اثر باکتری‌های جنس سودوموناس بر خواص شیمیایی- زیستی خاک، عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم برنج

زهرا امین‌دلدار[۱]، سید محمدرضا احتشامی[۱*]، عباس شهدی‌کومله[۲] و کاظم خاوازی[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۱۶)

چکیده

به‌منظور مطالعه اثر باکتری‌های محرک رشد (PGPB) بر خواص شیمیایی- زیستی خاک، عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم برنج خزر و هاشمی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار در سال زراعی ۱۳۸۸ در مؤسسه تحقیقات برنج کشور به اجرا درآمد. در این تحقیق، عامل رقم در ۲ سطح (هاشمی و خزر) و تلقیح بذر با باکتری در ۸ سطح (*P. fluorescens strain 93*, *P. fluorescens strain 103*, *P.fluorescens strain 136*, *P.fluorescens strain 168*, *P. fluorescens strain 169*, *P. fluorescens strain 177*, *P.fluorescens strain 4*, به همراه یک تیمار شاهد (بدون باکتری)) در نظر گرفته شدند. صفات مورد مطالعه عبارت بودند از: نیتروژن خاک، فسفر خاک، پتاسیم خاک، اسیدیته خاک، هدایت الکتریکی خاک، تعداد ریزجانداران موجود در خاک، تعداد دانه در بوته، تعداد دانه در خوشه، وزن هزاردانه، عملکرد زیستی و عملکرد دانه. در این آزمایش، اثر رقم و اثر باکتری بر اکثر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. نتایج آزمایش، نشان‌دهنده تأثیر باکتری‌ها بر ارقام بود. در اکثر ویژگی‌های مورد مطالعه، رقم خزر نسبت به رقم هاشمی واکنش بهتری نشان داد. به‌طورکلی نتایج این آزمایش مشخص نمود که تلقیح بذر با باکتری‌ها باعث بهبود جذب عناصر غذایی، عملکرد و اجزای عملکرد برنج شد. در بین سطوح مختلف باکتری نیز، تیمار تلقیح بذر با سویه‌های ۱۶۸، ۱۷۷ و ۹۳ نسبت به بقیه سویه‌ها اثر فاحش‌تری بر صفات مورد ارزیابی داشت.

واژه‌های کلیدی: باکتری سودوموناس، برنج، عملکرد، اجزای عملکرد، عناصر معدنی

۱. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲. مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت

۳. مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:smrehteshami@yahoo.com

مقدمه

کیفیت خاک نه تنها به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن وابسته است، بلکه ارتباط بسیاری نزدیکی با خصوصیات زیستی آن نیز دارد (۵). جوامع میکروبی نقش مهمی در تولید اکوسیستم‌های کشاورزی دارند. تعداد قابل‌توجهی از گونه‌های باکتریایی و قارچی خاک دارای روابط کارکردی با گیاهان بوده و اثرات مفیدی بر رشد آنها دارند. امروزه عقیده بر آن است که روابط متقابل بین ریشه گیاه و ریزموجودات خاک توسط مداخلات انسان از طریق فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی، تحت تأثیر قرار گرفته است. از آنجا که در یک سیستم خاک- گیاه، محیط ریشه، حکم مرکز ثقل انرژی در خاک است، لذا هر تغییری در مدیریت حاصل‌خیزی خاک اعم از توازن یا عدم توازن کوددهی و یا استفاده از مواد آلی و غیره، پس‌خور زیادی در رابطه خاک- گیاه داشته و متعاقباً تولید محصولات کشاورزی و پایداری بوم‌نظام را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۱۶).

شرط اصلی برای افزایش کارایی ریزجاندار در زمان تلقیح، نفوذ آن به درون سیستم ریشه‌ای گیاه است. سنجش این نفوذ مؤثر، برحسب تعداد و یا بیوماس ریزجاندار تلقیح شده در واحد طول یا وزن ریشه است. در حال حاضر به‌منظور حفظ و افزایش حاصل‌خیزی خاک در کشاورزی پایدار، کودهای زیستی به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای جایگزین شدن با کودهای شیمیایی مطرح شده‌اند (۲۳). کودهای زیستی در حقیقت ماده‌ای شامل انواع مختلف ریزموجودات آزادزی بوده (۲۲) که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیرقابل دسترس به فرم قابل دسترس، طی فرآیندهای زیستی دارند (۳). برخی از ریزموجودات خاک، اثرات مثبتی در تحریک رشد گیاه دارند که به آنها رایزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) اطلاق می‌شود. گروهی از این گونه‌های باکتریایی که دارای قابلیت همیاری با گیاه هستند، متعلق به جنس‌های سودوموناس فلورسنس، ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باسیلوس می‌باشند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات گروهی از ریزموجودات را در بر می‌گیرند که قادرند فسفر نامحلول در خاک را به فرم محلول قابل‌دسترس گیاه تبدیل کنند. از مهم‌ترین جنس‌های این خانواده می‌توان به *Pseudomonas* و *Bacillus* اشاره کرد. گونه‌های مختلف جنس *Pseudomonas* در کنترل قارچ‌های بیماری‌زا مؤثر بوده و *P.fluorescens* از طریق ساز و کارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌گردد (۱). گزارش‌های متعددی از آثار مثبت این باکتری‌ها بر عملکرد کتان، ذرت، گندم، جو، تنباکو و خردل وجود دارد که نشان می‌دهد این باکتری‌ها موجب افزایش تثبیت نیتروژن، افزایش جذب عناصری چون فسفر، پتاسیم و آهن، بهبود وضعیت آب گیاه و تولید فیتوهورمون‌ها در این گیاهان شده‌اند (۷ و ۱۵). این افزایش از طریق مکانیسم‌های مختلفی چون تأمین نیتروژن برای گیاه از طریق تثبیت N_2، تولید مواد محرک رشد یا همان فیتوهورمون‌ها شامل اکسین، سیتوکینین و جیبرلین و ایجاد کنترل بیولوژیکی در مقابل پاتوژن‌های خاک‌زی می‌باشد (۱۳). آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد که یک نوع کود زیستی محسوب می‌شود، بر عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم برنج و هم‌چنین اثر آن بر مقدار عناصر مغذی در خاک انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۹-۱۳۸۸ در مؤسسه تحقیقات برنج با طول جغرافیایی ۴۱ درجه و ۳۶ دقیقهٔ شرقی، عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقهٔ شمالی و ارتفاع ۷ متر پایین‌تر از سطح دریاهای آزاد و در ۱۰ کیلومتری رشت با آب و هوای مدیترانه‌ای، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. در این تحقیق، عامل رقم در دو سطح (هاشمی و خزر) و تلقیح در ۸ سطح (*P. fluorescens strain 93, P.fluorescens strain 103, P.fluorescens strain 136, P. fluorescens strain 168, P.fluorescens strain 169, P. fluorescens strain 4, P. fluorescens strain 177* به همراه یک تیمار شاهد (بدون باکتری)) در نظر گرفته شدند.

جدول ۱. برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

اسیدیته گل اشباع (pH)	نیتروژن (درصد)	پتاسیم (پی پی ام)	مواد آلی (درصد)	فسفر (پی پی ام)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	بافت خاک
۷/۵۷	۰/۱۷	۱۹۱	۱/۸۷	۱۴	۱/۳۳	سیلتی- رسی

جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح، $۹/۸ \times ۱۰^{۷}$ برآورد شد (براساس روش شمارش کلنی و با استفاده از محیط‌های کشت مناسب). برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت Sperber استفاده شد. پس از کشت انفرادی باکتری‌ها، پس از ۴۸ ساعت جمعیت آنها به روش Plate Count و روی محیط‌های اختصاصی شمارش گردید و سپس حجم مساوی از آنها تهیه شده و مجدداً جمعیت در محیط کشت، شمارش شده و مایه تلقیح آماده شد. بذور برنج در سوسپانسیونی که حاوی ۱۷/۵ گرم باکتری و یک لیتر آب بود (براساس تجارب تحقیقاتی محققین آزمایشگاه بیولوژی خاک)، به‌مدت ۲۴ ساعت خیسانده شدند. سپس برای جوانه دار کردن، بذرها از سوسپانسیون خارج و روی کیسه‌های کنفی قرار داده شدند. هنگامی‌که طول جوانه‌ها به اندازه کافی رسید، به داخل خزانه منتقل شدند. آماده‌سازی خزانه به روش ایستگاهی (جوی و پشته‌ای) صورت گرفت و تا مرحله ۳ تا ۴ برگی در خزانه نگهداری شدند. برای انجام دومین مرحله تلقیح، محلولی مشابه سوسپانسیون مرحلهٔ اول تهیه شد (براساس تجارب تحقیقاتی محققین آزمایشگاه بیولوژی خاک). در این مرحله، نشاهای تهیه شده از خزانه خارج شده و به‌مدت ۲۴ ساعت، ریشه‌های آن در داخل سوسپانسیون قرار داده شد تا تلقیح صورت گیرد (براساس تجارب تحقیقاتی محققین آزمایشگاه بیولوژی خاک). در این آزمایش برای کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم به‌ترتیب از منبع اوره (۴۶ درصد نیتروژن)، سوپرفسفات تریپل (۱۹/۸ درصد فسفر) و سولفات پتاسیم (۵۰ درصد پتاسیم) استفاده شد (براساس نتایج جدول۱).

گیاهچه‌های تیمار شده با باکتری‌های سودوموناس فلورسنس به فاصله ۲۰×۲۰ سانتی‌متر به تعداد ۳ گیاهچه در هر کپه، نشاکاری شدند. برداشت محصول با مشاهده علایم رسیدگی فیزیولوژیک با رعایت اثر حاشیه‌ای در هر کرت انجام گرفت. پس از برداشت محصول، از خاک هر کدام از تیمارها و از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک، نمونه‌گیری مرکب به‌عمل آمد. سپس نمونه‌ها به‌طور کامل در هوا خشک شدند و پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری، آماده مراحل بعدی گردیدند. سپس عناصر معدنی خاک مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای تعیین نیتروژن در مرحله هضم، از مخلوط سولفات‌ها (کاتالیزور) استفاده شد و ۳ میلی‌لیتر ترکیب اسید سولفوریک و اسید سالیسیک اضافه گردید و با تکان دادن لوله، کاملاً مخلوط شد. مخلوط فوق را روی اجاق گذاشته تا به دمای ۴۲۰-۴۰۰ درجه سلسیوس برسد. ابتدا به‌مدت ۱ ساعت، حرارت در ۱۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و بعد، حرارت افزایش یافت. این مرحله حدود ۹۰ دقیقه طول کشید. در پایان این مرحله، نمونه به‌صورت گرد سفیدی ظاهر گردید که همان سولفات آمونیوم بود. در مرحله تقطیر از دستگاه کجلدال استفاده شد (۱۵). فسفر خاک توسط بی کربنات سدیم ۰/۵ مولار در اسیدیته ۸/۵ عصاره‌گیری و با استفاده از روش اسید اسکوربیک و دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج ۸۸۲ نانومتر) اندازه‌گیری شد (۱۹). برای تعیین مقدار پتاسیم محلول در خاک از عصاره اشباع آن استفاده شد و برای اندازه‌گیری پتاسیم محلول و قابل تبادل در خاک، عصاره خاک و استات آمونیوم نرمال مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه استات آمونیوم نرمال با pH=7، ۷۷/۰۸ گرم استات آمونیوم خالص، حل شده و به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. کاهش pH با افزایش آمونیاک و افزایشpH با افزودن چند قطره اسید استیک اصلاح گردید. پتاسیم در هر دو حالت با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر تعیین شد (۱۵).

هم‌چنین هدایت الکتریکی و اسیدیته خاک در طی انجام

جدول ۲. تجزیه واریانس صفت‌های مورد مطالعه در خاک

منبع تغییرات	درجه آزادی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	اسیدیته	هدایت الکتریکی
تکرار	۲	۰/۰۰۰۲ ns	۹/۹۴ns	۳/۵۰ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۲۷ ns
تیمار	۷	۰/۰۰۱**	۱۰۱/۴۳**	۱۲۷۷/۱۴**	۰/۰۰۲۱*	۰/۰۳۰**
خطا	۱۴	۰/۰۰۰۱	۱۲/۷۱	۷/۰۷	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۲

**: اختلاف بسیار معنی‌دار *: اختلاف معنی‌دار ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

مراحل کار محاسبه شدند. بعد از اتمام آزمایش، ۱ کیلوگرم خاک به‌صورت نمونه‌برداری مرکب از محل، برداشت شد. ۲۰ گرم از خاک نمونه موجود به‌طور تصادفی انتخاب و توزین گردید و هر ۱۰ گرم آن در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. پس از ریختن مواد لازم برای هر محیط کشت در آب مقطر و رساندن آن به حجم ۱ لیتر، pH آن به حدود ۷/۲ رسانده شد. محلول مربوطه پس از تهیه، جهت استریل کردن به‌مدت ۱۸ تا ۲۰ دقیقه در داخل اتوکلاو قرار گرفت. پس از خروج ظرف از اتوکلاو و خنک شدن آن، محلول مربوطه به دو قسمت مساوی تقسیم گردید. در محیط کشت Sperber در یکی از ظروف برای این‌که قارچ رشد کند و از رشد باکتری جلوگیری شود، از استرپتومایسین (Streptomycine) یا رزبنگال (Rozbangal) و در ظرف دیگر برای این‌که باکتری رشد کند و از رشد قارچ جلوگیری شود، از سیکلوهگزامايد (Cyclo Hexomide) استفاده گردید. برای محیط کشت Nutriant نیز برای این‌که باکتری رشد کند و از رشد قارچ جلوگیری شود، از سیکلوهگزامايد استفاده شد. بقیه محیط کشت‌ها چون اختصاصی هستند، نیازی به اضافه کردن این مواد ندارند. محیط کشت تهیه شده به داخل ۳۰ پلیت ریخته شد پس از این که هر ۱۰ گرم خاک زمین مورد آزمایش در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد، بر روی Shaker (۱۲۰ دور به‌مدت نیم ساعت) قرار گرفت و سپس ۷ رقت 10^{-1}، 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4}، 10^{-5}، 10^{-6} و 10^{-7} از آن تهیه شد. رقت ۰/۱ از ریختن ۱ میلی‌لیتر از مخلوط خاک مزرعه و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه گردید. رقت ۰/۰۱ از ریختن ۱ میلی‌لیتر محلول با رقت ۰/۱ و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر، رقت ۰/۰۰۱ از ریختن ۱ میلی‌لیتر محلول با رقت ۰/۰۱ و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر، رقت 10^{-7} تهیه شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت بر روی پلیت حاوی محیط کشت پخش گردید. سپس پلیت‌ها در داخل انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از ۳ الی ۴ روز، جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها تعیین شد. برای تعیین اجزای عملکرد (تعداد دانه در بوته، تعداد دانه در خوشه، وزن هزاردانه) با رعایت اثر حاشیه‌ای از هر کرت، ۱۰ بوته برداشت شده و صفات مربوطه شمارش شد. برای محاسبه عملکرد دانه، دو هفته پس از رسیدگی فیزیولوژیک دانه، بوته‌های موجود در ۳ مترمربع از هر کرت، کف بر شده و پس از کاهش رطوبت دانه‌ها خرمن‌کوبی شدند و سرانجام عملکرد زیستی و عملکرد دانه مورد محاسبه قرار گرفت. در این تحقیق برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده شد.

نتایج و بحث

با نمونه‌گیری مرکب از خاک تیمارهای مورد آزمایش و اندازه‌گیری عناصر موجود در خاک مشخص شد که ریزموجودات مورد استفاده، توانسته‌اند بر مقدار عناصر داخل خاک تأثیرگذار باشند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار نیتروژن به‌ترتیب در خاک تیمار شاهد و تیمار حاوی سویه ۱۷۷ دیده شد (جدول ۳)، در حالی‌که تجزیه بافت گیاهی بیشترین مقدار نیتروژن را تقریباً در سویه ۱۷۷ از باکتری نشان داد. می‌توان این نتیجه را حاصل توانایی این سویه از باکتری در ایجاد تغییرات مثبت بر

جدول ۳. مقایسه میانگین صفت‌های مورد ارزیابی در خاک

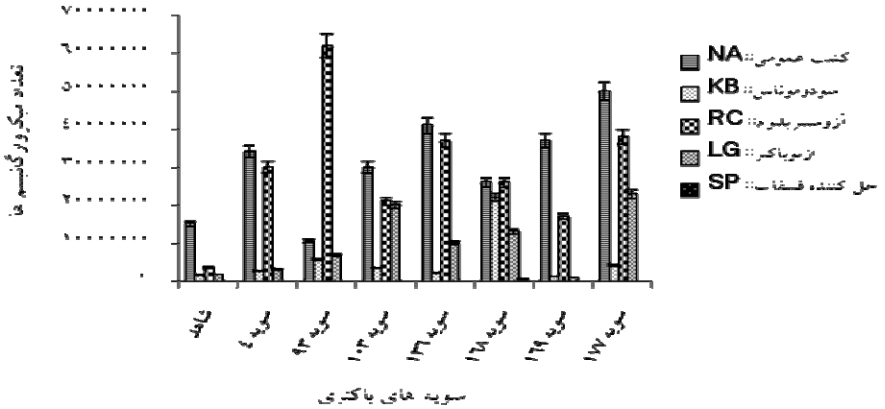
سطوح باکتری	فسفر (mg/kg)	نیتروژن ٪	پتاسیم (mg/kg)	اسیدیته خاک	هدایت الکتریکی (dS/m)
شاهد(بدون تلقیح)	۲۶/۱۴^{a}	۰/۲۶^{a}	۲۰۰/۷^{b}	۷/۴۴^{a}	۱/۳۲^{e}
سویه ۴	۱۱/۰۳^{de}	۰/۲۴^{b}	۱۷۸/۷^{c}	۴/۴۱^{c}	۱/۴۹^{b}
سویه ۹۳	۱۵/۹۴^{b}	۰/۲۳^{c}	۲۰۰/۳^{b}	۴/۴۲^{b}	۱/۳۵^{d}
سویه ۱۰۳	۱۳/۴۵^{c}	۰/۲۴^{b}	۲۰۰/۳^{b}	۷/۴۰^{c}	۱/۳۸^{c}
سویه ۱۳۶	۱۱/۴۷^{cd}	۰/۲۳^{c}	۲۲۲/۰^{a}	۷/۴۵^{a}	۱/۳۵^{d}
سویه ۱۶۸	۱۰/۳۷^{de}	۰/۲۲^{c}	۱۷۷/۳^{cd}	۷/۳۸^{d}	۱/۵۴^{a}
سویه ۱۶۹	۹/۱۰^{ef}	۰/۲۲^{d}	۱۷۷/۰^{d}	۷/۳۸^{d}	۱/۵۵^{a}
سویه ۱۷۷	۷/۸۰^{f}	۰/۱۹^{e}	۱۵۵/۷^{e}	۷/۳۹^{cd}	۱/۵۴^{a}

میانگین‌ها به روش آزمون LSD و در سطح ۵ درصد مقایسه شده‌اند. اعداد داخل هر ستون که حداقل درای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

خصوصیات مرفولوژیکی ریشه گیاه برنج که عامل مؤثر در افزایش جذب مواد غذایی است، نسبت داد. این نتیجه نشان می‌دهد که استفاده از این سویه در این تیمار سبب جذب بهتر نیتروژن در گیاه شده و نیتروژن بیشتری را گیاه از خاک جذب کرده، در نتیجه نیتروزن کل خاک کم شده است. در تحقیقی ذکر شده است که کاربرد این باکتری‌ها به‌طور معنی‌داری بر نیتروژن کل خاک مؤثر بوده است (۲۰). می‌توان افزایش نیتروژن را به‌دلیل افزایش تثبیت نیتروژن با کاربرد باکتری محرک رشد دانست. هم‌چنین بیان شده است که باکتری‌های حل‌کننده فسفات باعث افزایش نسبت نیتروژن به کربن می‌شوند (۲).

تجزیه واریانس داده‌ها اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱ درصد بین تیمارهای مختلف در مورد میزان فسفر موجود در خاک نیز نشان داد به‌طوری‌که بیشترین فسفر قابل جذب، مربوط به تیمار شاهد و کمترین مقدار مربوط به تیمار سویه ۱۷۷ می‌باشد (جدول ۳). بنابراین چون در تیمار شاهد، ریزجانداران کمتر از سایر تیمارها بوده‌اند، این نتیجه، قابل‌توجیه می‌باشد. قابلیت دسترسی پایین فسفر در نمونه‌های خاک می‌تواند به‌واسطه جذب فسفر به‌وسیله گیاه یا تثبیت شیمیایی فسفر باشد. این بخش از نتایج با یافته‌های برخی محققان در این زمینه مطابقت می‌کند (۲۱)، اما بر خلاف این آزمایش، بیان شد که میزان فسفر قابل دسترس در خاک بعد از برداشت محصول، در تیمارهای تلقیح شده با ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات بیشتر از تیمارهای کود شیمیایی و کنترل بود (۲۴).

مقایسه نتایج، نشان‌دهنده اثر باکتری‌ها بر پتاسیم خاک بود (جدول ۳). تیمار حاوی سویه ۱۳۶ که بیشترین میزان پتاسیم را داشت، در تجزیه بافت گیاهی خود کمترین مقدار پتاسیم را دارا بود. این امر نشان می‌دهد که این سویه نتوانسته است در جذب پتاسیم به گیاه کمک کند بنابراین پتاسیم بیشتری در خاک باقی مانده است. هم‌چنین کمترین مقدار پتاسیم خاک مربوط به تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۷۷ بود که این سویه از باکتری به همراه باکتری‌های سویه ۱۶۸ و ۱۶۹ در میزان پتاسیم در بافت گیاهی در یک سطح قرار گرفتند و بیشترین مقدار پتاسیم را از آن خود کردند. سویه ۱۷۷، ۱۶۹ و ۱۶۸ در عملکرد و اجزای عملکرد تأثیر مثبتی گذاشتند. شاید بتوان این‌گونه بیان کرد که این سویه‌ها با جذب بهتر عناصر و امکان دسترسی بیشتر مواد مغذی توانستند رشد بهتر گیاه را سبب شوند و عملکرد بالاتری را به خود اختصاص دهند. افزایش جذب عناصر به‌وسیله



شکل ۱. تأثیر سویه‌های مختلف باکتری محرک رشد بر تعداد ریزجانداران خاک

گیاهان همزیست با باکتری محرک رشد را می‌توان به تولید مواد تنظیم کننده رشد نسبت داد که به‌وسیله باکتری‌ها در سطح ریشه تحریک می‌شوند و رشد ریشه را گسترش و جذب آب و عناصر را افزایش می‌دهند (۱۱). هم‌چنین گزارش شده است که استفاده از دو گونه باکتری سودوموناس فلورسنس سبب افزایش عناصری چون نیتروژن، فسفر و پتاسیم در برگ گیاه موز نسبت به تیمار بدون تلقیح با باکتری شده است (۱۳).

بین تیمارهای مختلف باکتری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری در pH خاک وجود داشت (جدول ۲)، بیشترین اسیدیته در تیمار شاهد و تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۳۶ با میزان ۷/۴ بوده و کمترین اسیدیته را تیمارهای تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۸ و ۱۶۹ با میانگین ۷/۳ نشان دادند (جدول ۳). تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۹ با میانگین ۱/۵۵ بیشترین هدایت الکتریکی خاک را داشت و تیمارهای تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۸ و ۱۶۹ نیز با این تیمار در یک سطح قرار گرفتند و کمترین هدایت الکتریکی در تیمار شاهد با میانگین ۱/۳۲ دیده شد.

بین حلالیت فسفات‌های نامحلول و pH رابطه معکوسی وجود دارد. با کاهش pH محیط که با تولید اسیدهای ارگانیکی توسط باکتری‌های موجود در خاک و در سطح ریشه مشاهده می‌شود، حلالیت فسفر نیز افزایش پیدا می‌کند (۱۲). در تحقیقی مشخص شد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد باعث کاهش pH خاک از ۶/۷ به ۶ می‌شود که می‌توان این کاهش را به کلونیزه شدن باکتری‌ها در خاک و تولید اسیدهای ارگانیکی نسبت داد. هم‌چنین می‌توان به تولید متابولیت‌های ثانویه اشاره کرد که می‌تواند باعث بهبود یافتن خاک شود و جذب عناصری همچون نیتروژن، فسفر و ... را برای گیاه فراهم کند (۱۴). با توجه به کاهش اسیدیته و افزایش هدایت الکتریکی در تیمارهای مربوط به سویه ۱۶۸ و ۱۶۹، عملکرد بیشتر دور از انتظار نبود. در تحقیقی گزارش شده است که با کاربرد باکتری‌های محرک رشد مثل سودوموناس و باسیلوس، میزان عناصری چون آهن، روی، منگنز، منیزیم و پتاسیم ازدیاد پیدا می‌کند که یکی از دلایل این افزایش را زیاد شدن CEC در تیمارهای تلقیح شده با باکتری نسبت به تیمارهای شاهد بیان کرده‌اند (۸). جمعیت باکتری‌های ریزوسفری در گیاهان مختلف، متفاوت می‌باشد. بیان شده است که جمعیت باکتری‌های ریزوسفری در دو گیاه گندم و ذرت با یکدیگر فرق داشته است (۱۷).

در این آزمایش تعداد ریزجانداران موجود در خاک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتیجه آزمایش مشاهده شد که بیشترین باکتری سودوموناس در تیمار مربوط به سویه ۱۶۸ بوده است (شکل ۱). همان‌طور که در بررسی صفت‌های کمی و کیفی ملاحظه شد، بیشترین واکنش در صفت‌های مختلف در این تیمار، که حاوی بیشترین سودوموناس بود، مشاهده گردید. گزارش شده است که *P.fluorescens* تعداد دانه را در بادام‌زمینی افزایش داده است (۴). با توجه به این‌که سویه‌های

جدول ۴. تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم برنج در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد دانه در خوشه	وزن هزار دانه	عملکرد بیولوژیک	عملکرد اقتصادی
تکرار	۳	۹۳/۰۸ ns	۱/۴۸ ns	۴/۱۴*	۱۲۷۵۸۱۰/۱۱ *
رقم	۱	۱۱۶۲۰۴/۲۹**	۲/۲۴ ns	۱۶/۳۹**	۲۵۳۹۱۱۸/۷۵**
باکتری	۷	۳۴۰/۸۹**	۳/۳۳**	۱۲/۶۹**	۱۰۰۹۲۴۵/۸۹**
رقم×باکتری	۷	۴۰۹/۸۰**	۲/۲۹ *	۱/۴۹ ns	۲۹۴۲۵۲/۰۴ ns
خطا	۴۵	۵۸/۸۱	۱/۰۳	۱/۱۲	۳۱۷۸۴۳/۱۷
ضریب تغییرات	-	۷/۵۵	۳/۶۶	۱۱/۰۹	۱۳/۵۳

**: اختلاف بسیار معنی‌دار *: اختلاف معنی‌دار ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول ۵. جدول مقایسه میانگین عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم برنج در سطوح مختلف باکتری

سطوح باکتری	تعداد دانه در خوشه	وزن هزاردانه (gr)	عملکرد زیستی (ton/ha)	عملکرد اقتصادی (kg/ha)
شاهد(بدون تلقیح)	۱۰۹/۰۱^{c}	۲۸/۸۶^{a}	۶/۷۴^{d}	۳۵۴۶/۷^{c}
سویه ۴	۱۱۷/۷۵^{bc}	۲۷/۶۲^{bc}	۹/۸۳^{bc}	۴۲۲۹/۲^{ab}
سویه ۹۳	۱۱۷/۷۰^{bc}	۲۷/۸۷^{abc}	۹/۷۷^{bc}	۴۲۰۰/۸^{ab}
سویه ۱۰۳	۱۱۷/۰۷^{bc}	۲۷/۸۳^{bc}	۹/۵۷^{bc}	۴۰۳۵/۰^{bc}
سویه ۱۳۶	۱۱۴/۸۰^{c}	۲۸/۱۶^{ab}	۹/۰۴^{c}	۳۸۸۹/۶^{bc}
سویه ۱۶۸	۱۲۶/۹۲^{a}	۲۶/۹۵^{c}	۱۱/۰۳^{a}	۴۷۴۳/۹^{a}
سویه ۱۶۹	۱۲۶/۹۱^{a}	۲۷/۰۵^{c}	۱۰/۱۲^{ab}	۴۳۵۳/۸^{ab}
سویه ۱۷۷	۱۲۶/۱۴^{ab}	۲۷/۱۵^{bc}	۱۰/۱۰^{abc}	۴۳۴۳/۷^{ab}

میانگین‌ها به روش آزمون LSD و در سطح ۵ درصد مقایسه شده‌اند. اعداد داخل هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشتر هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

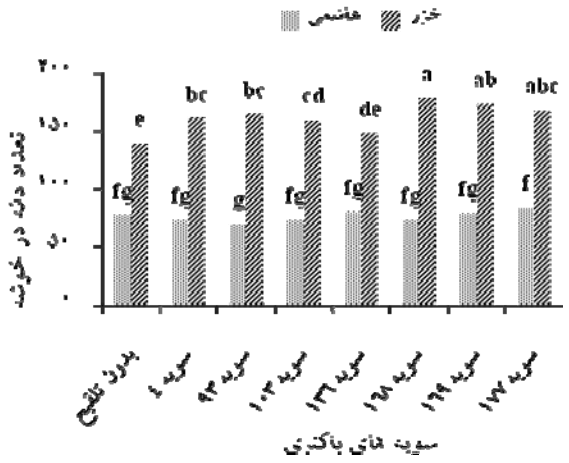
۱۶۸ و ۱۶۹ بیشترین جذب عناصر غذایی را با توجه به باقی‌مانده این عناصر در خاک داشتند، بیشترین تعداد دانه در خوشه را سبب شدند. هم‌چنین می‌توان استنباط کرد که ریزجانداران از طریق تغذیه مناسب و افزایش بیوماس گیاه، موجب تسریع در گلدهی و افزایش گلدهی که منجر به افزایش تعداد دانه خواهد شد، را فراهم آورده‌اند.

در صفات مربوط به عملکرد و اجزای عملکرد، نتایج حاصل، بیانگر آن است که بین رقم‌ها و بین سطوح باکتری‌ها و هم‌چنین برهمکنش باکتری در رقم در تعداد دانه در خوشه اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴)، چنان‌که مقایسه میانگین بین سطوح باکتری‌ها بیانگر آن بود که تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۸ و ۱۷۷ با میانگین ۱۲۶ بیشترین تعداد دانه و تیمار شاهد با میانگین ۱۰۹/۰۱ کمترین تعداد دانه در خوشه را به خود اختصاص دادند (جدول ۵). هم‌چنین رقم خزر با ۱۶۲/۱۵ نسبت به رقم هاشمی با میانگین ۷۶/۹۳، تعداد دانه در خوشه بیشتری را شامل شد (جدول ۶). برتری رقم خزر نسبت به رقم هاشمی می‌توان به متفاوت بودن دو رقم نسبت داد، زیرا تفاوت در رقم گیاه موجب تغییر در کمیت و کیفیت

جدول ۶. جدول مقایسه میانگین عملکرد واجزای عملکرد بین دو رقم برنج در سطوح مختلف باکتری

ارقام	تعداد دانه در خوشه	وزن هزار دانه (gr)	عملکرد زیستی (ton/ha)	عملکرد اقتصادی (kg/ha)
خزر	۱۶۲/۱۵[a]	۲۷/۵۰[a]	۱۰/۰۳[a]	۴۳۷۹/۵۱[a]
هاشمی	۷۶/۹۳[b]	۲۷/۸۸[a]	۹/۰۲[b]	۳۹۱۵/۵۴[b]

میانگین‌ها به روش آزمون LSD و در سطح ۵ درصد مقایسه شده‌اند. اعداد داخل هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

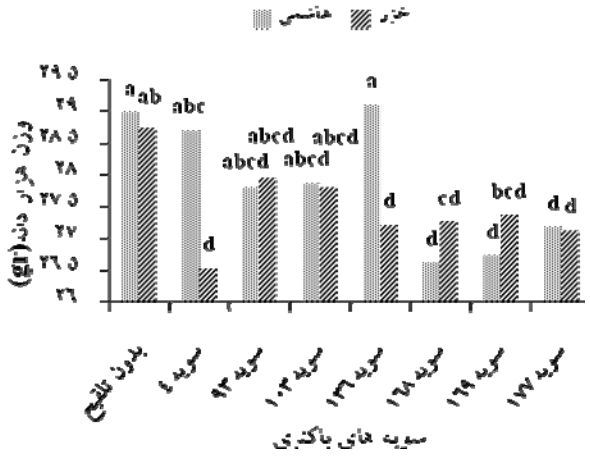


شکل ۲. برهمکنش باکتری در رقم بر تعداد دانه در خوشه

تراوش‌های ریشه‌ای می‌گردد و هر عامل مؤثر در کمیت و کیفیت تراوش‌های ریشه‌ای ممکن است موجب تغییر در نوع و مقدار سیدروفور تولید شده توسط سویه‌های سودوموناس و در نهایت تغییر ترکیب جمعیت میکروبی خاک گردد که این عامل سبب جذب بهتر مواد غذایی شده و در کل منجر به تولید بیشتر در گیاه می‌گردد.

اثر باکتری در رقم نیز بر تعداد دانه در خوشه اختلاف معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری‌که تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۸ در رقم خزر با ۱۷۹/۵ دانه، بیشترین تعداد دانه در خوشه را از آن خود کرد و کمترین تعداد دانه در خوشه در تلقیح بذر با باکتری ۹۳ بر رقم هاشمی به‌دست آمد (شکل ۲).

همان‌طورکه قبلاً بیان شد تفاوت تعداد ریزجانداران در رقم‌های مختلف یک گونه وجود داشت. بنابراین می‌توان نتیجه به‌دست آمده را به سازگاری بهتر و در نتیجه تعداد بیشتر ریزجاندار در تیمار حاوی سویه ۱۶۸ در رقم خزر نسبت داد که با بهبود بخشیدن به جذب عناصر غذایی و رشد بیشتر گیاه توسط این سویه از باکتری سبب شد تا تعداد دانه بیشتری تولید گردد. در وزن هزار دانه، اختلاف بین باکتری‌ها معنی‌دار بود (جدول ۴)، به‌طوری‌که مقایسه میانگین بین سطوح باکتری‌ها حاکی از آن بود که تیمار شاهد با میانگین ۲۸/۸۶ گرم بیشترین وزن هزاردانه را داشت و کمترین وزن هزاردانه مربوط به تیمار تلقیح بذر با باکتری‌های سویه ۱۶۸ با میانگین ۲۶/۹ گرم و هم‌چنین سویه ۱۷۷ با مقدار ۲۷/۰۵ گرم بود. هم‌چنین برهمکنش باکتری در رقم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (شکل ۳)، به‌طوری‌که تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۳۶ و تیمار شاهد با میانگین ۲۹ گرم در رقم هاشمی بیشترین وزن هزاردانه را به خود اختصاص دادند و کمترین وزن هزار دانه در رقم خزر و باکتری سویه ۴ و رقم هاشمی به همراه باکتری



شکل۳. برهمکنش باکتری در رقم بر وزن هزاردانه

سویه ۱۶۸ و ۱۶۹ دیده شد. کمتر شدن وزن هزاردانه با توجه به این‌که تعداد دانه در خوشهٔ تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۸ بیشترین بوده است، قابل‌انتظار می‌باشد، چون هر چه تعداد دانه در خوشه زیادتر باشد، وزن تک تک دانه‌ها کاهش پیدا می‌کند. در صورتی‌که تیمار شاهد چون دارای تعداد دانه در خوشه کمتری بود، بنابراین از نظر فیزیولوژیکی گیاه، داری مقصد کمتری بوده، به این دلیل وزن تک‌تک دانه‌ها افزایش می‌یابد. بر خلاف این آزمایش، گزارش شده است که با مصرف ریزجانداران حل‌کننده فسفات، وزن دانه در گندم افزایش یافته است (۲۵). هم‌چنین بیان شده است که با کاربرد سودوموناس فلورسنس، وزن هزاردانه جو تحت‌الشعاع قرار گرفته و از این طریق بر عملکرد و اجزای عملکرد اثر مثبت گذاشت (۶). برخی از محققین نیز افزایش وزن هزار دانه ذرت را در نتیجه آزاد شدن فسفر و جذب آن به‌وسیله ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفر دانسته‌اند.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین ارقام و هم‌چنین بین سطوح باکتری‌ها در سطح احتمال ۱ درصد در عملکرد زیستی اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). مقایسه بین ارقام حاکی از آن بود که رقم خزر با ۱۰/۰۳ تن عملکرد زیستی بیشتری را نسبت به رقم هاشمی با ۹/۰۲ تن به خود اختصاص داد (جدول ۶). مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نیز نشان داد که تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۸ با ۱۱/۰۳ تن در هکتار بیشترین عملکرد را دارا بوده و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۶/۷۴ تن در هکتار گزارش شد. اثر رقم در باکتری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به تأثیر مثبت سویه ۱۶۸ در رشد و جذب بهتر گیاه و اثر همزیستی آن با گیاه می‌توان استنباط کرد که بهبود میزان فتوسنتز و رشد، موجب افزایش بیوماس و در نهایت عملکرد زیستی می‌گردد. هم‌چنین می‌توان اظهار داشت که این سویه با افزایش جذب بیشتر فسفر، نیتروژن، سبب رشد گیاه و افزایش دوام سطح برگ و افزایش فعالیت فتوسنتزی و در نهایت منجر به افزایش عملکرد گیاه برنج می‌شود. مشاهده شده است که همزیستی با ریزجانداران حل‌کننده فسفات، اندازه و تناسب اندام گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر، مهم‌ترین عاملی است که زیست‌توده گیاه را در همزیستی با ریزجانداران حل‌کننده فسفات تحت تأثیر قرار می‌دهد. باکتری‌های محرک رشد با چندین مکانیسم همچون تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفورها، تولید هورمون‌های گیاهی همچون آکسین، سیتوکنین و نیز با کاهش سطوح اتیلن تنظیم رشد گیاهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (۹).

هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین دو رقم و نیز بین سطوح باکتری‌ها در عملکرد دانه وجود داشت (جدول ۴). رقم خزر با ۴۳۷۹/۵ کیلوگرم در هکتار عملکرد بیشتری در مقابل رقم هاشمی با میانگین ۳۹۱۵/۵ کیلوگرم در هکتار را به خود

اختصاص داد (جدول ۶). هم‌چنین در مقایسه میانگین باکتری‌ها مشاهده شد که تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۶۸ با مقدار ۴۷۴۳/۹ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد را سبب شد و کمترین عملکرد با میزان ۳۲۴۶/۶ کیلوگرم در هکتار در تیمار شاهد دیده شد. در نهایت با توجه به این‌که بیشترین عملکرد اقتصادی را سویه ۱۶۸ سبب شده است، در تفسیر نتیجه حاصله می‌توان بیان نمود که این سویه با توجه به این‌که روی اجزای عملکرد مثل تعداد دانه در خوشه تأثیرگذار بوده است، بنابراین انتظار می‌رفت که بیشترین عملکرد دانه مختص به این سویه باشد. همان‌طورکه می‌دانیم برگ منبع غذاسازی برای گیاه می‌باشد و یکی از دلایل کاهش رشد برگ، محدودیت عناصر غذایی است. با توجه به نتیجه حاصل می‌توان بیان کرد که این سویه از باکتری با جذب بیشتر مواد غذایی توسط ریشه سبب رشد بهتر برگ و در نهایت گیاه شده و از این طریق منجر به افزایش عملکرد در گیاه برنج شد. هم‌چنین می‌توان استنباط کرد که با استفاده از ریزجانداران محرک رشد، نه‌تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه افزایش می‌یابد، بلکه ممکن است با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک محیط مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش رشد گیاه و در نهایت، افزایش عملکرد را نیز فراهم کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش رشد و عملکرد گیاه شد. به نظر می‌رسد این افزایش عمدتاً به‌دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آنها بر رشد ریشه بود که جذب آب و موادغذایی را از خاک بهبود بخشید. شرایط تغذیه‌ای خاک و متعاقب آن، تعادل کاتیون و آنیون و توانایی جذب عناصر در ریزوسفر، نقش مهمی در ترکیب و مقدار تراوه‌های ریشه به‌خصوص اسیدهای آلی، رشد ریزجانداران و تأثیر آنها بر گیاه میزبان دارد. حتی عناصر غذایی به‌طور مستقیم نیز موجب افزایش رشد و توسعه سیستم ریشه می شوند. با توجه به تأثیر مثبت باکتری بر توسعه سیستم ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه تلقیح شده با سویه‌های مورد مطالعه، افزایش عملکرد برنج چندان دور از انتظار نبود. تنوع عملکرد سویه‌های سودوموناس به‌صورت تفاوت در جذب عناصر غذایی و تأثیر بر عملکرد دانه نمود یافت. در بین سطوح مختلف باکتری، تیمار تلقیح بذر با سویه‌های ۱۶۸، ۱۷۷ و ۹۳ نسبت به بقیه سویه‌ها اثر بارزتری بر تمامی صفت‌های مورد ارزیابی داشتند. یافته‌های این تحقیق نشان داد که باکتری‌های محرک رشد به‌دلیل تأثیر بر افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر می‌توانند منجر به افزایش وزن خشک و عملکرد برنج گردند.

منابع مورد استفاده

1. Abdul-Jaleel, C., P. Manivannan, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Gopi, R. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2007. *Pseudomonase fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. Colloids and Surfaces B: *Biointerfaces* 60: 7-11.
2. Chang, C. H. and S. S. Yang. 2009. Thermo-tolerant phosphate solubilizing microbes formulti-functional biofertilizer preparation. *Bioresource Technology* 100: 1648–1658.
3. Chen, J. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and biofertilizer for crop growth and soil fertility. International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use. Thailand.11pp.
4. Dey, R., K. K. Pal, D. M. Bhatt and S. M. Chauhan. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiology Research* 159: 371–394.

5. Ebhin Masto, R., P. K. Chhonkar, D. Singh and A. K. Patra. 2006. Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisoil. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 1577-1582.
6. Eftekhari, S., M. Ardekani, F. Rejali, F. Paknejad and T. Hasanabadi. 2010. Effect of phosphate solubilizing bacteria *Pseudomonas fluorescence* on yield and yield components under different levels of P fertilizer. Proc. 11rd Iran. Cong. in Agronomy and Plant Breed., Shahid Beheshti Univ., Tehran, Iran. (In Farsi).
7. Ehteshami, S. M. R., M. AghaAlikhani, K. Khavazi and M. R. Chaichi. 2008. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on quantitative and qualitative of corn under water deficit stress. *Iranian Journal of Crop Science* 40 (1): 15-27. (In Farsi).
8. Esitken, A., H. Yildiz, E. S. Ercisli, M. F. Donmez, M. Turan and A. Gunes. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticuiturae* 124: 62-66.
9. Glick, B. R., C. L. Patten, G. Holguin and D. M. Penrose. 1999. Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. Imperial College Press, London.
10. Hassanzadeh, E., D. Mazaheri, M. R. Chaichi and K. Khavazi. 2008. Efficiency of phosphorus solubilizing bacteria and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of barley cultivar (Karoon Dar Kavir). *Pajouhesh and Sazandegi* 77: 111-118. (In Farsi).
11. Hoflich, G., E. Tappe, G. Khun and W. Wiehe. 1997. Einflux associative Rhizospharen bakterien auf die. ahrstoffaufnahme und den Ertrag von Mais. *Archiv fuer Acker- und Pflanzenbau und Bodenkunde* 1: 323–333.
12. Hwangbo, H., R. D. Park, Y. W. Kim, Y. S. Rim, K. Park, H. Kim, H. J. S. Suh and K. Y. Kim. 2003. 2-Ketogluconic production and phosphate solubilization by Enterobacter intermedium. *Current Microbiology* 47: 87–92.
13. Kavino, M., S. Harish, N. Kumar, D. Saravanakumar and R. Samiyappan. 2010. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil Ecology* 45: 71-77.
14. Lind, K., G. Lafer, K. Schloffer, G. Innerhoffer and H. Meister. 2003. Organic Ruit Growing. CABI Pub., Wallingford, UK.
15. Malakoti, M. J. and M. Homaei. 1993. Soil Fertility in Drylands "Problems and Solutions". Tarbiat Modarres University Press., Tehran, Iran, 494p. (In Farsi).
16. Mandal, A., A. K. Patra, D. Singh, A. Swarup and R. Ebhin Masto. 2007. Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. *Bioresource Technology* 98: 3585-3592.
17. Miller, H. J., G. Henken and J. A. Van Veen. 1989. Variation and composition of bacterial population in the rhizosphere of maize, wheat and grass cultivars. *Canadian Journal of Microbiology* 15: 657-660.
18. Misko, A. and J. J. Germida. 2002. Taxonomic and functional diversity of *Pseudomonas* isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiology Ecology*, 42: 399-407.
19. Olsen, S. R., C. V. Cole, F. S. Watanabe and L. A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture Circular, 939: 1-19.
20. Orhan, E., A. Esitken, S. Ercisli, M. Turan and F. Sahin. 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Scientific Horticulture* 111: 38–43.
21. Shaharoona, B., M. Arshad, Z. A. Zahir and A. Khalid. 2006. Performance of *Pseudomonas spp.* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2971–2975.
22. Vessey, K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586.
23. Wu, S. C., Z. H. Caob, Z. G. Lib, K. C. Cheunga and M. H. Wong. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.
24. Zaidi, A., M. S. Khan and M. Aamil. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *European Journal of Agronomy* 19: 15–21.
25. Zaidi, A. and M. S. Khan. 2005. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on growth, yield, and nutrient uptake of wheat. *Journal of Plant Nutrition* 28: 2079–2092.