا شد. سازوکارهای بسیاری در افزایش تشکیل گره در ریشه‌ها توسط باکتری‌ها شناخته شده‌است (Barea *et al.*, 2005). با استفاده از دروایه‌های یاخته‌ای دریافته‌اند که مواد افزایش‌دهندهٔ رشد گیاه تولیدشده توسط باکتری‌های ریزوسفری، بر تشکیل گره و تثبیت نیتروژن مؤثرند (Manero *et al.*, 2003). یکی از این مواد ممکن است آهن‌برها باشند که به‌عنوان ترکیب‌های کلات‌کنندهٔ آهن، تأثیر

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش‌دهندگی روی بسیاری از گونه‌ها داشته که این تأثیر وابسته به گرایش نسبی این ترکیب‌ها به کمپلکس شدن با آهن است (Joshi *et al*., 2006). تأثیر افزایش‌دهندگی رشد گیاه با ترکیب‌های متنوع آهن‌بر تولیدشده توسط باکتری‌های ریزوسفری ثابت شده است (Khan *et al*., 2006). در این رابطه Geetha *et al*. (2008) تأثیر آهن‌بر تولیدشده توسط باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس را روی افزایش‌دهندگی رشد گیاه نخودفرنگی مشاهده کردند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، تولید آهن‌برها، مواد افزایش‌دهندهٔ رشد گیاه و تثبیت همزیستی نیتروژن توسط باکتری‌های مورد استفاده در تلقیح را می‌توان به‌عنوان سازوکارهای مؤثر در افزایش شمار گره و غلاف در گیاه سویای تلقیح‌شده با باکتری‌ها نام برد. برخلاف ویژگی‌های پیشین اندازه‌گیری‌شده در سویا، کاربرد تلفیق باکتری‌ها نقش مؤثری در افزایش شمار گره و غلاف داشته که می‌تواند به دلیل تقویت تأثیر باکتری‌های مختلف روی یکدیگر باشد و این نتیجه همسان نتایجی است که محققان دیگر نیز مشاهده کرده‌اند. هم تلقیحی برادی‌ریزوبیوم جاپونیکوم با برخی از سویه‌های باسیلوس و سودوموناس، شمار و وزن خشک گره‌های سویا کشت‌شده در شرایط نیمه گرمسیری را افزایش داد (Smith *et al*., 1999). هم تلقیحی بذرهای نخودفرنگی با باکتری‌های باسیلوس و ریزوبیوم موجب افزایش ۵۵ درصدی تشکیل گره شد (Geetha *et al*., 2008).



شکل ۵. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر شمار غلاف سویا

T12, T11,T10,T9,T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54 ، Pf12، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔRm42 ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 5. Mean comparison of soybean pod numbers in different treatments

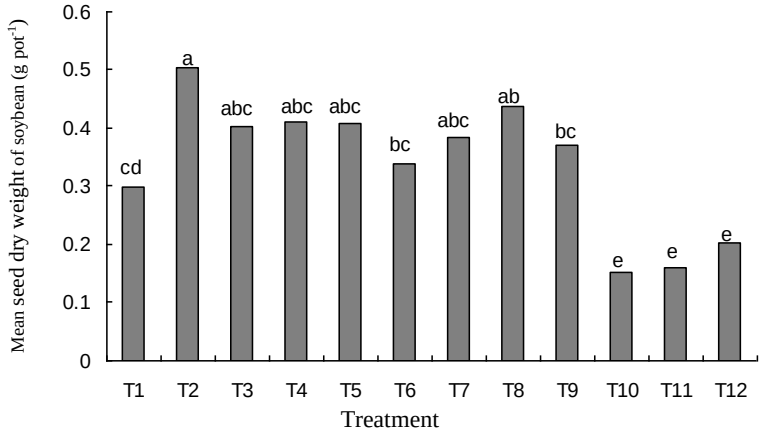
T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک دانهٔ سویا

تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج نشان داد، تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک دانهٔ سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۴). بیشترین وزن خشک دانه مربوط به تیمار T2 (۰/۵گرم در گلدان) و کمترین وزن خشک دانه مربوط به تیمار T10 (۰/۱۵ گرم در گلدان) بود. همهٔ تیمارهای آزمایشی به‌جز دو تیمار T11 و T12، وزن خشک دانهٔ سویا را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (شکل ۶). میانگین افزایش وزن خشک دانهٔ سویا نسبت به شاهد، توسط باکتری‌های سودوموناس ۱۶۵/۹ درصد، توسط باکتری‌های باسیلوس ۱۴۵ درصد و توسط باکتری‌های سینوریزوبیوم ۱۶۹/۷ درصد بود. تیمار T9 باعث افزایش ۱۴۴/۷ درصدی وزن خشک دانه شد. تیمار T11 و T12 به ترتیب باعث افزایش ۴/۶ و ۳۴/۲۱ درصدی وزن خشک دانهٔ سویا شدند ولی این افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار نبود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۶. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک دانهٔ سویا.

T12, T11,T10,T9,T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔ Rm ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 6. Mean comparison of soybean seed dry weight in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

Zali & Yazdisamadi (1975) گزارش کردند، هم تلقیحی برادی‌ریزوبیوم با ازتوباکتر و آزوسپریلیوم اختلاف معنی‌داری در وزن خشک دانهٔ سویا نسبت به تیمار شاهد ایجاد کرد ولی هم تلقیحی دوگانه و سه‌گانهٔ آن‌ها اختلاف معنی‌داری در وزن خشک دانه به وجود نیاورد. تلقیح با برادی‌ریزوبیوم، عملکرد زیستی و عملکرد دانه را در نخودفرنگی افزایش داد (Alagawadi & Gaur, 1988). در تحقیقی همسان نیز تلقیح بذرهای گندم با سودوموناس، وزن خشک دانه را ۴۰ درصد افزایش داد (Rosas *et al*., 1998). افزایش وزن خشک دانه‌های سویا می‌تواند به دلیل افزایش شمار غلاف‌ها در گیاهان تلقیح‌شده با باکتری باشد. هورمون‌ها، آهن‌برها، افزایش دسترسی فسفر توسط فعالیت حل‌کنندگی باکتری‌ها و نیتروژن تثبیت‌شده از عامل‌های مؤثر بر عملکرد وزن خشک دانهٔ گیاه به‌شمار می‌آیند.

تأثیر تیمارهای مختلف بر جذب نیتروژن اندام‌های هوایی سویا

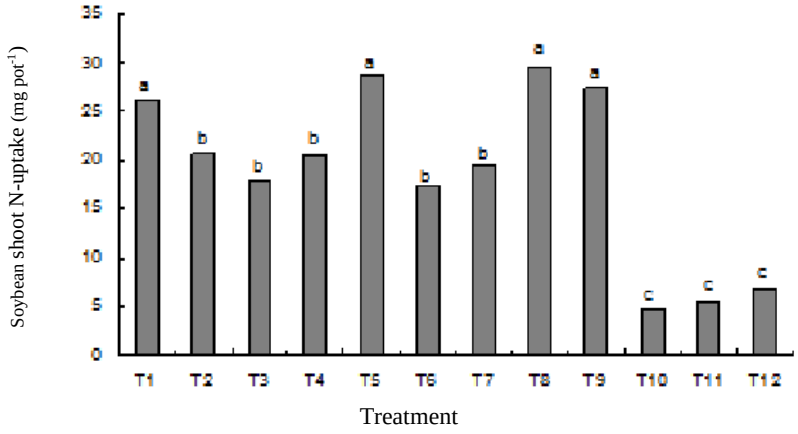
نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد، تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جذب نیتروژن اندام‌های هوایی سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۴). بیشترین و کمترین میزان جذب نیتروژن اندام هوایی به ترتیب در تیمار T8 (۲۹/۵۷ میلی‌گرم در گلدان) و T10 (۴/۷۸ میلی‌گرم در گلدان) مشاهده شد. به‌جز دو تیمار T11 و T12، دیگر تیمارها نسبت به شاهد (T10) به‌طور معنی‌داری جذب نیتروژن اندام‌های هوایی سویا را افزایش دادند (شکل ۷).

تیمار T8 باعث افزایش ۵۱۷/۷۱ درصدی جذب نیتروژن اندام‌های هوایی سویا نسبت به شاهد شد. میانگین افزایش جذب نیتروژن نسبت به شاهد در تیمارهای سودوموناس هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T1، T2، T3، T4) ۳۴۵درصد، در تیمارهای باسیلوس هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T4 و T5) ۳۸۰/۸ درصد، در تیمارهای ریزوبیوم هم تلقیح با برادی ریزوبیوم (T8 و T9) ۴۱۲/۳ درصد، در تیمار مخلوط باکتری‌ها (T9)۴۷۲/۱۱ درصد، در تیمار نصف توصیهٔ کودی (T11) ۱۱/۴ درصد و در تیمار توصیهٔ کودی کامل (T12) ۴۲/۸ درصد بود. Siddiqui & Akhtar (2008)، مقادیر نیتروژن بیشتری در اندام‌های هوایی گیاهان نخودفرنگی تلقیح‌شده با باکتری‌های ریزوبیوم و سودوموناس اندازه‌گیری کردند. در تحقیقی همسان Tilak *et al*. (2006) مشاهده کردند، هم تلقیحی ریزوبیوم و باسیلوس بیشترین مقادیر جذب نیتروژن را در گیاه نخودفرنگی ایجاد کرد. بر پایهٔ نتایج این

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیق، یک سویه از ریزوبیوم (T8) هم تلقیح با برادی ریزوبیوم بیش از دیگر تیمارها در جذب و افزایش نیتروژن گیاه فعال بود. تیمار T9 که مخلوطی از همهٔ سویه‌ها با برادی‌ریزوبیوم بود نیز افزایش بسیار خوبی در جذب نیتروژن ایجاد کرد که می‌تواند ناشی از رابطهٔ هم‌افزایی مناسب میان باکتری‌ها باشد.



شکل ۷. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر جذب نیتروژن اندام‌های هوایی سویا

T12, T11,T10,T9,T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12 ، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهRm42 ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 7. Mean comparison of soybean shoot N-uptake in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

تأثیر تیمارهای مختلف بر جذب فسفر اندام‌های هوایی سویا

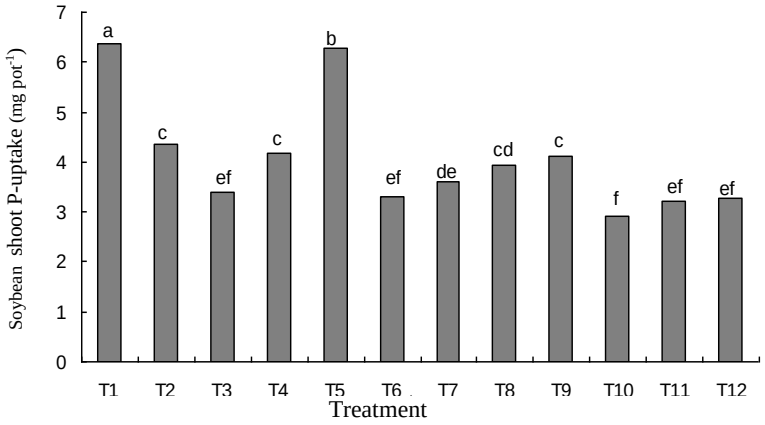
تأثیر تیمارهای مختلف بر جذب فسفر اندام‌های هوایی سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). بیشترین و کمترین جذب فسفر اندام‌های هوایی سویا به ترتیب در تیمارهای T1 (۶/۷۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) و T10 (۲/۹۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) مشاهده شد. تیمار T1 و T5 نسبت به دیگر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشتند، این درحالی است که تفاوت بین دو تیمار یادشده نیز از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل ۸). تیمار T1 که یک سویه از سودوموناس هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم بود جذب فسفر اندام‌های هوایی را ۱۳۰ /۷درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. میانگین افزایش جذب فسفر اندام‌های هوایی در سودوموناس‌های هم تلقیح با برادی ریزوبیوم (T1، T2، T3 و T4) نسبت به شاهد ۵۹/۶ درصد، در باسیوس‌های هم تلقیح با برادی ریزوبیوم (T5 و T6) نسبت به شاهد ۶۴/۳ درصد، ریزوبیوم‌های هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T7 و T8) نسبت به شاهد ۲۹/۳ درصد، در مخلوط باکتری‌ها (T9) نسبت به شاهد ۴۱/۳ درصد، در تیمار توصیهٔ کودی کامل (T12) نسبت به شاهد ۱۲ درصد و در تیمار نصف توصیهٔ کودی نسبت به شاهد (T11) ۱۰/۲ درصد بود.

بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده توسط Esitken *et al.* (2003) تلقیح گیاه آلو شیرین با باکتری باسیلوس سویهٔ OSU-142 منجر به افزایش ۲۴ درصدی جذب فسفر اندام‌های هوایی نسبت به شاهد شد. در این رابطه Antoun & Babana (2006) مشاهده کردند تلقیح گندم با سودوموناس سویهٔ BR2، جذب فسفر اندام‌های هوایی گیاه را در حضور منابع فسفر کانی ۵۰/۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داد که این افزایش به توانایی حل‌کنندگی فسفات این باکتری‌ها نسبت داده شد. جذب فسفر اندام‌های هوایی در تیمارهای باکتری مختلف مورد استفاده در این تحقیق متفاوت بوده که ممکن است به دلیل توانایی‌های مختلف باکتری‌ها در حل‌کنندگی فسفات باشد. در این بررسی با اینکه تیمار T1 (سودوموناس هم تلقیح با برادی ریزوبیوم) بیشترین جذب فسفر را داشت ولی میانگین افزایش جذب فسفر

www.SID.ir

Archive of SID

در تلقیح مشترک سویا با باکتری‌های باسیلوس و برادی ریزوبیوم (T4 و T5) بیشتر از دیگر تیمارها بود که این نتیجه می‌تواند به دلیل توان بسیار زیاد باکتری‌های باسیلوس در تولید فسفاتاز و اسیدهای آلی برای حل‌کنندگی فسفات‌های آلی و کانی خاک باشد، که با نتایج ناشی از غربالگری آزمایشگاهی باکتری در حل‌کنندگی اینوزیتول هگزا فسفات (فسفر آلی) و فسفات کلسیم (فسفر کانی) (جدول ۲) همخوانی داشت.



شکل ۸. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر جذب فسفر اندام‌های هوایی سویا

T12, T11,T10,T9,T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12 ، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔ Rm42 ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 8. Mean comparison of soybean shoot P-uptake in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن اندام‌های هوایی سویا

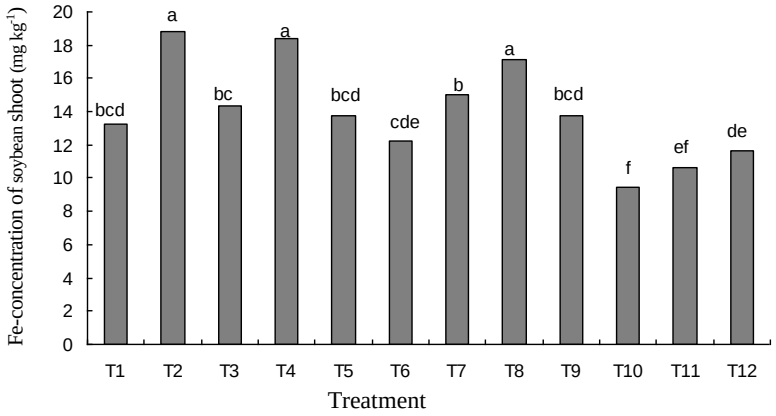
تحلیل آماری نتایج نشان داد که تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن اندام‌های هوایی سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۴). همهٔ تیمارهای آزمایشی (به‌جز T11) نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری غلظت آهن بخش هوایی سویا را افزایش دادند. تیمارهای T2، T4 و T8 به‌صورت یکسان موجب افزایش معنی‌دار آهن نسبت به شاهد شدند و به دیگر تیمارها برتری داشتند. بیشترین و کمترین غلظت آهن اندام‌های هوایی سویا به ترتیب به تیمارهای T2 (۱۸/۸۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) و T10 (۹/۴۶میلی‌گرم در کیلوگرم) تعلق داشت (شکل ۹). میانگین غلظت آهن اندام‌های هوایی در گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های سودوموناس و برادی ریزوبیوم (T1، T2، T3 و T4) نسبت به شاهد ۹۹ درصد، با باسیلوس‌های هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T6 و T5) نسبت به شاهد ۳۷/۴درصد، با ریزوبیوم‌های هم تلقیح با برادی‌ریزوبیوم (T7 و T8) نسبت به شاهد۷۰ درصد، و با مخلوط باکتری‌های سودوموناس، ریزوبیوم، باسیلوس و برادی ریزوبیوم (T9) نسبت به شاهد ۴۵ درصد افزایش یافت.

در تحقیقی که توسط Esitken *et al.* (2002) انجام شد، استفاده از سودوموناس سویهٔ BA-8، غلظت آهن در اندام‌های هوایی گیاه آلو شیرین را ۳۴/۱درصد افزایش داد، تلقیح آلو شیرین با باسیلوس سویهٔ OSU-142 نیز غلظت آهن در اندام‌های هوایی گیاه را ۳۱/۸ درصد افزایش داد. در این تحقیق، غلظت‌های مختلف آهن در اندام‌های هوایی گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های مختلف را می‌توان به توانایی‌های متفاوت آن‌ها در تولید آهن‌بر نسبت داد. با توجه به اینکه توانایی شایان‌توجه سودوموناس از نظر تولید آهن‌بر در آزمایش‌های غربالگری مشخص شد، لذا غلظت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

بالای آهن در گیاهان تلقیح‌شده با این سویه به دلیل استقرار خوب این باکتری در ریزوسفر و تولید مؤثر آهن‌بر باشد که آهن خاک را کمپلکس کرده و در اختیار ریشه‌های گیاه قرار داده است.



شکل ۹. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن هوایی سویا

T12, T11,T10,T9,T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔ Rm42، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 9. Mean comparison of soybean shoot Fe-concentration in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت روی و منگنز اندام‌های هوایی سویا

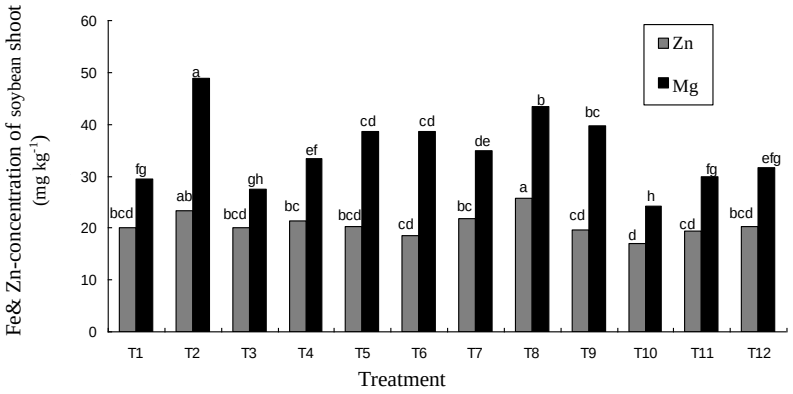
بر پایهٔ نتایج مندرج در جدول تجزیهٔ واریانس داده‌ها، تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت روی و منگنز اندام‌های هوایی سویا در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بیشترین و کمترین غلظت منگنز اندام‌های هوایی سویا به‌ترتیب در تیمارهای T8 (۲۵/۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و T10 (۱۶/۹۷میلی‌گرم در کیلوگرم) مشاهده شد. از نظر غلظت روی در اندام‌های هوایی سویا نیز، تیمار T2 (۴۸/۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) بیشترین و تیمارT10 (۴/۲۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) کمترین غلظت روی را داشتند (شکل ۱۰).

تیمار T8 با بیشترین غلظت منگنز در اندام‌های هوایی، نسبت به تیمار شاهد ۵۲ درصد غلظت منگنز را افزایش داد. میانگین غلظت منگنز در گیاهان تلقیح‌شده با برادی‌ریزوبیوم و ریزوبیوم (T7 و T8) ۴۰/۲ درصد، در هم تلقیحی سودوموناس و برادی ریزوبیوم (T1، T2، T3 و T4) ۲۹/۴ درصد، در هم تلقیحی برادی‌ریزوبیوم و باسیلوس (T5 وT6) ۱۴/۸ درصد و در تلقیح با مخلوط باکتری‌ها ۱۵/۲۶ (T9) درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. تیمار توصیهٔ کودی کامل (T12) ۱۸/۹۸درصد و تیمار نصف توصیه کودی (T11) تنها ۱۳/۹درصد، باعث افزایش غلظت منگنز اندام‌های هوایی سویا نسبت به شاهد شد. تیمار T2 (هم تلقیحی سودوموناس و برادی ریزوبیوم) غلظت روی را در اندام‌های هوایی سویا نسبت به شاهد ۱۰۱/۳۶ درصد افزایش داد. غلظت روی اندام‌های هوایی در هم تلقیحی باکتری برادی‌ریزوبیوم و سودوموناس‌ها (T1، T2، T3 و T4) ۴۳/۵۷ درصد، درهم تلقیحی برادی ریزوبیوم و باسیلوس‌ها (T5 و T6) ۵۹/۶۱ درصد، در هم تلقیحی برادی ریزوبیوم و ریزوبیوم‌ها (T7 و T8) ۶۱/۵۶ درصد و در هم تلقیحی برادی‌ریزوبیوم و مخلوط همهٔ هشت سویهٔ دیگر مورد استفاده (T9) ۶۳/۷۲ درصد، نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در تحقیقی همسان، تلقیح آلو شیرین با باکتری باسیلوس، غلظت منگنز و روی در اندام‌های هوایی گیاه را به‌ترتیب ۳۲ و ۲۳/۷ درصد افزایش داد و تلقیح آلو شیرین با باکتری سودوموناس، غلظت منگنز و روی اندام‌های هوایی گیاه را به‌ترتیب ۳۱/۹ و ۲۲/۹ درصد افزایش داد (Esitken *et al.*, 2002). تفاوت‌های موجود در غلظت منگنز و روی موجود در

www.SID.ir

Archive of SID

اندام‌های هوایی سویا را می‌توان به میزان‌های مختلف آهن‌بر تولیدشده توسط باکتری‌ها نسبت داد که مقادیر مختلفی از منگنز و روی را کمپلکس کرده و در اختیار گیاه قرار داده‌اند.



شکل ۱۰. مقایسهٔ میانگین تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت منگنز و روی اندام‌های هوایی سویا.

T12, T11,T10,T9,T8,T7, T6,T5, T4,T3,T2,T1 به‌ترتیب سودوموناس فلورسنس جدایهٔ Pf54، Pf12، Pf39، Pf29، باکتری باسیلوس جدایهٔ Bv1، Bv2، باکتری ریزوبیوم جدایهٔ Rm42 ، Rm43، مخلوط باکتری‌ها، شاهد بدون باکتری و کود، ۵۰درصد و ۱۰۰درصد توصیهٔ کودی هستند.

Figure 10. Mean comparison of soybean shoot Fe& Zn-concentration in different treatments

T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 and T12 are Pseudomonas fluoresces Pf54, Pseudomonas fluoresces Pf12, Pseudomonas fluoresces Pf39, Pseudomonas fluoresces Pf29, Bacillus isolate BV1, Bacillus isolate BV2, Rhizobium isolate Rm42, Rhizobium isolate Rm43, Mixture of Bacteria, Control(without Fertilizer& Inoculation), 50% Fertilizer Recommendation and 100% Fertilizer Recommendation respectively.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش بیانگر آن بود که شماری از باکتری‌های به‌دست‌آمده از ریزوسفر یونجه دارای توانایی محرک رشدی (تولید آهن‌بر، اکسین ، انحلال فسفات‌های کانی و آلی، تولید سیانید هیدروژن و آنزیم ACC-دآمیناز) مناسبی بوده و قابلیت کاربرد به‌عنوان کود زیستی محرک رشد گیاه را دارند، زیرا کاربرد این باکتری‌ها در کشت سویا شاخص‌های رشدی سویا مانند وزن خشک اندام‌های هوایی، طول و وزن خشک ریشه، شمار غلاف، وزن خشک دانهٔ سویا و همچنین جذب عنصرهای غذایی نیتروژن، فسفر، آهن و منگنز را در مقایسه با شاهد افزایش دادند. بنابراین کاربرد این باکتری‌ها می‌تواند با سازوکارهای مختلف بهبود رشد و عملکرد سویا و در نهایت کاهش کاربرد کودهای شیمیایی در کشت سویا را به همراه داشته باشد.

REFERENCES

1. Akhtar, S. M. & Siddiqui, Z. A. (2008). Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by Glomus intraradices, Rhizobium sp. and Pseudomonas straita. *Crop Protection*, 27, 410-417.
2. Alagawadi, A. R. & Gaur, A. C. (1988). Associative effect of *Rhizobium* and phosphatesolubilizing bacteria on the yield and nutrient uptake of chickpea. *Plant and Soil*, 105, 241-246
3. Alexander, D. B. & Zuberer, D. A. (1991). Use of Chrome Azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12, 39-45.
4. Amico, E. D., Cavalca, L. & Andreoni, V. (2005). Analysis of rhizobacterial communities in perennial Graminaceae from polluted water. *FEMS Microbiology Ecology*, 52, 153-162.
5. Antoun, H., Beauchamp, C.J., Goussard, N., Chabot, R. & Lalande, R.. (1998). Potential of Rhizobium and Bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes. *Plant and Soil*, 204, 57-67.
6. Bano, N. & Musarrat, J. (2003). Characterization of a new *Pseudomonas aeruginosa* strain NJ-15 as a potential biocontrol agent. *Current Microbiology*, 46, 324-328.
7. Barea, J. M., Pozo, M. J., Azco'n, R. & Azco´n-Aguilar, C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56, 1761-1778.
8. Boller, T. & Mauch, F. (1988). Colorimetric assay for chitinase. *Methods of Enzymology*, 161, 430-435.
9. Bouyoucos, G. J. (1951). A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soil. *Agronomy Journal*, 43, 434-438.

www.SID.ir

Archive of SID

10. Broekaert, W. F., Delaure, S. L., De Bolle, M. F. C. & Cammue, B. P. A. (2006). The role of ethylene in host–pathogen interactions, *Annual Review of Phytopathology*, 44, 393-416.
11. Buonassisi, A. J., Copeman, R. J., Pepin, H. S. & Eaton, G. W. (1986). Effect of *Rhizobium* spp. on *Fusarium solani* f.sp. *Phaseoli, Canadian Journal of Phytopathology*, 8,140-146.
12. Chabot, R., Antoun, H., Kloepper, J. W. & Beauchamp, C. J. (1996). Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Applied and Environmetal Microbiology*, 62, 2767-2772.
13. Deputy of Economy and Planning. (2006). *Agronomy and Horticulture products*, (2005-2004). Bulletin No., 8306, Statistics and Information center, Agricultural Jehad, Tehran, Iran. (in Farsi)
14. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. & Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22, 107-149.
15. Donate-Corre, J., Leon-Barrios, M. & Perez-Galdona, R. (2004). Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in Chamaecytisus proligerus, a forage tree-shrub legume edemic to Canary Island. *Plant and Soil*, 266, 261-272.
16. Duffy, B. K. & Défago, G. (1999). Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Applied and Environmetal Microbiology*, 65, 2429-2438.
17. Emami, A. (1996). *Methods of leaf analysis (Vol. 1). Technical Note No. 982*. Soil and Water Research Institute. (in Farsi)
18. Esitken, A., Karlidag, H., Ercisli, S. & Sahin, F. (2002). Effects of foliar application of Bacillus subtilis Osu-142 on the yield, growth and control of shot-hole disease (Coryneum blight) of apricot. *Gartenbauwissenschaft*, 67, 139-142.
19. Esitken, A., Karlidag, H., Ercisli, S., Turan, M. & Sahin, F. (2003). The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. *Hacihaliloglu*). *Australian Journal of Agricultural Research*, 54, 377-380.
20. Galleguillos, C., Aguirre, C., Barea, J. M. & Azcon, R. (2000). Growth promoting effect of two *Sinorhizobium meliloti* strains (a wild type and its genetically modified derivative) on a non-legume plant species in specific interaction with two arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Science*, 159, 57-63.
21. Gaur, Y. D., Sen, A. N. & SubbaRao, N. S. (1980). Improved legume-*Rhizobium* symbiosis by inoculating preceding cereal crop with *Rhizobium*. *Plant and Soil*, 54, 313-316.
22. Geetha, R., Falguni, S. & Anjana, J. D. (2008). Enhanced growth and nodulation of pigeon pea by co-inoculation of *Bacillus* strains with *Rhizobium* spp. *Bioresource Technology*, 99, 4544-4550.
23. Ghosh, S. & Basu, P. S. (2006). Production and metabolism of indole acetic acid in roots and root nodules of *Phaseolus* mungo. *Microbiological Research*, 161, 362-366.
24. Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41,109-117.
25. Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G. & Penrose, D. M. (1999). Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. *Imperial College Press, London*, UK, pp. 86-179.
26. Gray, E. J. & Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes, Soil Biol. Biochem.37:395-412.
27. Gyaneshwar, P., Kumar, L.J. & Parekh, P.S. (2002). Role of microorganisms in induced by ACC deaminase containing PGPR. *The American Phytological Society*, *MPMI*, 17(8), 865-871.
28. Honma, M. & Shimomura, T. (1978). Metabolism of 1-aminocyclopropane-1- carboxylic acid, *Agricultural Biology and Chemistry*, 42, 1825-1831.
29. Joshi, F., Archana, G. & Desai, A. J. (2006). Siderophore cross-utilization among rhizospheric bacteria and role of their differential affinities for Fe^{+3} on growth stimulation under iron limited conditions. *Current Microbiology*, 53, 141-147.
30. Kapulink, Y., Sarig, S., Nur, A., Okon, Y. & Henis, Y. (1982). The effect of *Azosprillium* inoculation on growth and Yield of corn. *Israel Journal of Botany*, 31, 247-255.
31. Khan, A., Geetha, R., Akolkar, A., Pandya, A., Archana, G. & Desai, A. J. (2006). Differential cross-utilization of heterologous siderophores by nodule bacteria of Cajanus Cajan and its possible role in growth under iron-limited conditions. *Applied Soil Ecology*, 34, 19-26.
32. Lucy, M., Reed, E. & Glick, B. R. (2004). Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Leeuwenhoek*, 86, 1-25.
33. Mandal, S. M., Mondal, K. C., Dey, S. & Pati, B. R. (2007). Optimization of cultural and nutritional conditions for indole-3-acetic acid (IAA) production by a *Rhizobium* sp. isolated from root nodules of *Vigna mungo* (L.) Hepper. *Research Journal of Microbiology*, 2, 239-246.
34. Manero, F. J., Probanza, A., Ramos, B., Flores, J. J. & Garcı´a-Lucas, J. A. (2003). Effects of culture filtrates of rhizobacteria isolated from wild lupin on germination, growth, and biological nitrogen fixation of lupin seedlings. *Journal of Plant Nutrition*, 26, 1101-1115.

www.SID.ir

Archive of SID

35. Nelson, D. W. & Sommers, L. E. (1982). Total Carbon, Organic Carbon, and organic matter. In Methods of soil analysis. Part2. Chemical and Microbiological properities: 2nd Ed; Page, A. L. Ed. *American Society of Agronomy: Madison, W.I*, 539-579.
36. Olsen, S. R. & Sommers, L. E. (1982). Phosphorus. Methods of soil analysis: Part 2. Chemical and microbiological properties. *Agronomy Mongr. 9.2nd ed. ASA and SSSA, Madison, WI*., 403-430.
37. Owens, L. D., Lieberman, M. & Kunishi, A. (2006). Inhibition of ethylene production by rhizobitoxine, *Plant Physiology*, 48, 1-4.
38. Parmar, N. & Dadarwal, K. R. (1999). Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid-like compounds by rhizobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 86(1), 36-44.
39. Peix, A., Rivas-Boyero, A. A., Mateos, P. F., Ridriguez-Barrueco, C., Martinez-Molina, E. & Velazquez, E. (2001). Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions, *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 103-110.
40. Podile, A. R. (1995). Seed bacterization with *Bacillus subtilis* AF1 enhances seedling emergence, growth and nodulation of pigeon pea. *Indian Journal of Microbiology*, 35, 199-204.
41. Preeti, V., Reddy, M. S. & Kavitha, S. (2002). Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield. *Plant Biology*, 44, 503-507.
42. Rai, M. K. (2006). Hand book of microbial biofertilizers. *Food products press, an imprint of the aworth press, Inc.* p.p. 137-182.
43. Richards, L. A. (1954). Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. *United States Department of Agriculture Handbook # 60. Washington D.C*.
44. Rosas, S., Soria, R., Correa, N. & Abdala, G. (1998). Jasmonic acid stimulates the expression of nod genes in Rhizobium. *Plant Molecular Biology*, 38, 1161-1168.
45. Schippers, B., Bakker, A. W. & Bakker, P. A. H. M. (1987). Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology*, 25, 339-358.
46. Shaharoona, B., Arshad, M. & Zahir, Z. A. (2006). Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiate*). *Plant and Soil*, 53, 357-392.
47. Silo-Suh, L., Suh, S-J., Sokol, P. A. & Ohman, D. E. (2002). A simple alfalfa seedling infection model for Pseudomonas aeruginosa strains associated with cystic fibrosis shows AlgT (sigma-22) and RhlR contribute to pathogenesis. In: Proceedings of *the National Academy of Sciences*, USA. 99, 15699-15704.
48. Smith, K. P. & Goodman, R. M. (1999). Host variation for interactions with beneficial plantassociated microbes, *Annual Review of Phytopathology*, 37, 473-491.
49. Sperber, J. I. (1985). The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research*, 9, 778-781.
50. Tien, T. M., Gaskins, M. H. & Hubbell, D. H. (1979). Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) *Applied Environmental Microbiology*, 37, 1016-1024.
51. Tilak, K. V., Rangayanki, N. & Manoharachari, C. (2006). Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and hizobiumon nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). *European Journal of Soil Science*, 57, 67-71.
52. Walkley, A. (1974). A critical examination of a rapid method fordetermining organic carbon in soil. *Soil Science*, 65, 251-264.
53. Xie, H., Pasternak, J. J. & Glick, B. R. (1996). Isolation and characterization of mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Current Microbiology*, 32, 67-71.
54. Yanni, Y. G., Rizk, R. Y., Corich, V., Squartini, A., Ninke, K., Philip-Hollingworth, S., Orgambide, G., de Bruijn, F., Stolzfus, J., Buckley, D., Schmidt, T. M., Mateos, P. F., Ladha, J. K. & Dazzo, F. B. (2001). Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. *Plant and Soil*, 194, 99-114.
55. Yazdisamadi, B. & Zali, A. (1975). Effect of *Rhizobium* and nitrogen on soybean. *Presented at world soybean research conference university of Illinois.*
56. Zhang, H., Kim, M. S., Krishnamachari, V., Payton, P., Sun, Y., Grimson, M., Farag, M. A., Ryu, C. M., Allen, R., Melo, I. S. & Pare´, P. W. (2007). Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in Arabidopsis. *Planta*, 226, 839-851.

www.SID.ir