

تأثیر کود زیستی پتابارور و باکتری سینوریزوبیوم بر صفات رویشی و جذب برخی عناصر غذایی در شنبليله

سمیرا منبری^۱، سعیده علیزاده سالطه^{۲*}، صاحبعلی بلندنظر^۳، محمدرضا ساریخانی^۴

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۴- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: s.a.salte@gmail.com

چکیده

امروزه بکارگیری ریزموجودات مفید خاکزی با عنوان کودهای زیستی به عنوان طبیعی‌ترین و مطلوب‌ترین راه‌حل برای زنده نگه داشتن نظام حیاتی خاک اراضی کشاورزی مطرح است. باکتری‌های آزادکننده پتاسیم، تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفر باعث می‌شوند عناصر پتاسیم، نیتروژن و فسفر به صورت قابل جذب در دسترس گیاه قرار گیرد. به منظور بررسی اثر کود زیستی پتابارور^۲ و باکتری سینوریزوبیوم *ملیلوتی* بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شنبليله آزمایشی به صورت مزرعه‌ای در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار به اجرا در آمد. تیمارها شامل: کود زیستی پتابارور^۲، باکتری (*Sinorhizobium meliloti*)، تلقیح با سینوریزوبیوم+پتابارور^۲، شاهد مثبت (مبتنی بر آنالیز خاک) و شاهد منفی (بدون کوددهی و تلقیح) بودند. گیاهان پس از رشد برداشت شدند و صفات مورفولوژیک و عناصر غذایی اندازه‌گیری شد. نتایج به دست آمده تاثیر معنی‌دار تیمار سینوریزوبیوم بر تمامی صفات مورفولوژیک به جز طول میانگره را نشان داد. تلقیح بذر شنبليله با کود زیستی پتابارور^۲ و باکتری سینوریزوبیوم منجر به افزایش اکثر صفات رویشی و در نتیجه عملکرد شاخساره شد. همچنین غلظت عناصر نیتروژن و فسفر تحت تیمار سینوریزوبیوم بیشترین میزان را نشان داد در حالی که کاربرد سینوریزوبیوم و پتابارور^۲ منجر به بیشترین غلظت پتاسیم در گیاه شنبليله گردید.

واژه های کلیدی: پتابارور^۲، تعداد غلاف، غلظت عناصر، سینوریزوبیوم، کود زیستی

Effect of Potabarvar and *Sinorhizobium* on Morphological Characteristics and Absorption of Some Nutrients in Fenugreek

Samira Menbari¹, Saeedeh Alizadeh Salte^{2*}, Saheb Ali Bolandnazar³,

Mohamad Reza Sarikhani⁴

Received: August 1, 2017 Accepted: December 23, 2017

1- Graduated from the Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

2-Assis. Prof., Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3-Prof., Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

4- Assoc. Prof., Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

*Corresponding Author Email: s.a.salte@gmail.com

Abstract

Nowadays, the use of soil-born microorganisms as biological fertilizers is considered to be a natural and most desirable solution used to maintain sustainability of agricultural soil system. Potassium releasing, nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria play role in providing K, N and P to plants. In order to evaluate the effects of biofertilizers Potabarvar2 and *Sinorhizobium meliloti*, on physiological properties and yield of Fenugreek, a complete randomized block experiment was conducted with five treatments and three replications. Treatments included biofertilizer Potabarvar2, *Sinorhizobium meliloti*, inoculation with a mixture of *Sinorhizobium*+Potabarvar2, positive control (based on soil analysis) and negative control (no fertilization and inoculation). Physiological and morphological characteristics and concentrations of N, P and K were measured after harvest. The results showed significant effect of *Sinorhizobium* on morphological characteristics except internode length. Symbiotic relationship of *Sinorhizobium* with Fenugreek increased the uptake of nitrogen and phosphorus, however the highest potassium uptake observed with a mixture of *Sinorhizobium*+Potabarvar2.

Keywords: Macronutrients Concentration, *Sinorhizobium*, Potabarvar 2, Biofertilizer, Pod Number

مقدمه

مناسب آب و خاک و منابع بیولوژیکی و حفظ محیط-زیست به منظور دستیابی به عملکرد مطلوب و پایدار است، به طوری که اطمینان از تولید مداوم و پایدار منابع غذایی به ویژه گیاهان دارویی همراه با حفظ محیط زیست، به یکی از مهمترین موضوعات علوم کشاورزی تبدیل شده و مورد توجه روزافزون تولیدکنندگان، محققین و دولتمردان قرار گرفته است (کوچکی و همکاران ۱۳۷۶؛ سخن سنج ۱۳۸۰). مشکلات زیست محیطی ناشی از کاربرد کودهای شیمیایی و تأثیر سویی که بر چرخه

خاک به عنوان محیط طبیعی رشد گیاه می تواند به طور مستقیم یا غیرمستقیم بر رشد ریشه، جذب آب و عناصر غذایی و در نهایت رشد و عملکرد گیاه تأثیر بگذارد، این تأثیر بستگی زیادی به خواص زیستی، فیزیکی و شیمیایی خاک دارد و کمبود عناصر غذایی، باعث محدودیت رشد گیاه و در نهایت کاهش عملکرد خواهد شد. تأکید سیستم های آینده ی کشاورزی بر مبنای کاهش در مصرف انرژی، نهاده ها و مدیریت

بافت سبک و مواد آلی کم و عدم مصرف کودهای پتاسیمی و کاشت متوالی و بدون آیش محصولات مختلف باعث تهی شدن خاک از پتاسیم شده است (ملکوتی ۱۳۸۷). بنابراین کمبود پتاسیم حتی در خاکهایی که غنی از پتاسیم هستند و به‌ویژه در زمانی که برداشت از خاک قابل توجه باشد بروز می‌کند و عملکرد گیاه حتی بدون نشانه‌های ظاهری کمبود ممکن است کاهش یابد. یکی از مشکلات جذب پتاسیم توسط گیاه در خاکهای رسی تثبیت شدن آن می‌باشد و همچنین در خاکهای سبک نیز مشکل آبشویی این عنصر وجود دارد، به همین دلیل کاربرد کودهای غیر شیمیایی مانند کودهای زیستی، با کاهش استفاده از کودهای شیمیایی، می‌تواند گام موثری در جهت رسیدن به کشاورزی پایدار باشد. کودهای زیستی حاوی ریز موجودات مفید خاکزی از جمله قارچ‌ها، باکتری‌ها، یا مواد حاصله از متابولیت آنها می‌باشد که به روش‌های مختلف رشد گیاه میزبان را زیاد می‌کنند (وسی، ۲۰۰۳). این گروه از باکتری‌ها از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، افزایش حلالیت فسفر و پتاسیم، افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک، مهار عوامل بیماری‌زا و همچنین تولید هورمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (زهیر و همکاران ۲۰۰۴).

گیاهان تیره بقولات به دلیل نقش مهمی که در تبدیل نیتروژن اتمسفر به فرم تثبیت شده آن (آمونیم و نیتروژن آلی) دارند، از نظر اکولوژیک و کشاورزی بسیار مهم هستند (بروکول و همکاران ۱۹۹۵ و لوتنبرگ و کامیلووا ۲۰۰۹). تثبیت بیولوژیک نیتروژن فرایندی است که در طی آن نیتروژن اتمسفری در حضور آنزیم نیتروژناز به آمونیم تبدیل می‌شود (لوتنبرگ و کامیلووا ۲۰۰۹). لگوم‌ها گروه مهمی از گیاهان هستند و در سراسر جهان به عنوان محصولات غذایی و علوفه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. این گیاهان می‌توانند نیاز

زیستی و خود پایداری بوم نظام‌های زراعی دارند از یک سو و افزایش هزینه‌های تولید به دلیل کاربرد این کودها از سوی دیگر، لزوم رویکرد به کشاورزی پایدار را موجب می‌شود. کشاورزی پایدار نوعی کشاورزی است که از به‌کار بردن نهاده‌های سنتزی مانند کودهای شیمیایی به علت تأثیر منفی بر تعادل زیستی اجتناب می‌کند، اما از نهاده‌های آلی برای ایجاد چرخه تأمین عناصر غذایی استفاده می‌کند (کو و همکاران ۲۰۰۴). از این‌رو، کشاورزی پایدار از طریق جایگزینی مواد شیمیایی با کودهای آلی و زیستی، درصد افزایش حاصلخیزی و سلامت خاک، حفظ محیط زیست و افزایش کیفیت محصولات می‌باشد (ابین مستو و همکاران ۲۰۰۶). کودهای زیستی شامل انواع مختلف ریز موجودات آزاد زی بوده (چن ۲۰۰۶) که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیرقابل دسترس به فرم قابل دسترس دارند (راجندران و دواراج ۲۰۰۴). برخی از این ریز موجودات اثرات مفیدی در بهبود رشد گیاه دارند و از آن‌ها تحت عنوان ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR^۱) یاد می‌شود (عبدالجلیل و همکاران ۲۰۰۷). به عبارت دیگر، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه شامل گروه متنوعی از باکتری‌های کلون‌کننده‌ی محیط ریشه و برخی میکروارگانیسم‌ها هستند که به صورت هم‌زیست با یک گیاه رشد می‌کنند و سبب تحریک رشد و نمو گیاهان می‌شوند (گیریش و همکاران ۲۰۰۵). باکتری‌های آزادکننده پتاسیم، تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفر جزو این دسته بوده و موجب می‌شوند عناصر بیشتری به صورت قابل جذب در دسترس گیاه قرار گیرد.

پتاسیم به عنوان عنصری که بیشترین وظایف فیزیولوژیکی را در رشد و نمو گیاه دارد، همیشه نقش قابل توجهی در تولید پایدار عملکرد گیاه داشته است (ماهر و همکاران ۱۹۸۵). در خاک‌های ایران به دلیل بارش کم و عدم آبشویی^۲ زیاد (در خاکهای رسی) انتظار می‌رود که میزان پتاسیم بالا باشد، اما به دلیل غالب بودن

^۲-Leaching

۱. Plant Growth Promoting Rhizobacteria

را مشاهده نمودند. لرکی و اخگر (۱۳۹۳) مشاهده کردند که تلقیح شنبلیله با جدایه‌های سینوریزوبیوم باعث افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر، آهن، روی و مس در اندام هوایی و همچنین وزن خشک اندام هوایی و ریشه نسبت به شاهد می‌شود. حسن زاده و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش عملکرد گیاه شنبلیله شد و تلقیح با باکتری‌های محرک رشد غلظت عناصر غذایی بخش هوایی گیاه شنبلیله به جز کلسیم را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. با توجه به بررسی‌های انجام شده، باکتری‌های محرک رشد گیاه علاوه بر کمک به جذب عنصری خاص باعث جذب سایر عناصر، کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول می‌شوند. این کودها، آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داده و موجب احیا و حفظ محیط زیست می‌شوند. لذا تحقیق حاضر جهت بررسی اثرات استفاده از کودهای بیولوژیک حاوی پتاسیم و نیتروژن بر شنبلیله انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت مزرعه‌ای و در قالب طرح بلوک-های کامل تصادفی با ۵ تیمار در سه تکرار در محل ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه تبریز به اجرا درآمد. لازم به ذکر است که باکتری سینوریزوبیوم *ملیلوتی* از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز دریافت شد. تیمارهای آزمایش به صورت زیر بودند: تیمار شاهد منفی (بدون تلقیح و کود شیمیایی)، تیمار کود زیستی پتابارور ۲، تیمار باکتری سینوریزوبیوم *(Sinorhizobium meliloti)* سینوریزوبیوم + پتابارور ۲، شاهد مثبت (مبتنی بر آنالیز خاک).

بر اساس آنالیز خاک مزرعه (جدول ۱) با توجه به کافی بودن عناصر فسفر و پتاسیم، فقط اوره به تیمار شاهد مثبت اضافه شد.

نیتروژنی خود را از طریق ایجاد همزیستی با گروهی از باکتری‌ها که به باکتری‌های ریزوبیومی معروفند تامین نمایند (لرکی و اخگر ۱۳۹۳). سینوریزوبیومها با افزایش غلظت نیتروژن موجب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی و همچنین تعداد گره‌های روی ریشه و در نتیجه افزایش جذب عناصر مغذی در گیاه شنبلیله شده‌است (لرکی ۱۳۹۲).

شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum-graecum* گیاهی علفی، یک ساله و متعلق به تیره بقولات (Fabaceae) است. قسمت‌های مختلف گیاه شنبلیله حاوی پروتئین، چربی، فیبر و املاح معدنی مختلف بوده و مقادیر نسبتاً بالایی از فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها و دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها را داراست. این گیاه اثرات درمانی زیادی بر روی اغلب بیماری‌ها از جمله نفخ، التهاب، اسهال، سوء هاضمه، سرفه مزمن، بزرگ شدن کبد و طحال دارد و همچنین باعث کاهش قند خون، کاهش فشار خون و تسکین درد می‌شود (جندی ۲۰۱۳). نتایج تحقیقات قبلی نشان داده کودهای زیستی و یا کودهای شیمیایی به تنهایی برای تولید پایدار محصول کشاورزی نمی‌توانند مفید واقع شوند و در اکثر موارد کودهای زیستی به عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌تواند پایداری تولید را در نظامهای کشاورزی تضمین کنند (سلیم و همکاران ۲۰۱۱ و میو یابنتو و همکاران ۲۰۱۳). به نظر می‌رسد با کاربرد تلفیقی کود شیمیایی و زیستی، تا اندازه‌ای بتوان مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داد. حتی در صورتی که عملکرد این گیاهان در نتیجه استفاده از کودهای زیستی، کمتر و یا برابر با عملکرد آنها در نتیجه مصرف کودهای شیمیایی باشد، تولید این گیاهان با استفاده از نهاده‌های طبیعی مثل کودهای زیستی، راه حل مناسبی برای تولید محصولات کشاورزی در راستای اهداف کشاورزی پایدار باشد.

نظری و فلاح (۱۳۹۳) تاثیر کاربرد توام از توپاکتر، سولفات روی و قارچ میکوریزا با اوره را بر گیاه شنبلیله مثبت ارزیابی کرده و بیشترین میزان عملکرد و اسانس

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

هدایت الکتریکی ($dS.m^{-1}$)	pH	کربن آلی (%)	فسفر ($mg.kg^{-1}$)	نیتروژن ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم ($mg.kg^{-1}$)	رس (%)	سلیت (%)	شن (%)	بافت
۲/۱۰	۷/۶۵	۰/۱۶۸	۳۶	۰/۵	۴۸۰	۲۱/۵۵	۱۶/۶۶	۶۱/۷۹	Sandy Clay Loam

تکثیر باکتری *S. meliloti* در محیط YMB انجام پذیرفت و بعد از افزودن به حامل برای تلقیح بذور شنبلیل استفاده شد. کشت بذور در بهار سال ۱۳۹۴ در کرت‌هایی به ابعاد دو در چهار متر به صورت خطی با فاصله بین خطوط ۳۰ سانتیمتر انجام گرفت. بذرهاى شنبلیل بعد از خیسانده شدن در آب به صورت بذر مالی با کودهای بیولوژیک به طور کامل و یکنواخت مخلوط گردیدند. سپس کرت‌ها آبیاری شدند. آبیاری بصورت منظم و به صورت جداگانه و با دقت کامل و بدون تداخل آب کرت‌ها با همدیگر انجام پذیرفت. تنها در تیمار کود کامل بر اساس نتایج آنالیز خاک و جدول توصیه کودی کود اوره در یک نوبت استفاده شد و به دلیل کافی بودن عناصر فسفر و پتاسیم از این کودها استفاده نگردید. وجین کرت‌ها هفته‌ای دو بار به صورت دستی انجام می‌شد. پس از برداشت گیاه، اندازه‌گیری صفات رویشی و میزان عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم انجام گرفت.

ارتفاع بوته، تعداد گره، وزن برگ، طول میانگره و قطر ساقه در مرحله رویشی پنج بوته از هر کرت به صورت تصادفی انتخاب و از کف بریده شدند. ارتفاع بوته توسط متر نواری با دقت ۰/۱ سانتیمتر اندازه گیری شد. برگ‌های بالغ شمارش شدند. تعداد گره نیز شمارش گردید. طول میانگره از تقسیم ارتفاع بوته بر تعداد گره بدست آمد. قطر ساقه نیز توسط کولیس از قسمت پایین (طوقه) بوته اندازه‌گیری شد.

تعداد غلاف و طول غلاف

از هر کرت پنج بوته به طور تصادفی انتخاب شدند. تعداد غلاف‌ها شمارش و طول آن‌ها در هر بوته اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری عناصر معدنی

نیتروژن بافت گیاهی با استفاده از روش کج‌دال اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول زیر مقدار نیتروژن بر حسب میلی‌گرم در گرم محاسبه گردید

فرمول ۱

$$\text{نیتروژن میلی گرم درگرم} = \frac{\text{حجم اسید مصرفی} \times \text{نرمالیتت اسید} \times 14 \times \text{حجم اولیه}}{\text{حجم نمونه تیتره شده} \times \text{وزن ماده خشک هضم شده}}$$

توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری می‌شود (کاتین ۱۹۸۰).

اندازه‌گیری پتاسیم به روش نشر شعله‌ای انجام شد. میزان پتاسیم موجود در نمونه‌های گیاهی توسط دستگاه Flame Photometer مدل G410 خوانده شد و در

اندازه‌گیری مقدار فسفر نمونه به روش رنگ سنجی وانات-مولیبیدات انجام شد. در این روش یون‌های ارتوفسفات در محیط اسیدی با محلول وانات-مولیبیدات کمپلکس زرد رنگ فسفو واناتومولیبیدات را تشکیل می‌دهد که مقدار جذب محلول‌ها در طول موج ۴۳۰ نانومتر

نهایت عدد قرائت شده به صورت غلظت در ماده خشک گیاهی محاسبه شد (کاتین ۱۹۸۰).

تجزیه آماری

تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد. نمودارها با نرم افزار Excel 2013 رسم گردید.

نتایج و بحث

صفات رویشی و زایشی

تجزیه واریانس صفات رویشی و زایشی شنبليله در جدول (۲) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر بلوک (تکرار) بر روی هیچ کدام از صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبوده است ولی اثر تیمار بر صفات مورد اندازه‌گیری به استثنای طول میانگره در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر کود زیستی بر صفات رویشی و زایشی شنبليله

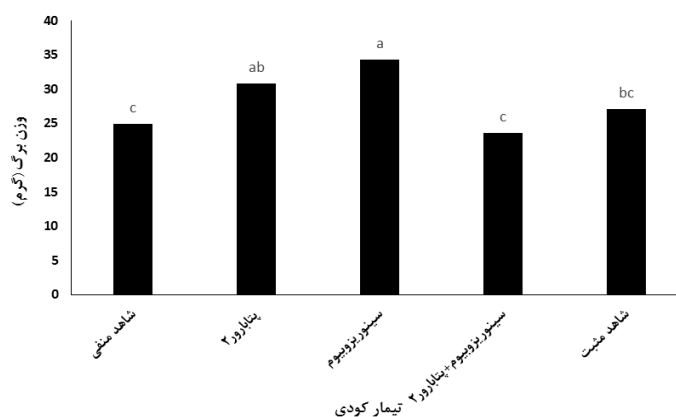
میانگین مربعات									
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن برگ	تعداد شاخه جانبی	قطر ساقه	ارتفاع بوته	طول میانگره	تعداد گره	طول غلافهای تشکیل شده	تعداد غلاف
بلوک	۲	۶/۸۱۵ ^{ns}	۰/۸۴۵ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۲/۳۶۹ ^{ns}	۰/۱۱۳ ^{ns}	۱/۲۶۷ ^{ns}	۰/۰۳۷ ^{ns}	۵/۶ ^{ns}
تیمار	۴	۵۷/۸۴۲ ^{**}	۶/۷۹۹ ^{**}	۰/۱۴۲ ^{**}	۷۶/۳۴۱ ^{**}	۰/۰۰۸ ^{ns}	۵/۹۳۳ ^{**}	۲/۳۹۹ ^{**}	۳۸۱/۲۳۳ ^{**}
خطا	۸	۲/۶۸۹	۰/۱۲۸	۰/۰۱۷	۹/۵۸۸	۰/۰۸۵	۰/۴۳۳	۰/۱۳۹	۲۱/۴۳۳
ضریب تغییرات	%	۵/۸۳	۵/۷۶	۲/۹۶	۵/۳۱	۴/۲۳	۳/۶۸	۳/۲۹	۱۳/۴۶

ns و * ، ** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و غیر معنی‌دار می باشد.

وزن برگ بوته

مقایسه میانگین (شکل ۱) داده‌های اندازه‌گیری شده نشان داد که بیشترین مقدار وزن تر برگ (۳۴/۳۰۱g)

گیاه شنبليله مربوط به تیمار سینوریزوبیوم و کمترین مقدار وزن تر برگ (۲۳/۵۷g) مربوط به تیمار کودی سینوریزوبیوم+ پتابارور ۲ می باشد.



شکل ۱ - مقایسه میانگین وزن تر برگ شنبليله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) است.

قطر ساقه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های جانبی و تعداد گره ساقه

مقایسه میانگین (جدول ۳) داده‌ها نشان داد که بیشترین قطر ساقه مربوط به کاربرد منفرد سینوریزوبیوم و پتابارور ۲ (به ترتیب ۴/۷۰۳mm و ۴/۵۳۳mm) و کمترین قطر ساقه (۴/۱۵ mm) مربوط به تیمار تلفیقی سینوریزوبیوم+ پتابارور ۲ می‌باشد.

قطر ساقه در اثر افزایش رشد گیاه افزایش می‌یابد. در این صفت همانند صفات تعداد برگ و سطح برگ بیشترین میزان قطر ساقه در تیمار سینوریزوبیوم مشاهده گردید که می‌تواند به علت افزایش نیتروژن و سایر عناصر غذایی در اثر تلقیح خاک با ریزوبیوم باشد (جدول ۳). افزایش قطر ساقه در اثر افزایش رشد عرضی سلول‌ها اتفاق می‌افتد. کودهای زیستی (تثبیت کننده نیتروژن) قطر ساقه را افزایش می‌دهند. افزایش قطر ساقه می‌تواند به علت افزایش حجم همه بافت‌های گیاهی نسبت

داده شود. با افزایش ضخامت اپیدرم‌ها، کورتکس، فیبرها، بافت‌های آوندی و سطح بافت پارانشیمی بر اثر اضافه کردن کودهای زیستی قطر ساقه افزایش می‌یابد. افزایش قطر بافت‌های آوندی چوبی و آبکش در نتیجه افزایش غلظت نیتروژن ناشی از کود زیستی ریزوبیوم منجر به افزایش قطر ساقه گردیده است. همچنین تعداد دستجات بافت‌های آوندی چوبی و آبکش در نتیجه اضافه کردن این کود زیستی افزایش یافته و قطر ساقه بالطبع افزایش می‌یابد (گوما ۲۰۰۸). نتایج این مطالعه با نتایج محمد و همکاران (۲۰۰۵) و گوما (۲۰۰۸) مطابقت داشت که بیان کردند افزایش قطر ساقه می‌تواند به علت تاثیر کودهای زیستی باشد. سالم و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که نیتروژن به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد گیاه در ساختار پروتوپلاسم و پروتئین‌ها که منجر به افزایش تقسیم سلولی و فعالیت مریستمی و در نتیجه رشد بیشتر قطر ساقه و گیاه می‌شود.

جدول ۳- مقایسه میانگین خصوصیات مورفولوژیکی شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

تیمار کودی	تعداد شاخه جانبی	قطر ساقه (میلی‌متر)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد گره	طول غلافهای تشکیل شده (سانتی متر)
شاهد منفی	۹/۹۷c	۴/۲۹bc	۵۷/۳۶b	۱۷/۴bc	۱۰/۲۹c
پتابارور ۲	۱۲/۷۳a	۴/۵۳۳ab	۶۱/۸۶a	۱۸/۲ab	۱۱/۸۱b
سینوریزوبیوم	۱۳/۳۳a	۴/۷۰۳a	۳۹/۹۶a	۱۹/۶۷a	۱۱/۰۲bc
سینوریزوبیوم+پتابارور ۲	۱۰/۱۷c	۴/۱۵c	۵۰/۵۱bc	۱۶c	۱۲/۶۲a
شاهد مثبت	۱۱/۲b	۴/۳۸abc	۵۹/۲ab	۱۸/۳ab	۱۱/۶۸b

حروف غیرمشابه در ستونها بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) می‌باشد.

با توجه به مقایسه میانگین (جدول ۳) می‌توان بیان داشت که بیشترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار سینوریزوبیوم و پتابارور ۲ (به ترتیب ۶۳/۹۶cm و ۶۰/۸۶cm) و کمترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار سینوریزوبیوم+پتابارور ۲ (۵۰/۵۱cm) می‌باشد. این امر می‌تواند به علت تاثیر باکتری‌های تلقیح شده از طریق مکانیسم‌های همچون تثبیت نیتروژن و افزایش فراهمی

فسفر در تیمار سینوریزوبیوم، افزایش حلالیت پتاسیم در تیمار پتابارور ۲ و تولید هورمون‌های گیاهی (نظیر اکسین، جیبرلین، سیتوکنین) باشد که باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند، در مطالعات قبلی که روی شنبلیله صورت گرفته، نیتروژن که از طریق تحریک رشد رویشی و افزایش طول میانگره باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (دیتا و همکاران ۲۰۰۵، سلوارجان و چژیان ۲۰۰۱ و

دارند. تثبیت نیتروژن همزمان باعث افزایش غلظت نیتروژن در داخل گیاه و افزایش مقدار هورمون‌های رشد به واسطه فعالیت باکتری‌ها می‌شود. در مطالعات نشان داده شده که هر دو باعث افزایش تعداد شاخه‌های جانبی در گیاه می‌شوند (جانگو و همکاران ۱۹۹۱ و نول و همکاران ۱۹۹۶).

مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده (جدول ۳) نشان داد بیشترین تعداد گره ساقه (۱۹/۶۷) گیاه شنبلیله در تیمار کودی سینیوریزوبیوم و کمترین تعداد گره ساقه (۱۶) در تیمار کودی سینیوریزوبیوم+پتابارور مشاهده گردید.

تعداد غلاف و طول غلاف‌های تشکیل شده

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر تعداد غلاف و طول غلاف‌های تشکیل شده در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده حاکی از آن است که بیشترین تعداد غلاف (۴۹/۶۷) گیاه شنبلیله در تیمار کودی سینیوریزوبیوم و کمترین تعداد غلاف (۲۱/۳۳) در تیمار کودی سینیوریزوبیوم+پتابارور (شکل ۲)، و بیشترین طول غلاف‌های تشکیل شده (۱۲/۶۲) در تیمار کودی پتابارور+ریزوبیوم و کمترین طول غلاف‌های تشکیل شده (۱۱/۲۹) در تیمار شاهد منفی مشاهده گردید (جدول ۳).

فراهمی بیشتر عناصر غذایی تحت تاثیر باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید آنزیم‌ها و هورمون‌ها که منجر به توسعه ریشه که جذب و انتقال آب و عناصر غذایی را افزایش می‌دهد و در نتیجه رشد رویشی و زایشی را افزایش داده و منجر به گلدهی بهتر و افزایش تشکیل غلاف و طول غلاف می‌شود (دوبی و همکاران ۲۰۱۲ و ریزوی و همکاران ۲۰۱۳). عملکرد بذر تابع عملکرد گیاه بوده و وابسته به تعداد غلاف در گیاه، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه می‌باشد. افزایش رشد و عملکرد به علت وابسته بودن به افزایش جذب عناصر

شماره ۲۰۰۰). همچنین یکی از مکانیسم‌های تحریک رشد توسط جدایه‌های ریزوبیومی تولید فیتوهورمون‌های اکسینی (IAA) می‌باشد که موجب افزایش رشد ریشه، افزایش جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه و در نتیجه باعث افزایش رشد و ارتفاع گیاه می‌شود (اعتصامی و همکاران ۱۳۹۱ و احمد و همکاران ۲۰۱۱). بالا بودن فراهمی عناصر غذایی در دسترس گیاه به خصوص نیتروژن از طریق تحریک رشد رویشی و افزایش طول میانگره باعث افزایش ارتفاع گیاه می‌شود. مکی زاده و همکاران (۱۳۹۱) در گیاه ریحان گزارش نمودند که بیشترین و کمترین ارتفاع بوته به ترتیب مربوط به تیمار تلفیق کود زیستی حاوی باکتری ازتوباکتر و آزوسپیریوم+۵۰٪ کود شیمیایی (NPK) و شاهد بود. ارتفاع گیاه، وزن خشک، شاخص سطح برگ (LAI) عملکرد بذر و تعداد شاخه به طور معنی‌داری تحت تاثیر کاربرد سطوح مختلف نیتروژن می‌باشد. مطالعات زیادی نشان داده است که کاربرد نیتروژن منجر به افزایش ارتفاع گیاه، تجمع ماده خشک، سطح برگ و تعداد شاخه می‌شود (دتروجا و همکاران ۱۹۹۶).

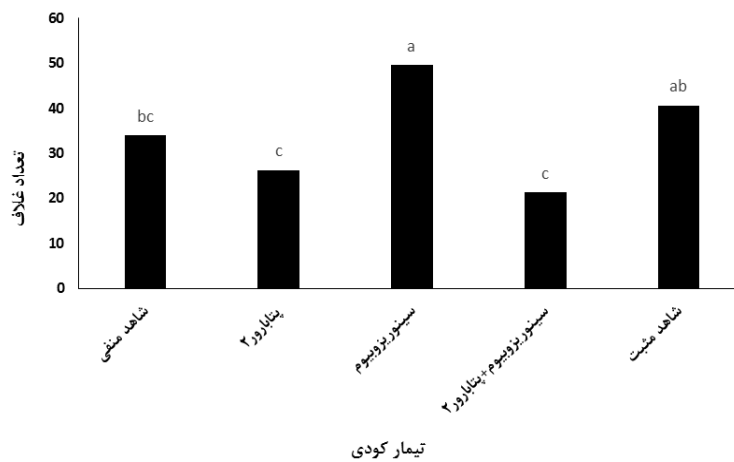
با توجه به نتایج آزمایش حاضر، بیشترین تعداد شاخه جانبی مربوط به تیمار سینیوریزوبیوم و پتابارور (به ترتیب ۱۳/۳۳ و ۱۲/۷۳) و کمترین تعداد شاخه جانبی مربوط به تیمارهای شاهد و سینیوریزوبیوم+پتابارور (به ترتیب ۹/۹۶۷ و ۱۰/۱۷) می‌باشد.

اسماعیل (۲۰۰۲) گزارش کرد که تلقیح بذور با ریزوبیوم باعث افزایش معنی‌دار تعداد شاخه جانبی و ارتفاع گیاه، تعداد برگ نسبت به بذور تلقیح نشده می‌شود که تعداد شاخه‌های جانبی با افزایش سطوح نیتروژن افزایش پیدا می‌کند. نتایج مشابه توسط دیتا و همکاران (۲۰۰۵) و تاپا و مایتی (۲۰۰۴) گزارش شده است. ناظری و همکاران (۲۰۱۰) نیز در پژوهشی نشان دادند که اکسین‌ها در نتیجه حضور باکتری‌های محرک رشد تولید شده در تحریک تقسیمات سلولی و نیتروژن در افزایش رشد رویشی و افزایش تعداد شاخه‌های فرعی نقش

را افزایش می‌دهد و در نتیجه تعداد غلاف در گیاه افزایش می‌یابد.

غلظت عناصر غذایی نیتروژن

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر غلظت نیتروژن برگ شنبلیله در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۲- مقایسه میانگین تعداد غلاف‌های شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) می‌باشد.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر غلظت نیتروژن، پتاسیم و فسفر شنبلیله

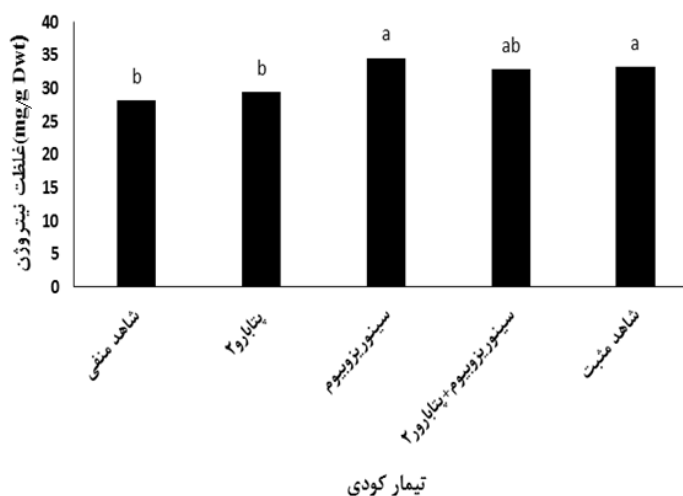
میانگین مربعات				
فسفر	پتاسیم	نیتروژن	درجه آزادی	منابع تغییر
۰/۳۵۲ ^{ns}	۰/۳۵۲ ^{ns}	۰/۴۴۰ ^{ns}	۲	بلوک
۰/۰۰۱ ^{**}	۲/۶۱۸ ^{**}	۳/۴۰ ^{**}	۴	تیمار
۰/۰۳۶	۰/۰۵۸	۰/۹۷۲	۸	خطا
۳/۲۱۹	۱/۰۹۸	۲/۰۶۸		ضریب تغییرات (%)

***، *، ns به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و غیر معنی‌دار می‌باشد.

کمترین غلظت نیتروژن برگ (۳۳/۲۳ mg/g) و بیشترین غلظت نیتروژن برگ (۲۸/۲۲mg/g) در تیمار شاهد منفی است.

غذایی اثر مستقیم و مثبتی بر روی دانه، شاخه و عملکردهای بیولوژیکی مانند طول غلاف در گیاه شنبلیله دارد (گودارا و همکاران ۲۰۱۲). محفوض و شرف الدین (۲۰۰۷) گزارش نمودند که باکتری‌های محرک رشد با تولید اسیدهای آلی، حلالیت عناصر غذایی را افزایش داده و برای گیاهان قابل جذب می‌نمایند. افزایش عناصر غذایی قابل جذب باعث افزایش رشد و شدت گلدهی می‌شود. نیتروژن و فسفر رشد زایشی و تولید میوه در گیاه

مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) نشان داد بیشترین غلظت نیتروژن برگ شنبلیله در تیمار کودی سینوریزوبیوم و شاهد مثبت (به ترتیب ۳۴/۶۴۱mg/g و



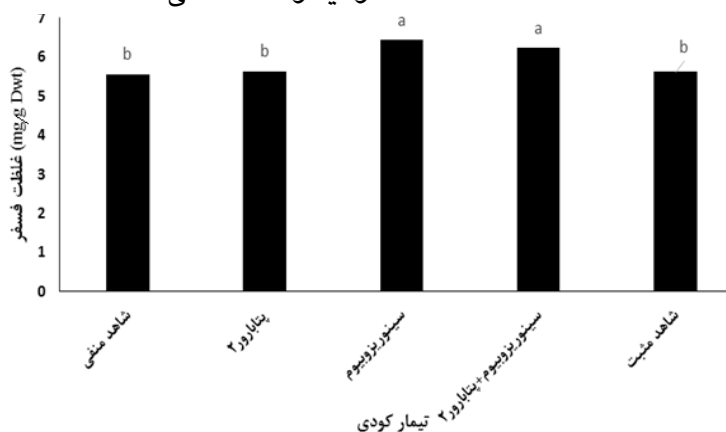
شکل ۳- مقایسه میانگین غلظت نیتروزن شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) می باشد.

فسفر

میانگین (شکل ۴) نشان داد بیشترین غلظت فسفر برگ شنبلیله در تیمار کودی سینوریزوبیوم و سینوریزوبیوم+ پتابارور ۲ (به ترتیب $6/429 \text{ mg/g}$ و $6/236 \text{ mg/g}$) کمترین غلظت فسفر برگ ($5/561 \text{ mg/g}$) در تیمار شاهد منفی مشاهده شد.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر غلظت فسفر برگ شنبلیله در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. مقایسه



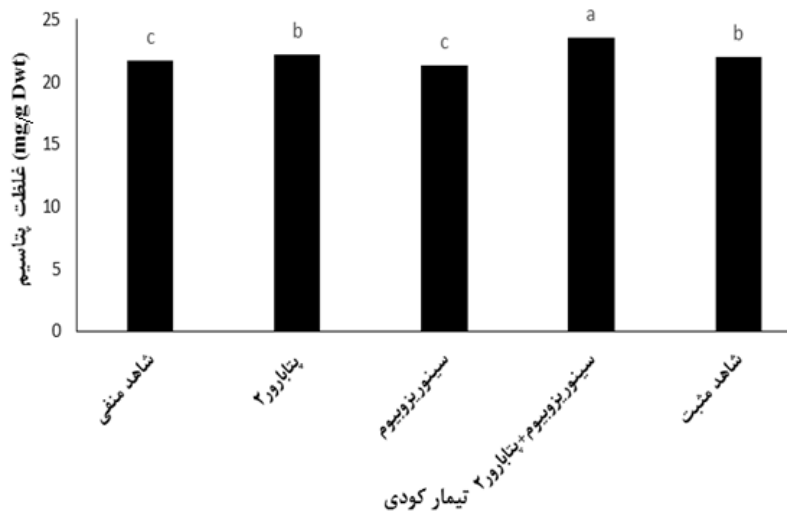
شکل ۴- مقایسه میانگین غلظت فسفر شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی،

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

پتاسیم

میانگین تیمارها (شکل ۵) نشان داد که بیشترین غلظت پتاسیم برگ گیاه شنبلیله در تیمار کودی سینوریزوبیوم+پتابارور ۲ ($23/517 \text{ mg/g}$) و تیمار شاهد و سینوریزوبیوم پتاسیم کمتری داشتند.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر غلظت پتاسیم برگ شنبلیله در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. مقایسه



شکل ۵- مقایسه میانگین غلظت پتاسیم شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) می باشد.

می‌یابد. برخی پژوهشگران اعلام کرده‌اند که باکتری‌های ریزوبیوم به عنوان حل کننده فسفات نیز عمل می‌کنند و فراهمی فسفر را در خاک افزایش می‌دهند (آسیمی و همکاران ۱۹۸۰). داکیدی و همکاران (۲۰۱۱) و ماکوئی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که مایه‌زنی با ریزوبیوم سبب افزایش جذب فسفر در گیاهان لگوم شد. باکتری‌های ریزوبیوم با ترشح ترکیباتی مثل اسیدهای آلی، آنزیم‌هایی مثل فیتاز و فسفاتاز و ترشح پروتون سبب افزایش فسفر محلول و قابل جذب گیاهان می‌شوند (باشان و دباشان ۲۰۰۵). راثی پور (۱۳۸۱) گزارش کرد که مایه زنی باکتری ریزوبیوم / ژاپونیکوم، غلظت نیتروژن بخش‌های هوایی گیاه سویا را به طور معنی‌داری افزایش داد.

مهمترین مکانیسم‌های تحریک رشد توسط جدایه‌های ریزوبیومی تولید فیتوهورمون‌های اکسینی (IAA) می‌باشد که نتیجه آن افزایش رشد ریشه و به دنبال آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) توسط گیاه و افزایش رشد و ارتفاع گیاه می‌باشد (اعتصامی و همکاران ۱۳۹۱). تحقیقات نشان داده است که تلقیح گیاهان لگوم با باکتری‌های ریزوبیومی و فرآیند

بسیاری از PGPR ها به عنوان باکتری‌های کمک کننده به باکتری ریزوبیوم شناخته می‌شوند و معلوم شده که می‌توانند به افزایش تعداد گرهک‌ها و تقویت توان بالقوه، تثبیت ازت و سایر اثرات ناشی از همزیستی با ریزوبیوم در گیاهان لگوم کمک نمایند (روزاس ۲۰۰۶ و عمو آقایی، ۱۳۸۶). اسیدهای آلی زیادی توسط میکروارگانیسم‌های ریزوسفر تولید می‌شوند که بر روی حلالیت عناصر غذایی مانند فسفر و پتاسیم تاثیر می‌گذارند (اشور ۱۹۹۸).

مارکاریان و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که مایه-زنی باکتری سینوریزوبیوم غلظت نیتروژن و فسفر قسمت هوایی علوفه یونجه را به طور معنی‌داری افزایش داد که نشان می‌دهد، مایه‌زنی با باکتری سینوریزوبیوم باعث تثبیت نیتروژن که سبب بهبود تغذیه نیتروژن و افزایش غلظت فسفر بخش هوایی و گیاه گردید. نتایج سینگ و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که کودهای زیستی (ریزوبیوم و حل کننده فسفات) به طور معنی‌داری بر روی مقدار نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک تاثیر می‌گذارد. تلقیح بذرها با کودهای زیستی منجر به افزایش جمعیت باکتری‌ها می‌شود و مقدار نیتروژن تثبیت شده افزایش

اختیار گیاه قرار می‌دهند (گلیک ۱۹۹۵ و هان و همکاران ۲۰۰۶).

با افزایش میزان پتاسیم، میزان تثبیت دی اکسیدکربن به دلیل کارکرد مطلوب روزه‌ها افزایش می‌یابد و در نتیجه میزان فتوسنتز افزایش یافته و بدین ترتیب تولید کربوهیدرات در برگ‌ها افزایش می‌یابد (خلدبرین و اسلامزاده، ۱۳۸۴). بین تولید نشاسته و قند و مقدار پتاسیم رابطه مثبتی وجود دارد. پتاسیم فعالیت دیاستازی و قندسازی را در گیاه افزایش می‌دهد. کمبود پتاسیم، ظهور بسیاری از آنزیم‌های مهم و مؤثر در سنتز پیرووات^۲ (فسرفوانول پیرووات کربوکسیلان، فسرفوانول پیرووات کربوکسی‌کیناز، آنزیم مالیک) و متابولیسم قند (گلوکز شش فسفات دهیدروژناز، نشاسته سنتتاز) را تحت تاثیر قرار می‌دهد (شین و شاتمن ۲۰۰۴ و پتی گریو ۱۹۹۹). پتاسیم باعث افزایش میزان مواد فتوسنتزی در گیاه می‌شود و این افزایش تولید مواد پرورده می‌تواند علاوه بر تولید عملکرد بیشتر باعث تولید بیشتر قندهای محلول برگ شود.

دریافت پتاسیم اثر مهمی بر میزان پروتئین دارد زیرا تحرک بالای این عنصر موجب فعال شدن بسیاری از آنزیم‌های مؤثر بر فرایندهای متابولیکی مهمی چون فتوسنتز و سنتز پروتئین می‌شود (وون اوگزول ۱۹۷۸). عنوان شده است پتاسیم در فعال‌سازی تعداد زیادی از آنزیم‌های فتوسنتزی، ساختن پروتئین‌ها، متابولیسم اکسیداتیو و تعادل بار الکتریکی غشاهای سلولی نقش دارد (شابالا ۲۰۰۳).

این آزمایش نشان داد هر چند جدایه‌های بومی ریزوبیوم در خاک مزرعه حضور دارند، اما تلقیح با باکتری *S. meliloti* R5 که از گره‌های کارآمد و موثر شنبلیله جدا سازی شده بود، باعث بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه شنبلیله در مقایسه با نمونه شاهد منفی و همچنین شاهد مثبت شد.

تثبیت نیتروژن می‌تواند اثرات مثبتی بر رشد گیاه و در نهایت قابلیت دسترسی به عناصر غذایی و در نتیجه بهبود کیفیت تغذیه‌ای اجزای مختلف گیاه داشته باشد (رودالس و همکاران ۱۹۹۹). در مطالعه‌ای که توسط داکیدمی و همکاران (۲۰۱۱) بر روی گیاه لوبیا صورت گرفت مشاهده شد که تلقیح با ریزوبیوم به طور معنی داری جذب منیزیم، آهن، روی و مس را نسبت به تیمار بدون تلقیح در مزرعه و گلخانه افزایش داد. همچنین تلقیح با باکتری‌های ریزوبیومی جذب تمامی عناصر مذکور را در ریشه افزایش داد. زیدی و همکاران (۲۰۰۳) نیز افزایش در پارامترهای رشد و عملکرد خود در اثر تلقیح با باکتری‌های ریزوبیومی را به اثرات تجمعی شامل افزایش ذخیره‌ای مواد غذایی مانند نیتروژن و فسفر در گیاه و تولید مواد محرک رشد به وسیله‌ی این میکروارگانیسم‌ها نسبت دادند.

باتوجه به اینکه کود پتابارور ۲ حاوی باکتری‌های حل‌کننده پتاسیم است که ترکیبات نامحلول پتاسیم موجود در خاک اطراف ریشه را تجزیه کرده و با رهاسازی این یون باعث جذب بهینه پتاسیم می‌شوند به همین دلیل پتاسیم بیشتری را به گیاه می‌رساند.

هر چند که کودهای شیمیایی مواد غذایی را در سریع‌ترین زمان ممکن به گیاه می‌رسانند اما مشخص شد که کودهای زیستی با توجه به تغییراتی که در منطقه ریزوسفر ایجاد می‌کنند و در واقع فعالیت باکتری‌های این نوع کودها در منطقه ریزوسفر با تولید اسیدهای آلی مانند اسید گلوکونیک و یا اسیدهای معدنی از قبیل اسید کربنیک، اسید سولفوریک و اسید نیتریک تاحدودی اسیدیته خاک را کاهش داده و این خصوصیت باعث افزایش جذب سایر عناصر از جمله فسفر می‌شود (گیانشوار و همکاران، ۲۰۰۲). اثر مثبت کود زیستی بر فاکتورهای مختلف گیاه شنبلیله می‌تواند ناشی از این باشد که باکتری‌های موجود در این کود با تغییر اسیدیته احتمالاً عناصر غذایی بیشتری را به صورت محلول در

^۲ -Pyruvate synthesis

به ویژه پتاسیم، اثر کاهنده داشتند، دخالت سایر عوامل موثر در افزایش فتوسنتز و عملکرد، به ویژه در گیاه شنبليله که پیکر رویشی در این آزمایش مدنظر بوده است، که بر جذب عناصر غذایی تأثیر می گذارند، می تواند دلیل این امر باشد. به نظر بین باکتری‌های سودوموناس موجود در کود پتابارور ۲ و باکتری سینوریزوبیوم رابطه همزیستی مناسبی جهت افزایش خصوصیات رویشی وجود ندارد. با توجه به اینکه کارایی کودهای زیستی فسفر حاوی قارچ‌های میکوریزا که در جذب فسفر اثبات شده است کاربرد تلفیقی کودهای زیستی پتابارور ۲ و سینوریزوبیوم با کود زیستی فسفر پیشنهاد می‌شود.

تلقیح بذر شنبليله با کود زیستی سینوریزوبیوم و پتابارور ۲ منجر به افزایش اکثر صفات رویشی و در نتیجه عملکرد شاخساره شد. کاربرد منفرد این کودهای زیستی نتایج بهتری را نسبت به کاربرد تلفیقی آنها داشت. همزیستی سینوریزوبیوم با گیاه شنبليله، در غلظت عناصر نیتروژن و فسفر را افزایش داد. به طور کلی کاربرد سینوریزوبیوم ملیلوتی نتیجه بهتر و کارآمدتر را در افزایش عملکرد، صفات کیفی و رشد گیاه شنبليله نسبت به کود پتابارور ۲ و تلفیق سینوریزوبیوم و پتابارور ۲ داشته‌است.

در این پژوهش بسیاری از ویژگی‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده در حضور کود پتابارور ۲ و سینوریزوبیوم، برخلاف غلظت عناصر مورد اندازه‌گیری

منابع مورد استفاده

- Abdul Jaleel C, Manivannan P, Sankar B, Kishorekumar A, Gopi R, Somasundaram R and Panneerselvam R, 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60: 7–11.
- Ahemad M and Khan MS. 2011. Functional Aspects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Recent Advance. *Insight Microbiology*, 1(3): 39-54.
- Ashour SA. 1998. Influence of bio-fertilizers and phosphorus application on growth and yield of potato. *Journal of Agricultural Science*, 23: 3351-3358.
- Asimi S, Gianinazzi P and Gianinazzi S. 1980. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular arbuscular mycorrhizae and rhizobium in soybeans. *Canadian Journal of Botany*, 58: 2200-2205.
- Brockwel J, Bottomley PJ and Thies JE. 1995. Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. *Plant and Soil*, 174: 143-180
- Chen J. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. *International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient crop Production and Fertilizer Use*. October, 16-20. Thailand.
- Cottenie A. 1980. Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendations. *FAO Bulletin*, No.82/2.
- Dakidemi PA, Bambara S and Makoi JHJR. 2011. Micronutrient uptake in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by Rhizobium inoculation, and the supply of molybdenum and lime. *Faculty of Applied Science*, 4(1): 40-52.
- Data S, Alam K and Chatterjee R. 2005. Effect of different levels of nitrogen and leaf cutting on growth, leaf and seed yield of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 75 (9): 580-581.
- Detroja HJ., Sukhadra NM, Khanpara VD, Malavia DD and Kaneria BB. 1996. Response of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) to nitrogen, phosphorus and potassium. *Indian Journal of Agronomy*, 41: 179-180.

- Dubey PK, Pandey CS, Shakoor Khanday A and Mishra G. 2012. Effect of integrated nutrient management on nutrient uptake, protein content and yield of Fenugreek International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences (*Online*), 2 (1):1-12.
- Ebhin Mastro R, Chhonkar PK, Singh D and Patra AK. 2006. Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical incept soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 1577-1582.
- Girish N and Umesha S. 2005. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on bacterial canker of tomato. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 38: 235-243.
- Glick B. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41: 109-117.
- Gomaa EF. 2008. Effect of biofertilizer cerealine under different levels of nitrogen fertilization on growth yield and anatomy of corn plant (*Zea mays* L.). *Egypt Journal of Applied Sciences*, 23 (4A).
- Graham S. 2003. Nanotech It's not easy being green. *Scientific American*. Com's nanotechnology channel. <http://www.Sciam.com/nanotech>
- Gray EJ and Smith DL. 2005. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant bacterium signalling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 395-412.
- Gyaneshwar P, Naresh Kumar G, Parekh LJ and Poole PS, 2002. Role of soil microorganisms in improving nutrition of plants. *Plant and Soil*, 245: 83-93.
- Han H, Supanjani S and Lee K. 2006. Effect of coin copulation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil Environment*, 52 (3): 130-136.
- Kuo S, Ortiz Escobar ME, Hue NV and Hummel RL. 2004. Composting and compost utilization for agronomic and container crops. In: Pandalai (Ed.). *Recent Research Development and environmental biology*. Res. Signpost. pp. 451-513.
- Lorki S and Akhgar A. 2014. The effect of *Sinorhizobium sp* on yield, nodulation and nitrogen fixation in fuengreek. *Soil biology*, 2(2): 137-148. (In Persian).
- Lucy M, Reed E and Glick BR. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 86: 1-25.
- Lugtenberg B and Kamilova F. 2009. Plant growth promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63: 541-556.
- Mahfouz SA and Sharaf-Eldin MA. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, 21: 361-366.
- Mahler R, Sabbe W and Mapples Rand Hornby Q. 1985. Effect on soybean yield of late soil potassium fertilizer application. *Arkansas Farm Research*, 34: 1-11.
- Marschner H. 1995. *The Mineral Nutrition of Higher Plants*. London: Academic Press.
- Mohammad N and Qamar IA. 1988. Dry matter yield, Root nodulation and nitrogen fixation in 37 varieties of Australian annual medic. *Journal of Agricultural Research*, 9 (3): 390-395.
- Muyayabantu GM, Kadiata BD and Nkongolo KK, 2013. Assessing the effects of integrated soil fertility management on biological efficiency and economic advantages of intercropped maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) in DR Congo, 3 (3): 520-541.
- Nazari M and Fallah S. 2014. Effects of biofertilizers and chemical fertilizer Combination on the Quantity and Quality of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Medicinal Plant. *Plant Products Technology*, 14(2): 77-88. (In Persian).
- Pettigrew W. 1999. Potassium deficiency increases specific leaf weights and leaf glucose levels in field-grown cotton. *Agronomy Journal*, 91: 962-968.

- Rajendran K and Devaraj P. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass and Bioenergy*, 26: 235-249.
- Rizvi R, Mahmood I and Tiyagi SA. 2013. Potential Role of Organic Matters and Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) on the Growth and Productivity of Fenugreek. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15: 639-647.
- Rodelas B, González-López J, Martínez-Toledo MV, Pozo C and Salmerón V. 1999. Influence of Rhizobium/Azotobacter and Rhizobium/Azospirillum combined inoculation on mineral composition of faba bean (*Vicia faba L.*). *Biology and Fertility of Soils*, 29(2): 165-169.
- Rosas SB, Javier A, Andre S, Rovera M and Nestor S. 2006. Phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia legume symbiosis. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 3502-3505.
- Saleem R, Zammurad IA, Ahmed M, Muhammad A, Muhammad AM, Muhammad S and Muhammad AKH. 2011. Response of maize-legume intercropping system to different fertility sources under rained conditions. *Sarhad Journal of Agriculture*, 4(27): 503- 511.
- Selvarajan M and Chezhiyan N. 2001. Effect of Azospirillum in combination with different levels of nitrogen on growth and yield of fenugreek (*Trigonella foenum graecum L.*). *South Indian Horticulture*, 49 (Special): 173-174.
- Shabala S. 2003. Regulation of potassium transport in leaves From molecular to tissue level. *Annual of Botany*, 92: 627-634.
- Sharma SK. 2000. Response of nitrogen and spacing on fenugreek seed production. *Horticultural Journal*, 13 (2): 39-42.
- Shin R and Schachtman D. 2004. Hydrogen peroxide mediates plant root cell response to nutrient deprivation. *National Academy of Science of the USA*, 101: 8827– 8832.
- Singh D, Nepalia V and Sing AK. 2010. Performance of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*) varieties at various fertilizer levels and biofertilizers inoculation. *Indian Journal of Agronomy*, 55(1): 75-78.
- Thapa U, Maity TK. 2004. Influence of nitrogen, phosphorus and number of cutting on seed yield of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*). *Seed Research*, 32 (1): 33-35.
- Vessey JK. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant and Soil*, 255: 571–586.
- Vincent JM. 1970. A manual for the practical study of the root nodule bacteria. I.B.P Handbook 15. Blackwell, Oxford, PP. 120-130.
- Von Uexkull H. 1978. Potash and rice production in Asia. *Potash Review*. Subj. Cereal Crops; 41 st suite, No. 8: 1-6
- Zahir AZ, Arshad M and Frankenberger (jr) WF. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and Application and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81: 97-168.
- Zaidi A, Khan MS and Amlı M. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganism on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum L.*). *European Journal of Agronomy*, 19(1):15-21.