

مقاله پژوهشی:

تأثیر کاربرد کود زیستی حاوی باکتری *Pantoea agglomerans* در مقایسه با کود اوره بر رشد و کیفیت چمن

نادیا امامی^۱، اکبر حسینی^{۲*}، علیرضا واعظی^۳ و محمد بابا اکبری ساری^۲

۱، ۲ و ۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳)

چکیده

کاربرد کودهای زیستی سازگار با محیط زیست و جایگزینی آن با کودهای شیمیایی می‌تواند به‌عنوان یکی از گزینه‌های مدیریت تغذیه‌ای چمن مطرح باشد. در این پژوهش تأثیر کاربرد کود زیستی محتوی باکتری *Pantoea agglomerans* بر رشد و کیفیت چمن و مقایسه آن با کود اوره مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش روی چمن اسپیدی گرین در گلدان و در گلخانه با چهار تیمار کشت چمن به روش متعارف (Gr)، کاربرد کود اوره معادل ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (GrU)، کاربرد باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن *Pantoea agglomerans* (GrPA)، کاربرد باکتری *Pantoea agglomerans* و باکتری‌های تنظیم‌کننده رشد (GrPP) و در سه تکرار انجام شد. طبق نتایج، بیشترین وزن تر در تیمار GrU مشاهده شد. تیمارهای GrPP و GrPA نیز بعد از تیمار اوره تأثیر مثبت بر وزن تر گیاه داشتند. کارایی کود زیستی بر مبنای وزن خشک، در تیمار GrPA و GrPP به ترتیب برابر با ۳۲/۹ و ۱۱/۶ درصد بود. به کار بردن کود زیستی محتوی *Pantoea agglomerans* به تنهایی یا همراه با باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش معنی‌دار کیفیت ظاهری چمن نسبت به تیمار شاهد شد، اما از تیمار کود اوره کمتر بود. کودهای زیستی همچنین در مقایسه با تیمار شاهد سبب افزایش غلظت نیتروژن، پتاسیم، منگنز و روی در برگ‌های چمن شدند. به طور کلی بر اساس نتایج این پژوهش کاربرد باکتری *Pantoea agglomerans* به‌عنوان یک تثبیت‌کننده نیتروژن تأثیر مثبتی بر رشد و کیفیت چمن دارد و می‌توان از آن به‌عنوان جایگزین بخشی از کود اوره استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن، باکتری محرک رشد گیاه، چمن اسپورت، کیفیت چمن.

The effect of application of bio-fertilizer containing *Pantoea agglomerans* compared to urea fertilizer on growth and quality of turfgrass

Nadia Emami¹, Akbar Hassani^{2*}, Ali Reza Vaezi³ and Mohammad Baba Akbari Sari²

1, 2, 3. M. Sc. Graduate, Assistant Professor and Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
(Received: Sept. 08, 2019- Accepted: Jan. 13, 2020)

ABSTRACT

The use of environmentally friendly biofertilizers and their replacement with chemical fertilizers can be one of the options for grass nutrition management. In this study the effect of *Pantoea agglomerans* bacteria on growth and quality of grass and its comparison with urea fertilizer was investigated. This experiment was carried out in greenhouse in pots with four treatments of turfgrass cultivation in a conventional way as control (Gr), application of urea equivalent to 100 kg/ha (GrU), application of nitrogen fixing bacteria of *Pantoea agglomerans* (GrPA), and application of nitrogen fixing bacteria of *Pantoea agglomerans* + PGPR (GrPP) with three replications. The results showed that the highest fresh weight was observed in GrU treatment. GrPA and GrPP treatments also had a positive effect on fresh weight after urea treatment. Biofertilizer efficiency for dry weight in GrPA and GrPP treatments was 32.9 % and 11.6 %, respectively. Application of biofertilizer containing *Pantoea agglomerans* alone or in combination with growth promoting bacteria increased the appearance of grass compared to the control treatment, but was less than urea treatment. Biofertilizers also increased the concentrations of nitrogen, potassium, manganese and zinc in the leaves compared with the control treatment. In general, the results of this study showed that the use of *Pantoea agglomerans* as a nitrogen fixing bacteria has a positive effect on the growth and quality of grass and it can be used as a partial substitute for urea fertilizer.

Keywords: Nitrogen fixing bacteria, plant growth promoting rhizobacteria, PGPR, sport grass.

* Corresponding author E-mail: akbar.hassani@znu.ac.ir

مقدمه

با توجه به توسعه کنونی شهرهای جهان، مفهوم فضای سبز نیز توسعه یافته است. امروزه در شهرها به دلیل فشرده‌گی و تراکم سازه‌ها و پیچیدگی تعاملات اجتماعی و اقتصادی، وجود فضای سبز شهری جهت بهبود آسایش جسمی و روانی و برای کاهش آلودگی هوا نقش مؤثری در زندگی شهری ایفا می‌کند در بین گیاهانی که در ساخت و توسعه فضای سبز استفاده می‌شوند، چمن نقش مهمی ایفا می‌کند به نحوی که امروزه مفهوم فضای سبز بدون در نظر گرفتن گیاه چمن، کاملاً غریب می‌نماید (Cole et al, 2019; Dneshvar Hakimi Meybodi et al., 2012).

یکی از فنون رایج در مدیریت چمن استفاده از کودهای نیتروژنی برای افزایش رشد رویشی و بهبود رنگ چمن می‌باشد. با توجه به نقش نیتروژن بر تولید کلروفیل در چمن، اولین مزیت کاربرد آن پررنگ‌تر شدن و افزایش کیفیت ظاهری آن می‌باشد. کود نیتروژنی همچنین باعث افزایش تولید انواع آمینواسیدها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و ویتامین‌ها در گیاهان می‌شود و به رشد رویشی کمک شایانی خواهد کرد. اگرچه کاربرد بیش از حد کود نیتروژنی موجب سست شدن چمن، رشد رویشی بیش از حد و افزایش آفات و بیماری می‌شود. به طور کلی کاربرد ۵۰ تا ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار برای برای بهبود رشد چمن توسط محققان گزارش شده است (Christians et al, 2016). کاربرد کود اوره همچنین سبب افزایش تولید گاز گلخانه‌ای نیتروس اکساید (N_2O) می‌شود و در مقیاس‌های بزرگ و در طولانی مدت روند گرمایش جهانی را شدت می‌بخشد (Braun & Bremer, 2017). در این بین کاربرد کودهای زیستی سازگار با محیط زیست می‌تواند به‌عنوان یکی از گزینه‌های مدیریت تغذیه‌ای چمن مطرح باشد.

پژوهش‌های محدودی در مورد تأثیر کودهای زیستی بر رشد چمن تاکنون انجام شده است (Gholamipour et al., 2018). برخی پژوهش‌ها تأثیر کود زیستی محتوی تثبیت‌کننده نیتروژن و کود شیمیایی محتوی نیتروژن بر غلظت کلروفیل در چمن را مورد بررسی قرار داده‌اند (Acikgoz et al, 2016; Kuo, 2015). در یک

پژوهش گزارش شده است که کاربرد کودهای زیستی محتوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن قابلیت جایگزینی حداکثر تا ۵۰ درصد کودهای نیتروژنی را دارند (Vance, 1997). طی پژوهشی توسط Kuo (2015)، تأثیر کود زیستی محتوی تثبیت‌کننده نیتروژن و کود شیمیایی محتوی نیتروژن بر غلظت کلروفیل در چمن مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد کاربرد کود زیستی محتوی تثبیت‌کننده نیتروژن و محرک رشد در هفته اول منجر به کاهش غلظت کلروفیل نسبت به تیمار شاهد شد، اما پس از گذشت ۱۰ هفته، غلظت آن از تیمار کود نیتروژنی نیز بیشتر شد. همچنین طی پژوهشی دیگر مشخص شد که باکتری‌های محرک رشد از خانواده باسیلوس، رنگ چمن و رشد رویشی آن را بهبود داده و در برخی گونه‌ها باعث کاهش مصرف کود شیمیایی نیتروژنی شدند (Acikgoz, 2016). با وجود این تحقیقات، به نظر می‌رسد تأثیر کاربرد کودهای زیستی تاملین‌کننده نیتروژن مورد نیاز گیاهان همراه با باکتری‌های محرک رشد به طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته و به بررسی بیشتری نیاز دارد.

باکتری *Pantoea agglomerans* به عنوان یک تثبیت‌کننده نیتروژن، نوعی باکتری گرم منفی میله‌ای بدون اسپور متحرک، دارای بیش از یک تاژک با ابعاد بین ۰/۵ تا ۳ میکرومتر متعلق به شاخه *Proteobacteria* و خانواده *Enterobacteriaceae* می‌باشد که با نام‌های *Erwinia herbicola* و همچنین نیز شناخته می‌شود (Dutkiewicz et al, 2015). برای اولین بار دو سویه از این باکتری که قادر به تثبیت نیتروژن بودند در سال ۱۹۷۷ از روده موربانه‌ها جداسازی شدند (Potrikus & Breznak, 1977). سویه‌های مختلف این باکتری به صورت اندوفیت در داخل ریشه گیاهان و یا چسبیده به سطح ریشه و یا در خاک ریزوسفری زندگی می‌کنند و با تثبیت نیتروژن به صورت آزادی و یا تولید برخی هورمون‌های رشد مانند اکسین و جیبرلین به رشد گیاهان کمک می‌کند (Feng et al, 2001; Verma et al, 2006). همچنین گزارش شده است که این باکتری با تولید برخی ترکیبات آنتی‌بیوتیکی در مقابله با برخی بیماری‌ها به گیاهان

Pseudomonas koreensis و *Pseudomonas putida* و *vancouverensis* بود که جمعیت هرگونه برابر با 10^8 باکتری در هر گرم بود. این سه باکتری با داشتن ویژگی‌هایی مانند تولید سیدروفور (Caron et al., 1995)، کاهش تولید اتیلن در گیاهان (Jacobson et al., 1994)، تولید هورمون رشد (Patten & Glick, 2002; Xie, Pasternak, & Glick, 1996)، افزایش مقاومت گیاهان و مبارزه با عوامل بیماری‌زا (Bernal et al., 2017; Validov et al., 2007) باعث افزایش رشد در گیاهان می‌شوند.

خاک مورد استفاده از یک قطعه زمین بایر متعلق به مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان تهیه شد. برداشت خاک از زمینی انجام شد که تاکنون هیچ‌گونه کود شیمیایی و آلی در آن استفاده نشده بود. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. گلدان‌های استفاده شده در این تحقیق از جنس پلی اتیلن با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۵ سانتی-متر بود. برای جلوگیری از خروج خاک و زهکشی مناسب، در سطح زیرین هر گلدان مقداری شن بادی ریخته شد. پس از انتخاب خاک مناسب، مقداری از آن به شکل همگن به گلخانه منتقل شد. گلدان‌ها با ۸ کیلوگرم خاک عبور داده شده از الک ۲ میلی‌متری پر شدند. پس از آماده شدن گلدان‌ها، کشت بذر چمن به مقدار ۲۵ گرم در متر مربع در آنها انجام شد. در تیمارهای کود زیستی، قبل از کاشت، تلقیح باکتری با بذر به صورت بذرمال انجام شد. پس از کاشت بذرها، یک بار آبیاری صورت گرفت. پس از سبز شدن چمن‌ها، تیمارهای کود اوره و کود زیستی مورد نظر همراه با آب آبیاری اعمال شدند. کل دوره آزمایش شش ماه بود.

وزن تر و خشک

وزن تر و خشک از روز بیستم پس از کاشت هر ۱۵ روز یک‌بار تا پایان دوره آزمایش اندازه‌گیری شد (۱۰ مرتبه). جهت اندازه‌گیری وزن تر با استفاده از قیچی در ارتفاع حدود ۴ سانتیمتری از واحدهای آزمایشی سربرداری صورت گرفت و وزن تر چمن با ترازو اندازه‌گیری شد. چمن‌های تازه وارد پاکت‌های مخصوص شده و در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس

کمک می‌کند (Stockwell et al, 2002). از این باکتری در این پژوهش به‌عنوان یک باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن آزادزی استفاده شد. به‌طور کلی، هدف از این پژوهش تأثیر کاربرد کودهای زیستی محتوی باکتری پانتوا آگلومرانز بر رشد و کیفیت چمن و مقایسه آن با کود اوره به منظور کاهش مصرف کود شیمیایی و کمک به حفظ محیط زیست بود.

مواد و روش‌ها

تیمارها و نحوه آزمایش

برای بررسی تأثیر کود زیستی بر برخی از خصوصیات چمن مورد نظر، آزمایشی در محل گلخانه گروه علوم خاک دانشگاه زنجان انجام شد. طرح آزمایش مورد استفاده به صورت کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار اجرا شد که در آن تیمار اول شامل کشت چمن به روش متعارف در فضای سبز شهری (شاهد، Gr)، تیمار دوم کشت چمن همراه با کاربرد کود اوره معادل ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (GrU)، تیمار سوم نیز شامل کاربرد باکتری *Pantoea agglomerans* و تیمار چهارم شامل تیمار سوم + کاربرد باکتری‌های محرک رشد (GrPP) بود. هر تیمار در سه تکرار (هر تیمار سه گلدان مشابه) و در نهایت جامعه آماری شامل ۱۲ گلدان بود. بذر مورد استفاده در این تحقیق بذر اسپیدی گرین شرکت بارنبروگ (Barenbrug) مخلوط سه رقم بذری باربال، باراژ و بارتینگو انتخاب گردید. کودهای زیستی مورد نظر از آزمایشگاه فنی شرکت زیست فناور سبز تهیه شد. کود زیستی تثبیت‌کننده نیتروژن محتوی باکتری *Pantoea agglomerans* با جمعیت 10^9 باکتری در هر گرم بود. مقدار توصیه شرکت سازنده هرکدام از این کودها برابر با یک بسته ۱۰۰ گرمی در هر هکتار به صورت بذرمال و همراه با آب آبیاری بود. در بذرمال نمودن بذرها یک گرم از هر مایه تلقیح با یک لیتر آب کاملاً مخلوط شده و حدود ۲۰ میلی لیتر آن به ۱۰۰ گرم از بذرها اسپری شد. کود زیستی محتوی باکتری‌های محرک رشد شامل باکتری‌های

تجزیه آماری صفات و مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۷ استفاده شد.

جدول ۱. برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده در این

آزمایش

Table 1. Some soil properties used in this research

Soil properties	Value
Sand (percent)	61
Clay (percent)	11
Total N (percent)	0.021
P (mg kg ⁻¹) available	10.2
K (mg kg ⁻¹)	285
EC (dS m ⁻¹)	2.3
pH	7.45
Soil organic carbon (percent)	0.24
Equivalent calcium carbonate (percent)	12.2

نتایج و بحث

اعمال تیمارهای کود زیستی و اوره روی برخی ویژگی‌های کمی و کیفی تأثیر معنی‌داری داشت. مقدار تراکم، ارتفاع چمن و کیفیت ظاهری در تیمارهای مختلف در سطح یک درصد و سایر ویژگی‌های کمی (وزن تر، وزن خشک، درصد رطوبت و عرض برگ) در سطح پنج درصد با هم تفاوت داشتند (جدول ۲). نتایج مربوط به عناصر غذایی در اندام‌های هوایی در جدول ۲ نشان داد که مقدار نیتروژن و کلسیم در نتیجه اثر تیمارهای کود زیستی و اوره در سطح یک درصد و عناصر پتاسیم، روی و منگنز در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین تأثیر نتیجه تیمارهای کود زیستی و اوره بر روی کلروفیل a در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر تیمارهای کود زیستی و اوره روی سایر ویژگی‌های مورد بررسی در گیاه تأثیر معنی‌دار نداشت.

تأثیر تیمارهای کود زیستی و اوره بر روی ویژگی‌های

کمی رشد

نتایج جدول ۳ میزان تأثیر هر تیمار بر ویژگی‌های کمی رشد (وزن تر، وزن خشک، درصد رطوبت و ارتفاع) را نشان می‌دهد. بیشترین وزن تر در تیمار GrU (کود اوره) مشاهده شد. همچنین تیمارهای GrPP و (*Pantoea agglomerans*) GrPA و (*Pantoea agglomerans*) GrPP + محرک رشد) بیشترین اثر را بعد از

خشک شدند و در نهایت وزن خشک آنها نیز اندازه‌گیری شد. این عمل تا پایان دوره آزمایش تکرار شد تا وزن کل چمن تر و خشک تولید شده محاسبه شود.

کیفیت ظاهری چمن

ارزیابی رنگ ظاهری از طریق کیفی توسط ارزیاب باتجربه و با استفاده از روش Morris (2002) انجام شد (Morris, 2002). بدین منظور هر هفته ساعت ۱۰ صبح و بر اساس برنامه ملی ارزیابی چمن امریکا انجام شد. جهت حرکت ارزیاب در تمام تکرارها یکسان بود و از شماره ۱ تا ۹ درجه‌بندی صورت گرفت به نحوی که با افزایش درجه کیفیت نیز بهتر می‌شد. این عمل ۵ مرتبه در طول دوره انجام شد و میانگین آن در نظر گرفته شد. غلظت کلروفیل a، b و کل نیز به روش استون (Sumanta et al., 2014)، قبل از هر بار چیدن (۱۰ مرتبه) در طول دوره اندازه‌گیری شد و مقدار میانگین آن در نظر گرفته شد.

برای اندازه‌گیری تراکم چمن قبل از چیدن در هر مرحله، تعداد برگ‌های موجود در هر گلدان شمارش شد. برای اندازه‌گیری عرض برگ چمن قبل از چیدن، به طور میانگین از هر گلدان ۲۰ برگ به طور تصادفی چیده شده و عرض آنها با خط‌کش اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری ارتفاع چمن قبل از چیدن، به طور تصادفی از هر گلدان ۲۰ چمن انتخاب شده و ارتفاع آنها اندازه‌گیری شد. ارتفاع میانگین چمن محاسبه شد.

غلظت عناصر غذایی

در پایان آزمایش همه نمونه‌های خشک جمع‌آوری شده، با یکدیگر کاملاً مخلوط و آسیاب شد و اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی در آن نمونه شامل عناصر پر مصرف نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و عناصر کم مصرف آهن، روی، مس و منگنز به روش هضم تر و خشک انجام شد (Kalra, 1997). در نهایت کارایی کودهای زیستی استفاده شده نیز بر اساس رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه (۱) = کارایی کود زیستی

وزن خشک در تیمار شاهد - وزن خشک در تیمار کود زیستی

وزن خشک در تیمار شاهد - وزن خشک در تیمار کود اوره

بیشتر از کودهای زیستی روی رشد چمن تأثیرگذار بود پس از آن کودهای زیستی بر رشد چمن مؤثر بودند. کارایی کود زیستی بر مبنای معادله ۱ در تیمار سوم ۳۲/۹ درصد و در تیمار چهارم ۱۱/۶ درصد بود.

از آنجایی که عنصر نیتروژن به عنوان یکی از عناصر ضروری مورد نیاز گیاهان، نقش بسیار مهمی در افزایش رشد رویشی گیاهان دارد، لذا تأثیر چشم‌گیر کود اوره بر رشد رویشی چمن کاملاً منطقی می‌باشد. همچنین بر اساس نتایج به‌دست‌آمده تأثیر کودهای زیستی نیز اگرچه از اوره کمتر بود، اما نسبت به تیمار شاهد تأثیر مثبت و معنی‌دار داشتند. تأثیر باکتری *Pantoea Agglomerans* به‌تنهایی در تامین نیتروژن مورد نیاز چمن و افزایش رشد آن بیشتر از تأثیر آن همراه با باکتری‌های محرک رشد بود. به نظر می‌رسد رقابت احتمالی باکتری‌های محرک رشد در خاک و ریزوسفر ریشه با باکتری *Pantoea Agglomerans*، از تأثیرگذاری آن کاسته باشد.

تیمار اوره بر روی وزن تر گیاه داشتند. تیمارهای GrPP و GrPA از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند. همین روند در مورد نتایج وزن خشک چمن تکرار شد و در آن تیمار GrU به دلیل استفاده از کود شیمیایی اوره بیشترین تأثیر را بر روی وزن خشک چمن داشت. بیشترین ارتفاع چمن در تیمار اوره و پس از آن در تیمارهای کود زیستی مشاهده شد.

با توجه به جدول ۳، درصد رطوبت به‌دست‌آمده در تیمارهای کود زیستی و اوره نشان دهنده این است که تیمارهای GrU و GrPA از لحاظ آماری نسبت به تیمار شاهد (Gr) تفاوت معنی‌دار داشتند و درصد رطوبت در آنها بیشتر بود. مصرف کود شیمیایی اوره و کود زیستی محتوی *Pantoea Agglomerans* به ترتیب با ۸/۳۴ و ۷/۵۱ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد بیشترین اثر را بر روی درصد رطوبت چمن داشت. به‌طورکلی، نتایج نشان داد که کاربرد کود اوره

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر کود زیستی و اوره بر ویژگی‌های رشد چمن.

Table 2. Results of variance analysis effect of biofertilizer and urea on the characteristics of grass growth.

Source of variation	df	Means of square									
		Fresh weight	Dry weight	Moisture content	Height	Visual turf quality	Density	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Leaf width
Biofertilizer and urea		1549.9*	12.48*	28.29*	10.08**	9.32**	36498**	9.34**	4.55ns	10.11**	0.75*
Error		400.72	1.82	10.05	1.33	1.21	654	0.73	4.41	2.43	0.18
CV (%)		18.87	18.20	3.67	12.11	7.3	14.14	12.85	13.74	9.67	23.18

ns, *, **: به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.
ns, *, **: Non-Significantly difference and Significantly difference at 5 and 1% of probability levels, respectively.

ادامه جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر کود زیستی و اوره بر ویژگی‌های رشد چمن.

Continued table 2. Results of variance analysis effect of biofertilizer and urea on the characteristics of grass growth.

Source of variation	df	Means of square									
		Na	K	P	N	Fe	Zn	Mn	Cu	Ca	Mg
Biofertilizer and urea		0.0007ns	0.0718*	0.0003ns	0.0619**	6205ns	72.22*	192.97*	2.53ns	0.0085**	0.0005ns
Error		0.0020	0.0093	0.0024	0.0025	6205	13.57	47.25	2.33	0.0007	0.0004
CV (%)		15.19	5.82	22.17	4.96	20.94	7.67	14.34	19.06	3.68	10.19

ns, *, **: به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.
ns, *, **: Non-Significantly difference and Significantly difference at 5 and 1% of probability levels, respectively.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر کود زیستی و اوره بر برخی ویژگی‌های مرتبط با رشد چمن.

Table 3. Mean comparison effect of biofertilizer and urea on some grass growth properties.

Biofertilizer and urea	Fresh weight (g per pot)	Dry weight (g per pot)	Moisture (percent)	Plant height (cm)
Gr	35.10 c	5.28 b	81.84 b	7.3 c
GrU	87.36 a	9.84 a	88.67 a	9.6 a
GrPA	56.13 b	6.78 b	87.99 a	8.1 b
GrPP	44.61 b	5.81 b	86.30 ab	8.3 b

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

In each column means followed by at least a common letter, are not statistically different at 5% probability level

a و کلروفیل کل در این تیمار مشاهده شد. در پژوهشی در تأیید این نتایج، Hokmalipour (2017) گزارش کرد که با افزایش کاربرد کود نیتروژنی شاخص کلروفیل به طور معنی داری در نعنای افزایش یافت، به طوری که بالاترین سطح کلروفیل مشاهده شده در نعنای مربوط به کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص به صورت کود اوره بود (Hokmalipour, 2017). Mirshekari et al. (2009) نیز بیشترین تأثیر کود اوره را در کلروفیل ذرت هیبریدی ۷۰۴ گزارش کردند (Mirshekari et al., 2009) که هم راستا با نتایج این تحقیق می باشد.

به کاربرد کود باکتری‌های محرک رشد نیز موجب افزایش معنی دار کلروفیل a و کلروفیل کل نسبت به شاهد شد، اما از تیمار کود اوره کمتر بود. تیمارهای GrPP و GrPA در مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل با هم یکسان بوده و تفاوت آنها از نظر آماری معنی دار نبود. اثر تیمارهای کود زیستی و اوره بر مقدار کلروفیل b از نظر آماری در سطح پنج درصد معنی دار نبود.

در تطابق با نتایج این قسمت از پژوهش، Kuo (2015) تأثیر کود زیستی محتوی تثبیت کننده نیتروژن و کود شیمیایی محتوی نیتروژن بر غلظت کلروفیل در چمن را مورد بررسی قرار داد و گزارش نمود که کاربرد کود زیستی محتوی تثبیت کننده نیتروژن و محرک رشد در هفته اول منجر به کاهش غلظت کلروفیل نسبت به تیمار شاهد شد، اما پس از گذشت ۱۰ هفته، غلظت آن از تیمار کود نیتروژنی نیز بیشتر شد (Kuo, 2015). همچنین طی پژوهشی مشخص شد که باکتری‌های محرک رشد از خانواده *Bacillus*، رنگ چمن و رشد رویشی آن را بهبود داده و در برخی گونه‌ها باعث کاهش مصرف کود شیمیایی نیتروژنی شد (Acikgoz et al., 2016).

نتایج به دست آمده در مورد عرض برگ نشان داد به کاربرد کود زیستی محتوی *Pantoea agglomerans* هم‌زمان با باکتری‌های محرک رشد در تیمار GrPP موجب افزایش عرض برگ چمن نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تفاوت این مقادیر در تیمارهای GrPA و GRPP از لحاظ آماری در سطح پنج درصد معنی دار نبود.

تأثیر مثبت کود زیستی تثبیت کننده نیتروژن در تحقیقات گذشته نیز گزارش شده است. در پژوهشی Feng et al. (2006) افزایش رشد برنج تلقیح شده با باکتری پانتوآ آگلومرانز را گزارش نمودند (Feng et al., 2006). Hokmalipour (2017) اثر کود نیتروژن به شکل اوره و باکتری ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپریلوم را روی نعنای فلفلی بررسی نمود و گزارش کرد که در تلقیح با ازتوباکتر و آزوسپریلوم، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر برگ و وزن تر و خشک کل بوته به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافتند (Hokmalipour, 2017). افزایش وزن تر بخش‌های هوایی بوته به دنبال کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاهی توسط سایر پژوهش‌گران نیز گزارش شده است (Çakmakçı et al., 2010; Dobbelaere et al., 2002; Hamidi et al., 2011).

تأثیر تیمارهای کود زیستی و اوره بر کیفیت چمن
تأثیر تیمارها بر برخی ویژگی‌های مرتبط با کیفیت چمن (کیفیت ظاهری، تراکم، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و عرض برگ) در جدول ۴ ارائه شده است. بیشترین درجه کیفیت ظاهری در تیمار کود اوره (GrU) مشاهده شد. پس از تیمار اوره بیشترین کیفیت ظاهری در دو تیمار کود زیستی مشاهده شد. درجه کیفیت ظاهری در دو تیمار کود زیستی با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند. در مورد تراکم چمن، به کار بردن کود اوره و یا کود زیستی تأثیر یکسانی بر تراکم برگ چمن داشت. در هر سه تیمار کودی تراکم برگ چمن نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. این نتایج در تطابق با نتایج Yousefzadeh et al. (2013) بود که گزارش کردند استفاده از کود زیستی باعث افزایش تراکم (تعداد برگ) در گیاه بادربشی شده است (Yousefzadeh et al., 2013). به نظر می‌رسد استفاده از باکتری *Pantoea Agglomerans* با افزایش پنجه‌زنی و جوانه‌زنی، به تراکم بیشتر چمن کمک کرده است.

بر اساس نتایج به دست آمده (جدول ۴)، به کاربرد کود اوره نسبت به سایر تیمارها بیشترین تأثیر را بر روی میزان کلروفیل چمن داشت و بیشترین مقدار کلروفیل

همچنین گزارش شده است که تلقیح ذرت با باکتری‌های محرک رشد گیاه (*Azotobacter* و *Azospirillum*) سبب افزایش معنی‌دار مقدار نیتروژن گیاه در مقایسه با شاهد شده است (Biari et al., 2011). به طور کلی به نظر می‌رسد باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن همراه با باکتری‌های محرک رشد با ترکیبی از اعمال تثبیت نیتروژن اتمسفری و همچنین تحریک ریشه‌های گیاه به جذب و انتقال بیشتر نیتروژن به برگ چمن کمک کرده‌اند.

بیشترین غلظت پتاسیم برگ در تیمار سوم که کود زیستی *Pantoea agglomerans* به کار برده شده است ۲۴/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است و در تیمار چهار غلظت پتاسیم برگ به دلیل استفاده از باکتری PGPR ۲۱/۵ نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت و تیمار GrU با مصرف کود شیمیایی اوره ۱۴/۵ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۵).

تأثیر مثبت باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن بر جذب پتاسیم توسط گیاه از خاک توسط برخی پژوهش‌گران نیز گزارش شده است. Dordipour et al. (2011) تأثیر *Azotobacter* و *Azospirillum* را بر غلظت پتاسیم برگ مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که غلظت پتاسیم در گیاهان تلقیح‌شده با *Azotobacter* بیشتر از گیاهان تلقیح‌شده با *Azospirillum* و تیمار بدون باکتری بود (Dordipour et al., 2011).

تأثیر تیمارهای کود زیستی و اوره بر غلظت عناصر پرمصرف در برگ چمن

تأثیر تیمارهای کود زیستی و اوره بر غلظت عناصر پرمصرف در برگ چمن در جدول ۵ مشاهده می‌شود. نتایج مربوط به مقادیر نیتروژن برگ نشان‌دهنده تأثیر بالای کود اوره بر افزایش غلظت نیتروژن برگ است. همچنین کاربرد باکتری *Pantoea agglomerans* به تنهایی (۶/۶ درصد) و یا همراه با باکتری‌های محرک رشد (۹/۲ درصد) سبب افزایش معنی‌دار غلظت نیتروژن برگ نسبت به تیمار شاهد شد. این نتایج با یافته‌های Cakmakci et al. (2007) در تلقیح بذور جو با ازتوباکتر و Amiri et al. (2013) با کاربرد کودهای زیستی بر روی گندم مطابقت داشت (Amiri et al., 2007; Cakmakci et al., 2013). همچنین Amirabadi et al. (2012) گزارش نمودند که استفاده از باکتری تثبیت‌کننده *azotobacter chroococcum* و قارچ میکوریزی تأثیر مثبت در افزایش نیتروژن ذرت علوفه‌ای داشت. آنان به‌همین دلیل پیشنهاد نمودند که می‌توان به‌منظور جلوگیری از آلاینده‌گی خاک‌های کشاورزی و منابع آبی استفاده از باکتری *Azotobacter chroococcum* را توصیه نمود (Amirabadi et al., 2012). در پژوهشی دیگر روی ذرت نیز گزارش شد که غلظت نیتروژن گیاه ذرت تحت تأثیر مثبت تلقیح باکتری‌های محرک رشد به همراه کودهای شیمیایی قرار گرفته بود (Mokhtari & Besharati, 2013).

جدول ۴. مقایسه میانگین کود زیستی و اوره بر برخی ویژگی‌های کیفی چمن.

Table 4. Mean comparison effect of biofertilizer and urea on some grass quality properties.

Biofertilizer and urea	Visual turf quality	Density (number per pot)	Leaf width (mm)	Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)
Gr	6.21 c	188 c	1.54 b	4.58 c	3.32 a	7.90 c
GrU	7.64 a	279 b	1.30 b	7.86 a	3.43 a	11.29 a
GrPA	7.11 b	307 ab	1.89 ab	6.34 b	2.89 a	9.23 b
GrPP	6.95 b	323 ab	2.45 a	6.92 b	3.38 a	10.30 b

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

In each column means followed by at least a common letter, are not statistically different at 5% probability level

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر کود زیستی و اوره بر غلظت عناصر پرمصرف در برگ چمن.

Table 5. Mean comparison effect of biofertilizer and urea on macronutrients of grass leaves.

Biofertilizer and urea	N (%)	K (%)	P (%)	Ca (%)	Mg (%)	Na (%)
Gr	2.40 c	1.44 b	0.23 a	0.81 a	0.20 a	0.14 a
GrU	2.75 a	1.65 a	0.21 a	0.68 c	0.17 a	0.13 a
GrPA	2.56 b	1.79 a	0.22 a	0.77 ab	0.19 a	0.12 a
GrPP	2.62 b	1.75 a	0.22 a	0.75 b	0.19 a	0.11 a

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

In each column means followed by at least a common letter, are not statistically different at 5% probability level

گیاهان می‌شود (Najafi et al., 2014). به‌طور کلی، به‌نظر می‌رسد جذب نیتروژن اضافی باعث افزایش رشد رویسی برگ چمن شده و غلظت کلسیم برگ را کاهش داده است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده (جدول ۵) تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر برگ، منیزیم برگ و سدیم برگ در چمن معنی‌دار نبود.

تأثیر تیمارهای کود زیستی و اوره بر غلظت عناصر کم‌مصرف در برگ چمن

نتایج مربوط غلظت عناصر کم‌مصرف برگ در جدول ۶ نشان می‌دهد که با به‌کاربردن کود زیستی نیتروژن *Pantoea agglomerans* به‌تنهایی در تیمار GrPA و یا همراه با کودهای محرک رشد در تیمار GrPP، غلظت منگنز برگ چمن افزایش معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد (Gr) داشت و بیشترین غلظت آن در تیمار GrPP دیده شد. در تطابق با نتایج این پژوهش، Dursun et al (2010) بیان نمودند که باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش منگنز در خیار و گوجه شد (Dursun et al., 2010). همچنین Karakurt & Aslantas (2010) بیان کردند که باکتری‌های *Pseudomonas putida* و *Bacillus* باعث افزایش جذب عناصر غذایی در گیاهان می‌شوند (Karakurt & Aslantas, 2010).

همچنین نتایج مربوط به عناصر کم مصرف در جدول ۶ نشان می‌دهد بکاربردن باکتری *Pantoea agglomerans* به‌تنهایی سبب افزایش غلظت عنصر روی در برگ نشد، اما کاربرد آن همراه با باکتری‌های محرک رشد در تیمار GrPP سبب افزایش معنی‌دار غلظت عنصر روی در برگ نسبت به تیمار شاهد شد. کاربرد کود اوره نیز موجب افزایش معنی‌دار غلظت روی در برگ نشد. همچنین جدول ۵ عناصر نشان می‌دهد که اثر تیمارهای کود زیستی و اوره بر غلظت عناصر مس و آهن برگ معنی‌دار نبود.

همچنین غلظت پتاسیم در گیاهان در تیمار *Azospirillum* به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار بدون باکتری بود. همچنین گزارش شد که با اضافه‌کردن باکتری *Bacillus edaphicus* به خاک، غلظت پتاسیم در پنبه ۳۱ تا ۳۴ درصد و در کلزا ۲۸ تا ۳۱ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت (Sheng, 2005) و جذب بیشتر عناصر غذایی به وسیله گیاهان تلقیح شده با باکتری را به تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (اکسین) در نزدیک ریشه گیاه توسط باکتری نسبت داده شد که این امر باعث توسعه رشد ریشه و در نتیجه جذب بهتر آب و عناصر غذایی از خاک می‌شود. نتایج مربوط به عنصر کلسیم در جدول ۵ نشان می‌دهد بیشترین غلظت کلسیم برگ در تیمار Gr که در آن هیچ‌گونه کودی استفاده نشده بود، دیده شد. کمترین غلظت کلسیم برگ نیز در تیمار کود اوره دیده شد. به نظر می‌رسد کاربرد کود نیتروژنی بر غلظت کلسیم برگ تأثیرگذار بوده و آن را کاهش داده است. کود زیستی تثبیت‌کننده نیتروژن نیز غلظت کلسیم برگ را اندکی کاهش داد، اما به اندازه کود اوره نبود. بر خلاف نتایج به دست آمده در این پژوهش (Asghari et al 2014) در تحقیقات خود بر روی برنج رقم هاشمی گزارش کردند باکتری‌های محرک رشد بر غلظت کلسیم برگ اثر معنی‌دار و مثبت داشت (Asghari et al, 2014). همچنین گزارش شده است که جذب کلسیم به دلیل اکسین در گیاهچه‌های پنبه تلقیح شده با *Pseudomonas* افزایش داشته است (Yao et al., 2010). این موضوع روی توت فرنگی نیز دیده شده است (Esitken et al., 2010). در همین راستا Karlidag et al. (2007) گزارش کردند *Pseudomonas* سبب افزایش جذب کلسیم در گیاه می‌شود (Karlidag et al., 2007). اگرچه Najafi (2014) گزارش نمودند که افزایش غلظت آمونیم در محلول موجب کاهش جذب کلسیم توسط

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر کود زیستی و اوره بر غلظت عناصر کم‌مصرف برگ چمن.

Table 6. Mean comparison effect of biofertilizer and urea on micronutrients of grass leaves.

Biofertilizer and urea	Fe (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)
Gr	373 a	36 b	46 b	6.6 a
GrU	356 a	49 ab	46 b	7.6 a
GrPA	354 a	51 a	45 b	8.3 a
GrPP	368 a	55 a	55 a	6.3 a

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

In each column means followed by at least a common letter, are not statistically different at 5% probability level

نتیجه‌گیری کلی

درصد و در تیمار *Pantoea agglomerans* + باکتری‌های محرک رشد ۱۱/۶ درصد بود. کودهای زیستی همچون سبب افزایش غلظت نیتروژن، پتاسیم، منگنز و روی در برگ‌های چمن شد. بر اساس نتایج این پژوهش احتمالاً می‌توان استفاده از کود زیستی تثبیت‌کننده نیتروژن محتوی باکتری *Pantoea agglomerans* را در برنامه تغذیه گیاه چمن به عنوان جایگزین بخشی از کود نیتروژنی قرار داد.

به‌طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد کود اوره بیشتر از کودهای زیستی روی رشد چمن و کیفیت ظاهری آن تأثیرگذار بود. به‌کاربردن کود زیستی نیتروژنی *Pantoea agglomerans* به تنهایی یا همراه با باکتری‌های محرک رشد نیز سبب افزایش رشد و کیفیت ظاهری چمن شد. کارایی کود زیستی بر مبنای وزن خشک چمن در تیمار *Pantoea agglomerans* ۳۲/۹

REFERENCES

- Acikgoz, E., Bilgili, U., Sahin, F. & Guillard, K. (2016). Effect of plant growth-promoting *Bacillus* sp. on color and clipping yield of three turfgrass species. *Journal of Plant Nutrition*, 39(10), 1404-1411.
- Amirabadi, M., Seifi, M., Rejali, F. & Ardakani, M. R. (2012). Study the concentration of macroelements in forage mays (*Zea mays* L.) (SC 704) as effected by inoculation with mycorrhizal fungi and *Azotobacter chroococcum* under different levels of nitrogen. *Agroecology*, 4(1), 33-40. (in Farsi).
- Amiri, M. B., Moghaddam, P. R., Ghorbani, R., Fallahi, J., Fard, R. D. & Poor, F. F. (2013). Effects of Seed Priming by Biofertilizers on Growth Characteristics of three Wheat Cultivars at the Emergence Period under Greenhouse Conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11(1), 64-72. (in Farsi).
- Asghari, J., Ehteshami, S. M. R., Rajabi Darvishan, Z., & Khavazi, K. (2014). Study of Root Inoculation with Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) and Spraying with Their Metabolites on Chlorophyll Content, Nutrients Uptake and Yield in Rice (Hashemi cultivar). *Journal of Sol Biology*, 2(1), 21-31. (in Farsi).
- Bernal, P., Allsopp, L. P., Filloux, A. & Llamas, M. A. (2017). The *Pseudomonas putida* T6SS is a plant warden against phytopathogens. *The ISME Journal*, 11(4), 972.
- Biari, A., Gholami, A. & Rahmani, H. A. (2011). Effect of Different Plant Growth Promotion Bacteria (*Azotobacter*, *Azospirillum*) on Growth Parameters and Yield of Field Maize. *Journal of Water And Soil*, 25(1), 1-10. (in Farsi).
- Braun, R. & Bremer, D. (2017). Nitrous Oxide Emissions and Carbon Sequestration in Turfgrass: Effects of Irrigation and Nitrogen Fertilization (Year 2). *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 3(4), 10-10.
- Cakmakci, R., Dönmez, M. F. & Erdoğan, Ü. (2007). The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacterial counts. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31(3), 189-199.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M. F., Ertürk, Y., Erat, M., Haznedar, A. & Sekban, R. (2010). Diversity and metabolic potential of culturable bacteria from the rhizosphere of Turkish tea grown in acidic soils. *Plant and Soil*, 332(1-2), 299-318.
- Caron, M., Patten, C., Ghosh, S. & Glick, B. (1995). Effects of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 on the physiology of canola roots. In: *Proceedings of Plant Growth Regulator Society of America Annual Meeting* 22, 297-302.
- Christians, N. E., Patton, A. J., & Law, Q. D. (2016). *Fundamentals of Turfgrass Management*: John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.
- Cole, H. V., Triguero-Mas, M., Connolly, J. J. & Anguelovski, I. (2019). Determining the health benefits of green space: Does gentrification matter? *Health & Place*, 57, 1-11.
- Dneshvar Hakimi Meybodi, N., Kafi, M., Nikbakht, A. & Rejali, F. (2012). The Effect of Humic Acid on Some Qualitative and Quantitative Traits of Speedygreen Turfgrass. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 42(4), 403-412.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y. & Vanderleyden, J. (2002). Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biology and Fertility of Soils*, 36(4), 284-297.
- Dordipour, E., Farshadirad, A. & Arzaneh, M. H. (2011). Effect of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum lipoferum* on the release of soil potassium in pot culture of soybean (*Glycine max* var. Williams). *Agroecology*, 2(4), 593-599. (in Farsi).
- Dursun, A., Ekinci, M. & Dönmez, M. F. (2010). Effects of foliar application of plant growth promoting bacterium on chemical contents, yield and growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 42(5), 3349-3356.

17. Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M. & Milanowski, J. (2015). *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part I. Deleterious effects: Dust-borne endotoxins and allergens—focus on cotton dust. *Annals of Agricultural Environment Medicine*, 22(4), 576-588.
18. Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Donmez, M. F., Turan, M. & Gunes, A. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae*, 124(1), 62-66.
19. Feng, Y., Shen, D. & Song, W. (2006). Rice endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 promotes host plant growth and affects allocations of host photosynthates. *Journal of Applied Microbiology*, 100(5), 938-945.
20. Gholamipour Fard, K., Zakizadeh, H., Ghasemzadeh, M., Kafi, M. & Rejali, F. (2018). The study of morphological and biochemical responses of some mycorrhizae-inoculated turfgrass species to lead stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(1), 57-68.
21. Hamidi, A., Chookan, R., AsgharZadeh, A., DehghanShoar, M., Ghalavand, A. & Malakouti, M. (2011). Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Dry Matter Partitioning of Late Maturing Maize (*Zea mays* L.) Hybrids. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 41(4), 665-675. (in Farsi).
22. Hokmalipour, S. (2017). Evaluate the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and nitrogen fertilizer on yield and some agronomic and physiological traits of medicinal plant of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Plant Ecophysiology*, 9(28), 133-144. (in Farsi).
23. Jacobson, C. B., Pasternak, J. & Glick, B. R. (1994). Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Canadian Journal of Microbiology*, 40(12), 1019-1025.
24. Kalra, Y. (1997). *Handbook of reference methods for plant analysis*. London: CRC press.
25. Karakurt, H. & Aslantas, 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.
26. Karlidag, H., Esitken, A., Turan, M. & 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(1), 16-20.
27. Kuo, Y. J. (2015). Effects of fertilizer type on chlorophyll content and plant biomass in common Bermuda grass. *African Journal of Agricultural Research*, 10(42), 3997-4000.
28. Maggiotto, S., Webb, J., Wagner-Riddle, C. & Thurtell, G. (2000). Nitrous and nitrogen oxide emissions from turfgrass receiving different forms of nitrogen fertilizer. *Journal of Environmental Quality*, 29(2), 621-630.
29. Mirshekari, B., Baser, S., & Javanshir, A. (2009). Effect of seed inoculation with nitragin and different levels of urea on physiological traits and biologic yield of maize, cv. 704 grown in cold and semi-arid regions. *New Finding in Agriculture*, 3(4), 403-411. (in Farsi).
30. Mokhtari, M. & Besharati, H. (2013). Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria on Yield and Chemical Composition of Corn Plants. *Iranian Journal of Soil Research*, 27(4), 619-628. (in Farsi).
31. Morris, K. (2002). National bentgrass (fairway/tee) tests 1999-2002 data. National Turfgrass Evaluation Program, Beltsville, Maryland. Yield. Comm. *Soil Plant Analysis*, 38, 921-933.
32. Najafi, N., Parsazadeh, M., Tabatabaei, S. & Oustan, S. (2014). Effects of Nitrogen Form and pH of Nutrient Solution on the Uptake and Concentrations of Potassium, Calcium, Magnesium and Sodium in Root and Shoot of Spinach Plant. *Water and Soil Science*, 20(2), 111-131. (in Farsi)
33. Patten, C. L. & Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and environmental microbiology*, 68(8), 3795-3801.
34. Potrikus, C. & Breznak, J. A. (1977). Nitrogen-fixing Enterobacter agglomerans isolated from guts of wood-eating termites. *Applied and Environmental Microbiology*, 33(2), 392-399.
35. Sheng, X. (2005). Growth promotion and increased potassium uptake of cotton and rape by a potassium releasing strain of *Bacillus edaphicus*. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(10), 1918-1922.
36. Stockwell, V., Johnson, K., Sugar, D. & Loper, J. (2002). Antibiosis contributes to biological control of fire blight by *Pantoea agglomerans* strain Eh252 in orchards. *Phytopathology*, 92(11), 1202-1209.
37. Sumanta, N., Haque, C. I., Nishika, J. & Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric analysis of chlorophylls and carotenoids from commonly grown fern species by using various extracting solvents. *Research Journal of Chemical Sciences*, 4(9), 63-69.
38. Validov, S., Kamilova, F., Qi, S., Stephan, D., Wang, J., Makarova, N. & Lugtenberg, B. (2007). Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in stonewool substrate. *Journal of Applied Microbiology*, 102(2), 461-471.
39. Vance, C. P. (1997). Enhanced agricultural sustainability through biological nitrogen fixation. *Biological fixation of nitrogen for ecology and sustainable agriculture*, 39, 179-186.
40. Verma, S. C., Ladha, J. K. & Tripathi, A. K. (2001). Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, 91(2), 127-141.

41. Xie, H., Pasternak, J., & Glick, B. R. (1996). Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Current Microbiology*, 32(2), 67-71.
42. Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem, I., & Li, C. (2010). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *European Journal of Soil Biology*, 46(1), 49-54.
43. Yousefzadeh, S., Modarres-Sanavy, S. A. M., Sefidkon, F., Asgarzadeh, A., Ghalavand, A., Roshdi, M., & Safaralizadeh, A. (2013). Effect of biofertilizer, azocompost and nitrogen on morphologic traits and essential oil content of *Dracocephalum moldavica* L. in two regions of Iran. *Scientific Journal Management System*, 29(2), 438-459. (in Farsi).