تأثیر *Pseudomonas putida* بر عملکرد و جذب فسفر سه رقم سورگوم علوفه‌ای

سید محمدرضا احتشامی[1]، محمدرضا عباسی و کاظم خاوازی

استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان؛ smrehteshami@yahoo.com

دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد رودهن؛ smrehteshami@gmail.com

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کرج؛ kkhavazi@yahoo.com

دریافت: 91/10/30 و پذیرش: 92/10/24

چکیده

به منظور بررسی نقش *Pseudomonas putida* بر خواص کمی و کیفی سه رقم سورگوم علوفه‌ای، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران (ورامین) در سال زراعی 89-1388 اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق شامل سویه‌های باکتری و گیاه بودند. عامل نوع باکتری در چهار سطح شامل بدون تلقیح بذر (شاهد)، تلقیح بذر با *Pseudomonas putida* strain 168، تلقیح بذر با *P. putida* strain 41 و تلقیح بذر با ترکیبی از دو باکتری و عامل رقم در سه سطح شامل Speedfed، Jumbo و KFS_1 اعمال شدند. در این آزمایش صفاتی چون ارتفاع بوته، تعداد پنجه، قطر ساقه، تعداد برگ، سطح برگ در مرحله گلدهی، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر و خشک برگ، عملکرد علوفه‌تر و خشک، درصد فسفر گیاه و میزان فسفر خاک مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمار تلقیح بذر با *P. putida* strain 168 در اکثر صفات مورد بررسی دارای بالاترین میانگین بود و کمترین آنها در تیمار ترکیبی از دو باکتری مشاهده شد. به نظر می‌رسد که ریزسازواره‌های حل-کننده فسفات با یکدیگر اثر آنتاگونیستی دارند، هر چند که تلقیح بذر با هر یک از آنها به تنهائی به دلیل جذب عناصر غذائی به ویژه فسفر و نیز تحریک رشد گیاه بر اثر ترشح متابولیت های ثانویه می تواند منجربه افزایش عملکرد گیاه شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل کننده فسفات، سورگوم علوفه‌ای، عملکرد، فسفر

مقدمه

باور کردن واقعیتی به نام رشد جمعیت، آدمی را ملزم به تولید بیشتر محصولات کشاورزی و ناگزیر، حرکت در جهت افزایش تولید در واحد سطح می‌نماید. این مهم، مگر از طریق تولید مقادیر بیشتر کود محقق نمی‌گردد (آدیسیموی و همکاران، 2010 از آنجا که مدیریت کود از عوامل اصلی در نیل به کشاورزی پایدار محسوب می‌شود، جایگزینی تدریجی کودهای شیمیایی به‌خصوص کودهای نیتروژنه و فسفاته با کوددهای زیستی به دلیل مزایای این کودها و به‌علاوه، ارزانی‌آن، امری اجتناب‌ناپذیر است. (رمضانیان، 1384). یکی از روش‌های تأمین فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه، استفاده از منابع زیستی است.

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: رشت، مجتمع دانشگاه گیلان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

باکتری‌های ریزوسفری افزایش‌دهندهٔ رشد گیاه که به آنها باکتری‌های محرک رشد اطلاق می‌شود، از جمله منابع زیستی می‌باشند که از طریق مستقیم و غیرمستقیم باعث بهبود رشد گیاه می‌شوند (ذبیحی و همکاران، 2009). 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 است (پیرومیو و همکاران، 2011). باکتری‌های محرک رشد گیاه به عنوان مکمل و جایگزین کودهای شیمیایی شناخته می‌شوند که می‌توانند سبب افزایش باروری و حاصلخیزی خاک گردند. استفاده از کودهای زیستی باعث کاهش هزینه‌های تولید می‌شود (مهناز و همکاران، 2010). این ریزجانداران می‌توانند سبب افزایش قابلیت انحلال و تأمین عناصر معدنی برای گیاه شوند (سکار و کارمگام، 2010). مزایای تلقیح با این باکتری‌ها شامل افزایش شاخص‌های متعددی مانند سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، کنترل عوامل بیماری‌زا، سطح برگ، محتوی کلروفیل، مقاومت به خشکی، وزن ریشه و اندام هوایی و فعالیت میکروبی است (احتشامی و همکاران، 1388؛ لیوسی و همکاران، 2004). در آزمایشی اثر تلقیح گوجه‌فرنگی[1] با ازتوباکتر نشان داد که درصد جوانه‌زنی، طول ساقه، تعداد برگ‌ها و طول و عرض برگ در تیمار تلقیح شده نسبت به شاهد افزایش داشت (ماهاتو و همکاران، 2009). همچنین در اثر تلقیح بذر با سودوموناس[2] وزن خشک اندام هوایی شلغم روغنی[3] 21/2 درصد افزایش یافت (بلیموف و همکاران، 2002). تحقیقات نشان داده است که تیمار نمودن بذر با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[4] می‌تواند میزان جذب نیتروژن گیاه را افزایش دهد (آدیسیموی و همکاران، 2010). هر چند که تأمین مقدار کافی عناصر غذایی می‌تواند باعث افزایش کارایی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه شود، در شرایط نامطلوب تغذیه‌ای نیز این باکتری‌ها قادرند به افزایش رشد و عملکرد گیاه کمک نمایند (رمضانیان، 1384). استفاده از این باکتری‌ها همراه با کیتین حتی باعث افزایش معنی‌دار رشد، عملکرد و عناصر غذائی موز[5] گردید (کاوینو و همکاران، 2010). همچنین معلوم گردید که باکتری *P. fluorescens* و *Bradyrhizobium* sp. باعث افزایش معنی‌داری در طول شاخساره، وزن شاخساره، تعداد برگ، تعداد گره و وزن خشک ریشه گیاه *Origanum majorana* L. در مقایسه با شاهد می‌شود (بانچیو و همکاران، 2008). در ضمن مشخص شد که محلول‌پاشی باکتری‌های محرک رشد اثر معنی‌داری بر عملکرد میوه، رشد و میزان فسفر و روی توت‌فرنگی[6] داشته است (اسیتکن و همکاران، 2010).

نقش تعیین کننده و جایگاه خاص گیاهان علوفه‌ای در حفظ حاصلخیزی خاک و جلوگیری از فشار بیش از حد دام بر مراتع کشور که سبب از بین رفتن پوشش گیاهی، فرسایش خاک و جاری شدن سیلاب‌ها می شود، بر کسی پوشیده نیست. سورگوم[7] یکی از مهم‌ترین گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیاست و بیشترین نیاز را به کودهای شیمیائی دارد. استفاده از فرآورده‌های زیستی در تغذیه این گیاه یکی از راه حل‌های اساسی و مفید جهت افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصول، تأمین امنیت غذائی، پایداری در تولید و ارتقاء سطح سلامت جامعه در تولید محصولات کشاورزی عاری از هر گونه سم و آفت کش به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار 1388 در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران در شهرستان ورامین واقع در عرض جغرافیایی 35 درجه و 21 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 51 درجه و 38 دقیقه شرقی با ارتفاع 927 متر از سطح دریا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و 12 تیمار اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق شامل سویه‌های باکتری و رقم بودند. فاکتور باکتریائی در چهار سطح اعمال شد که عبارت بودند از: تیمار بذر با *P. putida strain 168*، تیمار بذر با باکتری *P. putida strain 41*، تیمار بذر با مخلوطی از باکتری‌ها (به نسبت 50 به 50)، تیمار شاهد بدون تلقیح باکتری. تیمار رقم در 3 سطح در نظر گرفته شد که عبارت بودند از: Jumbo ،Speedfed ،KFS_1.

از عمق صفر تا 30 سانتی‌متری خاک محل اجرای آزمایش، نمونه‌گیری مرکب به‌عمل آمد تا میزان عناصر غذائی پرمصرف و کم‌مصرف خاک (شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، منگنز، روی و مس) اندازه‌گیری شوند (جدول 1). هر کرت آزمایشی از شش ردیف کاشت به

1. *Solanum lycopersicum*
2. *Pseudomonas*
3. *Brassica rapa*
4. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)
5. *Musa* spp.
6. *Fragaria virginiana*
7. *Sorghum bicolor* L.

فاصلهٔ 50 سانتی‌متر و به طول پنج متر تشکیل شده بود. فاصلهٔ بوته‌ها در روی ردیف نیز 12 سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بین هر دو تیمار، یک ردیف به صورت نکاشت و فاصلهٔ بین دو تکرار نیز پنج متر تعیین شد. عملیات کاشت در نیمهٔ دوم اردیبهشت ماه انجام گردید. ریزسازواره‌های حل کنندهٔ فسفات ابتدا در آزمایشگاه بیولوژی مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب فرموله و تهیه شدند. جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح، 10^7 × 9/8 برآورد شد. ماده حامل نیز پرلیت بود. برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت Sperber استفاده شد. پس از کشت انفرادی باکتری‌ها، پس از 48 ساعت جمعیت آنها به روش Plate Count و بر روی محیط‌های اختصاصی شمارش گردید و سپس حجم مساوی از آنها با یکدیگر مخلوط شده و مجدداً جمعیت در محیط کشت شمارش شده و مایه تلقیح آماده شد. در تیمارهائی که بایستی بذور با این ریزسازواره‌ها تلقیح می‌شدند، پس از محاسبهٔ میزان بذر برای هر تیمار و ریختن بذور سورگوم در داخل یک کیسهٔ پلی اتیلنی، مقدار 20 میلی لیتر محلول شکر 20 درصد به آن اضافه شد. آنگاه کیسهٔ حاوی بذر و ماده چسباننده برای مدت 30 ثانیه به شدت تکان داده شد تا سطح کلیهٔ بذرها به طور یکنواخت چسبناک شود. پس از آن، مقدار 20 گرم از مایهٔ تلقیح به بذرهای چسبناک اضافه شد و پس از 45 ثانیه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یکنواخت مایهٔ تلقیح به بذرها، بذرهای آغشته به مایهٔ تلقیح بر روی ورقهٔ آلومینیومی تمیز در زیر سایه پهن گردید تا بذور خشک شدند. در تیمار بدون تلقیح نیز محیط کشت بدون باکتری با بذرها مخلوط شد تا شرایط برای تمام تیمارها یکسان باشد. کاشت بذور در عمق دو تا سه سانتی‌متر انجام گرفت. پس از کاشت بذر، بلافاصله کودهای اوره، پتاسیم و فسفر بر مبنای آزمون خاک و مطابق با توصیهٔ کودی برای سورگوم علوفه‌ای به صورت نواری به خاک داده شد. علاوه بر این، نیتروژن در دو نوبت دیگر نیز به صورت سرک در اختیار گیاه قرار گرفت. کلیه عملیات زراعی از قبیل واکاری، وجین، تنک کردن و مبارزه با آفات و بیماری‌ها به طور همزمان و به نحو مطلوب در کلیه کرت‌های آزمایشی انجام شد. در شروع گلدهی، از ردیف‌های دوم و پنجم هر کرت آزمایشی پس از حذف تأثیر حاشیه‌ای، چهار بوته انتخاب و از برگ‌های انتهای بوته جهت اندازه‌گیری میزان فسفر جذب شده در اندام هوائی، نمونه‌برداری انجام گرفت. اندازه‌گیری فسفر در گیاه به روش کالریمتری انجام شد (ملکوتی و همائی، 1372). در زمان برداشت محصول نیز ارتفاع ساقه (با استفاده از خط‌کش میلی‌متری)، قطر ساقه، سطح برگ، وزن خشک بوته، قابلیت هضم علوفه و میزان فسفر خاک اندازه گیری شد. در زمان برداشت (در مرحله گلدهی) کلیه بوته‌های سبز در هر کرت شمارش و سپس از سطح خاک، قطع و برداشت گردید. وزن تر قسمت هوائی گیاه توسط ترازو اندازه‌گیری شد و سپس به منظور تعیین وزن خشک، نمونه‌های گیاهی برداشت شده به مدت 48 ساعت در آون با دمای 75 درجه سانتی‌گراد خشک و توزین شدند. پس از برداشت محصول، از خاک تک تک تیمارها نمونه‌گیری مرکب به‌عمل آمد. سپس نمونه‌ها به طور کامل در هوا خشک شدند و پس از عبور از الک دو میلی‌متری، آماده مراحل بعدی گردیدند. فسفر خاک توسط بی‌کربنات سدیم 0/5 مولار در اسیدیته 8/5 عصاره‌گیری و با استفاده از روش اسید اسکوربیک و دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج 882 نانومتر) اندازه-گیری شد (اولسن و همکاران، 1354). به منظور تجزیه و تحلیل‌های آماری از برنامه آماری SAS استفاده گردید. سپس میانگین‌ها در صورت معنی‌دار بودن اثر عوامل آزمایشی با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن بود که بین سطوح مختلف باکتری در ارتفاع گیاه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه 168 با ارتفاع 140/55 سانتی‌متر نسبت به بقیه تیمارها بیشترین ارتفاع را داشت و کمترین ارتفاع در تیمار حاوی دو باکتری با میانگین 115/44 سانتی‌متر دیده شد (جدول 3). همچنین تفاوت بین ارقام نیز معنی‌دار بود (جدول 2). اثر متقابل باکتری و رقم نیز در این صفت در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین داده‌ها مشخص نمود که تیمار حاوی باکتری سویه 168 در رقم اسپیدفید، بیشترین ارتفاع را داشت و کمترین مقدار در تیمار حاوی هر دو باکتری در رقم جامبو دیده شد (شکل 1). برخی از محققین، افزایش ارتفاع گیاهان همزیست را به دلیل تأثیر این ریزجانداران بر روابط کربن و نیتروژن و احتمالاً جنبه‌های دیگر بیوشیمی گیاه می‌دانند (آسری و همکاران، 2008؛ کاوینو و همکاران، 2010). البته نتایج متناقضی نیز در این رابطه وجود دارد، به گونه‌ای که در تیمار واجد باکتری به دلیل آن که ریزجانداران برای ایجاد همزیستی با گیاه به کربن نیاز دارند، گیاه قسمتی از مواد فتوسنتزی خود را به تقویت همزیستی با این ریزجانداران اختصاص می‌دهد که

این امر باعث کاهش وزن خشک گیاه می‌گردد. این موضوع در رابطه با تیمار واجد هر دو باکتری در آزمایش ما کاملاً مشهود بود. بنابراین به نظر می‌رسد که این دو باکتری اثر سینرژیستی با یکدیگر نداشته اند و همان طور که در نتایج هم مشخص است، حتی باعث کاهش ارتفاع گیاه نسبت به تیمار شاهد شدند. گزارش شده است که استفاده از تیمار تلقیح باکتری و قارچ میکوریزا باعث افزایش ارتفاع ذرت شد (احتشامی و همکاران، 1388)، هر چند که برخی از سویه‌های سودوموناس بر ارتفاع ساقه تأثیری نداشته‌اند (حسن زاده و همکاران، 1386).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین سطوح باکتری‌ها، ارقام و همچنین اثر باکتری در رقم از نظر قطر ساقه در سطح احتمال یک درصد، اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها بیانگر آن بود که ساقه در تیمار حاوی باکتری سویه 168 با 21/89 میلی‌متر، نسبت به ساقه سایر تیمارها قطورتر بود و نازک‌ترین ساقه به تیمار واجد دو باکتری با میانگین 19/5 میلی‌متر تعلق داشت (جدول 3). دلیل افزایش قطر ساقه در تیمار حاوی باکتری سویه 168 را می‌توان به تجمع مواد و بیوماس بالاتر گیاه نسبت داد. در تیمار حاوی دو باکتری قسمتی از این بیوماس صرف رابطه همزیستی بین باکتری و گیاه می‌شود که نتیجه آن کاهش قطر ساقه است. ضمن این‌که به نظر می‌رسد باکتری‌ها بر روی فعالیت یکدیگر اثر منفی داشته‌اند که باعث شده تا به‌خوبی نتوانند در کنار یکدیگر به کمک گیاه بیایند. گزارش شده است که ریزجانداران حل کننده فسفات باعث افزایش قطر ساقه ذرت می‌شوند (احتشامی و همکاران، 1388).

تجزیه واریانس داده‌ها مشخص نمود که بین سطوح باکتری‌ها، ارقام گیاهی و همچنین اثر باکتری در رقم در تعداد برگ، در سطح احتمال 1 درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار واجد باکتری سویه 168 با 14 عدد برگ بیشترین تعداد و تیمار حاوی دو باکتری با 13 عدد، کمترین تعداد را به خود اختصاص دادند (جدول 3). اثر باکتری در رقم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت، به‌طوری‌که تیمار واجد باکتری 168 در رقم جامبو بیشترین تعداد برگ را داشت و کمترین تعداد برگ در تیمار واجد هر دو باکتری در رقم KFS_1 مشاهده شد (شکل 2). در تیمارهای تلقیح بذر، ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات به دلیل قدرت و کارائی بالائی که در جذب عناصر غذائی و به ویژه فسفر از خود نشان می دهند، باعث تداوم طول عمر برگ در مراحل نمو گیاه شده و در نتیجه باعث قابلیت انجام فتوسنتز بیشتر می‌گردند، لیکن چون مقداری از مواد فتوسنتزی گیاه در حین رابطه همزیستی مصرف می شود، ممکن است کاهشی در بیوماس گیاه مشاهده شود که دور از انتظار نیست. در آزمایشی بر روی ذرت مشخص شد که در تیمارهای حاوی ریزجانداران حل کننده فسفات، تعداد برگ در بوته بیشتر است (احتشامی و همکاران، 1388).

بین سطوح باکتری‌ها در سطح احتمال یک درصد از لحاظ تعداد پنجه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که تیمار واجد باکتری 168 با پنج عدد، بیشترین تعداد پنجه را سبب شد و کمترین تعداد پنجه، در تیمار دارای دو باکتری مشاهده شد (جدول 3). تفاوت بین ارقام نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول 2). همچنین اثر باکتری در رقم در تعداد پنجه معنی‌دار شد (جدول 2)، به‌طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 در رقم جامبو بیشترین تعداد پنجه را تولید کرد (شکل 3). نشان داده شد که مصرف باکتری باعث افزایش تعداد پنجه در جو می‌شود (پاملا و استیون، 1982). در آزمایشی بر روی جو مشاهده شد که تیمارهای واجد باکتری سودوموناس، تعداد پنجه در بوته بیشتری نسبت به شاهد دارند (حسن زاده و همکاران، 1386). همچنین یافته‌ها نشان داده است که کاربرد کود فسفر به همراه باکتری باعث تسریع مراحل رشد در سویا می‌گردد (شاه و همکاران، 2001).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در سطح برگ در مرحله گلدهی، بین سطوح باکتری‌ها در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که تیمار حاوی باکتری سویه 168 و تیمار واجد هر دو باکتری به ترتیب، بیشترین و کمترین سطح برگ را به خود اختصاص دادند (جدول 3). اختلاف بین ارقام نیز در این صفت، تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول 2). اثر باکتری در رقم، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول 2). به نظر می‌رسد که این تغییر، به دلیل وجود یک رابطه سینرژیستی بین هورمون‌های گیاهی و متابولیت‌های ترشح شده به‌وسیله مواد تلقیحی است که تأثیر مثبت بر گیاه دارند. به نظر می‌رسد که سیگنالهای شیمیائی در گیاهان تلقیح شده، رشد برگ را کنترل می‌نمایند. البته در گیاهان تلقیحی به دلیل ترشحات خارجی این باکتری‌ها که سبب افزایش حجم ریشه و بالطبع افزایش جذب آب و عناصر غذایی می‌شوند، برگ، رشد خود را انجام می‌دهد. میزان کمتر سطح برگ در گیاه در تیمارهای تلقیح بذر با هر دو باکتری را می‌توان به مصرف کربن و سایر مواد فتوسنتزی

گیاه توسط ریزسازواره‌ها و عدم اثر هم‌افزائی آنها مرتبط دانست. محرز شده است که این ریزجانداران باعث افزایش سطح برگ گیاه می‌شوند (وو و ژیا، 2006؛ وو و همکاران، 2008).

در وزن تر برگ، بین سطوح باکتری‌ها، بین ارقام و همچنین اثر متقابل باکتری در رقم در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول 2). مقایسه بین سطوح باکتری‌ها بیانگر آن بود که تیمار واجد باکتری سویه 168 با 246/8 گرم، وزن تر بالاتری نسبت به بقیه باکتری‌ها داشت و کمترین وزن تر برگ مربوط به تیمار واجد دو باکتری با 200/56 گرم بوده است (جدول 3). تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر آن بود که در وزن خشک برگ، اختلاف بسیار معنی‌داری بین سطوح باکتری‌ها و بین ارقام در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 با 102/78 گرم در بوته در سطح اول قرار گرفت و کمترین وزن، مربوط به تیمار واجد دو باکتری با 88/44 گرم در بوته بود (جدول 3). اثر باکتری در رقم نیز در این صفت اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول 2)، به طوری که تیمار واجد باکتری سویه 168 در رقم جامبو با 126/3 گرم در بوته و تیمار حاوی هر دو باکتری در رقم KFS_1 با 53 گرم در بوته به ترتیب، بیشترین و کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (شکل 4). وزن خشک برگ بالا از اجزای مهم و تأثیرگذار در عملکرد و گزینش یک گیاه علوفه‌ای است. احتمال می‌رود که همیاری با ریزجانداران حل کننده فسفات، اندازه و تناسب اندام گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش جذب عناصر غذائی به ویژه فسفر، مهم‌ترین عاملی است که می‌تواند وزن خشک گیاه را در همزیستی تحت تأثیر قرار دهد. البته سایر جنبه‌های بیوشیمیائی گیاه میزبان در همزیستی با این ریزسازواره‌ها می‌تواند اندازه اندام گیاه میزبان را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین اندازه گیاه و تناسب اندام درون گیاه از قبیل نسبت ساقه به ریشه، برگ، اندام زایشی و ... می‌تواند دستخوش تغییر به دلیل وجود روابط همزیستی شود. به دنبال بررسی اثر تلقیح لوبیا با باکتری‌های محرک رشد گزارش شد که استفاده از این باکتری‌ها منجر به افزایش وزن خشک برگ می‌گردد (لی و همکاران، 2005). سایر محققین نیز به نتایج مشابه دست یافته‌اند (ولنتاین و همکاران، 2006؛ کلبی و همکاران، 2010).

بین سطوح باکتری‌ها از لحاظ وزن تر ساقه در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 در سطح اول قرار گرفت و کمترین وزن تر ساقه مربوط به تیمار واجد هر دو باکتری بود (جدول 3). بین ارقام، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 2). اثر متقابل باکتری در رقم در سطح 5 درصد نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد، به طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 در رقم اسپیدفید با میانگین 497/7 گرم بیشترین وزن تر ساقه را داشت و کمترین آن مربوط به تیمار حاوی دو باکتری در رقم KFS_1 با میانگین 214/3 گرم بود (شکل 5). تجزیه واریانس داده‌ها مشخص نمود که از نظر وزن تر ساقه بین سطوح باکتری‌ها و بین ارقام، اختلاف‌ها معنی‌دار نبود (جدول 2). با این حال مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار واجد باکتری سویه 168 بیشترین وزن خشک ساقه را داشت و کمترین آن مربوط به تیمار واجد دو باکتری بود (جدول 3). اثر متقابل باکتری در رقم بر وزن خشک ساقه نیز اختلاف معنی‌داری داشت (جدول 2). تیمار حاوی باکتری سویه 41 در رقم اسپیدفید بیشترین، و کمترین وزن خشک مربوط به تیمار حاوی باکتری سویه 168 در رقم KFS_1 بود (شکل 6). وزن خشک بالای ساقه می‌تواند ناشی از افزایش جذب گیاه بخصوص افزایش جذب فسفر به واسطه همیاری باشد. تلقیح ذرت با *G. intraradices* و *G. mosseae* وزن خشک اندام هوائی را بسته به ترکیب گونه و مایه تلقیح افزایش داده است (گلنرا و همکاران، 2006). نتایج سایر محققین نیز بیانگر افزایش وزن خشک ساقه به دنبال کاربرد کودهای زیستی است (کلبی و همکاران، 2010؛ غلامی و همکاران، 2009؛ بانچیو و همکاران، 2008).

در عملکرد علوفه تر بین سطوح باکتری‌ها، ارقام و اثر متقابل رقم در باکتری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه 168 بیشترین مقدار را داشت و کمترین مقدار در تیمار واجد هر دو باکتری دیده شد (جدول 3). تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در عملکرد علوفه خشک بین سطوح باکتری‌ها، ارقام و اثر متقابل رقم در باکتری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه 168 بیشترین مقدار را داشت و کمترین مقدار در تیمار واجد دو باکتری دیده شد (جدول 3). بین ارقام نیز رقم جامبو و رقم اسپیدفید به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را داشتند، هر چند که بین ارقام تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول 4). اثر مثبت ریزجانداران حل‌کننده فسفات در افزایش عملکرد علوفه خشک ذرت گزارش شده است (ادواردز و همکاران، 1998). در تحقیقی دیگر نیز اثر

باکتری‌ها در افزایش عملکرد علوفه سورگوم به دلیل جذب بیشتر فسفر مشخص گردید.

در میزان فسفر گیاه، بین سطوح باکتری‌ها و همچنین بین ارقام اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2). تیمار واجد باکتری سویه 168 با میانگین 3/26 درصد نسبت به بقیه سطوح باکتری‌ها از میزان فسفر بالاتری برخوردار بود (جدول 3). این موضوع، اهمیت توان بالای ریزجانداران را در افزایش جذب فسفر توسط گیاه میزبان، خاطر نشان می‌سازد. به نظر می‌رسد افزایش جذب فسفر در گیاهان همزیست به‌واسطه تأثیر بر افزایش رشد و جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر و نیز افزایش حلالیت یون‌ها از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌ها بخصوص آنزیم فسفاتاز و افزایش تولید هورمون‌های رشد از جمله اکسین و سیتوکینین و در نتیجه افزایش منطقه تخلیه فسفر توسط سطح جذب کننده ریشه باشد (زیدی و همکاران، 2004). همچنین اظهار شد که افزایش جذب فسفر در گیاهان تلقیح شده، به‌واسطه افزایش در تعداد مناطق جذب در واحد سطح ریشه و توانائی بیشتر این ریشه‌ها برای جذب فسفر بوده است (کیم و همکاران، 1998). برخی از محققین، افزایش جذب فسفر توسط گیاهان همزیست با ریزجانداران حل کننده فسفات را به‌واسطه تولید دی اکسید کربن به وسیله باکتری‌ها و در نتیجه تولید اسید کربنیک و تأثیر آن بر افزایش قابلیت جذب فسفر دانسته‌اند (رودریگویز و فراگا، 1999). مطالعات قبلی در این رابطه نیز نشان داد که این باکتری باعث افزایش میزان فسفر گیاه می‌شود. البته اختلافات زیادی در این مقوله در مطالعات گوناگون مشاهده شده است (شاهارونا و همکاران، 2006). استفاده از باکتری‌های محرک رشد اثر معنی‌داری بر عملکرد میوه، رشد و میزان فسفر و روی توت‌فرنگی داشته است (اسیتکن و همکاران، 2010). محققین زیادی نیز نقش اتیلن در تغییرات مورفولوژیکی سیستم ریشه‌ای را بیان کرده‌اند که خود می‌تواند بر جذب عناصر غذایی توسط ریشه موثر باشد (افضل و همکاران، 2005). در یک تحقیق، بیشترین جذب فسفر در تیمار تلقیح با باکتری سودوموناس به همراه 100 درصد کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل به دست آمد (ذبیحی و همکاران، 2009). محققین زیادی بر افزایش جذب فسفر در نتیجه تلقیح بذر با این ریزجانداران تأکید کرده‌اند (میرانصاری و همکاران، 2008). در میزان فسفر قابل جذب خاک، بین سطوح باکتری، اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما بین ارقام و اثر رقم بر باکتری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول 2).

مقایسه میانگین بین سطوح باکتری مشخص کرد که در خاک تیمار واجد باکتری سویه 168 بیشترین میزان فسفر قابل جذب وجود داشت و کمترین مقدار فسفر خاک، در تیمار واجد هر دو باکتری مشاهده شد (جدول 3). دانسته شده است که باکتری‌های حل کننده فسفات، موادی ترشح می‌کنند که در قابلیت حل شدن فسفر تثبیت شده خاک مؤثر است (هامل و اسمیت، 1991). باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله سودوموناس نیز اسیدهای آلی ترشح می‌کنند که فعالیت میکروبی را در ریزوسفر خاک افزایش داده و باعث افزایش حلالیت و میزان فسفر قابل دسترس خاک می‌گردند (زیدی و همکاران، 2004). قابلیت دسترسی پائین فسفر در نمونه‌های خاک می‌تواند به‌واسطه جذب فسفر به وسیله گیاه یا تثبیت شیمیائی فسفر باشد. طبق نتایج به‌دست آمده (زیدی و همکاران، 2003) میزان فسفر قابل دسترس در خاک بعد از برداشت محصول در تیمارهای تلقیح شده با ریزجانداران حل کننده فسفات بیشتر از تیمارهای کود شیمیائی و کنترل بود. بررسی‌ها نشان داده است که قارچ‌های میکوریزا از طریق ترشح مواد کلات کننده مانند اسید اگزالیک در افزایش میزان فسفر قابل دسترس خاک مؤثرند. همچنین با افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز، این امر تسهیل می‌گردد (داد و همکاران، 1987).

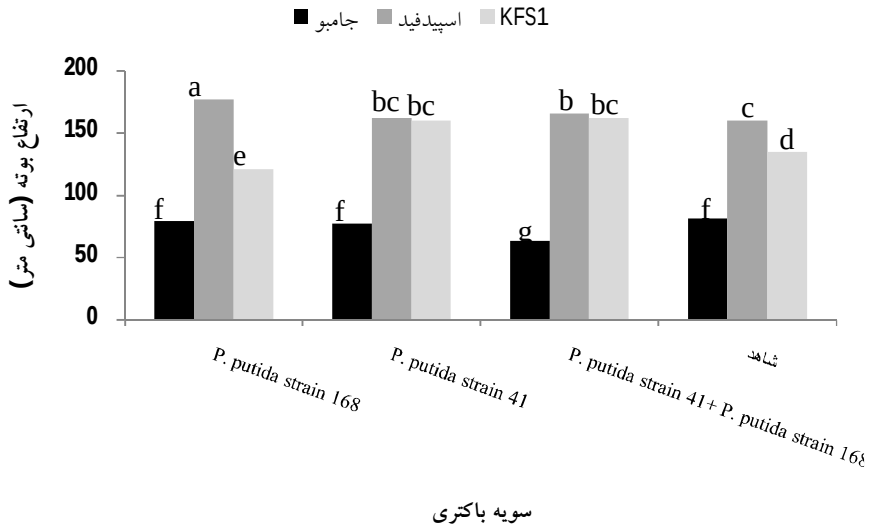
نتیجه‌گیری

تلقیح بذر سورگوم با *Pseudomonas putida* strain 168 بر عملکرد کمی و کیفی از طریق افزایش جذب مواد غذائی، به ویژه فسفر، اثر مثبتی داشت. به نظر می‌رسد این افزایش عمدتاً به‌دلیل تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آنها بر رشد ریشه بود که جذب آب و مواد غذایی را از خاک بهبود بخشید. افزایش در میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه باعث افزایش تجمع ماده خشک و مواد معدنی در ساقه ها و برگ‌های گیاه شد. تنوع عملکرد سویه های سودوموناس به صورت تفاوت در جذب عناصر غذایی و تأثیر بر عملکرد علوفه نمود یافت. در بین دو سویه مختلف باکتری، تیمار تلقیح بذر با سویه 168 نسبت به سویه دیگر اثر بارزتری بر اکثر صفت‌های مورد ارزیابی داشت. برای کاهش صفات مورد مطالعه نیز می توان این گونه پنداشت که این دو ریزسازواره در کنار یکدیگر بر هم اثر آنتاگونیستی داشته و تأثیر منفی بر رشد گیاه دارند. در حقیقت این آزمایش نشان داد که این ریزجانداران بر حسب ویژگی‌های خاک، ژنوتیپ گیاه و شرایط اقلیمی، واکنش‌های متفاوتی را از خود نشان می‌دهند. به این ترتیب پیش‌بینی می‌شود که در صورت تکرار آزمایش در محدوده‌ای وسیع از خاک،

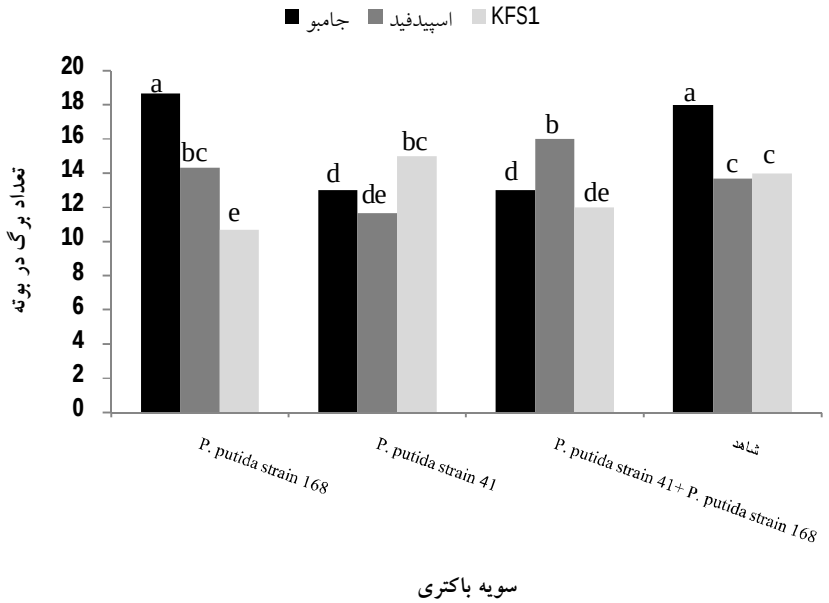
شرایط اقلیمی و عملیات زراعی، وضعیت سازگاری این ریزجانداران به محیط و نیز برهمکنش آنها در تغییر عملکرد گیاه، با وضوح بیشتری قابل مطالعه و بررسی خواهد بود.

جدول 1- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

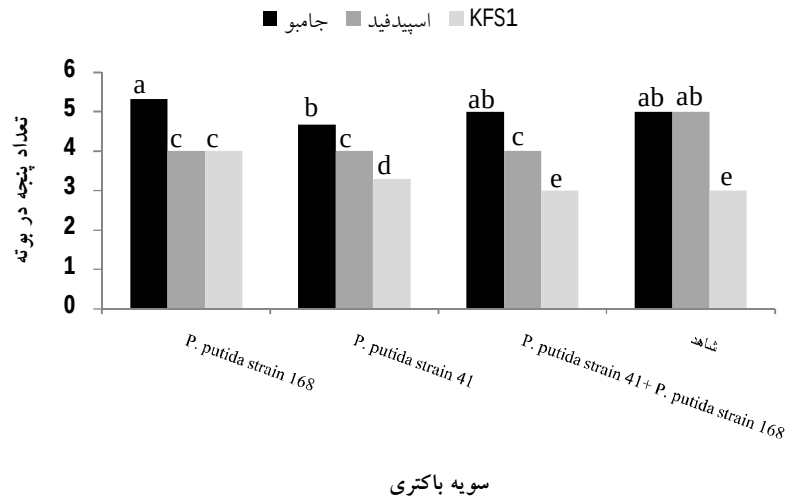
بافت خاک	اسیدیته	مس (ppm)	روی (ppm)	منگنز (ppm)	هدایت الکتریکی dS/m	آهن (ppm)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	نیتروژن %	کربن آلی %
لوم رسی	7/1	1/3	0/8	11/3	3/1	4/1	260	9/6	0/1	0/81



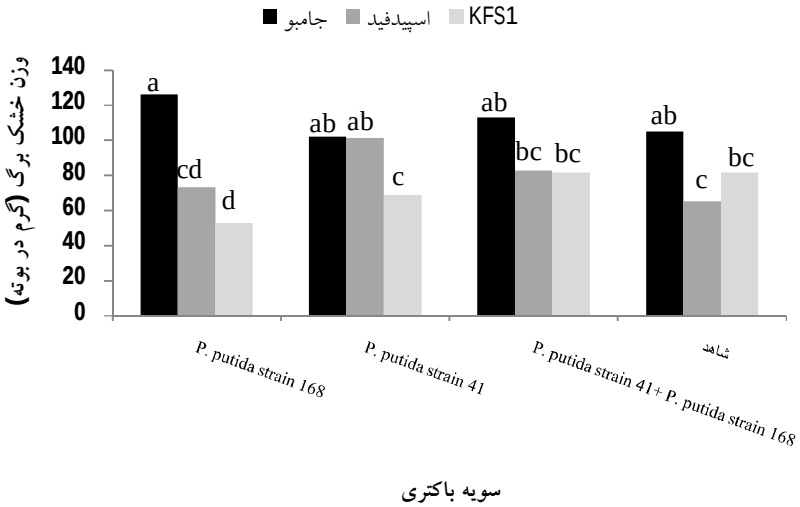
شکل 1- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری و ارقام سورگوم علوفه‌ای بر ارتفاع گیاه



شکل 2- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام سورگوم علوفه‌ای بر تعداد برگ در بوته



شکل 3- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر تعداد پنجه در بوته



شکل 4- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر وزن خشک برگ

جدول 2- جدول تجزیه واریانس صفات کمی و کیفی ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف باکتری

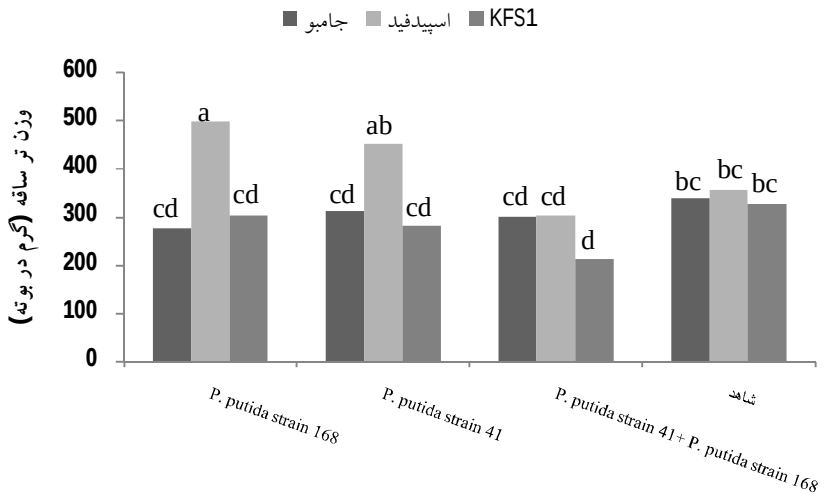
منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع ساقه	قطر ساقه	تعداد برگ در بوته	وزن تر برگ	وزن تر ساقه	سطح برگ	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	تعداد پنجه در بوته	عملکرد ظعلوفه‌تر	عملکرد علوفه خشک	فسفر گیاه	فسفر خاک
تکرار	2	5/9^{ns}	3/03**	0/58^{ns}	295/86**	1451/03^{ns}	0/004^{ns}	42/25^{ns}	14/25^{ns}	0/11^{ns}	201310907**	3409528/7**	0/24^{ns}	0/028$^{n.s}$
باکتری	3	969/8**	14/32**	4/62**	4730/29**	19966/10*	0/118**	106/07*	314/22^{ns}	3/65**	1609646808**	27386177/1**	1/35**	0/31**
رقم	2	24984/2**	180/78**	79/1**	61652/11**	5406/86^{ns}	1/121**	1714/75**	361/58^{ns}	6/03**	1365010870**	23077311/5**	2/53**	17/12$^{n.s}$
باکتری *رقم	6	576/9**	26/18**	3/93**	4898/63**	20498/15*	0/062**	58/04^{ns}	673/92**	0/76**	972629787**	29892300/0**	0/25^{ns}	23/67$^{n.s}$
خطا	22	6/8	0/48	0/25	17/34	5479/75	0/004	29/52	158/46	0/08	258936367	10784398/2	0/31	3/8
%CV	-	2/0	3/36	3/73	11/85	22/38	12/58	14/81	23/03	6/78	12/84	12/25	18/73	9/83

**اختلاف معنی‌دار در سطح 1 درصد　　* اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد　　^{ns}عدم وجود اختلاف معنی دار

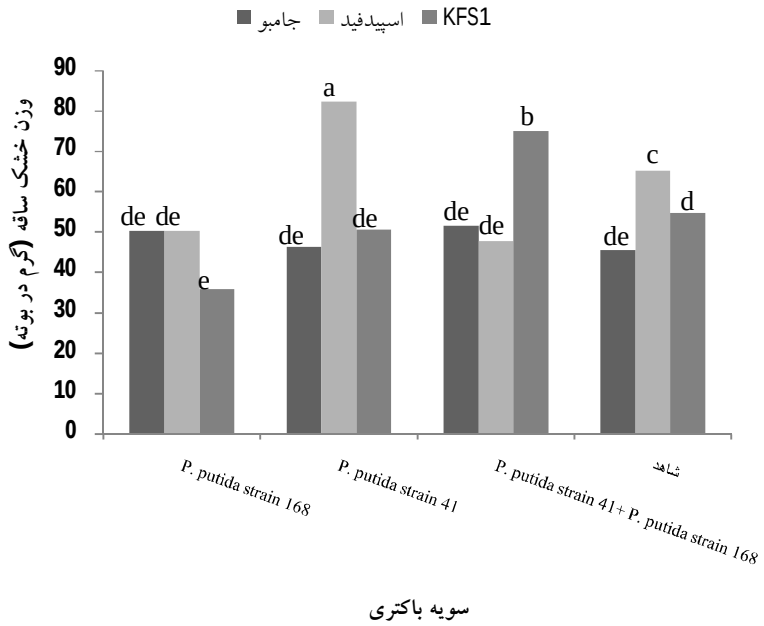
جدول 3- مقایسه میانگین صفات کمی و کیفی سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	ارتفاع ساقه (cm)	قطر ساقه (mm)	تعداد برگ	وزن تر برگ (گرم در بوته)	وزن تر ساقه (گرم در بوته)	سطح برگ (cm^2)	وزن خشک برگ (گرم در بوته)	وزن خشک ساقه (گرم در بوته)	تعداد پنجه	عملکرد علوفه تر (کیلو در هکتار)	عملکرد علوفه خشک (کیلو در هکتار)	فسفر گیاه (%)	فسفر خاک (mg/Kg)
P. putida strain 168	140/55^{a}	21/89^{a}	14/89^{a}	246/89^{a}	380/33^{a}	6022/5^{b}	36/89^{b}	60/11^{a}	5/11^{a}	94686^{a}	15103^{a}	3/26^{a}	8/56^{a}
P. putida strain 41	128/11^{b}	19/67^{c}	14/67^{b}	242/44^{b}	361/22^{a}	5854/2^{a}	41/33^{a}	59/44^{a}	4/11^{b}	86803^{ab}	14313^{ab}	2/87^{b}	7/14^{b}
P. putida strain 41,168	115/44^{d}	19/44^{c}	13/44^{d}	200/56^{d}	284/44^{b}	5202/9^{d}	33/33^{d}	49/44^{b}	3/67^{d}	72473^{c}	12412^{b}	2/83^{b}	3/81^{d}
بدون باکتری	124/78^{c}	21/55^{b}	13/67^{c}	211/00^{c}	297/22^{b}	5768/7^{c}	35/11^{c}	49/67^{b}	3/89^{c}	80235^{bc}	12952^{ab}	2/88^{b}	5/44^{c}

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD هستند.



شکل 5- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر وزن تر ساقه



شکل 6- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر وزن خشک ساقه

فهرست منابع:

۱. احتشامی، س.م.ر.، آقاعلیخانی، م.، چائی‌چی، م.ر. و خاوازی، ک. 1388. تأثیر کودهای زیستی فسفاته بر خواص کمی و کیفی ذرت دانه ای تحت شرایط تنش کم آبی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران 40 (1): 27-15.

۲. احتشامی، س.م.ر.، جاوید، ح.، مریدی، ر. و خاوازی، ک. 1388. کارائی باکتری های محرک رشد بر جوانه زنی برنج در شرایط تنش شوری. اولین همایش ملی تنش های محیطی در علوم کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند.

۳. حسن‌زاده، ا.، مظاهری، د.، چائی‌چی، م.ر. و خاوازی، ک. 1386. کارائی مصرف باکتری های تسهیل کننده جذب فسفر و کود شیمیائی فسفر بر عملکرد و اجزای عملکرد جو. پژوهش و سازندگی (زراعت و باغبانی) 77: 118-111.

٤. رمضانیان، ع. 1384. نقش باکتری های ریزوبیومی مولد آنزیم ACC دآمیناز در تعدیل اثرات سوء اتیلن استرسی در گیاه گندم. پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه تهران.

۵. ملکوتی، م.ج. و همائی، م. 1372. حاصلخیزی خاک های مناطق خشک « مشکلات و راه حل ها». چاپ اول. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. 494ص.

6. Adesemoye, A.O., Torbert, H.A. and Kloepper, J.W. 2010. Increased plant uptake of N from ^{15}N-depleted fertilizer using PGPR. Applied Soil Ecology 46: 54-58.
7. Afzal, A., Ashraf, M., Asad, S.A. and Faroog, M. 2005. Effect of phosphate solubilizing microorganism on phosphorus uptake yield and yield traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) in rainfed area. Intrenational Journal of Agricultural Biology 7:207-9.
8. Aseri, G.K., Neelam, J., Jitendra, P., Rao, A.V. and Meghwal, P.R. 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. Science of Horticulture 117:130-135.
9. Banchio, E., Bogino, P.C., Zygadlo, J. and Giordano, W. 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. Biochemical Systems and Ecolology 36: 766-771.
10. Belimov, A.A., Safronova, V.I. and Mimura, T. 2002. Response of spring rape (*Brassica napus* var. Olifera L.) to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane- 1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. Canadian Journal of Microbiology 48: 189–199.
11. Celebi, S.Z., Demir, S., Celebi, R., Durak, E.D. and Yilmaz, I.H. 2010. The effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) applications on the silage maize (*Zea mays* L.) yield in different irrigation regimes. European Journal of Soil Biology, In Press, Corrected Proof, Available online 29 June 2010.
12. Dodd, J.C., Burton, C.C., Bums, R.G. and Jeffries, P.J. 1987. Phosphatase activity associated with the roots and the rhizosphere of plants infected with vesicular arbuscular mycorrhixal fungi. New Phytologist 167: 163-172.
13. Edwards, S.G., Peter, J., Young, W. and Fitter, A.H. 1998. Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere. Original Research Article FEMS Microbiology Letters 166: 297-303.
14. Esitken, A., Hilal, Y., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Tyran, M. and Gunes, A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. Science of Horticulture 124: 62-66.
15. Gholami, A., Shahsavani, S. and Nezarat, S. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. International Journal of Biological Life Science 1(1): 35-40.
16. Gollnera, M.J., Puschelb, D., Rydlovab, J., Jana, D. and Vosatka, M. 2006. Effect of inoculation with soil yeasts on mycorrhizal symbiosis of maize. Pedobiology 50: 341-345.
17. Hamel, C. and Smith, D.L. 1991. Interspecific N-transfer and plant development in a mycorrhizal field-grown mixture. Soil Biology and Biochemistry 23(1): 661-665.
18. 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.

19. Kim, K.Y., Jordan, D. and McDonald, G.A. 1998. Effect of phosphate-solubilizing bacteria (PSB) and VAM on tomato growth and soil microbial activity. Biology and Fertility Soils 26: 79-87.
20. Li, H.Y., Zhu, Y.G., Marschner, P., Smith, F.A. and Smith, S.E. 2005. Wheat responses to arbuscular mycorrhizal fungi in a highly calcareous soil differ from those of clover, and change with plant development and P supply. Plant Soil 277: 221–232.
21. Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R. 2004. Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek 86: 1–25.
22. Mahato, P., Badoni, A. and Chauhan, J.S. 2009. Effect of *Azotobacter* and Nitrogen on Seed Germination and Early Seedling Growth in Tomato. Researcher, 1(4), http://www.sciencepub.net, sciencepub@gmail.com
23. Mehnaz, S., Kowalik, T., Reynolds, B. and Lazarovits, G. 2010. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. Soil Biology and Biochemistry 42:1848-1856.
24. Miransari, M., Bahrami, H.A., Rejali, F. and Malakout, M.J. 2008. Using arbuscular mycorrhizae to alleviate the stress of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth. Soil Biology and Biochemistry 40(5): 1197-1206.
25. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture Circular 939: 1-19.
26. Pamella, A.C.S. and Steven, H. 1982. Inorganic phosphate solubilization by rhizosphere in a zostera marin community. Canadian Journal of Microbiology 28: 605–610.
27. Piromyou, P., Buranabanayat, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N. and Teaumroong, N. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. European Journal of Soil Biology 47: 44-54.
28. Rodriguez, H. and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion (review paper). Biotechnology Advances 17: 319-339.
29. Sekar, K.R. and Karmegam, N. 2010. Earthworm casts as an alternate carrier material for biofertilizers: Assessment of endurance and viability of *Azotobacter chroococcum, Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum*. Science of Horticulture 124: 286.289.
30. Shah, P., Kakar, K.M. and Zaha, K. 2001. Phosphorus use efficiency of soybean as effected by phosphorus application and inoculation. Plant Nutrition Food Sec. Sus. of AgroEcology. 670-671.
31. Shaharoona, B., Arshad, M., Zahir, Z.A. and Khalid, A. 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.
32. Valentine, A.J., Mortimer, P.E., Lintnaar, A. and Borgo, R. 2006. Drought responses of Arbuscular mycorrhizal grepvines. Symbiosis 41: 127-133.
33. Wu, Q.S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology 163: 417-425.
34. Wu, Q.S., Xia, R.X. and Zou, Y.N. 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. European Journal of Soil Biology 44: 122-128.
35. Zabihi, H.R., Savaghebi, G.R., Khavazi, K. and Ganjali, A. 2009. Response of wheat growth and yield to application of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of phosphorus fertilization. Iranian Journal of Agricultural Science, Skin 7, Number 1.
36. Zaidi, A., Khan, M.S. and Aamil, M. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). European Journal of Agronomy 19: 15–21.
37. Zaidi, A., Khan, M.S. and Aamil, M. 2004. Bioassociative effect of rhizospheric microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of greengram. Journal of Plant Nutrition 27: 599-610.