نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار/ جلد ۲۸ شماره۲/ تابستان ۱۳۹۷

تاثیر کود زیستی پتابارور و باکتری *سینوریزوبیوم* بر صفات رویشی و جذب برخی عناصر غذایی در شنبلیله

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
٤-دانشیارگروه 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 نگه‌داشتن 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 پتابارور۲ و باکتری *سینوریزوبیوم ملیلوتی* بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شنبلیله آزمایشی به صورت مزرعه‌ای در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار به اجرا در آمد. تیمارها شامل: کود زیستی پتابارور۲، باکتری *(Sinorhizobium meliloti)*، تلقیح با *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲، 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 به‌دست‌آمده تاثیر معنی‌دار تیمار *سینوریزوبیوم* بر تمامی صفات مورفولوژیک به جز طول میانگره را نشان داد. تلقیح بذر شنبلیله با کود زیستی پتابارور۲ 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 پتابارور۲ منجر به بیشترین غلظت پتاسیم در گیاه شنبلیله 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 Menbari[1], Saeedeh Alizadeh Salte[2*], Saheb Ali Bolandnazar[3], Mohamad Reza Sarikhani[4]

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

خاک به عنوان محیط طبیعی رشد گیاه می‌تواند 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 سیستم‌های آینده‌ی کشاورزی بر مبنای کاهش در مصرف انرژی، نهاده‌ها و مدیریت مناسب آب و خاک و منابع بیولوژیکی و حفظ محیط-زیست به‌منظور دستیابی به عملکرد مطلوب و پایدار است، به‌طوری‌که اطمینان از تولید مداوم و پایدار منابع غذایی به‌ویژه گیاهان دارویی همراه با حفظ محیط‌زیست، به یکی از مهمترین موضوعات علوم کشاورزی تبدیل شده و مورد توجه روزافزون تولیدکنندگان، محققین و دولتمردان قرار گرفته است (کوچکی و همکاران ۱۳۷٦؛ سخن‌سنج ۱۳۸۰). مشکلات زیست محیطی ناشی از کاربرد کودهای شیمیایی و تأثیر سویی که بر چرخه

زیستی و خود پایداری بوم نظام‌های زراعی دارند از یک سو و افزایش هزینه‌های تولید به‌دلیل کاربرد این کودها از سوی دیگر، لزوم رویکرد به کشاورزی پایدار را موجب می شود. 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 (کوو و همکاران ۲۰۰٤). از این‌رو، کشاورزی پایدار از طریق جایگزینی مواد شیمیایی با کودهای آلی و زیستی، درصدد افزایش حاصلخیزی و سلامت خاک، حفظ محیط زیست و افزایش کیفیت محصولات می‌باشد (ابین مستو و همکاران ۲۰۰٦). کودهای زیستی شامل انواع مختلف ریز موجودات آزاد زی بوده (چن ۲۰۰٦) که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیرقابل‌دسترس به فرم قابل دسترس دارند (راجندران و دواراج ۲۰۰٤). برخی از این ریز موجودات اثرات مفیدی در بهبود رشد گیاه دارند و از آن‌ها تحت عنوان ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR[1]) یاد می‌شود (عبدالجلیل و همکاران ۲۰۰۷). به‌عبارت‌دیگر، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه شامل گروه متنوعی از باکتری‌های کلون‌کننده‌ی محیط ریشه و برخی میکروارگانیسم‌ها هستند که به‌صورت 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 (ماهلر و همکاران ۱۹۸۵). در خاک‌های ایران به دلیل بارش کم و عدم آبشویی[2] زیاد (در خاکهای رسی) انتظار می‌رود که میزان پتاسیم بالا باشد، اما به دلیل غالب بودن 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. کودهای‌زیستی حاوی ریز موجودات مفید خاکزی از جمله قارچ‌ها، باکتری‌ها، یا مواد حاصله از متابولیت آنها می‌باشد که به روش های مختلف رشد گیاه میزبان را زیاد می‌کنند (وسی، ۲۰۰۳). این گروه از باکتری ها از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، افزایش حلالیت فسفر و پتاسیم، افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک، مهار عوامل بیماری زا و همچنین تولید هورمون هاو تنظیم کننده‌های رشد ، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می دهند (زهیر و همکاران ۲۰۰٤).

گیاهان تیره بقولات به دلیل نقش مهمی که در تبدیل نیتروژن اتمسفر به فرم تثبیت شده آن (آمونیوم 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 آمونیوم تبدیل می شود (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

۱. Plant Growth Promoting Rhizobacteria

2-Leaching

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 واندام هوایی و همچنین تعداد گره های 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 نسبتا 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 نمی توانند مفید واقع شوند و در اکثر موارد کودهای زیستی به عنوان مکمل کودهای شیمیایی می تواند پایداری تولید را در نظامهای کشاورزی تضمین کنند (سلیم و همکاران ۲۰۱۱ و میو یابنتو و همکاران ۲۰۱۳). به نظر می رسد با کاربرد تلفیقی کود شیمیایی و زیستی، تا اندازه‌ای بتوان مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داد. حتی در صورتی که عملکرد این گیاهان در نتیجهٔ استفاده از کودهای زیستی، کمتر و یا برابر با عملکرد آنها در نتیجهٔ 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 ازتوباکتر، سولفات روی و قارچ میکوریزا با اوره را بر گیاه شنبلیله مثبت ارزیابی کرده و بیشترین میزان عملکرد و اسانس 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 می شود. 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 بررسی های 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 روش ها

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 پتابارور۲، تیمار باکتری سینوریزوبیوم *(Sinorhizobium meliloti)*، *سینوریزوبیوم*+ پتابارور۲، 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.

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	۷/٦٥	۰/۱٦۸	۳٦	۰/٥	٤۸۰	۲۱/٥٥	۱٦/٦٦	٦۱/۷۹	Sandy Clay Loam

تکثیر باکتری *S. meliloti* در محیط YMB انجام پذیرفت و بعد از افزودن به حامل برای تلقیح بذور شنبلیله استفاده شد. کشت بذور در بهار سال ۱۳۹٤ در کرت‌هایی به ابعاد دو در چهار متر به صورت خطی با فاصله بین خطوط ۳۰ سانتیمتر انجام گرفت. بذرهای شنبلیله 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. برگ-های 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 اندازه-گیری شد.

اندازه‌گیری عناصر معدنی

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

فرمول ۱

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

اندازه‌گیری مقدار فسفر نمونه به روش رنگ سنجی وانادات-مولیبدات انجام شد. در این روش یون‌های ارتوفسفات در محیط اسیدی با محلول وانادات-مولیبدات کمپلکس زرد رنگ فسفو وانادومولیبدات را تشکیل می-دهد که مقدار جذب محلول‌ها در طول موج ٤۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری می‌شود (کاتنین 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

نهایت عدد قرائت شده به صورت غلظت در ماده خشک گیاهی محاسبه شد (کاتنین 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 شنبلیله 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.

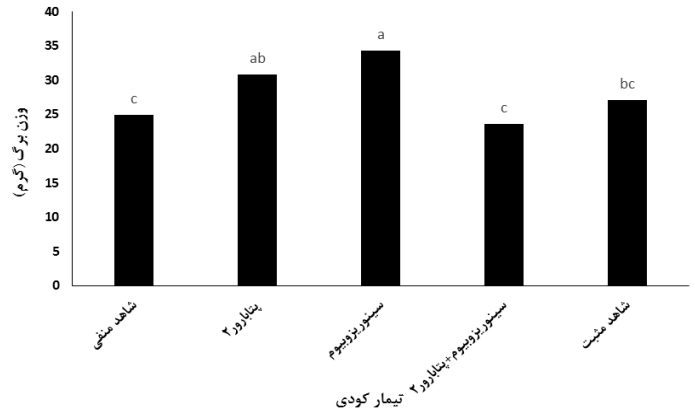
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر کود زیستی بر صفات رویشی و زایشی شنبلیله

		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	٦/٨١٥ ns	۰/٨٤٥ns	۰/۰۰٥ ns	۲/۳٦۹ ns	۰/۱۱۳ns	۱/۲٦۷ns	۰/۰۳۷ns	٥/٦ns
تیمار	٤	٥۷/٨٤۲**	٦/۷۹۹**	۰/۱٤۲**	۷٦/۳٤۱**	۰/۰۰۸ns	٥/۹۳۳**	۲/۳۹۹**	۳۸۱/۲۳۳**
خطا	۸	۲/٦۸۹	۰/۱۲۸	۰/۰۱۷	۹/٥۸۸	۰/۰۸٥	۰/٤۳۳	۰/۱۳۹	۲۱/٤۳۳
ضریب تغییرات	٪	٥/۸۳	٥/۷٦	۲/۹٦	٥/۳۱	٤/۲۳	۳/٦۸	۳/۲۹	۱۳/٤٦

** ، * و ns به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ٥٪ و غیر معنی‌دار می باشد.

وزن برگ بوته

مقایسه میانگین (شکل ۱) داده‌های اندازه‌گیری شده نشان داد که بیشترین مقدار وزن تر برگ (۳٤/۳۰۱g) گیاه شنبلیله مربوط به تیمار *سینوریزوبیوم* و کمترین مقدار وزن تر برگ (۲۳/٥۷g) مربوط به تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+ پتابارور۲ می‌باشد.



شکل ۱ - مقایسه میانگین وزن تر برگ شنبلیله 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 پتابارور۲ (به ترتیب ٤/۷۰۳mm و ٤/٥۳۳mm) و کمترین قطر ساقه (٤/۱٥ mm) مربوط به تیمار تلفیقی *سینوریزوبیوم*+ پتابارور۲ 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 (۲۰۰٥) و گوما (۲۰۰۸) مطابقت داشت که بیان کردند افزایش قطر ساقه می‌تواند به علت تاثیر کودهای زیستی باشد. سالم و همکاران (۲۰۰٦) 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	٤/۲۹bc	٥۷/۳٦b	۱۷/٤bc	۱۰/۲۹c
پتابارور ۲	۱۲/۷۳a	٤/٥۳۳ab	٦۱/۸٦a	۱۸/۲ab	۱۱/۸۱b
سینوریزوبیوم	۱۳/۳۳a	٤/۷۰۳a	۳۹/۹٦a	۱۹/٦۷a	۱۱/۰۲bc
سینوریزوبیوم+پتابارور ۲	۱۰/۱۷c	٤/۱٥c	٥۰/٥۱bc	۱٦c	۱۲/٦۲a
شاهد مثبت	۱۱/۳b	٤/۳۸abc	٥۹/۲ab	۱۸/۳ab	۱۱/٦۸b

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

با توجه به مقایسه میانگین (جدول ۳) می‌توان بیان داشت که بیشترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ (به‌ترتیب ٦۳/۹٦cm و ٦۰/۸٦cm) و کمترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار سینوریزوبیوم+پتابارور ۲ (٥۰/٥۱cm) 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 پتابارور۲ 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 می شود (دیتا و همکاران ۲۰۰٥، سلوارجان و چژیان ۲۰۰۱ و

شارما 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 به‌خصوص 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 *آزوسپیریلوم*+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 *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ (به ترتیب ۱۳/۳۳ و ۱۲/۷۳) و کمترین تعداد شاخه جانبی مربوط به تیمارهای شاهد و *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲ (به ترتیب۹/۹۶۷ 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 (۲۰۰٤) گزارش شده‌است. 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 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 ۱۹۹٦).

مقایسه میانگین داده های به دست آمده (جدول ۳) نشان داد بیشترین تعداد گره ساقه (۱۹/٦۷) گیاه شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین تعداد گره ساقه (۱٦) در تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲ مشاهده گردید.

تعداد غلاف و طول غلاف های 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 داده های به دست آمده حاکی از آن است که بیشترین تعداد غلاف (٤۹/٦۷) گیاه شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و کمترین تعداد غلاف (۲۱/۳۳) در تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲ (شکل ۲)، و بیشترین طول غلاف‌های تشکیل شده (۱۲/٦۲) در تیمار کودی پتابارور۲+ریزوبیوم و کمترین طول غلاف‌های تشکیل شده (۱۱/۲۹) در تیمار شاهد منفی مشاهده گردید (جدول ۳).

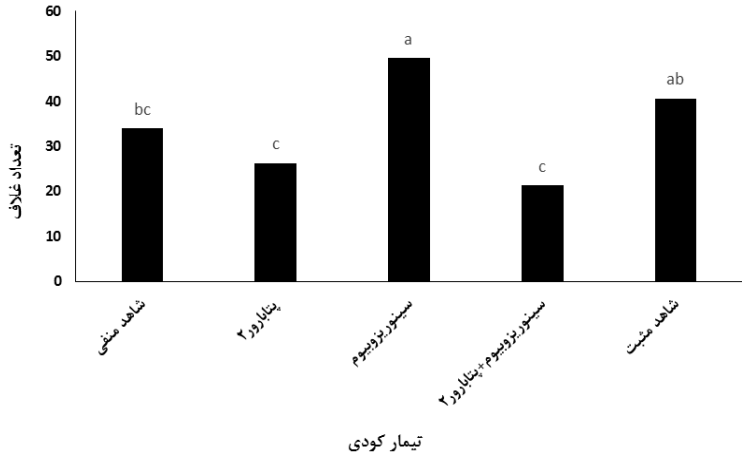
فراهمی بیشتر عناصر غذایی تحت تاثیر باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید آنزیم‌ها و هورمون‌ها که منجر به توسعه ریشه که جذب و انتقال آب و عناصر غذایی را افزایش می‌دهد و در نتیجه رشد رویشی و زایشی را افزایش داده و منجر به گلدهی بهتر و افزایش تشکیل غلاف و طول غلاف می‌شود (دوبی و همکاران ۲۰۱۲ و ریزوی و همکاران 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

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 می-شود. نیتروژن و فسفر رشد زایشی و تولید میوه در گیاه را افزایش می‌دهد و در نتیجه تعداد غلاف در گیاه افزایش می‌یابد.

غلظت عناصر غذایی

نیتروژن

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ٤) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر غلظت نیتروژن برگ شنبلیله در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار می‌باشد.



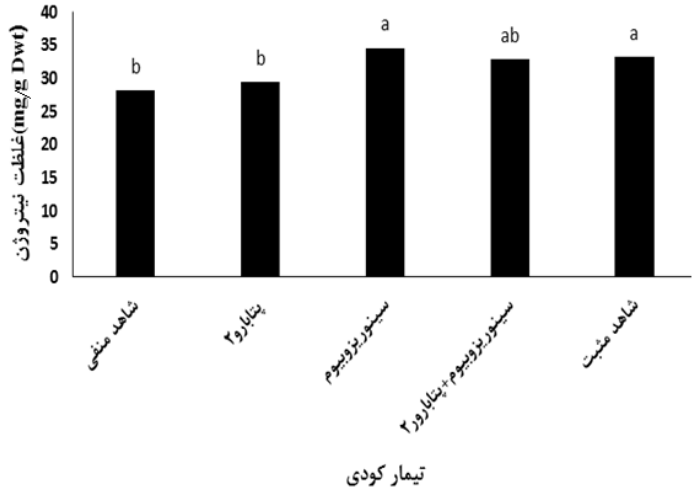
شکل ۲- مقایسه میانگین تعداد غلاف‌های شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی

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

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

میانگین مربعات				
منابع تغییر	درجه آزادی	نیتروژن	پتاسیم	فسفر
بلوک	۲	۰/٤٤۰^{ns}	۰/۳۵۲^{ns}	۰/۳۵۲^{ns}
تیمار	٤	۳/٤۰**	۲/٦۱۸**	۰/۰۰۱**
خطا	۸	۰/۹۷۲	۰/۰۵۸	۰/۰۳٦
ضریب تغییرات (٪)		۲/۰٦۸	۱/۰۹۸	۳/۲۱۹
**، * و ns به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و غیر معنی‌دار می باشد.				

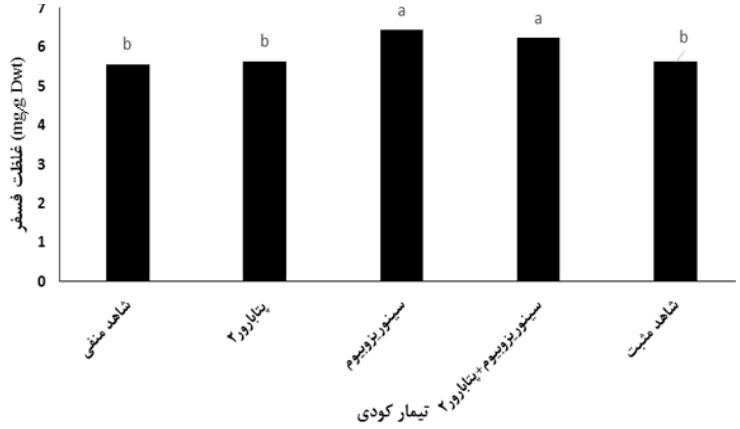
مقایسه میانگین داده ها (شکل ۳) نشان داد بیشترین غلظت نیتروژن برگ شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و شاهد مثبت (به ترتیب ۳٤/٦٤۱mg/g و ۳۳/۲۳ mg/g) و کمترین غلظت نیتروژن برگ (۲۸/۲۳mg/g) در تیمار شاهد منفی است.



شکل ۳- مقایسه میانگین غلظت نیتروژن شنبلیله در تیمارهای مختلف کودی
حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) می باشد.

فسفر

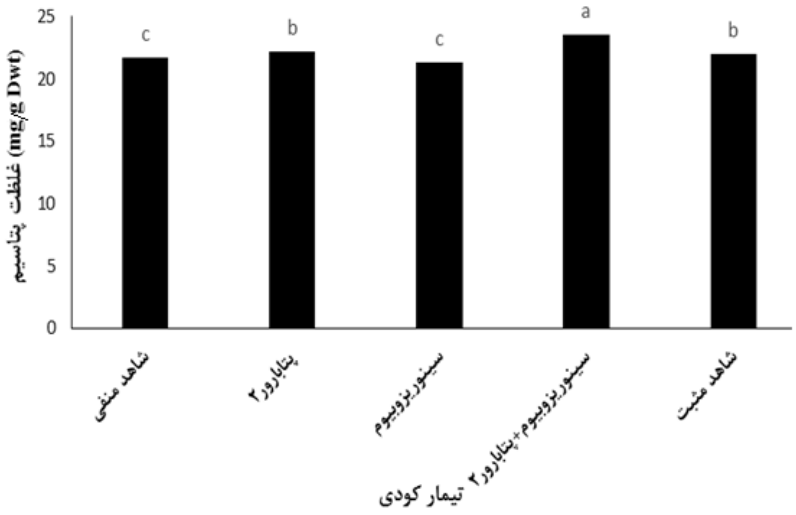
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ٤) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر غلظت فسفر برگ شنبلیله در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین (شکل ٤) نشان داد بیشترین غلظت فسفر برگ شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم* و *سینوریزوبیوم*+ پتابارور۲ (به ترتیب ٦/٤٢٩mg/g و ٦/٢٣٦ mg/g) کمترین غلظت فسفر برگ (٥/٥٦١mg/g) در تیمار شاهد منفی مشاهده شد.



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

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ٤) نشان داد که اثر تیمارهای کودی اعمال شده بر غلظت پتاسیم برگ شنبلیله در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین تیمارها (شکل ٥) نشان داد که بیشترین غلظت پتاسیم برگ گیاه شنبلیله در تیمار کودی *سینوریزوبیوم*+پتابارور۲ (٢٣/٥١٧mg/g) و تیمار شاهد و *سینوریزوبیوم* پتاسیم کمتری داشتند.



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.

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 می-گذارند (اشور ۱۹۹۸).

مارکاریان و همکاران (۱۳۹٤) 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 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). داکیدمی و همکاران (۲۰۱۱) و ماکوئی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که مایه‌زنی با *ریزوبیوم* سبب افزایش جذب فسفر در گیاهان لگوم شد. باکتری-های ریزوبیوم با ترشح ترکیباتی مثل اسیدهای آلی، آنزیم‌هایی مثل فیتاز و فسفاتاز و ترشح پروتون سبب افزایش فسفر محلول و قابل جذب گیاهان می-شوند(باشان و دباشان ۲۰۰۵). راثی پور (۱۳۸۱) گزارش کرد که مایه زنی باکتری *ریزوبیوم ژاپونیکوم*، غلظت نیتروژن بخش‌های هوایی گیاه سویا را به طور معنی-داری افزایش داد.

مهمترین مکانیسم‌های تحریک رشد توسط جدایه‌های ریزوبیومی تولید فیتوهورمون‌های اکسینی(IAA) می-باشد 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

تثبیت نیتروژن می تواند 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 نخود 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 پتابارور۲ حاوی باکتری‌های حل کننده 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 باکتری های 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 به‌صورت محلول در اختیار گیاه قرار می‌دهند (گلیک ۱۹۹۵ و هان و همکاران ۲۰۰۶).

با افزایش میزان پتاسیم، میزان تثبیت دی اکسیدکربن به دلیل کارکرد مطلوب روزنه‌ها افزایش می‌یابد و در نتیجه میزان فتوسنتز افزایش یافته و بدین ترتیب تولید کربوهیدرات در برگ‌ها افزایش می‌یابد (خلدبرین و اسلامزاده، ۱۳۸٤). بین تولید نشاسته و قند و مقدار پتاسیم رابطهٔ مثبتی وجود دارد. پتاسیم فعالیت دیاستازی و قندسازی را در گیاه افزایش می‌دهد . کمبود پتاسیم، ظهور بسیاری از آنزیم‌های مهم و مؤثر در سنتز پیروات[۳] (فسرفوانول پیروات کربوکسیلاز، فسرفوانول پیروات کربوکسی‌کیناز، آنزیم مالیک) و متابولیسم قند (گلوکز شش فسفات دهیدروژناز، نشاسته سنتتاز) را تحت تاثیر قرار می‌دهد (شین و شاتمن ۲۰۰٤ 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 درمقایسه با نمونه شاهد منفی و همچنین شاهد مثبت شد.

[۳] -Pyruvate synthesis

تلقیح بذر شنبلیله با کود زیستی *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ 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 شنبلیله، 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 شنبلیه نسبت به کود پتابارور۲ و تلفیق *سینوریزوبیوم* و پتابارور۲ داشته‌است.

در این پژوهش بسیاری از ویژگی‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده در حضور کود پتابارور۲ و *سینوریزوبیوم*، برخلاف غلظت عناصر مورد اندازه‌گیری به ویژه پتاسیم، اثر کاهنده داشتند، دخالت سایر عوامل موثر در افزایش فتوسنتز و عملکرد، به ویژه در گیاه شنبلیله که پیکر رویشی در این آزمایش مدنظر بوده است، که بر جذب عناصر غذایی تاثیر می گذارند، می تواند دلیل این امر باشد. به نظر بین باکتری‌های سودوموناس موجود در کود پتابارور۲ 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 پتابارور۲ و *سینوریزوبیوم* با کود زیستی فسفر پیشنهاد می‌شود.

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 mychorrhizae 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 Masto 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, nodulusation 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 Minerai 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 annuall medics. 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.

Nazari1 M and Fallah S. 2014. Effects of biofertilizers and bhemical 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 Tiyagi1 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 intercroppoing 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. Perrormance 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 Amli M. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganism on yield and nutrient uptake of chickpea *(Cicer arietinum* L.*).* Europian Journal of Agronomy, 19(1):15-21.