

## اثر محلول‌پاشی و تلقیح ریشه با باکتری‌های محرک رشد و متابولیت‌های آنها بر میزان کلروفیل، جذب عناصر معدنی و عملکرد برنج رقم هاشمی

جعفر اصغری، سید محمدرضا احتشامی<sup>1</sup>، زهرا رجبی درویشان و کاظم خاوازی

عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان؛ jafarasghari7@gmail.com

عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان؛ smrehteshami@yahoo.com

دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه گیلان؛ smrehteshami@gmail.com

عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب کرج؛ kkhavazi@yahoo.com

دریافت: 91/11/9 و پذیرش: 92/11/2

### چکیده

به منظور مطالعه اثر محلول‌پاشی باکتری‌های محرک رشد و متابولیت‌های (شامل سیدروفور، اکسین، جیبرلین و برخی اسیدهای آلی) آنها در مقایسه با تلقیح ریشه بر میزان کلروفیل، جذب عناصر معدنی و عملکرد برنج رقم هاشمی، آزمایشی در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در 4 تکرار در سال 1389 به اجرا درآمد. تیمارها در این تحقیق عبارت بودند از: بدون محلول‌پاشی و بدون کود (تیمار شاهد)، بدون محلول‌پاشی و مصرف کود؛ محلول‌پاشی با: *Pseudomonas fluorescens* strain 136 متابولیت *P. fluorescens* strain 136، *P. fluorescens* strain 168 متابولیت *P. fluorescens* strain 168، *P. fluorescens* strain 41 متابولیت *P. fluorescens* strain 41، *P. fluorescens* strain 136، *P. fluorescens* strain 168، *P. fluorescens* strain 41 نتایج آزمایش حاکی از آن بود که تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 در تمامی صفات در مقایسه با شاهد از بقیه تیمارها بالاتر بود. هر چند که محلول‌پاشی با سودوموناس سویه 41 نسبت به تلقیح ریشه با سویه‌های 41 و 136 سودوموناس از میزان کمتری برخوردار بود، اما نسبت به تیمار واجد کود و بدون باکتری، نتیجه بهتری داشت. نتایج اثر محلول‌پاشی متابولیت‌های باکتری‌های مختلف بر صفات مورد مطالعه کمتر از تلقیح ریشه و محلول‌پاشی باکتری بود که می‌تواند نشان‌دهنده اثر تنظیمی باکتری، در رشد و نمو گیاه باشد. در پایان آزمایش مشخص شد که تلقیح ریشه با این باکتری‌ها مناسب‌تر است، اما محلول‌پاشی این باکتری‌ها نیز می‌تواند در افزایش رشد و عملکرد دانه مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: سبزینه، سودوموناس، شاخص برداشت، کاروتنوئید، منیزیم

<sup>1</sup> نویسنده مسئول، آدرس: رشت، مجتمع دانشگاه گیلان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

## مقدمه

گرچه استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی، قدمت زیادی دارد، ولی بهره‌برداری علمی از این گونه منابع، سابقه‌ی چندانی ندارد. هرچند کاربرد این کودها در چند دهه اخیر کاهش یافته، ولی امروزه با توجه به مشکلاتی که مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی به وجود آورده است، استفاده از آنها در کشاورزی مجدداً مطرح شده است (آستارایی و کوچکی، 1375). سعی بر آن است تا از پتانسیل ریزموجودات خاک و مواد آلی به منظور حداکثر تولید، در ضمن توجه به کیفیت خاک و رعایت بهداشت و ایمنی محیط زیست استفاده گردد (معلم و عشقی‌زاده، 1386). باکتری‌های محرک رشد به‌عنوان مکمل و جایگزین کودهای شیمیایی شناخته می‌شوند که می‌توانند سبب افزایش حاصلخیزی خاک و تولید محصول شوند (نظارت و غلامی، 1388؛ دامغانی و همکاران، 1389) که از مهم‌ترین این باکتری‌ها می‌توان به سودوموناس‌ها اشاره نمود. سویه‌های بسیاری از سودوموناس‌ها بخصوص *P. putida* و *P. fluorescens* رشد گیاهان را تحریک می‌کنند و قادر به افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌باشند (اسکیپر و همکاران، 1987). تولید ده‌ها متابولیت ثانویه توسط سودوموناس‌ها، بر اهمیت استفاده از آنها برای اهداف کشاورزی، صنعتی و بهداشتی تأکید می‌نماید (آمی و همکاران، 1992). اثر افزایشی کود-های زیستی بر جذب عناصر، عملکرد دانه و وزن ساقه برنج در مقایسه با استفاده از کود شیمیایی به تنهایی ثابت شده است (ویجاندرا و همکاران، 2009).

در مطالعه‌ای گلدانی مشاهده شد که استفاده از ریزجانداران به‌عنوان کود زیستی، عملکرد دانه را افزایش می‌دهد. در ضمن بیان شد که این موجودات میکروبی توانایی افزایش زیست توده گیاهی را دارند (جواید، 2010). تالشی و اصولی (2011) بیان داشتند که کودهای زیستی به تنهایی تأثیری بر عملکرد دانه دو رقم برنج طارم و شفق نداشتند. آن‌ها بیان نمودند با استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات همراه با کود شیمیایی، می‌توان از آسیب کود شیمیایی به محیط زیست کاست. چن و همکاران (1994) مشاهده کردند که تلقیح بذر گیاهان زراعی مختلف با باکتری‌های محرک رشد و به دنبال آن، دو بار محلول‌پاشی با باکتری‌های مذکور باعث افزایش عملکرد می‌شود. اشرف الزمان و همکاران (2009) بیان نمودند که شواهد بسیاری مبنی بر توانایی باکتری‌های ریزوسفری در تولید و ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد از جمله اکسین و همچنین تأثیر آنها بر مورفولوژی، تغذیه و رشد گیاهان وجود دارد.

اسیتکن و همکاران (2010) نشان دادند که محلول‌پاشی باکتری‌های محرک رشد اثر معنی‌داری بر عملکرد میوه، رشد و میزان فسفر و روی توت‌فرنگی دارد. انصاری و همکاران (1390) نشان دادند که تلقیح بذر سورگوم همراه با محلول‌پاشی باکتری‌های سودوموناس باعث افزایش عملکرد علوفه سورگوم می‌شود. کشاورز و همکاران (1390) با محلول‌پاشی سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس متوجه بهبود خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک سورگوم در مزرعه شدند. برای خودکفایی در تولید برنج، افزایش سطح زیر کشت و معرفی ارقام پر محصول و مقاوم به شرایط اقلیمی و غیره... پیشنهاد شده است. یکی دیگر از موارد پیشنهادی استفاده مناسب و بهینه از کودهای شیمیایی و زیستی می‌باشد. بنابراین استفاده از فرآورده-های زیستی در جهت تغذیه برنج یکی از راه‌های اساسی و مفید در تولید محصولات کشاورزی عاری از هر گونه سم به نظر می‌رسد. در همین راستا هدف از این تحقیق، بررسی محلول‌پاشی و تلقیح ریشه با باکتری‌های محرک رشد و متابولیت‌های آنها بر میزان سبزینه و کلروفیل برگ، جذب عناصر معدنی (کلسیم، منیزیم و آهن)، شاخص برداشت و عملکرد برنج رقم هاشمی بود.

## مواد و روش‌ها

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 4 تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان به طور گلخانه‌ای در سال 1389 انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق شامل استفاده از سویه‌های مختلف سودوموناس و متابولیت‌های آنها به روش‌های مختلف بودند. رقم مورد بررسی، هاشمی بود. تیمارها شامل بدون محلول‌پاشی و بدون کود (شاهد)؛ بدون محلول‌پاشی و مصرف کود شیمیایی؛ تلقیح ریشه با سویه‌های 136، 168 و 41 باکتری سودوموناس فلورسنس *Pseudomonas fluorescens*؛ محلول‌پاشی با سویه‌های مذکور و متابولیت‌های آنها بود. باکتری‌های حل‌کننده فسفات مورد نظر ابتدا در آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج فرموله و تهیه شدند.

جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح،  $10^7 \times 9/8$  CFU/ml برآورد شد (بر اساس روش شمارش کلنی و با استفاده از محیط‌های کشت مناسب) (بکینگ، 2006). برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت Sperber استفاده شد (الف و نانپیری، 1995؛ اسپریر، 1958). برای تهیه متابولیت، پس از تکثیر هر سویه، نیمی از محیط کشت حاوی باکتری تکثیر یافته برای محلول‌پاشی نگهداری شد و نیمی دیگر از محتویات به مدت 15 دقیقه اتوکلاو

فسفات (46 درصد پتتا اکسید فسفر $P_2O_5$ ) و سولفات پتاسیم (50 درصد پتاسیم) استفاده شد [برای هر گلدان به ترتیب 2-1-1 گرم (320-160-160 کیلوگرم در هکتار) استفاده شد]. آبیاری به صورت غرقابی انجام شد. دمای گلخانه، 28 تا 30 درجه سانتی‌گراد و طول دوره روشنائی، 13 تا 14 ساعت بود. در تیمارهایی که بایستی با این باکتریها یا متابولیت‌های آنها محلول‌پاشی می‌شدند، پس از انتقال نشاها به گلدان‌ها، محلول‌پاشی در 3 مرحله (مرحله 4 برگی، مرحله پنجه‌زنی و مرحله قبل از خوشه‌دهی) به میزان 40 لیتر در هکتار (بر اساس تجارب تحقیقاتی محققین آزمایشگاه بیولوژی خاک) انجام شد. البته قبل از هر محلول‌پاشی، کالیبراسیون انجام گردید.

گردید. پس از سرد شدن، محتویات اتوکلاو شده به عنوان متابولیت باکتری مورد نظر استفاده گردید (بر اساس تجارب تحقیقاتی محققین آزمایشگاه بیولوژی خاک). قبل از انتقال نشاها به گلدان‌ها، در رابطه با نشاهایی که باید ریشه آنها با باکتری‌ها تلقیح شدند، نشاها در سوسپانسیونی که حاوی 17/5 میلی‌لیتر باکتری و یک لیتر آب بود (بر اساس تجارب تحقیقاتی محققین آزمایشگاه بیولوژی خاک)، به مدت 24 ساعت خیسانده شدند.

انتقال نشاها (3 نشاء) به صورت کپه‌ای و دستی در هر گلدان انجام گرفت. گلدان‌های 8 کیلوئی ابتدا با خاک مزرعه پر شد. در این آزمایش برای کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر اساس آزمون خاک (جدول 1) به ترتیب از منبع اوره (46 درصد نیتروژن خالص) دی آمونیوم

جدول 1- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

کربن آلی %	نیتروژن %	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	هدایت الکتریکی ds/m	اسیدیته خاک	بافت خاک
1/87	0/174	8	191	1/33	7/58	سیلتی-رسی

اندازه‌گیری سبزینه برگ توسط دستگاه کلروفیل‌متر (مدل Minolta، ساخت ژاپن) انجام گرفت. این دستگاه، میزان سبزینه برگ را به روش غیرتخریبی از محدوده‌ای به اندازه 3×2 میلی‌متر از برگ با دقت 1 واحد اسپاد: SPAD<sup>1</sup> به‌وسیله دو منبع دیودی انتشار نور در طول موج-های 650 و 940 نانومتر با دو تکتور حساس به نور قرمز و حساس به تشعشعات مادون قرمز برآورد می‌نماید. اندازه-گیری میزان سبزینه برگ طی پنج مرحله به فاصله هر سه روز، یک‌بار (10 روز پس از محلول‌پاشی آخر) انجام شد. در مرحله گلدهی، پس از بریدن یک برگ از گیاه مربوط به هر تیمار، برگ مورد نظر در داخل فلاکس یخ قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس برگ‌ها به وسیله نیتروژن مایع پودر شد. پس از ریختن برگ پودر شده به داخل لوله آزمایش، 10 میلی‌لیتر استون 80% به مواد پودر شده اضافه گردید. لوله‌ها به‌وسیله فویل آلومینیومی پوشانده شد تا از تابش نور مصون بماند. مخلوط فوق به مدت 48 ساعت در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از 10 دقیقه سانتریفیوژ، اقدام به جداسازی تفاله گردید. سپس میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به ترتیب در طول موج‌های 645، 664 و 450 نانومتر اندازه‌گیری شد (دری و همکاران، 1998).

اندازه‌گیری سبزینه برگ توسط دستگاه کلروفیل‌متر (مدل Minolta، ساخت ژاپن) انجام گرفت. این دستگاه، میزان سبزینه برگ را به روش غیرتخریبی از محدوده‌ای به اندازه 3×2 میلی‌متر از برگ با دقت 1 واحد اسپاد: SPAD<sup>1</sup> به‌وسیله دو منبع دیودی انتشار نور در طول موج-های 650 و 940 نانومتر با دو تکتور حساس به نور قرمز و حساس به تشعشعات مادون قرمز برآورد می‌نماید. اندازه-گیری میزان سبزینه برگ طی پنج مرحله به فاصله هر سه روز، یک‌بار (10 روز پس از محلول‌پاشی آخر) انجام شد. در مرحله گلدهی، پس از بریدن یک برگ از گیاه مربوط به هر تیمار، برگ مورد نظر در داخل فلاکس یخ قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس برگ‌ها به وسیله نیتروژن مایع پودر شد. پس از ریختن برگ پودر شده به داخل لوله آزمایش، 10 میلی‌لیتر استون 80% به مواد پودر شده اضافه گردید. لوله‌ها به‌وسیله فویل آلومینیومی پوشانده شد تا از تابش نور مصون بماند. مخلوط فوق به مدت 48 ساعت در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از 10 دقیقه سانتریفیوژ، اقدام به جداسازی تفاله گردید. سپس میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به ترتیب در طول موج‌های 645، 664 و 450 نانومتر اندازه‌گیری شد (دری و همکاران، 1998).

12/25a = کلروفیل 646/2A663/2 - 2/79A

### نتایج و بحث

سودوموناس بر میزان سبزینه برگ تأثیر معنی‌داری داشت (جدول 2). بیشترین میزان سبزینه برگ در تمامی مراحل نمونه‌برداری، در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 مشاهده شد و کمترین آن در تیمار شاهد بدون کود بود (جدول 3). در بین تیمارهای محلول‌پاشی با باکتری نیز تیمار محلول‌پاشی با سودوموناس سویه 41 میزان سبزینه برگ بیشتری در مقایسه با سایر سویه‌ها نسبت به تیمار کودی بدون تلقیح نشان داد. در بین

<sup>1</sup> Soil and plant analysis development

(جدول 5). در بین تیمارهای تلقیح ریشه با باکتری، تلقیح ریشه با سودوموناس، میزان کلسیم بیشتری در مقایسه با تیمار شاهد و حتی تیمار کودی بدون تلقیح داشتند. در بین تیمارهای محلول‌پاشی با باکتری نیز تیمار محلول-پاشی با سودوموناس سویه 41 میزان کلسیم بیشتری در مقایسه با سایر سویه‌ها نسبت به تیمار شاهد داشت. استفاده از متابولیت‌ها نسبت به تلقیح ریشه با باکتری و محلول‌پاشی باکتری اثری بر میزان کلسیم نداشت (جدول 5). این نتیجه با نتیجه علی‌خانی و یخچالی (2009) که در تحقیقات خود روی یونجه به جذب بیشتر عناصر در هنگام تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد اشاره داشتند، مطابقت دارد. همچنین وسی (2003) بیان نمود که باکتری‌های محرک رشد گیاه، نقش زیادی در جذب مواد غذایی در گیاه دارند و قادرند عناصر را از فرم غیر قابل دسترس به صورت قابل دسترس در آورند.

افزایش کلسیم می‌تواند ناشی از تأثیر باکتری در توسعه سیستم ریشه و متعاقب آن، جذب بهتر کلسیم باشد. باست و شمس‌الدین (2010) اظهار داشتند که میزان عناصری مثل فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و حتی آهن در گیاهان تلقیح شده با باکتری افزایش داشت. گزارش شده است که سودوموناس سبب افزایش جذب کلسیم در گیاه می‌شود (کارلیداگ و همکاران، 2007). میزان کلسیم در توت‌فرنگی در حضور سودوموناس افزایش معنی‌داری داشته است (اسیتکن و همکاران، 2010). افزایش جذب کلسیم به دلیل اکسین در گیاهچه‌های پنبه که با سودوموناس تلقیح شده بودند نیز گزارش شده است (یائو و همکاران، 2010).

تیمارهای استفاده از باکتری سودوموناس، استفاده از متابولیت‌ها نسبت به تلقیح ریشه با باکتری و محلول‌پاشی باکتری اثری بر میزان سبزینه برگ نداشت (جدول 3). احتشامی (1386) عنوان کرد که تلقیح بذر ذرت با سودوموناس و قارچ میکوریز باعث افزایش میزان سبزینه گیاه می‌گردد. نتایج به‌دست آمده با نتایج اگام‌بردیو (2007) مطابقت دارد. آن‌ها در بررسی خود بر ذرت تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد از جمله سودوموناس و آزووسپیریلیوم بیان داشتند که این ریزسازواره‌ها باعث افزایش جذب نیتروژن در ذرت شده‌اند. از آنجایی که نیتروژن باعث افزایش سبزینه گیاه می‌شود، به نظر می‌رسد تلقیح گیاه با این باکتری‌ها باعث افزایش سبزینه گیاه خواهد شد. تتاوی و محمد (2009) متوجه شدند که باسیلوس مگاتریوم باعث افزایش جذب نیتروژن در گوجه می‌شوند. دورسان و همکاران (2010) طی محلول‌پاشی سویه‌های مختلف باکتری باسیلوس روی گیاهانی مثل خیار و گوجه، شاهد افزایش میزان جذب نیتروژن، منیزیم و منگنز در گیاه بودند که در راستای آن میزان سبزینه گیاه هم افزایش یافت. با توجه به نتیجه تحقیق حاضر، از آنجایی که این تیمارها موجب افزایش جذب منیزیم در گیاه شدند و از آنجایی که عنصر منیزیم جزء هسته مرکزی کلروفیل می‌باشد، در نتیجه میزان سبزینه گیاه افزایش یافته است.

ریزجاندار محرک رشد بر میزان کلسیم در سطح 1% اثر معنی‌داری داشت (جدول 4). بیشترین میزان کلسیم در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 (8/84 میلی-گرم در دسی‌لیتر) دیده شد و کمترین میزان آن در تیمار شاهد بدون کود (2/22 میلی‌گرم در دسی‌لیتر) رقم خورد

جدول 2- تجزیه واریانس میزان سبزینه برگ برنج رقم هاشمی در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	درجه آزادی	نمونه‌برداری اول (7 روز پس از محلول‌پاشی)	نمونه‌برداری دوم (7 روز پس از محلول‌پاشی)	نمونه‌برداری سوم (7 روز پس از محلول‌پاشی)	نمونه‌برداری چهارم (7 روز پس از محلول‌پاشی)	نمونه‌برداری پنجم (7 روز پس از محلول‌پاشی)
تکرار	3	18/69 <sup>n.s</sup>	4/54 <sup>n.s</sup>	29/31 <sup>n.s</sup>	41/56 <sup>n.s</sup>	18/21 <sup>n.s</sup>
باکتری	10	49/01*	149/75*	297/82**	213/47**	98/81*
خطا	30	7/53	31/38	24/23	11/32	49/77
ضریب تغییرات	-	12/3	15/5	14/2	14/3	16/7

\*\*اختلاف معنی‌دار در سطح 1 درصد \*اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد <sup>ns</sup>عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول 3- جدول مقایسات میانگین میزان سبزینه برگ برنج رقم هاشمی در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	نمونه برداری اول (7 روز پس از محلول پاشی)	نمونه برداری دوم (7 روز پس از محلول پاشی)	نمونه برداری سوم (7 روز پس از محلول پاشی)	نمونه برداری چهارم (7 روز پس از محلول پاشی)	نمونه برداری پنجم (7 روز پس از محلول پاشی)
بدون محلول پاشی و کود (شاهد)	45/19 <sup>c</sup>	39/45 <sup>e</sup>	40/28 <sup>e</sup>	39/3 <sup>c</sup>	25/8 <sup>d</sup>
بدون محلول پاشی و با مصرف کود	51/21 <sup>ab</sup>	51/83 <sup>ab</sup>	50/92 <sup>bc</sup>	47/8 <sup>ab</sup>	34/5 <sup>a</sup>
محلول پاشی با باکتری 136	49/39 <sup>b</sup>	49/93 <sup>bc</sup>	49/10 <sup>c</sup>	44/8 <sup>abc</sup>	32/7 <sup>b</sup>
محلول پاشی با متابولیت 136	47/39 <sup>bc</sup>	44/08 <sup>cd</sup>	45/03 <sup>d</sup>	40/2 <sup>c</sup>	26/7 <sup>cd</sup>
محلول پاشی با باکتری 168	50/56 <sup>ab</sup>	50/90 <sup>ab</sup>	46/85 <sup>d</sup>	43/6 <sup>bc</sup>	32/5 <sup>b</sup>
محلول پاشی با متابولیت 168	49/6 <sup>b</sup>	43/75 <sup>d</sup>	46/60 <sup>d</sup>	42/8 <sup>bc</sup>	32/3 <sup>b</sup>
محلول پاشی با باکتری 41	50/2 <sup>ab</sup>	51/88 <sup>ab</sup>	52/32 <sup>ab</sup>	48/2 <sup>ab</sup>	33/4 <sup>ab</sup>
محلول پاشی با متابولیت 41	47/4 <sup>bc</sup>	48/25 <sup>c</sup>	41/38 <sup>e</sup>	40/4 <sup>c</sup>	28/4 <sup>c</sup>
تلقیح ریشه با باکتری 136	52/11 <sup>a</sup>	53/75 <sup>a</sup>	52/32 <sup>ab</sup>	50/7 <sup>a</sup>	35/6 <sup>a</sup>
تلقیح ریشه با باکتری 168	50/7 <sup>ab</sup>	51/67 <sup>ab</sup>	53/72 <sup>a</sup>	47/5 <sup>ab</sup>	33 <sup>ab</sup>
تلقیح ریشه با باکتری 41	52/43 <sup>a</sup>	53/17 <sup>a</sup>	53/83 <sup>a</sup>	51/1 <sup>a</sup>	35/6 <sup>a</sup>

اعداد داخل هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری در سطح احتمال 5 درصد اختلاف معنی داری ندارند.

معدنی بخصوص عناصر کم مصرف را از طریق تحریک پمپ پروتونی ATPase افزایش می دهد (یانگ و همکاران، 2009).

استفاده از باکتری سودوموناس بر میزان منیزیم بافت گیاهی در سطح احتمال 1% تأثیر معنی داری داشت (جدول 4). بیشترین میزان منیزیم در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 (7/06 میلی گرم در دسی لیتر) ثبت گردید و کمترین آن نیز در تیمار شاهد بدون کود (2/02 میلی گرم در دسی لیتر) دیده شد (جدول 5). در بین تیمارهای محلول پاشی با باکتری نیز فقط تیمار محلول-پاشی با سودوموناس سویه 41 میزان منیزیم بیشتری نسبت به تیمار کودی بدون تلقیح داشت. در بین تیمارهای استفاده از باکتری سودوموناس، استفاده از متابولیت‌ها نسبت به تلقیح ریشه با باکتری و محلول پاشی باکتری اثری نداشت (جدول 5). دارسون و همکاران (2010) بیان نمودند باکتری باسیلوس سبب افزایش نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم، مس، منگنز و آهن در خیار و گوجه شدند. کاراکورد و اسلانت (2010) بیان کردند که باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و باسیلوس باعث افزایش جذب عناصر در گیاهان می شوند. تلقیح بذر پنبه با سودوموناس منجر به افزایش جذب منیزیم شده است (یانگ و همکاران، 2010).

استفاده از باکتری سودوموناس بر کلروفیل a تأثیر معنی داری نداشت (جدول 4)، اما بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 (7/31 میلی گرم در گرم وزن تر بافت گیاهی) ثبت گردید و کمترین آن نیز در تیمار شاهد بدون کود (3/09 میلی گرم

باکتری بر میزان آهن در سطح 1% تأثیر معنی داری داشت (جدول 4). بیشترین میزان آهن در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 (0/95 میلی گرم در دسی لیتر) مشاهده شد و کمترین آن نیز در تیمار شاهد بدون کود (0/05 میلی گرم در دسی لیتر) رویت گردید (جدول 5). در استفاده از تیمارهای باکتری، مقدار آهن در گیاه افزایش یافت. این نتایج دور از انتظار نیست، زیرا نتایج نشان می دهند که کاربرد تیمارهای باکتری سبب افزایش میزان آهن در گیاه می شود. این نتایج با نتایج پراشان و همکاران (2009) مطابقت دارد. آنها بیان کردند که باکتری‌های محرک رشد گیاه قادر به تولید سیدروفور (ماده‌ای با وزن مولکولی کم) در پاسخ به کمبود عنصر آهن، برای جذب بهتر می باشد در ضمن اختر و همکاران (2009) متوجه اثر افزایشی باکتری‌های محرک رشد گیاه بر سطح سیدروفور در گندم شدند که در رشد گیاه مؤثر می باشد. دفریتاز و گرمیدا (1992) در مطالعه‌ای، مقدار بیشتر جذب آهن را در گیاه گندم تلقیح شده با سودوموناس فلورسنس گزارش کردند. از طرف دیگر تأثیر باکتری بر توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان به عنوان عاملی در توانایی باکتری در افزایش جذب آهن می باشد. رسولی و همکاران (2008) در مطالعات خود بر گندم بیان داشتند که باکتری سودوموناس فلورسنس، قادرند با تولید سیدروفور در گیاه تلقیح شده، نقش مهمی در جذب آهن داشته باشند. گزارش شده است که باکتری‌های حل کننده فسفات سبب افزایش مقدار آهن در تیمارهای تلقیح شده با باکتری شدند (چانگ و یانگ، 2009). به نظر می رسد که سودوموناس، جذب عناصر

می توان به افزایش جذب فسفر نسبت داد که با نتایج ما مطابقت دارد، چرا که رها شدن و بیرون آمدن تریوز فسفات ها از کلروپلاست به وسیله فسفر تنظیم می شود. جذب خالص فسفات غیر آلی به درون کلروپلاست ها، رها شدن مواد آلی سنتز شده در فتوسنتز از کلروپلاست ها را تنظیم می کند (خلدبرین و اسلامزاده، 1380). در واقع بالا بودن میزان کلروفیل برگ در تیمارهای تلقیح با باکتری می تواند دلیلی بر افزایش فتوسنتز و عملکرد باشد. این نتایج با نتایج رسولی و همکاران (2008) مغایرت دارد. آن ها در مطالعات خود در مورد تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنس با گندم، شاهد افزایش معنی دار میزان کلروفیل در گندم بودند. در مطالعه - ای که در مورد بررسی اثر ریزجانداران محرک رشد در ذرت صورت گرفت، مشاهده شد، افزایش معنی داری در محتوای کلروفیل و کارتنوئید وجود دارد (ساجید و همکاران، 2008).

در گرم وزن تر بافت گیاهی) دیده شد (جدول 5). به نظر می رسد که دلیل این افزایش به جهت جذب بیشتر عناصری چون آهن و منیزیم باشد که نقشی اساسی در ساختمان کلروفیل دارند. بیان شده است که باکتری سودوموناس بر میزان کلروفیل تأثیر معنی داری داشته است. این افزایش کلروفیل را به افزایش فعالیت آنزیم - هائی مانند کاتالاز و پراکسیداز نسبت داده اند. نقش این آنزیم ها در سنتز کلروفیل یک فاکتور مهم محسوب می شود (کاوینو و همکاران، 2010). بنابراین می توان گفت که با ازدیاد میزان کلروفیل، فتوسنتز و در نهایت میزان اسیمیلسیون و کربوهیدرات در برنج افزایش یافته و بر تجمع مواد خشک تولیدی مؤثر واقع می شود. حیدری و گلپایگانی (2011) عنوان کردند که تلقیح بذر *Ocimum basilicum* با سودوموناس باعث افزایش میزان کلروفیل برگ می شود.

این میزان بالاتر کلروفیل، میزان بالاتر فتوسنتز گیاهان را در پی خواهد داشت. البته غلظت بالاتر کلروفیل را

جدول 4- جدول تجزیه واریانس صفتهای کیفی برنج رقم هاشمی در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلسیم	آهن	منیزیم	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئید	عملکرد دانه	شاخص برداشت
تکرار	3	0/05 <sup>ns</sup>	0/021 <sup>ns</sup>	0/03 <sup>ns</sup>	0/11 <sup>ns</sup>	0/2 <sup>ns</sup>	0/37 <sup>ns</sup>	0/033 <sup>ns</sup>	0/0001 <sup>ns</sup>
باکتری	10	106/85 <sup>**</sup>	0/47 <sup>**</sup>	98/21 <sup>**</sup>	0/06 <sup>ns</sup>	0/1 <sup>ns</sup>	0/04 <sup>ns</sup>	8/87 <sup>**</sup>	0/005 <sup>*</sup>
خطا	30	0/01	0/016	0/02	0/06	0/13	0/06	1/02	0/002
ضریب تغییرات	-	9/23	10/28	8/97	6/23	8/22	6/25	10/5	13/91

\* اختلاف معنی دار در سطح 1 درصد \* اختلاف معنی دار در سطح 5 درصد <sup>ns</sup> عدم وجود اختلاف معنی دار

جدول 5- جدول مقایسات میانگین صفتهای کیفی برنج رقم هاشمی در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	کلسیم (mg/Kg)	آهن (mg/Kg)	منیزیم (mg/Kg)	کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم در گرم وزن تر)	کارتنوئید (میلی گرم در گرم وزن تر)	عملکرد دانه (گرم در بوته)	شاخص برداشت (%)
بدون محلول پاشی و کود (شاهد)	2/22 <sup>e</sup>	0/05 <sup>f</sup>	2/02 <sup>e</sup>	3/09 <sup>b</sup>	1/5 <sup>a</sup>	0/84 <sup>b</sup>	2/09 <sup>d</sup>	24/1 <sup>d</sup>
بدون محلول پاشی و با مصرف کود	6/82 <sup>b</sup>	0/44 <sup>cd</sup>	5/01 <sup>b</sup>	6/36 <sup>ab</sup>	1/81 <sup>a</sup>	1/2 <sup>a</sup>	10/01 <sup>ab</sup>	30/3 <sup>bcd</sup>
محلول پاشی با باکتری 136	4/95 <sup>c</sup>	0/43 <sup>cd</sup>	4/07 <sup>c</sup>	5/76 <sup>ab</sup>	1/8 <sup>a</sup>	0/89 <sup>a</sup>	7/51 <sup>c</sup>	29/2 <sup>bcd</sup>
محلول پاشی با متابولیت 136	2/55 <sup>e</sup>	0/36 <sup>d</sup>	2/22 <sup>e</sup>	5/61 <sup>ab</sup>	1/9 <sup>a</sup>	0/99 <sup>a</sup>	7/5 <sup>c</sup>	25/1 <sup>cd</sup>
محلول پاشی با باکتری 168	4/82 <sup>c</sup>	0/42 <sup>cd</sup>	3/1 <sup>d</sup>	5/76 <sup>ab</sup>	1/96 <sup>a</sup>	1/05 <sup>a</sup>	7/97 <sup>c</sup>	29/3 <sup>bcd</sup>
محلول پاشی با متابولیت 168	4/72 <sup>c</sup>	0/21 <sup>e</sup>	2/07 <sup>e</sup>	4/57 <sup>ab</sup>	1/55 <sup>a</sup>	1/05 <sup>a</sup>	7/47 <sup>c</sup>	27/9 <sup>bcd</sup>
محلول پاشی با باکتری 41	8/04 <sup>ab</sup>	0/61 <sup>bc</sup>	5/05 <sup>b</sup>	6/31 <sup>ab</sup>	1/7 <sup>a</sup>	1/02 <sup>a</sup>	10/14 <sup>ab</sup>	31/8 <sup>abc</sup>
محلول پاشی با متابولیت 41	3/12 <sup>d</sup>	0/34 <sup>d</sup>	2/08 <sup>e</sup>	5/34 <sup>ab</sup>	1/72 <sup>a</sup>	0/89 <sup>a</sup>	6/8 <sup>c</sup>	29 <sup>bcd</sup>
تلقیح ریشه با باکتری 136	8/19 <sup>a</sup>	0/71 <sup>b</sup>	5/3 <sup>b</sup>	6/85 <sup>a</sup>	1/9 <sup>a</sup>	0/95 <sup>a</sup>	10/47 <sup>a</sup>	34/7 <sup>ab</sup>
تلقیح ریشه با باکتری 168	7/32 <sup>b</sup>	0/54 <sup>c</sup>	5/02 <sup>b</sup>	5/77 <sup>ab</sup>	1/75 <sup>a</sup>	1/14 <sup>a</sup>	9/6 <sup>b</sup>	31/1 <sup>abcd</sup>
تلقیح ریشه با باکتری 41	8/84 <sup>a</sup>	0/95 <sup>a</sup>	7/06 <sup>a</sup>	7/31 <sup>a</sup>	2/02 <sup>a</sup>	0/99 <sup>a</sup>	11/35 <sup>a</sup>	37/2 <sup>a</sup>

اعداد داخل هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری در سطح احتمال 5 درصد اختلاف معنی داری ندارند.

عملکرد دانه به میزان 41% نسبت به شاهد افزایش نشان داد. استفاده از سویه‌های مختلف از توپاکتر نیز باعث افزایش عملکرد گندم به میزان 84% نسبت به شاهد شد (کیزیلکایا، 2008). کاسان و همکاران (2009) در بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر رشد و عملکرد ذرت و سویا شاهد توانایی تولید هورمون‌های اکسین و جیبرلین توسط این باکتری‌ها و در نتیجه بهبود رشد گیاهچه‌های این دو گیاه بودند. احتشامی و همکاران (1389 الف و ب) نیز افزایش عملکرد دانه برنج را بر اثر تلقیح بذر با سویه‌های سودوموناس گزارش کردند. مشاهده شد که این ریزجانداران از طریق افزایش جذب عناصر و تولید هورمون باعث افزایش عملکرد ذرت شده‌اند (اشرفی و سیدی، 2011). نتایج حاصل از مطالعات بیان‌کننده اثر افزایشی کودهای زیستی بر جذب عناصر، عملکرد دانه و وزن ساقه برنج در مقایسه با استفاده از کود شیمیایی به تنهایی می‌باشد (ویجانباندارا و همکاران، 2009). در مطالعه‌ای گلدانی بر روی برنج مشاهده شد که طی استفاده از باکتری باسیلوس ساتبیلیس تحت عنوان کود زیستی، عملکرد دانه، 46% افزایش نشان داد (جواید، 2010). طی مطالعه‌ای، تالشی و اصولی (2011) بیان کردند که این کودهای زیستی به تنهایی تأثیری بر عملکرد دانه دو رقم برنج نداشت، بلکه تلقیح این ریزجانداران همراه با کودشیمیایی باعث افزایش معنی‌دار عملکرد شد. طی آزمایشی که توسط سنتیلکمار و همکاران (2009) بر روی برنج انجام شد، مشاهده گردید که تلقیح زیستی باسیلوس تأثیر چندانی بر برنج نداشت، اما بیان شد که این ریزجانداران همراه با کود سبز به طور متوسط باعث افزایش 23 تا 25% عملکرد دانه می‌شوند.

استفاده از باکتری سودوموناس بر کلروفیل b تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول 4)، اما بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 (2/02 میلی‌گرم در گرم وزن تر بافت گیاهی) مشاهده شد و کمترین آن نیز در تیمار شاهد بدون کود (1/5 میلی‌گرم در گرم وزن تر بافت گیاهی) به ثبت رسید (جدول 5). استفاده از باکتری بر میزان کاروتنوئید تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول 4)، لیکن بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار کودی بدون تلقیح (1/2 میلی‌گرم در گرم وزن تر بافت گیاهی) و کمترین آن نیز در تیمار شاهد بدون کود (0/84 میلی‌گرم در گرم وزن تر بافت گیاهی) دیده شد (جدول 5).

تیمارهای تلقیح بر عملکرد دانه در سطح 1% اثر معنی‌داری داشت (جدول 4). بیشترین عملکرد دانه در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 (11/35 گرم در بوته) دیده شد و کمترین میزان آن در تیمار شاهد بدون کود (2/09 گرم در بوته) رقم خورد (جدول 5). در بین تیمارهای تلقیح ریشه با باکتری، تلقیح ریشه با سویه سودوموناس، عملکرد دانه بیشتری در مقایسه با تیمار کودی بدون تلقیح داشتند. در بین تیمارهای محلول-پاشی با باکتری نیز تیمار محلول‌پاشی با سودوموناس سویه 41 عملکرد دانه بیشتری در مقایسه با سایر سویه‌ها نسبت به تیمار کودی بدون تلقیح داشت.

در بین تیمارهای استفاده از باکتری سودوموناس، استفاده از متابولیت‌ها نسبت به تلقیح ریشه با باکتری و محلول‌پاشی باکتری اثری بر عملکرد دانه نداشت (جدول 5). افزایش عملکرد برنج به میزان 23% در اثر تلقیح ریشه با سودوموناس گزارش شده است (جا و همکاران، 2009). مدر و همکاران (2011) گزارش دادند که در اثر تلقیح توأم بذر گندم با قارچ میکوریز و سودوموناس،

جدول 6- ضرایب همبستگی بین عناصر معدنی و عملکرد برنج رقم هاشمی تحت تأثیر

سطوح مختلف باکتری

عملکرد	شاخص برداشت	منیزیم	آهن	کلسیم
کلسیم				1
آهن			1	-0.106 <sup>ns</sup>
منیزیم		1	1.00 <sup>**</sup>	0.079 <sup>ns</sup>
شاخص برداشت	1	1.00 <sup>**</sup>	0.382 <sup>**</sup>	0.081 <sup>ns</sup>
عملکرد	1	0.382 <sup>**</sup>	1	0.025 <sup>ns</sup>

\*\* اختلاف معنی‌دار در سطح 1 درصد

\* اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد

<sup>ns</sup> عدم وجود اختلاف معنی‌دار

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق حاکی از تأثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد بر میزان سبزینه برگ، جذب عناصر معدنی و عملکرد برنج رقم هاشمی بود. در بین کاربردهای مختلف باکتری سودوموناس، تلقیح ریشه، بهترین کارایی را داشت و در این بین، تلقیح ریشه با سویه‌های 41 و 136 بهترین کارایی را نسبت به سویه 168 نشان داد. پس از تلقیح ریشه با باکتری، محلول‌پاشی باکتری، نتیجه بهتری داشت که در این بین تنها محلول‌پاشی با باکتری سودوموناس سویه 41 نسبت به تیمار واجد کود و بدون تلقیح، بهتر از بقیه عمل کرد. هیچ یک از تیمارهای محلول‌پاشی با متابولیت‌ها نقش مؤثری بر رشد گیاه نداشتند. به نظر می‌رسد تغییر کمیت و کیفیت تراوش‌های ریشه‌ای، از اهمیت فوق‌العاده‌ای در عکس‌العمل گیاه به تلقیح باکتریایی برخوردار می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان این‌گونه بیان کرد که میزان عناصر و هورمون بالاتر نسبت به شاهد، موجب افزایش رشد اندام‌های رویشی گیاه شده است. توانایی باکتری‌های مورد مطالعه در توسعه سیستم ریشه‌ای نیز از عوامل موثر در جذب عناصر غذایی می‌باشد. در پایان آزمایش مشخص شد که هر چند تلقیح ریشه با این باکتری‌ها مناسب‌تر است، اما یافته‌های این تحقیق نشان داد که محلول‌پاشی این باکتری‌ها نیز می‌تواند در افزایش رشد و عملکرد دانه کارساز باشد.

اثر باکتری محرک رشد بر شاخص برداشت در سطح 1% معنی‌دار بود (جدول 4). بیشترین شاخص برداشت در تیمار تلقیح ریشه با سودوموناس سویه 41 (37/2 درصد) مشاهده شد و کمترین آن در تیمار شاهد بدون کود (24/1 درصد) به ثبت رسید (جدول 5). یزدانی و همکاران (2009) به این نتیجه دست یافتند که در تلقیح باکتری‌های حل‌کننده (PSM) فسفات و ذرت، این ریزجانداران قادرند با جذب عناصر و تولید هورمون بیشتر، باعث افزایش شاخص برداشت گیاه شوند. توران و همکاران (2010) بیان داشتند که از آنجایی که این موجودات نقش مهمی در تثبیت نیتروژن و حل کردن فسفات دارند، قادرند رشد گیاهان را افزایش دهند و باعث افزایش شاخص برداشت گیاه شوند. این افزایش، ناشی از تولید بیشتر هورمون‌های اسید اندول استیک و سیتوکنین توسط این باکتری‌ها گزارش شده است. نتایج رحمتی خورشیدی و اردکانی (2011) نشان داد که استفاده از باکتری سودوموناس و آزوسپیریلیوم باعث افزایش شاخص برداشت در برنج می‌شود. همان‌گونه که از جدول 6 پیداست، ضریب همبستگی بین صفات مورد بررسی و عملکرد برنج تحت شرایط آزمایش نشان داد که عملکرد با شاخص برداشت و منیزیم همبستگی معنی‌داری داشت و با بقیه همبستگی معنی‌داری نشان نداد.

### فهرست منابع:

1. احتشامی، س. م. ر. 1386. تأثیر کودهای زیستی فسفات‌ها بر شاخص‌های کمی و کیفی ذرت دانه‌ای تحت شرایط تنش کم آبی. رساله دکترای زراعت، دانشکده کشاورزی دانشکده تربیت مدرس.
2. احتشامی، س. م. ر.، امین دلدار، ز. و خواوازی، ک. 1389 الف. اثر محلول‌پاشی باکتری‌های جنس سودوموناس بر صفات کمی و اجزای عملکرد ارقام برنج. یازدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. پژوهشکده علوم محیطی دانشگاه شهید بهشتی.
3. احتشامی، س. م. ر.، امین دلدار، ز. و خواوازی، ک. 1389 ب. اثر باکتری‌های جنس سودوموناس بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ارقام برنج. یازدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. پژوهشکده علوم محیطی دانشگاه شهید بهشتی.
4. انصاری جوینی، م.، چائی‌چی، م. ر.، کشاورز افشار، ر. و احتشامی، س. م. ر. 1390. بررسی تأثیر روش‌های مختلف کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد علوفه سورگوم علوفه‌ای رقم اسپیدفید. مجله علوم گیاهان زراعی ایران 42 (2): 329-337.
5. آستارایی، ع. و کوچکی، ع. 1375. کاربرد کودهای بیولوژیکی در کشاورزی پایدار. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.



6. حجازی، ا.، شاهوردی، م. و آردفروش، ج. 1383. روش های شاخص در تجزیه گیاهی. (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران، 301 صفحه.
7. خلدبرین، ب. و اسلام زاده، ط. 1380. تغذیه معدنی گیاهان عالی (جلد اول). (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز، 495 صفحه.
8. دامغانی، ع. م.، عیدی‌زاده، م. خ.، صباحی، ح. و صوفی‌زاده، س. 1389. اثرات کاربرد کودهای بیولوژیک در ترکیب با کود شیمیایی بر رشد ذرت (*Zea mays L.*) در شوشتر. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی 2 (2): 292-301.
9. کشاورز افشار، ر.، چائی‌چی، م. ر.، علیپور جهانگیری، ع.، انصاری جوینی، م.، مقدم، ح.، احتشامی، س. م. ر. و خوازازی، ک. 1390. تأثیر محلول‌پاشی باکتری‌های محرک رشد گیاه بر عملکرد علوفه و دانه سورگوم علوفه‌ای رقم اسپیدفید. مجله علوم گیاهان زراعی ایران 42 (3): 129-137.
10. معلم، ا. ح. و عشقی‌زاده، ح. ر. 1386. کاربرد کودهای بیولوژیک: مزیت‌ها و محدودیت‌ها، خلاصه مقالات دومین همایش ملی بوم‌شناختی ایران، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
11. نظارت، س. و غلامی، ا. 1388. نقش تلقیح مضاعف باکتری‌های آزوسپریلوم و سودوموناس در بهبود جذب عناصر غذایی. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی 1 (1): 25-32.
12. Akhtar, M. J., Asghar, H. N., Shahzad, K. and Arshad, M. 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria applied in combination with compost and mineral fertilizers to improve growth and yield of wheat (*Triticum aestivum L.*). Pakistan Journal of Botany 41(1):381-390.
13. Alikhani, H. A. and Yakhchali, B. 2009. Potential use of Iranian rhizobial strains as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and effects of selected strains on growth characteristics of wheat, corn and alfalfa. Desert online at <http://jdesert.ut.ac.ir>. 14.27-3.
14. Ashrafi, V. and Seiedi, M. N. 2011. Influence of different plant densities and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield attributes of corn (*Zea maize L.*). Recent Research in Science and Technology 3(1): 63-66.
15. Ashrafuzzaman, M., Akhtar, H. F., Razi, M. I., Anamul, M. D. H., Zahurul, M. I., Shahidullah, S. M. and Sariah, M. 2009. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. African Journal of Biotechnology 8(7): 1247-1252.
16. Baset, M. A. and Shamsuddin, Z. H. 2010. *Rhizobium* as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production. African Journal of Biotechnology 9(37): 6001-6009.
17. Cassan, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C. and Luna, V. 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.*). European journal of soil biology 45: 28 – 35.
18. Chang, C. H. and Yang, S. S. 2009. Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizer preparation. Bioresource Technology 100: 1648–1658.
19. Chen, Y., Mei, R., Lu, S., Liu, L. and Kloepper, J. W. 1994. The use of a yield increasing bacteria as PGPR in Chinese agriculture. In management of soil borne diseases (U.K. Gupta and R. Uthede, eds.). Narosa Publishing House, New Delhi, India.
20. Defreitas, R. J. and Germida, J. J. 1992. Growth promotion of winter wheat by *fluorescent pseudomonads* under growth chamber conditions. Soil Biology and Biochemistry 24(11): 1127-1135.
21. Dere, S., Gunes, T. and Sivaci, R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid contents of some Algae species using different solvents. Turkish Journal of Botany 22: 13-17.

22. Dursun, A., Kinci, M. E. and Donmez, M. F. 2010. Effects of foliar application of plant growth promoting bacterium on chemical contents, yield and growth of tomato (*Lycopersicon esculent* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Pakistan Journal Botany* 42(5): 3349-3356.
23. Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology* 36: 184-189.
24. Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Donmez, M. F., Turan, M. and Gunes, A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae* 124: 62-66.
25. Hanson, W. C. 1950. The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphor vanadomolybdate complex. *Journal of Science in Food and Agriculture* 1: 172-173.
26. Heidari, M. and Golpayegani, A. 2011. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 23: 1-5.
27. Javaid, A. 2010. Effect of biofertilizer combined with different amendments on potted rice plants. University of the Punjab, Institute of Plant Patology, Quid-e-Azam Campus, Lahore, Pakistan. 3 August.
28. Jha, B., Thakur, M. C., Gontia, I., Albrecht, V., Stoffels, M., Schmid, M. and Hartmann, A. 2009. Isolation, partial identification and application of diazotrophic rhizobacteria from traditional Indian rice cultivars. *European Journal of Soil Biology* 45: 62-72.
29. Karakurt, H. and Aslantt, R. 2010. Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains on plant growth and leaf nutrient content of apple. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 18(1):101-110.
30. Karlıdag, H., Esitken, A., Turan, M. and Sahin, F. 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. *Scientia Horticulturae* 114: 16-20.
31. Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. 2010. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa spp.*) under field conditions. *Applied Soil Ecology* 45: 71-77.
32. Kizilkaya, R. 2008. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. *Ecological Engineering* 3(3): 150-156.
33. Mader, P., Kaiser, F., Adholeya, A., Singh, R., Uppal, H. S., Sharma, A. K., Srivastava, R., Sahai, V., Aragno, M., Wiemken, A., Johri, B. N. and Fried, P. M. 2011. Inoculation of root microorganisms for sustainable wheaterice and wheateblack gram rotations in India. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 609-619.
34. Omay, S. H., Schmidt, W. A. and Martin, P. 1992. Indole-3-acetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd under in vitro condition. *Canadian Journal of Microbiology* 39: 187-192.
35. Prashan, S. D., Makarand, R., Bhushan, C. and Sudhir, C. B. 2009. Sidrophor *Egeniacinetobacter calcoaceticus* isolated from wheat rhizosphere with strong PGPR activity. *Malaysian Journal of Microbiology* 5(1): 6-12.
36. Rahmati Khorshidi, Y. and Ardakani, M. R. 2011. Response of yield and yield components of rice (*Oryza sativa*) to *Pseudomonas flourescence* and *Azospirillum lipoferum* under different nitrogen levels. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science* 10 (3): 387-395.

37. Rasouli, M. H. S., Barin, M. and Jalili, F. 2008. The effect of PGPR inoculation on the growth of wheat. International meeting on soil fertility land management and agroclimatology. Turkey :891-898.
38. Sajid, M., Zahir, N., Zahir, A., Naveed, M., Arshad, M. and Shahzad, S. M. 2008. Variation in growth and ion uptake of maize due to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria under stress. *Soil and Environment* 25(2): 78-84.
39. Schipper, B., Bakker, A. W. and Bakker, P. A. M. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganism and their effect on cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25: 339-358.
40. Senthilkumar, M., Madhaiyan, M., Sundaram, S. P. and Kannaiyan, S. 2009. Intercellular colonization and growth promoting effects of *Methylobacterium* sp. With plant-growth regulators on rice (*Oryza sativa* L.). *Microbiological Research* 164: 92-104.
41. Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rizhosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research* 9:778-781.
42. Taleshi, K. and Osoli, N. 2011. Effective of phosphate biofertilizer on reducing use of chemical phosphate fertilizer and rice yield in Amol, iran. *World Applied Sciences Journal* 12(8): 1314-1320.
43. Tantawy, E. M. E. and Mohamed, M. A. N. 2009. Effect of inoculation with phosphate solubilizing bacteria on the tomato rhizosphere colonization process, plant growth and yield under organic and inorganic fertilization. *Journal of Applied Sciences Research* 5(9): 1117-1131.
44. Turan, M., Gulluce, M., Cakmakci, R., Oztas, T. and Sahin, F. 2010. The effect of PGPR strain on wheat yield and quality parameters. World Congress of Soil Science, Soil solution for a changing world 1-6 August, Brisbane Australia.
45. Vessey, F. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Biomedical and Life Sciences. Plant and Soil* 255 (2): 571-586.
46. Wijebandara, D. M. D. I., Dasog, G. S., Patti, P. L. and Manjuna, P. 2009. Response of rice to nutrients and biofertilizers under conventional rice intensification methods of cultivation in tungabhadra command of Karnataka. *Karnataka Journal of Agricultural Science* 22(4): 741-750.
47. Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C. M. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Science* 14: 1- 4.
48. Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I. and Li, C. 2010. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *European Journal of Soil Biology* 46: 49- 54.
49. Yazdani, M., Bahmanyar, M. A., Pirdashti, H. and Esmaili, M. A. 2009. Effect of phosphate solubilization microorganisms (PSM) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of corn (*Zea mays* L.). *International Journal of Biology and Life Sciences* 5: 2.

