نشریه دانش آب و خاک / جلد ۲۹ شماره ۲صفحه‌های ۱۵ تا ۲۷ / سال ۱۳۹۸

اثر تلقیح برخی کودهای میکروبی فسفاته بر شاخص‌های تغذیه‌ای گیاه ذرت (*Zea mays* L.)

بهمن خوشرو[۱]، محمدرضا ساریخانی[۲]*، ناصر علی‌اصغرزاد[۳]

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۲۵

۱- دانشجوی دکترای علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:rsarikhani@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق اثربخشی کودهای میکروبی فسفاته تهیه شده از هفت باکتری به نام‌های (*Pantoea agglomerans* P5، *Pseudomonas fluorescens* Tabriz، *P. putida* Tabriz، *Pseudomonas* sp. C16-2O، *Enterobacter* sp. S16-3، *Bacillus megaterium* JK6 و *B. firmus*) بر بستر پایه خاک فسفات (۴۵ گرم) ، گوگرد (۱۵گرم) و باگاس (۳۰ گرم) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش، باکتری *P. agglomerans* P5 به‌عنوان باکتری حل‌کننده فسفات مورد استفاده در کود بارور۲ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. نتایج به دست آمده از آزمایشات گلخانه‌ای نشان داد که کاربرد کودهای میکروبی فسفاته در گیاه ذرت رقم سینگل‌کراس ۷۰۴، بر وزن تر و خشک کل ریشه و بخش هوایی، جذب فسفر، پتاسیم، آهن و روی بخش ریشه و بخش هوایی، تاثیر کاملاً معنی‌داری داشت. تیمارهای کودی *Enterobacter* sp. S16-3 و *Pseudomonas* sp. C16-2O در بیشتر پارامترهای اندازه‌گیری شده دارای عملکردی شبیه تیمار *P. agglomerans* P5 بودند و هر سه این تیمارها در بیشتر موارد دارای عملکرد بالاتری نسبت به تیمار کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل بودند. تیمارهای *P. fluorescens* و *P. putida*هم تا حدودی دارای اثرهای مشابه روی رشد ذرت بودند، البته بایستی عنوان نمود که تیمار میکروبی *B. firmus* در برخی موارد و تیمار *B. megaterium* در بیشتر پارامترها دارای عملکرد پایین‌تری نسبت به تیمار بستر بدون باکتری (کنترل منفی) و حتی پایین‌تر از تیمار بدون بستر کود (No Carrier) بودند. هم‌چنین در این پژوهش اثر سطوح مختلف مصرف کودی (۰/۶ و ۱/۲ گرم در هر گلدان) به ترتیب معادل با میزان توصیه شده و دوبرابر آن، کاملاً معنی‌دار بود و سطح مصرفی ۱/۲ نسبت به ۰/۶ باعث افزایش عملکرد حدود دو برابری در گیاه شد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های حل‌کننده فسفات، سنگ فسفات، کود میکروبی فسفاته، فسفر، ذرت

Inoculation Effect of Some Phosphatic Microbial Fertilizers on Nutritional Indices of *Zea mays* L.

B Khoshru[1], MR Sarikhani[*2] and N Aliasgharzad[3]

Received: August 23, 2017 Accepted: December 16, 2018
[1] PhD Student of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Univ. of Tabriz, Iran
[2,3] Assoc. Prof. and Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Univ. of Tabriz, Iran
*Corresponding Author, Email: rsarikhani@yahoo.com

Abstract

In this study the effectiveness of phosphatic microbial fertilizers produced from seven bacteria (*Pantoea agglomerans* P5, *Pseudomonas fluorescens* Tabriz, *P. putida* Tabriz, *Pseudomonas* sp. C16-2O, *Enterobacter* sp. S16-3, *Bacillus megaterium* JK6 and *B. firmus*) in the basal formulation of rock phosphate (45 g), bagasse (30 g) and sulfur (15 g) were evaluated. In this experiment, *Pantoea agglomerans* P5 which used in Barvar2 biofertilizer was applied as a positive control. The results obtained from the greenhouse experiments showed that the wet and dry weight of roots and shoots, uptake of potassium, iron and zinc in the root and shoot of corn S.C.704 were significantly influenced by the PMFs. In most measured parameters, the effects of *Enterobacter* sp. S16-3 and *Pseudomonas* sp. C16-2O were similar to the *P. agglomerans* P5 and all the three treatments in most cases had higher performance than TSP. *P. fluorescens* and *P. putida* treatments showed similar effects on corn growth. It should be noted that *B. firmus* in some cases and *B. megaterium* treatment in most parameters had lower performance compared to the treatment bed without bacteria (negative control) and even lower than the treatment without fertilizer bed (No Carrier). It should be emphasized that the effect of different levels of fertilizer consumption (0.6 and 1.2 g pot^{-1} equal to 100% and 200% of recommended dose of phosphorus) were significant and the level of 1.2 g pot^{-1} compared to 0.6 g pot^{-1} caused an increase more than two-fold in plant performance.

Key Words: Corn, Phosphate solubilizing bacteria, Phosphatic microbial fertilizers, Phosphorus, Rock phosphate

مقدمه

برطرف کردن کمبود عناصر به‌وسیله کاربرد کودهای شیمیایی پرخطر و گران، چاره‌ای مطلوب و ایده‌آل نمی‌باشد و پیامدهای جدی برای عملیات کشاورزی بعدی ایجاد می‌کند. سالانه بین ۷۵ الی ۹۰ درصد فسفر اضافه‌شده به خاک به دلیل آهکی بودن بیشتر خاک‌ها، وجود PH بالا، تنش خشکی و وجود بی‌کربنات در آب آبیاری و کمبود مواد آلی موجود در خاک و هم‌چنین در اثر ترکیب با یون‌های کلسیم، آلومینیوم و آهن در خاک به‌صورت رسوب درمی‌آید و از دسترس گیاه خارج می‌شود (کسار و کاتکات ۲۰۱۰). مصرف بی رویه کودهای فسفاته، گذشته از هزینه‌های ارزی گزاف برای خرید کود از خارج از کشور، اثرات زیانباری نیز به دنبال دارد. از جمله این اثرات می‌توان به مسمومیت فسفری ناشی از جذب بیش از حد فسفر و بالا رفتن غلظت آن در بافت‌های گیاهی و به هم خوردن تعادل عناصر غذایی، کاهش عملکرد محصول، تجمع بور در گیاه در حد سمیت، کاهش جذب مس، غیر متحرک شدن آهن در خاک، ممانعت از جذب آهن توسط ریشه، مختل کردن متابولیسم روی درون گیاه، کاهش میکوریزایی شدن ریشه، آلودگی خاک به کادمیوم، تنزل کیفیت محصول، ازدیاد بار منفی خاک و آلودگی آب‌ها به فسفر و بروز پدیده اتروفیکاسیون را اشاره نمود (خاوازی و ملکوتی ۲۰۰۱). در سی سال اخیر به دلیل آشکار شدن اثرات سوءمصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و قیمت رو به افزایش آن‌ها مجدداً استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی مطرح‌شده است. مطالعات زیادی بر روی امکان استفاده از کودهای زیستی بر روی محصولات متعدد به عمل آمده است (احتشامی و همکاران ۲۰۰۹، تورک و همکاران ۲۰۰۶،

لیو و چن ۲۰۰۷، ساریخانی و همکاران ۲۰۱۹ و ۲۰۱٦، خوشرو و همکاران ۲۰۱۷). نتایج تحقیقات نشان داده است که میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات قادرند در منطقه ریزوسفر فعالیت نموده و با کمک ترشحات ریشه، ترکیبات نامحلول فسفات مانند تری‌کلسیم فسفات را به صورت محلول و قابل‌جذب گیاه درآورند (کیانی ۱۹۹۵، ساریخانی و همکاران ۲۰۱۹). قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های حل‌کننده فسفات مناسب‌ترین جایگزین کودهای شیمیایی و سازگارترین کودهای زیستی با محیط زیست در کشاورزی پایدار می‌باشند که به دلیل اثرات جداگانه و متقابل روی یکدیگر و گیاهان میزبان، مورد توجه بسیاری از محققین قرارگرفته‌اند (فرانکو و همکاران ۲۰۱۰، گاربای ۱۹۹٤). در واقع کودهای زیستی به مواد حاصلخیز کننده‌ای گفته می‌شود که حاوی تعداد کافی از یک یا چندگونه از موجودات مفید خاکزی هستند که روی مواد نگه‌دارنده مناسبی عرضه می‌شوند (ایزکویردو و همکاران ۲۰۰۵). عرضه مواد آلی به خاک، به دلیل پاسخگویی به یکی از بزرگ‌ترین نیازهای گیاه از مزایای بارز این قبیل کودها است. علاوه بر این، تأمین عناصر غذایی به صورتی کاملاً متناسب با تغذیه طبیعی گیاهان، کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیت‌های حیاتی، بهبود کیفیت و حفظ سلامت محیط‌زیست از مهم‌ترین مزیت‌های کودهای بیولوژیک به شمار می‌رود (رای و گائور ۱۹۹۸). کودهای میکروبی نوعی از کودهای زیستی هستند که در آن بر بستری از مواد آلی- معدنی از میکروارگانیسم‌های مفید بهره برده می‌شود. عرضه کودهای میکروبی در اوایل دهه ۱۹۷۰ شروع شد. در این راستا چندین کود میکروبی ازجمله IARI microphos در هند و Phosphobacteria در روسیه عرضه شد که بعداً در اروپای شرقی نیز مورد استفاده قرار گرفت (خان و همکاران ۲۰۰۷). یکی از کودهای میکروبی مهم، کود میکروبی فسفاته می‌باشد که به صورت پودری یا گرانوله تهیه و استفاده می‌شود. با توجه به اهمیت فسفر به عنوان یکی از عناصر غذایی پرمصرف برای محصولات کشاورزی، استفاده از کود میکروبی فسفاته مورد توجه است (ضیائیان و همکاران ۲۰۱۰). در این نوع کود از سنگ فسفات به عنوان منبع تامین کننده فسفر استفاده می‌شود اما با توجه به پایین بودن میزان انحلال آن، فسفر موجود بایستی از طریق راهکارهای زیستی به فرم محلول درآید. بهره‌گیری از باکتری‌های حل‌کننده فسفات به فرایند انحلال و فراهمی فسفات برای گیاه کمک خواهد نمود (ساریخانی و همکاران ۱۳۹٤، حیدریان و ساریخانی ۲۰۱۱، خوشرو و ساریخانی ۲۰۱۸). نتایج تحقیقات سولیاشیش (۱۹۹۹) در خصوص مصرف میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات در زراعت سویا نشان داده است که تلقیح خاک با این میکروارگانیسم‌ها باعث آزادسازی فسفر و رشد بهتر گیاه در مقایسه با تیمار شاهد می‌شود. سیلسپور و بانیانی (۱۳۷۹) گزارش کردند که با مصرف کود فسفاته میکروبی در زراعت پنبه می‌توان حداقل ۵۰ درصد در مصرف کودهای فسفره صرفه جویی نمود. مضافاً که تفاوت آماری معنی‌داری از نظر محصول بین مصرف کود فسفاته میکروبی با کودهای شیمیایی فسفره ملاحظه نشد. این در حالی بود که بازده زراعی کود فسفره میکروبی تقریباً دو برابر بازده زراعی کودهای شیمیایی فسفره بود. کود میکروبی مورد استفاده در این پژوهش مخلوطی از قارچ‌های حل‌کننده فسفات شامل *Penicillium bilagi*، *P. digitatum*، *P. lilacium* و *Aspergilus niger* بود. نور قلی پور (۲۰۰۰) طی تحقیق گلدانی خود به این نتیجه رسید که مصرف خاکی فسفات همراه با گوگرد و باکتری *تیوباسیلوس* و باکترهای حل‌کننده فسفات از نظر عملکرد و جذب فسفر تفاوت آماری معنی‌داری با مصرف فسفر از منبع سوپرفسفات تریپل ندارد. بر اساس تحقیق انجام شده توسط غانی و همکاران (۱۹۹٤) تلقیح *تیوباسیلوس* به خاک فسفات + گوگرد، باعث افزایش حلالیت خاک فسفات گردید. پاتیراتنا و همکاران (۱۹۸۹) نیز با انجام تحقیقی بر روی یک گیاه مرتعی، گزارش نمودند که کاربرد خاک فسفات به همراه گوگرد، وزن خشک علوفه و میزان فسفر ساقه را افزایش می دهد. رزا و همکاران (۱۹۸۹) نیز با انجام آزمایش بر روی یک خاک اکسی سول، گزارش نمودند که کاربرد سنگ فسفات به همراه گوگرد،

تیوباسیلوس و ماده آلی عملکردی مشابه با کاربرد سوپر فسفات در سورگوم تولید می‌نماید.

کودهای میکروبی فسفاته بر بسترهای آلی و شیمیایی ارزان و در دسترس تهیه می‌شوند که در فرمولاسیون آنها به منظور افزایش اثربخشی از باکتری‌ها و قارچهای مفید استفاده می‌نمایند. اما در این میان اثربخشی باکتری‌های حل‌کننده فسفات مورد استفاده در تهیه این کودها زمینه تحقیق مناسبی است و اطلاعات کمی در این مورد در دسترس می‌باشد. ضرورت دستیابی به یک گونه میکروبی کارآمد و قابلیت جایگزینی با کودهای شیمیایی موضوع این تحقیق است و ضرورت پرداختن به آن احساس می‌شود تا با دستیابی به ترکیب مناسب باکتری و بستر شیمیایی- آلی بتوان کود میکروبی فسفاته تولید و به بازار مصرف عرضه داشت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال‌های ۱۳۹٤ و ۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در ساختمان شماره ۲ (منطقه کرکج) انجام شد. با توجه به اینکه آزمایشات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای معیاری برای اثربخشی کودهای زیستی و میکروبی هستند، آزمایش گلخانه‌ای به شرح زیر انجام گرفت. از یک خاک دارای کمبود فسفر (از ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان) از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری شد و سپس برخی ویژگی‌های خاک مورد نظر تعیین گردید. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. بعد از هوا خشک کردن خاک مورد نظر و عبور از الک دو میلی‌متری ویژگی‌های مهم خاک شامل بافت، درصد کربن آلی (نلسون و سامرز ۱۹۸۲)، فسفر قابل جذب (اولسن وسامرز ۱۹۸۲) و پتاسیم قابل جذب (توماس ۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱: برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک.

بافت خاک	pH	EC ($dS\ m^{-1}$)	P- available ($mg\ kg^{-1}$)	K- available ($mg\ kg^{-1}$)	$\%CaCO_3$	%OC
لوم شنی	۷/٥٦	۲/۹	۳	۱۹۸/۰۷	۲/۸٥	۰/۱٦٦

تهیه کود میکروبی فسفاته پودری

در این پژوهش شش باکتری موجود در بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تبریز به نام‌های (*Pseudomonas fluorescens* Tabriz، *P. putida* Tabriz، *Pseudomonas* sp. C16-2O، *Enterobacter* sp. S16-3، *Bacillus megaterium* JK6 و *B. firmus*) مورد استفاده و ارزیابی قرار گرفت. همچنین باکتری *Pantoea agglomerans* P5 به عنوان باکتری حل‌کننده فسفات (مورد استفاده در کود بارور۲) نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده شد تا مقایسه مطلوبی بین نمونه‌های موجود در بانک میکروبی و نمونه تجاری شده به عمل آید. به منظور تهیه کود میکروبی فسفاته پودری برای آزمایش کشت گلدانی، به شرح زیر اقدام شد. برای تهیه بستر اولیه جهت افزودن مایه تلقیح باکتریایی از بستر پایه سنگ فسفات، باگاس و گوگرد استفاده شد. این اجزاء به نسبت وزنی ٤٥: ۳۰ : ۱۵ استفاده شدند (ضیائیان و همکاران ۲۰۱۰). پس از اختلاط اجزاء و تامین رطوبت بهینه برای افزودن باکتری به آن، به صورت زیر عمل شد. پس از اختلاط اولیه ترکیب فوق، به ۹۰ گرم ترکیب اولیه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد تا رطوبت اولیه تامین شود، سپس از کشت شبانه باکتری‌ها تهیه شده در محیط نوترینت براث ۱ میلی‌لیتر برداشته و ۱۰ برابر در آب رقیق نموده و باکتری به بستر مرطوب افزوده شد و مخلوط شد. از کود میکروبی فسفاته پودری حاصل شده برای تلقیح در گلدان‌ها استفاده شد.

آماده‌سازی گلدان‌ها و تلقیح گیاهان با کودهای میکروبی

خاک گلدان‌ها در فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت با بخار آب استریل شده و سپس در هر گلدان به مقدار ۳ کیلوگرم استفاده شد. با احتساب وزن ۲ میلیون کیلوگرم خاک در هر هکتار با توجه به وزن خاک گلدان، ٦۰۰ میلی‌گرم کود

سوپرفسفات تریپل، ۱۲۰۰ میلی‌گرم کود اوره و ۶۰۰ میلی‌گرم سولفات پتاسیم برای هر گلدان استفاده شد. اوره و سولفات پتاسیم به همه گلدان‌ها افزوده شد اما کود سوپر فسفات تریپل تنها در تیمار شاهد مثبت استفاده شد. در مورد تیمارهای کودی میکروبی فسفاته نیز مقادیر معادل (۶۰۰ میلی‌گرم) و دو برابر مقدار معادل (۱۲۰۰ میلی‌گرم) کود سوپرفسفات تریپل از کودهای میکروبی فسفاته استفاده شد تا اثربخشی کودهای میکروبی مشخص شود. همچنین در دو تیمار اضافی به عنوان کنترل منفی آزمایش، مقادیر ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بستر مورد استفاده در کود میکروبی بدون افزودن هیچ باکتری مد نظر قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در مجموع با لحاظ نمودن ۱۷ تیمار آزمایشی در ٤ تکرار به انجام رسید که شامل تیمارهای شاهد منفی (بدون کود میکروبی و کود سوپرفسفات)، شاهد مثبت (کود سوپرفسفات تریپل بر اساس آزمون خاک)، کود فسفاته پودری (شامل سنگ فسفات، باگاس و گوگرد بدون افزودن باکتری)، کود میکروبی فسفاته مربوط به هر شش باکتری در مقادیر هم وزن و دو برابر مقدار کود سوپرفسفات تریپل توصیه شده بود. به منظور اعمال تیمارها ابتدا در تمام گلدان‌ها مقادیر برابر از خاک تا ٤ سانتی‌متر از سطح گلدان افزوده شد و سپس کود سوپرفسفات و کودهای میکروبی فسفاته به مقدار مورد نیاز در گلدان‌ها استفاده شده، سپس یک لایه خاک (۳ cm – ۲) بر روی آن قرار گرفته و بذور ذرت بر روی آن قرار گرفت. برای آماده‌سازی بذرها، ابتدا ضدعفونی بذرها با اتانول و هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ انجام گرفت و بذرهای ذرت به تعداد ۵ عدد در هر گلدان کاشته شدند و بعد از جوانه‌زنی و رشد اولیه تعداد بوته در هر گلدان به دو عدد تقلیل یافت. قبل از کاشت در همه گلدان‌ها به مقدار برابر رطوبت خاک تامین شده و سپس کشت بذور انجام گرفت. بعد از آن با لایه‌ای از خاک سطح بذور پوشانده شد. با توجه به استفاده از اوره و سولفات پتاسیم، کل مقدار این کودها برای همه گلدان‌ها محاسبه شده و پس از انحلال در آب به مقدار یکسان به همه گلدان‌ها داده شد. برای تامین نیتروژن و پتاسیم مورد نیاز گیاه به ترتیب به ازاء هر گلدان ۱۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم از اوره و سولفات پتاسیم استفاده شد. آبیاری گلدان‌ها نیز از طریق توزین در ۰/۸FC در طول رشد گیاه که ۱۰۵ روز به طول انجامید (تا مرحله شروع گلدهی)، انجام پذیرفت. پارامترهای رشدی گیاه از جمله وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه و میزان جذب فسفر، پتاسیم، آهن و روی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

صفات اندازه‌گیری شده

اندازه‌گیری وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه

در پایان دوره رشد، اندام‌های هوایی از محل طوقه قطع گردیده و وزن تر آنها با ترازوی حساس ۰/۰۰۱ گرم تعیین شد. ریشه نیز پس از برداشت با آب معمولی شستشو داده شده و رطوبت اضافی آنها با کاغذ خشک‌کن گرفته شد و سپس با ترازو وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس بخش هوایی و ریشه داخل پاکت‌های کاغذی به درون آون منتقل شده و به مدت سه روز در دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس نمونه‌ها از آون خارج گردیده و با ترازوی حساس وزن خشک آن‌ها توزین گردید.

هضم نمونه‌های گیاهی به روش ترسوزانی و اندازه‌گیری عناصر

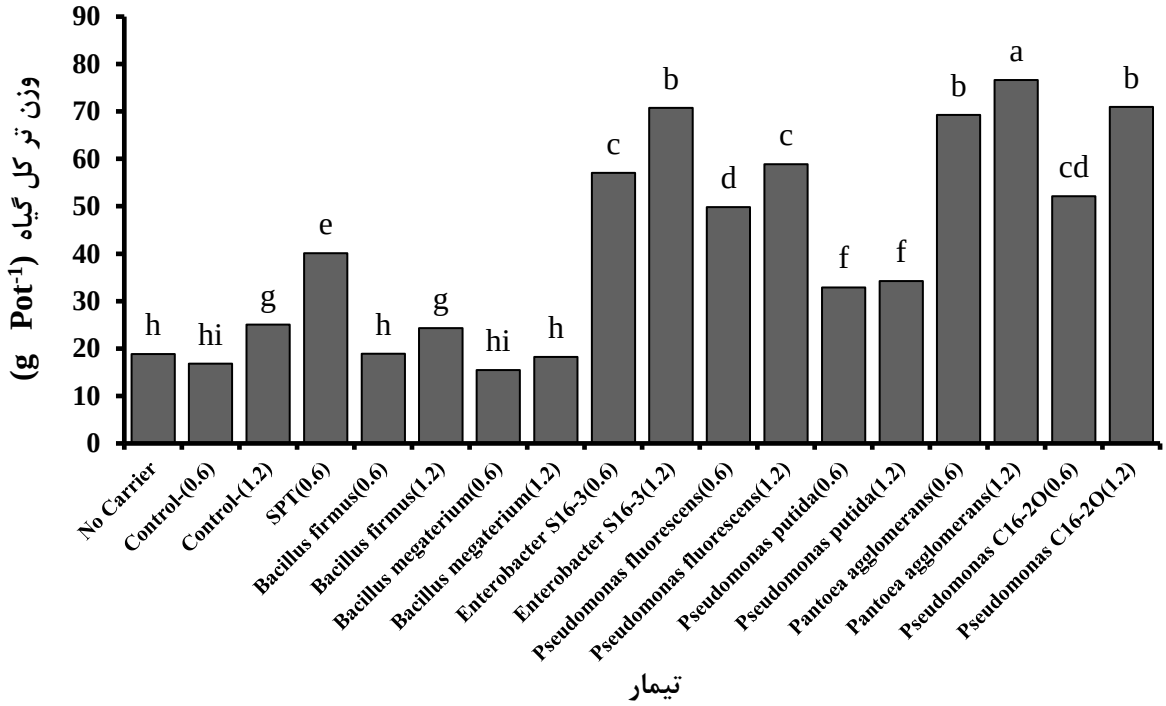
نمونه‌ها بعد از خشک شدن، خرد شده و برای ایجاد نمونه‌ای یکنواخت از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شدند. برای اندازه‌گیری عناصر، هضم نمونه‌های گیاهی با روش ترسوزانی انجام گرفت (والینگ و همکاران ۱۹۸۹). برای اندازه‌گیری غلظت فسفر و پتاسیم نمونه‌های گیاهی به ترتیب از دستگاه اسپکتروفتومتر و فلیم‌فتومتر و برای عناصر آهن و روی هم از دستگاه جذب اتمی استفاده شد.

نتایج و بحث

وزن تر کل

وزن تر کل (مجموع وزن تر ریشه و بخش هوایی) در گیاه ذرت تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در

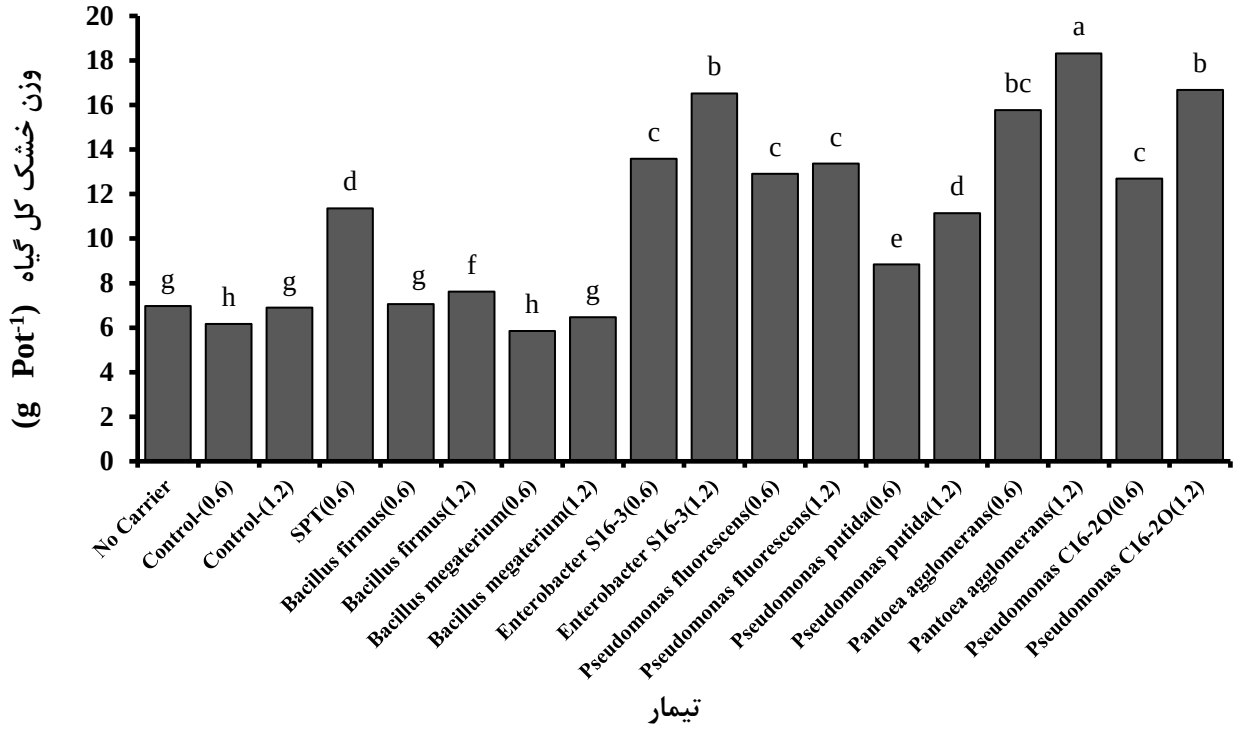
سطح ۵٪ معنی‌دار بود. وزن تر کل برای تیمار *P. agglomerans* (۱/۲) با میانگین ۷۶/۶۰ گرم بالاترین مقدار بود و تیمارهای *Pseudomonas* sp. C16-2O، *Enterobacter* sp. S16-3 و *P. fluorescens* در هر دو مقدار ۱/۲ و ۰/۶ در رتبه‌های بعدی و بالاتر از تیمار کودی سوپرفسفات تریپل (شاهد کنترل مثبت) قرار گرفتند. تیمارهای *B. megaterium* و شاهد کنترل منفی یا بستر خالی نسبت به تیمار بدون بستر (No Carrier) از نظر وزن تر کل دارای مقادیر کمتری بودند. لازم به ذکر است که تیمار کنترل مثبت کود سوپرفسفات تریپل موجب افزایش وزن تر کل به میزان ۵۳/۰۷٪ نسبت به شاهد بدون بستر شد (شکل ۱).



شکل ۱- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر وزن تر کل در گیاه ذرت (No Carrier : تیمار بدون کود میکروبی و کود سوپرفسفات، - Control: حامل بدون باکتری در دو سطح، SPT : کود سوپرفسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (کنترل مثبت)، سایر تیمارها نیز کود میکروبی فسفاته مربوط به هر شش باکتری در مقادیر هم وزن و دو برابر مقدار کود سوپرفسفات تریپل توصیه شده می‌باشد.

وزن خشک کل

وزن خشک کل (مجموع وزن خشک ریشه و بخش هوایی) در گیاه ذرت تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. وزن خشک کل برای تیمار *P. agglomerans* (۰/۶ و ۱/۲) بالاترین مقدار بود و و همانند وزن تر کل الگوی تغییرات تیمارها در مقایسه با شاهد کنترل مثبت و منفی مشابه بود به‌صورتی که تیمارهای *Pseudomonas* sp. C16-2O، *Enterobacter* sp. S16-3 و *P. fluorescens* (در هر دو سطح ۰/۶ و ۱/۲) در رتبه‌های بعدی و بالاتر از تیمار کودی سوپرفسفات تریپل (شاهد کنترل مثبت) قرار گرفتند. اما تیمارهای *P. putida* و *B. firmus* (در هر دو سطح ۰/۶ و ۱/۲) با وجودی که دارای عملکرد بالاتری نسبت به تیمار بدون بستر کودی بودند ولی مقادیر آنها از نظر وزن خشک کل پایین‌تر از تیمار شاهد مثبت (سوپرفسفات تریپل) بود و تیمارهای *B. megaterium* و شاهد کنترل منفی یا بستر خالی نسبت به تیمار بدون بستر (No Carrier) از نظر وزن خشک کل دارای مقادیر کمتری بودند (شکل ۲).

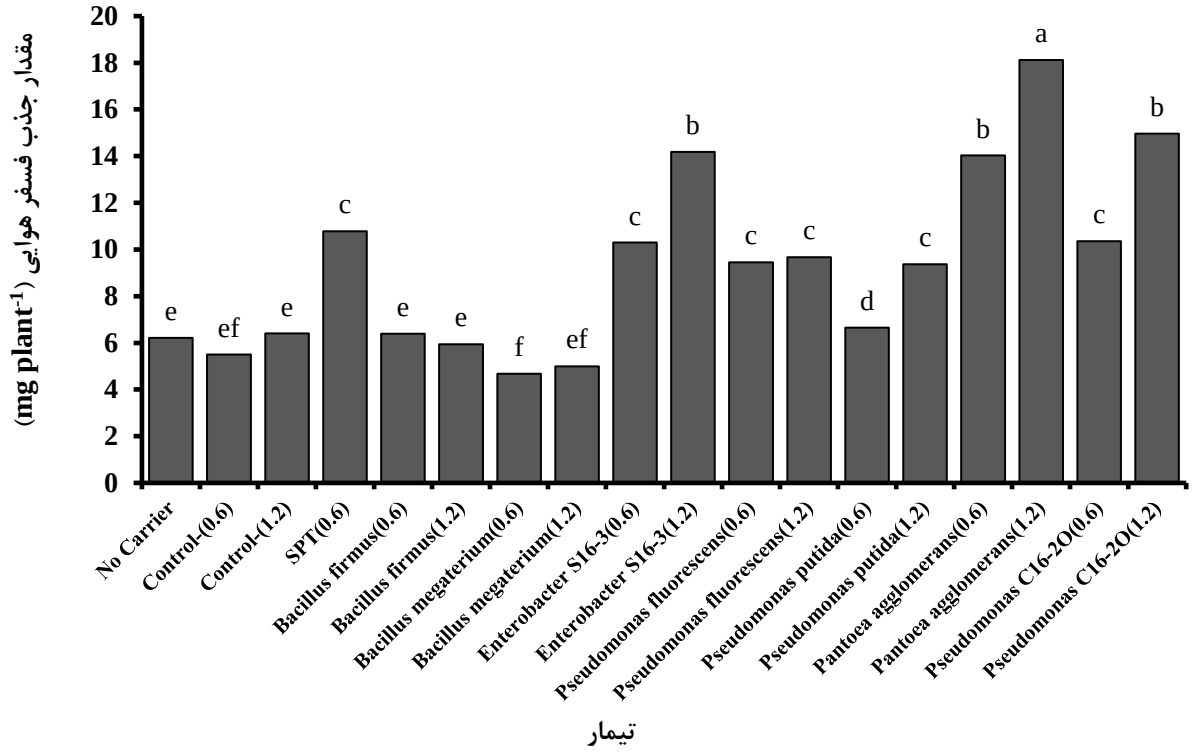


شکل ۲- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر وزن خشک کل در گیاه ذرت.

تیمارهای باکتریایی بکاررفته بعنوان حل‌کننده فسفات می‌توانند از طریق تولید اسیدهای آلی و افزایش جذب فسفر، تولید و سنتز هورمون‌هایی چون اکسین، جیبرلین، تولید سیدروفور و افزایش جذب نیتروژن و سایر عناصر ضروری به واسطه اثرات هم‌افزایی، رشد گیاه را افزایش دهند (تورک و همکاران ۲۰۰۶، سلیم پور و همکاران ۲۰۱۰). صادقی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که وزن خشک کل ذرت در تیمارهایی که کود زیستی به کار رفته بود، افزایش یافت. شارما (۲۰۰۲) گزارش کرده است که کاربرد کودهای زیستی منجر به افزایش بیوماس و ماده خشک گیاهی می‌شود. وی اعتقاد دارد که افزایش انحلال فسفر دلیل افزایش بیوماس گیاهی می‌باشد.

جذب فسفر در بخش هوایی

میزان جذب فسفر هوایی تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. تیمار کود میکروبی (۱/۲) *Pantoea agglomerans* P5 دارای بیشترین مقدار جذب فسفر با میانگین ۱۸/۱۱ mg plant^{-1} بود. نتایج شکل ۳ نشان می‌دهد که تیمارهای میکروبی *P. agglomerans* P5، *Pseudomonas* sp. C16-2O، *Enterobacter* sp. S16-3 و *P. agglomerans* P5 در مقادیر استفاده ۱/۲گرم دارای میانگین‌های بالاتری از نظر مقدار جذب فسفر بودند. به این لحاظ دارای اختلاف آماری معنی‌دار با تیمار شیمیایی سوپرفسفات بود اما تیمارهای بستر بدون باکتری، *B. megaterium* و *B. firmus* نه تنها هیچ برتری نسبت به تیمار شاهد بدون بستر (No Carrier) نداشتند بلکه در سطوح پایین‌تری از آن هم قرار گرفتند (شکل ۳). بنظر می‌رسد زنده‌مانی این دو باکتری در بستر بکارگرفته شده (گوگرد، سنگ فسفات و باگاس) دچار مشکل شده است زیرا که همین سویه‌های باکتری در شرایط درون‌شیشه‌ای از نظر انحلال فسفات دارای قدرت انحلال فسفات متوسطی در مقایسه با سایر باکتری‌ها بودند، یا اینکه در جذب عناصرغذایی با گیاه رقابت می‌کنند و به این دلیل باعث افت شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه می‌شوند.



شکل ۳- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر جذب فسفر هوایی در گیاه ذرت.

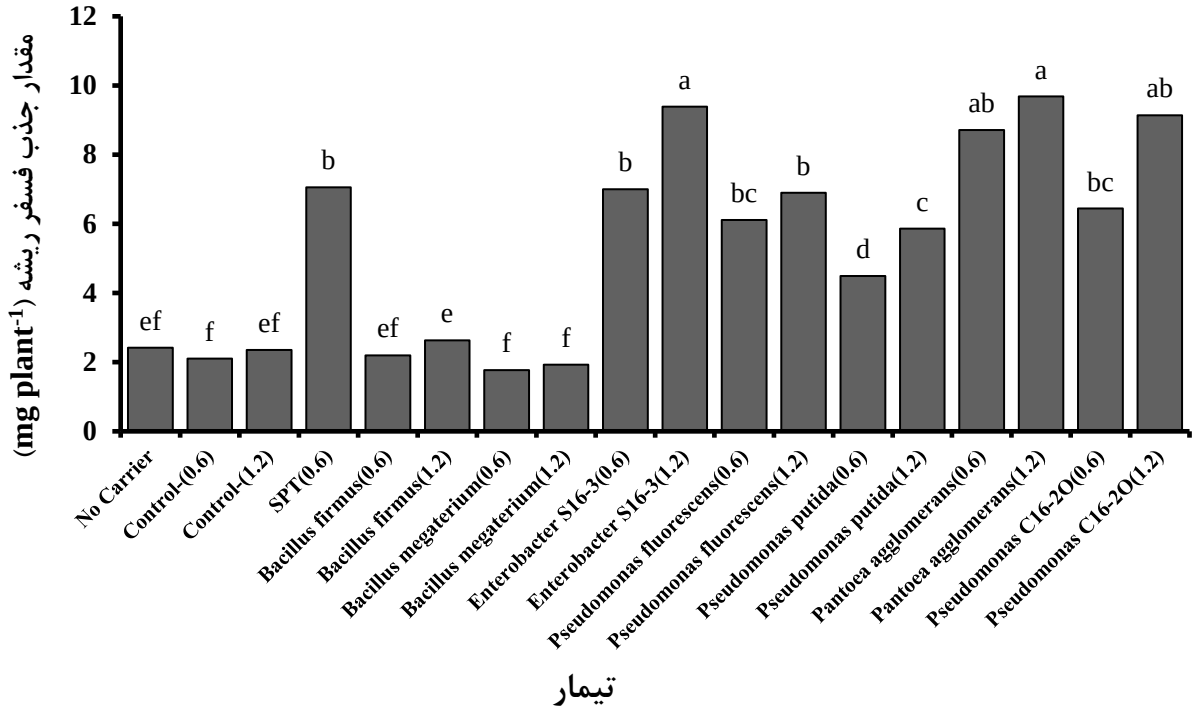
جذب فسفر در ریشه

میزان جذب فسفر ریشه تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. تیمار کود *Pantoea agglomerans* P5 (۱/۲) دارای بیشترین مقدار جذب فسفر با میانگین ۹/۶۸۲ mg plant^{-1} توسط ریشه بوده و موجب افزایش میزان جذب فسفر به میزان ۲۷/۱٪ نسبت به شاهد مثبت (SPT) و ۷۲/۰۶٪ نسبت به شاهد منفی (No Carrier) شد و از این لحاظ دارای اختلاف آماری معنی‌دار با تیمار شیمیایی سوپرفسفات بود. دو تیمار *Enterobacter* sp. S16-3 (۱/۲) و *Pseudomonas* sp. C16-2O (۱/۲) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. اما تیمارهای کنترل منفی، *B. megaterium* و *B. firmus* تقریبا با تیمار شاهد بدون بستر (No Carrier) در یک سطح قرار گرفته و هیچ برتری نسبت به هم نداشتند (شکل ٤).

کاربرد ایزوله‌های موجود در کود زیستی بارور۲ در شرایط کشت با گیاه گندم در خاک استریل بهبود تغذیه فسفری را به دنبال داشت (ساریخانی و همکاران ۱۳۹۲).

جذب پتاسیم بخش هوایی

میزان جذب پتاسیم هوایی تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (جدول۲). تیمار کود میکروبی *P. agglomerans* (۱/۲) دارای بیشترین مقدار جذب پتاسیم با میانگین ۸۱/۷۹ mg plant^{-1} بود و تیمارهای میکروبی *Pseudomonas* sp. C16-2O (۱/۲)، *Enterobacter* sp. S16-3 (۱/۲) *P. fluorescens* (۱/۲) و *P. putida* (۱/۲) دارای مقادیر بالاتری از کود سوپرفسفات تریپل از نظر مقدار جذب پتاسیم بودند. اما تیمارهای بستر بدون باکتری (کنترل منفی) و *B. megaterium*، *P. putida* در هر دو سطح مصرفی ۰/٦ و ۱/۲ گرم بر گلدان نسبت به تیمار شاهد بدون بستر (No Carrier) دارای عملکرد پایین‌تری از این نظر بودند.



شکل ۴- اثر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته بر مقدار جذب فسفر ریشه در گیاه ذرت.

گرچه هدف این آزمایش تهیه کودهای میکروبی فسفاته و بررسی اثربخشی آن بر تغذیه فسفری گیاه بوده است اما نتایج جذب عنصر پتاسیم در گیاه به ویژه در بخش هوایی و ریشه نشان می‌دهد که برخی از باکتری‌های حل‌کننده فسفات بکار رفته در این فرمولاسیون در تغذیه پتاسیم گیاه نیز موثر واقع شده‌اند. حال این تاثیر می‌تواند به واسطه تولید اسیدهای آلی از جانب باکتری باشد که هم به انحلال فسفات و هم به آزادسازی پتاسیم کمک می‌کند و یا می‌توان به دیگر ویژگی‌های محرک رشدی باکتری‌ها اعم از تولید اکسین و افزایش سطح تماس جذب در ریشه نیز اشاره کرد. سوگوموران و جانارتانام (۲۰۰۷) در آزمایشی به بررسی میزان انحلال کانیهای میکروکلین، موسکوویت و اورتوکلاز در حضور باکتری *B. mucilaginosus* MCRCp1 پرداختند و بیشترین میزان انحلال پتاسیم به مقدار ٤/۲۹ میلی‌گرم در لیتر با کانی میکای موسکوویت مشاهده شد. تلقیح این باکتری با گیاه بادام زمینی منجر به افزایش ماده خشک به میزان ۱۲۵ درصد و میزان روغن به مقدار ۳۵/٤۱ درصد شد. آنها افزایش میزان پتاسیم قابل استفاده خاک را از ۸٦/۵۷ به ۹۹/٦۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گزارش نمودند.

جذب پتاسیم بخش ریشه

میزان جذب پتاسیم ریشه تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. تیمار کود میکروبی (۱/۲) *Enterobacter* sp. S16-3 دارای بیشترین مقدار جذب پتاسیم با میانگین ٦۷/۷۷ mg plant^{-1} بود و تیمارهای میکروبی (۱/۲) *P. agglomeran*، (۱/۲) *Pseudomonas* sp. C16-2O و (۱/۲) *P. fluorescens* دارای مقادیر بالاتری از کود سوپرفسفات تریپل از نظر مقدار جذب پتاسیم در ریشه بودند. اما تیمارهای *B. megaterium* و بستر بدون باکتری نسبت به تیمار شاهد بدون بستر (No Carrier) دارای عملکرد پایین‌تری از این نظر بودند (جدول ۲).

مقدار جذب آهن در بخش هوایی

مقدار جذب آهن در بخش هوایی تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته معنی‌دار بود (در سطح ۵٪).

میزان جذب آهن بخش هوایی برای تیمار (۱/۲) *Pseudomonas* sp. C16-2O بالاترین میانگین بدست آمد و تیمارهای (۰/٦ و ۱/۲) *P. agglomerans*، (۰/٦ و ۱/۲) *Enterobacter* sp. S16-3 و (۱/۲) *P. putida* به ترتیب دارای میانگین بالاتری نسبت به تیمار شاهد کنترل مثبت (سوپر فسفات تریپل) بودند. برای تیمارهای *B. firmus* و *B. megaterium* در هر دو سطح ۰/٦ و ۱/۲ از نظر مقدار جذب آهن ریشه مقادیر کمتری نسبت به تیمار بدون بستر (No Carrier) به دست آمد (جدول ۲).

مقدار جذب آهن ریشه

مقدار آهن ریشه تحت تاثیر تلقیح کودهای فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. این مقدار برای تیمارهای (۱/۲) *Enterobacter* sp. S16-3، *P. fluorescens* (۱/۲) *Pseudomonas* sp. C16-2O و (۱/۲) *P. agglomerans* به ترتیب بیشترین مقدار بود و دارای عملکردی بالاتر از تیمار شاهد مثبت کود سوپرفسفات تریپل بودند. برای تیمارهای بستر بدون باکتری *B. megaterium* (۰/٦ و ۱/۲) از نظر مقدار جذب آهن در ریشه مقادیر کمتری نسبت به تیمار بدون بستر (No Carrier) به دست آمد (جدول ۲). با در نظر گرفتن جدول ۲ که مقادیر جذب آهن در بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت را نشان می‌دهد. باکتری‌های *Enterobacter* sp. S16-3، *Pseudomonas* sp. C16-2O، *P. agglomerans* و *P. fluorescens* در مقادیر مصرفی برابر (۱/۲گرم در گلدان) از نظر تامین آهن برای گیاه کارآمدتر بوده‌اند. تامین آهن توسط تیمارهای گرچه هدف اصلی این آزمایش نبوده است اما این نتایج گویای آن است که باکتری‌های فوق‌الذکر در تامین آهن برای ذرت موفق عمل کرده‌اند. شاید راهکارهایی نظیر تولید سیدروفور یا عوامل‌کلات‌کننده هم‌چنین احیاء اشکال اکسید آهن موجود در خاک را بتوان به عنوان مکانیسمی در تامین آهن توسط این باکتری‌ها تصور نمود. در پژوهشی که توسط رجایی و همکاران (۲۰۰۷) درباره اثرات محرک رشدی سویه‌های بومی *Azotobacter chroococcum* بر رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی در گندم با جداسازی ۱٤ ایزوله کارآمد (از نظر تولید اکسین، سیدروفور و تولید هیدروژن سیانید) برای آزمون گلخانه‌ای در استان چهارمحال بختیاری انجام گرفت، مشخص شد که اثر کاربرد این سویه‌ها طبق نتایج بر غلظت عنصر آهن و همچنین میزان جذب آنها در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. قبادی و همکاران (۲۰۱۱) عنوان کردند کودهای بیولوژیک فسفاته علاوه بر تامین فسفر و پتاسیم مورد نیاز گیاه با بهبود شرایط تغذیه گیاه و سایر عناصر غذایی نظیر آهن باعث ایجاد تعادل در بین اجزای عملکردی در غده‌های سیب‌زمینی شدند.

مقدار جذب Zn بخش هوایی

مقدار Zn بخش هوایی تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. میزان جذب Zn ریشه برای تیمارهای (۰/٦ و ۱/۲) *Pseudomonas* sp. C16-2O، (۰/٦ و ۱/۲) *P. agglomerans*، (۱/۲) *Enterobacter* sp. S16-3، (۱/۲) *P. putida* و (۱/۲) *P. fluorescens* بترتیب بیشترین مقدار بود و از نظر مقدار جذب Zn دارای عملکرد بالاتری نسبت به تیمارکنترل مثبت (SPT۰/٦) و شاهد بدون بستر (No Carrier) بودند. لازم به ذکر است که تیمارهای بستر میکروبی بدون باکتری و *B. firmus* در سطح مصرفی ۱/۲ گرم و تیمارهای میکروبی *Enterobacter* sp. S16-3 و *P. putida* در سطح مصرفی ۰/٦گرم دارای مقادیر جذب برابری نسبت به تیمار کنترل مثبت (۰/٦) STP بودند (جدول ۲).

مقدار جذب Zn ریشه

مقدار جذب Zn ریشه تحت تاثیر تلقیح کودهای میکروبی فسفاته در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. بالاترین میزان جذب Zn ریشه برای تیمار *Pseudomonas* sp. C16-2O (۱/۲) با مقدار ۱/۱۳ (mg plant^{-1}) بدست آمد. *Enterobacter* sp. S16-3 (۱/۲)، *P. agglomerans* (۰/٦ و ۱/۲)، *P. fluorescens* (۰/٦ و ۱/۲) و *P. putida* (۰/٦ و ۱/۲) در درجه بعدی و دارای عملکردی بالاتر از تیمار شاهد مثبت کود سوپرفسفات تریپل بودند. برای تیمارهای *B. firmus* و *B. megaterium* از نظر مقدار جذب

Zn در ریشه مقادیر کمتری نسبت به تیمار بدون بستر (No Carrier) به دست آمد. چه در بخش هوایی و چه در ریشه می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که باکتری *Pseudomonas* sp. C16-2O (۱/۲) بیشترین کارایی را در تامین عنصر روی گیاه داشته است (جدول ۲).

جدول ۲: مقدار جذب عناصر k، Fe و Zn در ریشه و بخش هوایی گیاه ذرت.

تیمار	جذب پتاسیم ($mg\ plant^{-1}$)		جذب آهن ($mg\ plant^{-1}$)		جذب روی ($mg\ plant^{-1}$)	
	بخش هوایی	بخش ریشه	بخش هوایی	بخش ریشه	بخش هوایی	بخش ریشه
No Carrier	80.088 (g)	18.021 (g)	0.637 (e)	2.936 (h)	0.289 (d)	0.241 (g)
Control-(0.6)	65.967 (ghi)	12.313 (h)	0.613 (ef)	2.612 (hi)	0.203 (e)	0.237 (g)
Control-(1.2)	69.045 (gh)	11.231 (h)	0.698 (e)	2.871 (h)	0.268 (d)	0.248 (g)
SPT(0.6)	102.681 (ef)	41.677 (cde)	0.693 (e)	6.280 (efg)	0.264 (d)	0.436 (f)
***B. firmus*(0.6)**	95.870 (e)	18.456 (g)	0.558 (ef)	3.041 (h)	0.206 (e)	0.283 (g)
***B. firmus*(1.2)**	101.063 (ef)	25.261 (f)	0.598 (e)	4.069 (gh)	0.272 (d)	0.381 (fg)
***B. megaterium*(0.6)**	68.570 (gh)	14.237 (gh)	0.471 (f)	2.104 (i)	0.151 (f)	0.138 (hi)
***B. megaterium*(1.2)**	76.869 (g)	17.376 (g)	0.451 (f)	2.275 (i)	0.195 (e)	0.192 (gh)
***Enterobacter* sp. S16-3(0.6)**	122.388 (d)	49.230 (c)	0.951 (cd)	8.377 (cd)	0.257 (d)	0.528 (ef)
***Enterobacter* sp. S16-3(1.2)**	157.013 (bc)	67.777 (a)	1.172 (b)	10.292 (a)	0.357 (c)	0.586 (e)
***P. fluorescens*(0.6)**	108.614 (e)	45.037 (cd)	1.028 (c)	7.515 (d)	0.338 (cd)	0.828 (c)
***P. fluorescens*(1.2)**	101.494 (ef)	46.493 (cd)	1.012 (c)	8.219 (cd)	0.401 (b)	0.927 (b)
***P. putida*(0.6)**	77.747 (g)	31.620 (e)	0.681 (e)	5.419 (g)	0.254 (d)	0.576 (e)
***P. putida*(1.2)**	108.943 (e)	41.160 (d)	0.904 (d)	6.568 (f)	0.407 (b)	0.761 (d)
***Pantoea agglomerans*(0.6)**	139.465 (c)	50.805 (c)	1.055 (c)	8.758 (c)	0.377 (bc)	0.595 (e)
***Pantoea agglomerans*(1.2)**	181.796 (a)	60.461 (b)	1.296 (ab)	9.329 (b)	0.396 (b)	0.595 (e)
***Pseudomonas* sp. C16-2O(0.6)**	117.104 (d)	38.668 (de)	1.023 (c)	7.274 (def)	0.383 (bc)	0.731 (de)
***Pseudomonas* sp. C16-2O(1.2)**	165.280 (b)	57.830 (bc)	1.356 (a)	9.606 (b)	0.622 (a)	1.131 (a)

(**No Carrier** : تیمار بدون کود میکروبی و کود سوپرفسفات، **- Control**: حامل بدون باکتری در دو سطح، **SPT** : کود سوپرفسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (کنترل مثبت)

نتیجه‌گیری کلی

در جمع‌بندی نتایج آزمایش کودهای میکروبی بر پارامترهای اندازه‌گیری شده گیاه ذرت می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که کاربرد کودهای میکروبی تاثیرات افزایشی معنی‌داری بر پارامترهای اندازه‌گیری شده داشته است. تیمارهای کودی *Enterobacter* sp. S16-3 و *Pseudomonas* sp. C16-2O در بیشتر پارامترهای اندازه‌گیری شده دارای عملکردی شبیه تیمار *Pantoea agglomerans* P5 بودند و هر سه این تیمارها در بیشتر موارد دارای عملکرد بالاتری نسبت به تیمار کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل بودند. تیمارهای *P. fluorescens* و *P. putida* هم تا حدودی دارای عملکرد مشابه یکدیگر بودند. گرچه تیمار کود شیمیایی (سوپرفسفات تریپل) نسبت به شاهد عملکرد خوبی داشته است ولی اینکه تیمار باکتریایی در برخی از باکتری‌ها از جمله تیمار *Pantoea agglomerans* P5، *Enterobacter* sp. S16-3، *P. fluorescens* و *Pseudomonas* sp. C16-2O شرایط بهتری را برای گیاهان تلقیح شده به وجود آوردند را باید در اثر تک بعدی کودهای شیمیایی در مقایسه با کودهای میکروبی و اثرات چندگانه آنها جستجو نمود. کود شیمیایی فسفاته فقط در جهت برآورد نیاز فسفری گیاه بوده است ولی تیمارهای باکتریایی عملکرد چندگانه علاوه برتامین نیاز فسفری داشته‌اند که از جمله آن می‌توان به سایر ویژگی‌های تحریک‌کنندگی رشد گیاه مثل تولید هورمون‌های محرک رشد و غیره اشاره کرد. لازم به

ذکر است که در نتایج گلدانی اثر سطوح مختلف مصرف کودی کاملاً معنی‌دار بود و در بیشتر موارد سطح مصرفی ۱/۲ گرم نسبت به سطح مصرفی ۰/٦گرم دارای عملکرد بیش از دو برابری در گیاه داشت. با توجه به یافته‌های این تحقیق استفاده از باکتری‌های *Enterobacter* sp. S16-3 و *Pseudomonas* sp. C16-2O که هنوز به مرحله تجاری‌سازی نرسیده‌اند می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

Chen YP, Rekha PD, Arun AB, Shen FT, Lai WA, Young CC, 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Applied Soil Ecology 34: 33–41.

Ehteshami S, Hakimian F and Yousefirad M, 2009. Effect of integration of different levels of phosphate fertilizer and phosphate solubilizing bacteria on forage yield and quality of two barley cultivars. Journal of Agriculture 102: 141-150. (In Persian)

Franco-Correaa M, Quintana A, Duque C, Suarez C, Rodriguez MX and Barea JM , 2010. Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhizal helping activities. Applied Soil Ecology 45: 209–217.

Garbaye J, 1994. Helper bacteria-a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. New Phytol 128: 197-210.

Ghani A, Rajan SS and A Lee, 1994. Enhancement of phosphate rock solubility through biological processes. Soil Biology and Biochemistry 26: 27-136 .

Ghobadi M, Jahanbin SH, Matlabifard R and Parvizi KH, 2011. Influence of phosphate biofertilizers on yield and yield components of potato (*Solanum tuberosum*). Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production 21(2): 18-27. (In Persian)

Heydarian Z and Sarikhani MR, 2011. Plant growth promoting bacteria (PGPR) a promising approach to sustainable agriculture. 1th Specialized Conference on Strategies for Achieving Sustainable Agriculture. 5-6th of June. Ahvaz. Iran. (In Persian).

Khavazi K and Malakoti MJ, 2001. Necessity of Industrial Production of Biological Fertilizers in Iran, Agricultural Education Publication, Karaj, Iran.

Izquierdo I, Caravaca F, Alguacil MM, Hernandze G and Rolan A, 2005. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegtation of a mining area under subtropical conditions. Applied Soil Ecology 30: 3-10

Kacar B and Katkat V, 2010. Plant nutrition, 4th edition. Nobel Institute, Ankara. Pp. 217-289.

Khan MS, Zaidi A and Wain PA, 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisims in sutainable agriculture –A review. Agronomy for Sustainable Development 27: 29-43.

Khoshru B and Sarikhani MR, 2018. Isolation of temperature resistant phosphate solubilizing bacteria for use in phosphatic microbial fertilizer. Journal of Soil and Water 32(1): 155-167. (In Persian).

Khoshru B, Sarikhani MR and Aliasgharzad N, 2017. Application and non-application of sulfur in the formulation of *Pseudomonas fluorescens* phosphatic microbial fertilizer on corn (*Zea mays* L.). Journal of Agricultural Sciences and Sustainable Production 27(3):119-136. (In Persian)

Kiani-Rad M, 1995. Evaluation of phosphate solubilizing microorganisms and their effect on reducing phosphorus fertilizer use in soybean cultivation. Master thesis. University of Tehran, Karaj. Iran. (In Persian)

Liu RJ, Chen YL, 2007 Mycorrhizology. Science Press (www.sciencep.com), Beijing. ISBN 978-7-03-017290-7. p 447

Malakoti MJ, 1995. Sustainable agriculture and increase performance by optimizing the use of fertilizers in Iran. Dissemination of Agricultural Education. Karaj. Iran.

Nelson DW, Sommers LE, Page AL, Miller RH and Keeney PR, 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter, pp. 539-580. Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and *Microbiological* Properties. Soil Science Society of America.

Nourgholipour F, 2000. Effect of acidification of water and two microorganisms on the ability of iron from iron concentrate and phosphorus from rock phosphate by maize plant. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran. (In Persian)

Olsen SR and Sommers LE, 1982. Phosphorus. Pp. 403-430. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR. (eds.) Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.

Pathiratna LSS Waidyanatha S and Peries OS, 1989. The effect of apatite and elemental sulfur on growth and P content of *Centrocema pubescens*. Fertilizer research 21: 37–43.

Rai SN and Gaur AC, 1988. Characterization of *Azotobacter* spp. Effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop. Plant and Soil 34: 131-134

Rajayi S, Alikhani H A and Raisi F, 2007. Effect of growth potentials of native strains of *Azotobacter chroococcum* on growth, yield and nutrient uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Soil and Water Sciences 11(41): 285-297. (In Persian)

Rosa MC, Muchovej MC, Muchove JJ and Alvarez JVH, 1989. Temporal relations of phosphorous fractions in an oxisol amended with rock phosphate and *Thiobacillus thiooxidans*. Soil Science Society of America Journal 53: 1096-1100.

Sadeghi S, Heidari G and Sohrabi Y, 2015. Effect of Biological Fertilizer and Fertilization Management on Some Growth Indices of Two Maize Varieties. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production 25 (3): 43-60. (In Persian)

Sarikhani MR, Khoshru B and Greiner R, 2019. Isolation and identification of temperature tolerant phosphate solubilizing bacteria as a potential microbial fertilizer. World Journal of Microbiology and Biotechnology 35(8): 126.

Sarikhani MR, Khoshru B and Oustan S, 2016. Efficiency of some bacterial strains in potassium release from mica and phosphate solubilization under in vitro conditions. Geomicrobiology journal 33(9):832-838.

Salispour M. and Baniyani A, 2000. Field evaluation of phosphate microbial fertilizer and its potential replacement with phosphorus fertilizers in cotton farming. Soil and Water Journal 41(2): 114-120. (In Persian)

Sharma AK and Johri BN, 2002. Arbuscular Mycorrhizae, Interaction in Plants, Rhizosphere and Soils. Oxford and IBH Publishing. New Delhi. 308p.

Sugumaran P, Janarthanam B, 2007. Solubilization of potassium containing minerals by bacteria and their effect on plant growth. World Journal of Agricultural Sciences 3(3): 350-335.

Suliashih MG, 1999. The use of soil microorganisms as biological fertilizer for growth enhancement of soybean. Journal of Microbiology 2: 68 – 73.

Thomas GW, 1982. Exchangeable Cations. Pp. 159-165. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR. (eds.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.

Turk MA, Assaf TA, Hameed KM and Al-Tawaha AM, 2006. Significance of Mycorrhiza. World Journal of Agricultural Sciences 2(1): 16-20.

Waling I, Vark WV, Houba VJG and Vanderlee JJ, 1989. Soil and Plant Analysis, a series of syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, Netherland.

Ziaeyan A, Salimpour S, Silsipour M and Safari H, 2010. Evaluation of some chemical and biological fertilizers of phosphorus on corn. 1th congress on fertilizer challenges in Iran: half a century of fertilizer use. 10-12 March, Tehran, Iran. (In Persian)