دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال دوازدهم، شماره چهل و یکم، ۱۳۹۹

بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با زادمایه رایزوبیومی و باکتری‌های محرک رشد گیاه بر میزان کلروفیل، عناصر غذایی و عملکرد دانه عدس در شرایط دیم

علیرضا صیدمرادی[۱]، افشین مظفری[۲]

دریافت: ۹۷/۷/۳۰ پذیرش: ۹۸/۳/۲

چکیده

به منظور مطالعه اثر پرایمینگ بذر با زادمایه رایزوبیومی و باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر میزان کلروفیل، عناصر غذایی و عملکرد دانه عدس دیم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ٤ تکرار در دهستان کارزان از توابع شهرستان سیروان استان ایلام در سال زراعی ۱۳۹٦- ۱۳۹۵ اجراء گردید. عامل‌های آزمایش شامل کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در پنج سطح: پرایمینگ بذر با ازوتوباکتر، آزوسپیریلوم، سدوموناس، پرایمینگ توأم بذر با ازوتوباکتر+آزوسپیریلوم+ سدوموناس و عدم مصرف باکتری‌های PGPR و همچنین عامل رایزوبیوم در دو سطح: پرایمینگ بذر با رایزوبیوم و عدم پرایمینگ بود. برهمکنش کاربرد باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بر همه صفات مورد مطالعه (به استثناء عملکرد دانه و محتوی کلروفیل b)، بسیار معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) شد. به طور کلی نتایج آزمایش نشان داد که پرایمینگ بذر با باکتری رایزوبیوم همراه با باکتری‌های PGPR به ویژه تیمار مصرف توأم (ازتوباکتر+آزوسپیریلوم+سدوموناس) باعث افزایش میزان عملکرد دانه، نیتروژن، فسفر و پتاس و محتوی کلروفیل a، b و a+b برگ در مقایسه با تیمار عدم مصرف رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR شد. با توجه به اثرات هم افزایی بین باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR در بهبود رشد و نمو و عملکرد دانه گیاه عدس توصیه می‌شود در فرمولاسیون مایه تلقیح‌های مورد استفاده در اراضی مناطق خشک و دیمزارهای عدس، از ترکیب باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آزوسپیریلوم، ازتوباکتر، سدوموناس، رایزوبیوم، عدس.

صیدمرادی، ع. و ا. مظفری. ۱۳۹۹. بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با زادمایه رایزوبیومی و باکتری‌های محرک رشد گیاه بر میزان کلروفیل، عناصر غذایی و عملکرد دانه عدس در شرایط دیم . مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ٤١: ۲۷۰-۲۵۸.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تخصصی زراعت و اصلاح نباتات، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی واحد، ایلام، ایران

۲- استادیار گروه تخصصی زراعت و اصلاح نباتات، واحد ایلام، دانشگاه آزاد اسلامی واحد، ایلام، ایران- مسئول مکاتبات. afshin.mozafari@ilam-iau.ac.ir

مقدمه

عدس (*Lens culinaris* Medik.) یکی از مهم‌ترین حبوبات سرمادوست است که در ایران اغلب به صورت دیم کشت می‌شود. این گیاه با حدود ۲۸ درصد پروتئین دانه، از حبوبات عمده در کشورهای در حال توسعه بوده و به عنوان مکملی برای غلات و منبعی مناسب جهت تأمین پروتئین و اسیدهای آمینه در رژیم غذایی مردم این کشورها محسوب می‌شود. این گیاه به سبب توانایی تثبیت نیتروژن، موجب افزایش حاصل‌خیزی خاک شده و در تناوب با برخی گیاهان زراعی به خصوص غلاتی نظیر گندم و جو بهبود و پایداری عملکرد را به دنبال دارد (باقری و همکاران، ۱۳۷٦، پارسا و باقری، ۱۳۸۷). کمبود نیتروژن در بیش‌تر خاک‌های زراعی از یک سو و از سوی دیگر وفور آن در جو (اتمسفر)، اهمیت و لزوم پژوهش در زمینه سیستم‌های تثبیت کننده نیتروژن عنصری (N_2) را روشن می‌سازد. در بین سیستم‌های طبیعی تثبیت کننده نیتروژن، هم‌زیستی گیاهان خانواده لگومینوز با رایزوبیوم‌ها از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. حبوبات، از جمله گیاه زراعی عدس، گروهی از این گیاهان هستند که به خاطر تثبیت مقادیر نسبتاً زیاد نیتروژن مولکولی هوا و نقش مهمی که در تأمین پروتئین مورد نیاز انسان‌ها به خصوص در کشورهای در حال توسعه دارند از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند. کارایی تثبیت نیتروژن در سیستم‌های همزیستی به عوامل مختلف نظیر نژاد باکتری، گیاه میزبان و عوامل محیطی و خاکی و برهمکنش آن‌ها بستگی دارد (بریمیر و همکاران، ۱۹۹۰). در اکثر موارد در همزیستی لگوم-رایزوبیوم تعداد کافی از نژادهای کاملاً مؤثر و اختصاصی باکتری در منطقه رویش بذر و گسترش ریشه در خاک وجود ندارد (صالح راستین، ۱۹۷۸، بریمیر و همکاران، ۱۹۹۰). در چنین شرایطی تلقیح با مناسب‌ترین نژادهای باکتری انتخاب شده برای شرایط محیطی و خاکی موجود و ارقام لگوم توصیه شده در آن نقاط به منظور بهره‌گیری هرچه بیشتر از این سیستم‌های مفید طبیعی در جهت افزایش عملکرد دانه امری ضروری و مفید می‌باشد.

باکتری‌های محرک رشد[1] گیاه از جمله گونه‌های مختلف ازوتوباکتر (*Azotobacter* spp.)، آزوسپیریلوم (*Azospirillum* spp.) و سودوموناس (*Pseudomonas* spp.) از مهم‌ترین کودهای زیستی هستند که علاوه بر افزایش فراهمی عناصر معدنی خاک با تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم، با تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه (اکسین، جیبرلین و سیتوکینین)، رشد و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (استورز و کریستی، ۲۰۰۳، زاهیر و همکاران، ۲۰۰٤). باکتری‌های PGPR از طریق مکانیسم‌هایی مستقیم و غیر مستقیم و با بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه، باعث بهبود جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه و القای ژن‌های دفاعی گیاه می‌شوند. باکتری‌های افزاینده ظهور گیاهچه[2]، گروهی از باکتری‌های افزاینده رشد گیاه هستند که در افزایش سرعت و میزان ظهور گیاهچه و استقرار بوته در مزرعه مؤثر می‌باشند.

اثرات تلقیح توأم ریزوبیوم و آزوسپیریلوم روی لگوم‌ها توجه زیادی را در سال‌های اخیر به خود جلب کرده است. اثرات مثبت تلقیح توأم برای لگوم‌های مختلف گزارش شده است. برهمکنش بین باکتری‌های PGPR و باکتری رایزوبیوم ممکن است به صورت هم افزا[3] یا ناهمسازی[4] باشد، اثرات سودمند این برهمکنش می‌تواند برای عملکرد اقتصادی مفید باشد (گلایک، ۱۹۹۵، دوبی، ۱۹۹٦). آن‌ها این افزایش عملکرد اقتصادی را به اثرات مطلوب آزوسپیریلوم بر روی تعداد گره‌ها، رشد، وزن خشک و تثبیت نیتروژن گره‌ها نسبت دادند. تلقیح توأم آزوسپیریلوم به عنوان PGPR و برادی رایزوبیوم با گیاه سویا، باعث تحریک قابل ملاحظه در رشد و گره‌زایی ریشه سویا شده است. این اثرات به افزایش تشکیل ریشه‌های موئین، جذب آب و مواد معدنی و تثبیت نیتروژن توسط آزوسپیریلوم و اثرات سینرژیستی بین دو باکتری نسبت داده شده است (مولا و همکاران، ۲۰۰۱). پورمحمد و مظفری (۱۳۹۵) در پژوهشی با عنوان بررسی تأثیر تلقیح رایزوبیایی و روش مصرف باکتری‌های بهبود دهنده رشد گیاه بر میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم و کلروفیل برگ نخود در شرایط دیم، دریافتند که در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR) محتوی نیتروژن، فسفر و پتاسیم و کلروفیل برگ نخود تیمار مصرف باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بیشتر بود. آن‌ها این افزایش را به دلیل اثرات مثبت و هم افزایی باکتری‌های جنس رایزوبیوم و PGPR دانستند. تلقیح گیاه گندم با دو سویه *Azospirillum brasilense* جداسازی شده از ریشه‌های استریل سطحی شده و سویه Sp-7، موجب افزایش نیتروژن کل گندم در شرایط مزرعه شده است (بودی و همکاران، ۱۹۸۹).

1 Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

2 Emergence Promoting Rhizobactera (EPR)
3 Synergistic
4 Antagonistic

فزایش جذب عناصر غذایی (NO_3^-، K^+، PO_4^{-3}) و عناصر کم مصرف) توسط گیاه در اثر تلقیح با آزوسپیریلوم به دلیل افزایش رشد ریشه و گسترش تارهای کشنده در اثر هورمون‌های و برخی ماکرومولکول‌های تولید شده توسط باکتری آزوسپیریلوم می‌باشد (استار و همکاران، ۱۹۹۵). نقش باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن به صورت همزیست، باکتری‌های PGPR و ریزجاندارن حل کننده فسفات در قدرت تولید گیاهان زراعی به خوبی مشخص شده است (کینیدی و همکاران، ۲۰۰٤). یافته‌های مشابهی از افزایش گرهک‌سازی به دلیل تلقیح دوتایی باکتری مزورایزوبیوم و باکتری PGPR توسط خانا و همکاران (۲۰۱۱) در عدس و بات و چاندرا (۲۰۰۹) در مورد نخود گزارش شده است. میا و همکاران (۲۰۰۹) نتیجه گرفتند که تلقیح دوگانه بذر نخود با باکتری ازتوباکتر و رایزوبیوم لگومینوزاروم دارای بالاترین مقدار نیتروژن (N) و فسفر (P) اندام‌های هوایی بودند. در بررسی‌های مختلف مشخص شده است که عمده‌ترین عامل مؤثر در کمک باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) به رابطه همزیستی بین باکتری رایزوبیوم و بقولات، ناشی از ترشح هورمون‌های گیاهی به ویژه اکسین (IAA) و در نتیجه افزایش رشد ریشه است (کلئوپر و اشروت، ۱۹۹۸).

با توجه به مطالب بالا و همچنین عدم انجام چنین پژوهشی در ارتباط با پرایمینگ تلفیقی باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های محرک رشد گیاه در مزارع دیم عدس در استان ایلام، در این پژوهش تأثیر پرایمینگ بذر با زادمایه رایزوبیومی و باکتری‌های محرک رشد گیاه بر میزان کلروفیل، عناصر غذایی (N، P و K) و عملکرد دانه در گیاه عدس تحت شرایط دیم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه در مزرعه‌ای در شهرستان سیروان در ۱۵ کیلومتری شمال شرقی استان ایلام با عرض شمالی ۳۳/۷۱۲۸ درجه و طول شرقی ٤٦/٥۳۰۷ درجه و میانگین بلند مدت بارندگی سالیانه ۳۳۳/٥ میلی متر و ۲۳۳ میلی‌متر از زمان کاشت تا برداشت گیاه در سال زراعی ۱۳۹٦- ۱۳۹٥ انجام گردید. جهت آزمون خاک، به صورت تصادفی، از چند نقطه خاک مزرعه در عمق ۳۰-۰ سانتی متری نمونه گیری شد. نمونه‌ها جهت تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه انتقال داده شد (جدول ۱).

جدول -۱ خصوصیات خاک مزرعه محل آزمایش در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک

ماده آلی (%)	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	کلاس بافت	هدایت الکتریکی ($Ds\ m^{-1}$)	اسیدیته (pH)	نیتروژن (%)	فسفر ($mg\ kg^{-1}$)	پتاس ($mg\ kg^{-1}$)
۰/۸۸	۱۸	٤۷	۳٥	لومی سیلتی-رسی	۰/۸۹	۷/۳٥	۰/۰۸	٦/٥	۳٦٥

آزمایش به روش فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی در ٤ تکرار انجام شد. مصرف باکتری‌های محرک رشد گیاه شامل پنج سطح تلقیح بذر با باکتری ازوتوباکتر، تلقیح بذر با باکتری آزوسپیریلوم، تلقیح بذر با باکتری سدوموناس، تلقیح توأم بذر با هر سه جنس (PGPR)، و عدم مصرف این نوع باکتری‌ها، همچنین باکتری رایزوبیوم شامل دو سطح تلقیح بذر با رایزوبیوم و عدم مصرف رایزوبیوم بود. جنس و گونه‌های PGPR مورد استفاده در این پژوهش شامل *Azotobacter chroococcum* (SW-15)، *Azospirillum berasilense* و *Pseudomonas potida* (P-168) و نژاد باکتری رایزوبیوم (RLV-60) بوده است که از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. بذر عدس رقم بیله سوار از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام تهیه شد. هر کرت شامل ٦ ردیف کاشت به طول ٥ متر و به فاصله ۲٥ سانتی‌متر، فاصله هر کرت از همدیگر ٥۰ سانتی متر (۲ ردیف نکاشت) و فاصله بلوک‌ها از همدیگر ۲ متر بود. عملیات تهیه زمین بر اساس شرایط دیم و به صورت رایج صورت گرفت. در این تحقیق سعی شد تا آنجا که امکان دارد از مصرف نهاده‌های شیمیایی نظیر کودهای شیمیایی، علفکش‌ها و سموم دفع آفات و امراض گیاهی صرف‌نظر شود و به جای آن‌ها از روش‌های مکانیکی و بیولوژیکی جهت کنترل علف‌های هرز، آفات و بیماری‌های گیاهی استفاده شد.

کلیه نمونه‌های گیاهی جهت اندازه گیری میزان کلروفیل و عناصر غذایی به آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه خوارزمی تهران منتقل شد. سنجش نیتروژن با روش کجلدال (Kjeldahl)، فسفر با روش کالریمتری به‌کمک مولیبدات و

مالاشیت گرین و پتاسیم با استفاده از روش نشر شعله‌ای و به کمک دستگاه فلیم فتومتر انجام شد (آنونیموس، ۲۰۰۲؛ میسون و همکاران، ۲۰۰٤؛ چاپ‌من و پرات، ۱۹۸۷). جهت اندازه‌گیری کلروفیل a و b ابتدا ۰/۲ گرم برگ از هر کرت انتخاب و درون یک هاون چینی ریخته و به آن یک گرم سولفات منیزیم و ۱۰ میلی لیتر استون ۱۰۰ درصد اضافه شد و آن قدر در هاون ساییده شد تا خمیری شل حاصل گردید. هاون مربوطه در داخل ظرف آب و یخ قرار داده و آزمایشگاه حتی الامکان تاریک شد تا فعل و انفعالات شیمیایی به حداقل برسد. سپس خمیر شل حاصله در داخل سانتریفوژ با ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد، سپس مقدار ۱ میلی‌لیتر از این عصاره هموژن (سوپرناتانت) به همراه ۹ میلی لیتر استون، داخل سل‌های دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و در طول موج‌های ٦٤٧ نانومتر (nm) و ٦٦٣ نانومتر (nm) میزان جذب نور قرائت شد. از فرمول‌های زیر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل a+b به دست آمد؛ ضمناً دستگاه قبل از آزمایش با استون خالص کالیبره گردید (پورا و همکاران، ۱۹۸۹، ژانگ، ۱۹۹۰).

$$\text{Chl. a (mg/L)} = (12.25 \times A663) - (2.79 \times A647)$$
$$\text{Chl. b (mg/L)} = (21.5 \times A647) - (5.1 \times A663)$$
$$\text{Chl. a+b (mg/L)} = (7.15 \times A663) - (18.71 \times A647)$$

برای اندازه‌گیری عملکرد نهایی دانه در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی، تمام بوته‌های واقع در دو ردیف کاشت وسط هر کرت آزمایشی با رعایت اثر حاشیه از نزدیک سطح خاک کف بر شده و توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، توزین شدند. جهت اندازه گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی نمونه‌گیری از برگ‌های بالغ و سبز در مرحله غلاف‌دهی صورت گرفت.

در این پژوهش تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ تحت ویندوز ۷ صورت گرفت. جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد. نمودارها و جداول به ترتیب از طریق نرم افزارهای Excel و Word نسخه ۲۰۱۰، ترسیم شدند.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر اصلی باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بر مقدار عملکرد دانه، کلروفیل a، b و a+b، نیتروژن، فسفر و پتاس برگ بسیار معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) تشخیص داده شد. برهمکنش مصرف باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR به استثناء کلروفیل b و عملکرد، بر تمامی صفات مورد مطالعه بسیار معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) شد (جدول ۲).

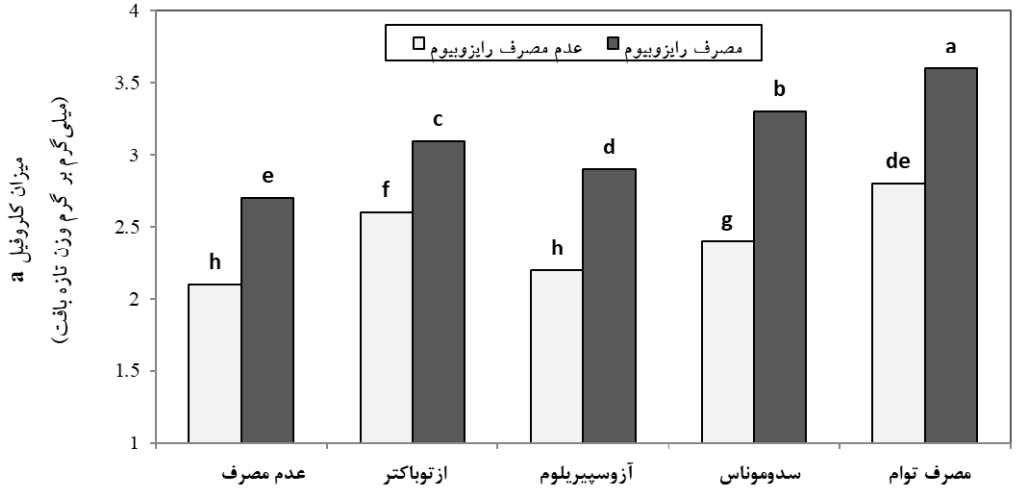
جدول ۲- میانگین مربعات اثر پرایمینگ بذر با باکتری رایزوبیوم و PGPR بر صفات آزمایش.

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات						
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	نیتروژن برگ	فسفر برگ	پتاسیم برگ	عملکرد دانه
تکرار	۳	۰/۰۳٤*	۰/۰۹۰^{ns}	۰/۰۷۱^{ns}	٤٤۹/۲۲۵^{ns}	۱۵۰/٦۰۰^{ns}	۵۹۷/۱۵۸*	٤۱٦۲/۹۰**
رایزوبیوم	۱	٤/۹۵٦**	۰/۸۵۰**	۱۱/۵۲٤**	۱۳۲۱۳۵/۰۳**	۷۳٦۱٦/٤۰**	٦۰۷٦۲/۰۳**	۲۹۱۰/۰۱**
باکتری‌های PGPR	٤	۰/۷۷۱**	۰/۲۰۲*	۱/٦۸۸**	۲۰۲۳۲/۹٦۳**	۱٤۲۵٤/۳۲**	۱۱۳۷٤/٤۰**	۳۱۹۲/۷۸۷**
رایزوبیوم× PGPR	٤	۰/۰٤۱**	۰/۱۰۸^{ns}	۰/۱۰۲**	۱۲۱۲/٤٦۲**	۱۵۷۷/٤٦**	۱۵٦٤/۰۲۵**	۲۱۷/۸۳۳^{ns}
خطای آزمایش	۲۷	۰/۰۰۸	۰/۰٦۰	۰/۰۲٤	۲۳۹/٤٦٦	۲۹۹/۵۸۱	۱٦۲/۹۹۲	۳۲٦/۳٤۵
ضریب تغییرات (%)	–	۳/۳۰	۱۸/٤۰	۳/۸۰	۵/۲۰	۷/۰٤	٦/۰٤	۲٦

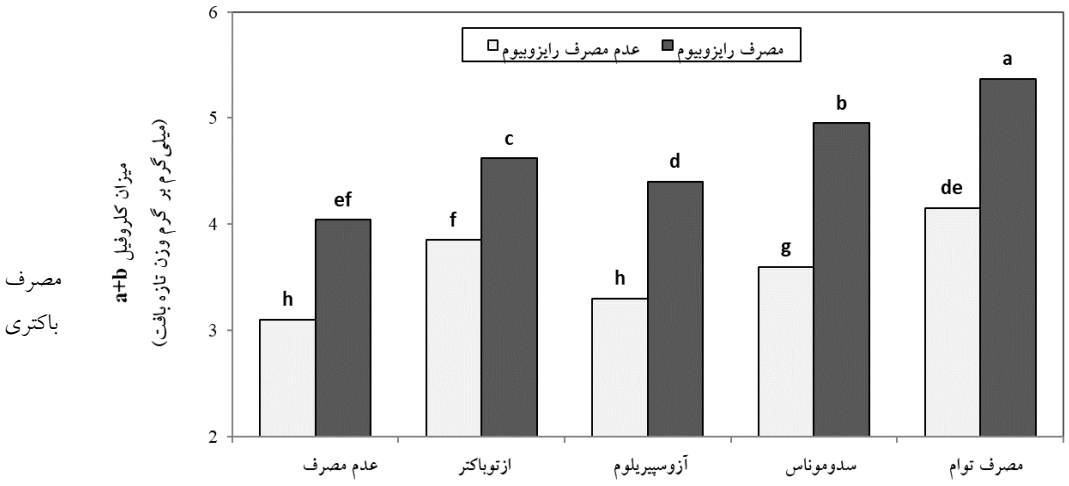
*، ** و ^{ns} به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد، یک درصد و عدم تفاوت معنی دار می باشد.

کلروفیل a

براساس شکل ۱، ترکیب تیماری مصرف هم زمان مخلوط باکتری‌های PGPR همراه با باکتری رایزوبیوم (۳/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت) بیشترین محتوی کلروفیل a و تیمار عدم مصرف هر دو باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم (۲/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت) کمترین میزان کلروفیل a را داشتند. به‌طورکلی نتایج آزمایش نشان داد که مصرف باکتری رایزوبیوم همراه با باکتری‌های PGPR به ویژه تیمار توأم PGPR (ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم+ سدوموناس) در مقایسه با تیمار عدم مصرف هر دوی باکتری‌های PGPR و باکتری رایزوبیوم از میزان کلرفیل a بیشتری برخوردار بود (شکل ۱).



شکل ۱- برهمکنش پرایمینگ بذر با باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بر میزان کلروفیل a



شکل ۲- برهمکنش پرایمینگ بذر با باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بر میزان کلروفیل a+b

کلروفیل b

نتایج آزمایش نشان داد، تیمار مصرف باکتری رایزوبیوم با ۱/۴۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت، در مقایسه با تیمار عدم مصرف باکتری رایزوبیوم با ۱/۱۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت، از محتوی کلروفیل b بیشتری برخوردار بود. در بین سطوح مختلف مصرف باکتری‌های PGPR، بیشترین محتوی کلروفیل b

مربوط به تیمارهای مصرف توأم و مصرف سدوموناس به ترتیب با ۱/۵۶۶ و ۱/۴۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت، و دو تیمار مصرف آزوسپیریلوم، همچنین مصرف ازتوباکتر به ترتیب با ۱/۲۷۰ و ۱/۲۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت، در یک گروه آماری قرار گرفتند و تیمار عدم مصرف باکتری‌های PGPR با ۱/۱۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت کمترین محتوی کلروفیل b را به‌خود اختصاص داد.

کلروفیل a+b

با توجه به شکل ۲، تیمار مصرف مخلوطی از باکتری‌های PGPR همراه با کاربرد باکتری رایزوبیوم (۵/۳۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت) بیشترین محتوی کلروفیل a+b و تیمار عدم مصرف باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم (۳/۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه بافت) کمترین میزان کلروفیل a+b را به‌خود اختصاص دادند. به‌طورکلی، نتایج این آزمایش نشان داد مصرف باکتری رایزوبیوم همراه با باکتری‌های PGPR (به ویژه مصرف توأم ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم+ سدوموناس) در مقایسه با تیمار عدم مصرف هر دو باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم از میزان کلرفیل a+b بیشتری برخوردار بود (شکل ۲).

در خاک‌های برخی از مناطق، تعداد کافی ریزوبیوم برای تثبیت زیستی نیتروژن وجود ندارد (اصغر زاده و همکاران، ۱۹۹۹). بنابراین مایه تلقیح و گیاه باید به نحو صحیحی انتخاب شود تا نتیجه مناسب به دست آید. علاوه بر ریزوبیوم‌ها گروهی از باکتری‌های خاکی آزادزی نیز تاثیرات مفیدی بر رشد ونمو گیاه دارند. باکتری‌های رایزوبیوم درون گرهک‌های ریشه عدس، با افزایش میزان تثبیت بیولوژیکی نیتروژن اتمسفری (N_2)، قادرند نیتروژن قابل دسترس برای گیاه را افزایش دهند. بنابراین باکتری‌های رایزوبیوم همزیست با ریشه، با تأمین نیتروژن کافی، گیاه عدس را قادر خواهد ساخت کلروفیل بیشتری بسازد، چرا که می‌دانیم کلروفیل دارای ساختار پروتیئنی بوده و نبود نیتروژن کافی در دسترس گیاه، باعث کاهش ساخت این رنگدانه فتوسنزی خواهد شد. بالاتر بودن محتوی کلروفیل a، b و a+b در تیمار مصرف توأم باکتری‌های PGPR (ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم+ سدوموناس) در مقایسه با سایر تیمارها به ویژه تیمار شاهد باعث شد توان فتوسنتزی و تولید ماده خشک کل گیاه افزایش یابد. ترکیب تیماری مصرف باکتری رایزوبیوم همراه با تیمار کاربرد توأم باکتری‌های PGPR (ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم+ سدوموناس)، به دلیل بالا بردن میزان کلروفیل a، b و a+b توانست باعث افزایش راندمان فتوسنتز گیاه عدس شود. مظفری و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی نشان دادند که مصرف انواع باکتری‌های PGPR به ویژه مصرف توأم آن‌ها توانست محتوی کلروفیل a، b و a+b را افزایش دهد. آن‌ها این افزایش را به اثرات مثبت باکتری‌های PGPR در افزایش رشد گیاه از طریق سازوکارهای مستقیم و غیر مستقیم دانستند. اخیراً توجه زیادی به تلقیح ترکیبی باکتری‌های محرک رشد گیاه با باکتری رایزوبیوم در حبوبات دانه‌ای صورت گرفته است، چرا که تلقیح مضاعف باکتری‌های محرک رشد و رایزوبیوم اثرات مثبتی بر روی گره سازی، تثبیت زیستی نیتروژن و عملکرد دانه این گیاهان داشته است (دودیجا و همکاران، ۲۰۱۱). پورمحمد و مظفری (۲۰۱۵) گزارش دادند که محتوی نیتروژن، فسفر و پتاسیم و کلروفیل برگ نخود در تیمار مصرف باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR) بیشتر بود، آنها این افزایش را به دلیل اثرات مثبت و هم افزایی باکتری رایزوبیوم و PGPR دانستند.

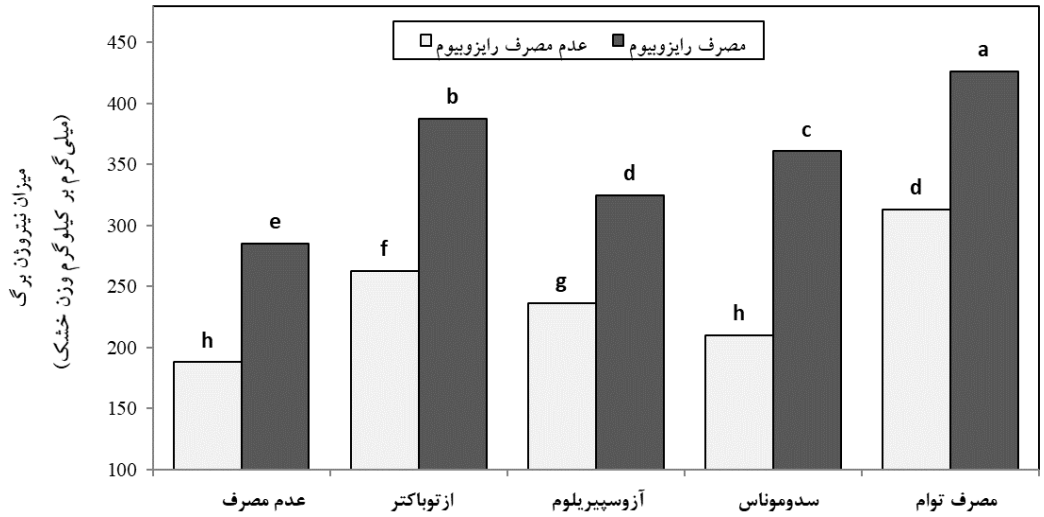
مقدار نیتروژن (N)

تیمار کاربرد همزمان باکتری‌های PGPR و باکتری رایزوبیوم (۴۲۶/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بافت)، بیشترین مقدار نیتروژن برگ، و تیمار عدم مصرف هر دوی باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم (۱۸۸/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بافت) کمترین مقدار نیتروژن برگ را داشتند. تیمار مصرف باکتری رایزوبیوم همراه با باکتری‌های PGPR (به ویژه مصرف توأم) در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف هر دو باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم) از میزان نیتروژن برگ به مراتب بیشتری برخوردار بود (شکل ۳).

مقدار فسفر (P)

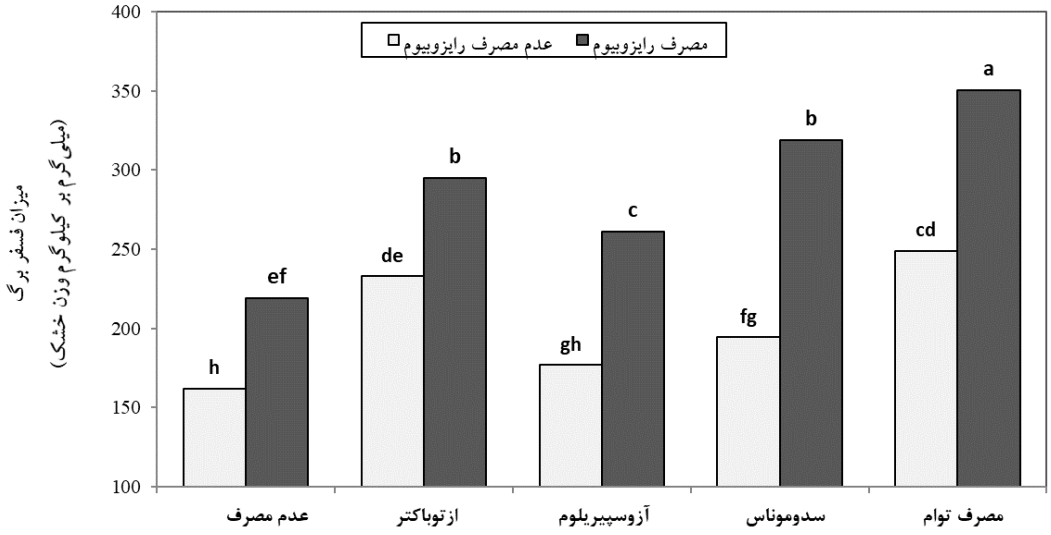
بر اساس نتایج آزمایش، تیمار کاربرد همزمان باکتری‌های PGPR همراه با باکتری رایزوبیوم (۳۵۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بافت) بیشترین مقدار فسفر برگ و تیمار عدم مصرف هر دوی باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم (۱۶۲/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بافت) کمترین مقدار فسفر برگ را به‌خود اختصاص دادند. به‌طورکلی نتایج آزمایش نشان داد، مصرف باکتری رایزوبیوم همراه با باکتری‌های PGPR (به ویژه مصرف توأم) در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف هر

دوی باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم) از مقدار فسفر برگ بیشتری برخوردار بود (شکل ٤).



پرایم بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه

شکل ۳- برهمکنش پرایمینگ بذر با باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بر میزان نیتروژن برگ



پرایم بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه

شکل ۴- برهمکنش پرایمینگ بذر با باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بر میزان فسفر برگ

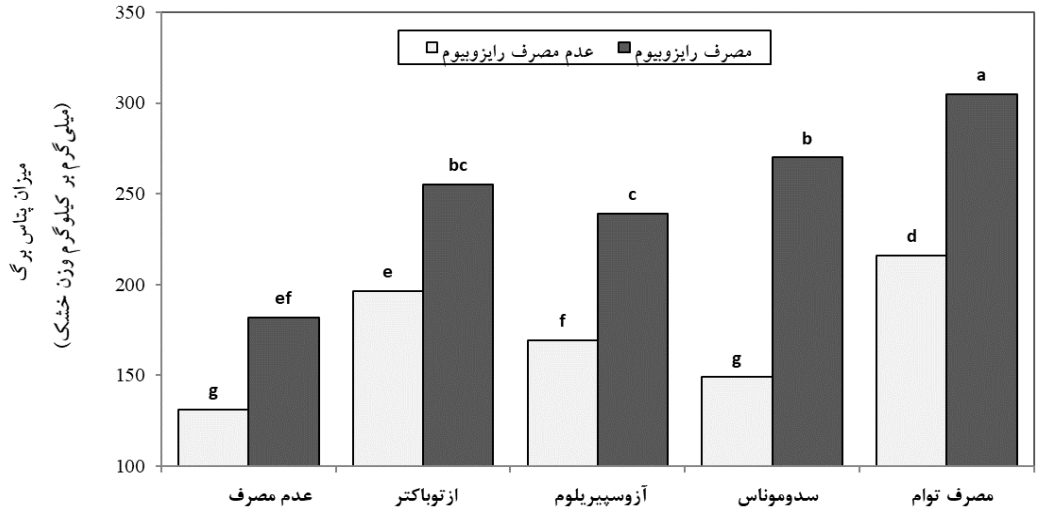
مقدار پتاسیم (K)

نتایج آزمایش نشان داد، تیمار کاربرد باکتری‌های PGPR همراه با باکتری رایزوبیوم (۳۰۵/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بافت) بیشترین مقدار پتاسیم برگ و تیمار عدم مصرف هر دوی باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم (۱۳۱/۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بافت) کمترین مقدار پتاسیم برگ را داشتند. به‌طورکلی، مصرف رایزوبیوم همراه با باکتری‌های PGPR (به ویژه مصرف توأم یعنی ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم+ سدوموناس) در مقایسه با تیمار عدم مصرف هر دوی باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم از مقدار پتاسیم برگ بیشتری برخوردار بود (شکل ۵).

نتایج آزمایش نشان داد، تیمار مصرف باکتری رایزوبیوم با ۷۵/۶۷۰ گرم در متر مربع نسبت به تیمار عدم مصرف باکتری رایزوبیوم با ۵۸/۶۱۱ گرم در متر مربع از میزان عملکرد دانه بیشتری برخوردار بود. در بین سطوح مختلف مصرف باکتری‌های PGPR، تیمار مصرف توام با ۹۸/۵۸۲ گرم در متر مربع بیشترین میزان عملکرد دانه و تیمار عدم مصرف PGPR با ٤٥/٦٤٤ گرم در متر مربع کمترین مقدار عملکرد دانه را به خود اختصاص دادند و سایر تیمارها یعنی مصرف باکتری ازتوباکتر، سدوموناس و آزوسپیریلوم به ترتیب با عملکرد دانه ٦٩/٥٣٢، ٦٦/٦٢٥ و ٥٣/٣١٩ گرم در متر مربع همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند.

به نظر می‌رسد کودهای زیستی رایزوبیومی با افزایش مقدار و کارآیی تثبیت بیولوژیک نیتروژن و رایزوباکتری‌های تحریک کنندهٔ رشد گیاه با افزایش دسترسی گیاه به عناصر مغذی مهمی چون نیتروژن و فسفر و افزایش رشد ریشه، باعث افزایش عملکرد دانه عدس هم در شرایط آبیاری مطلوب و هم در شرایط تنش خشکی می‌گردند (دشتی و همکاران، ۱۹۹۸، صباغ‌پور ۲۰۰٦).

مکانیزم اصلی انحلال فسفات های معدنی در نتیجه اثر اسیدهای آلی تولید شده به وسیله باکتری های خاک تشخیص داده شده است. تولید اسیدهای آلی موجب اسیدی شدن محیط اطراف سلول های باکتری شده و در نتیجه فسفر عنصری می‌تواند در اثر جایگزینی یون H^+ با یون های کلسیم در محیط آزاد گردد. از میان اسیدهای آلی به نظر می‌رسد که اسید گلوکونیک فراوان ترین عامل در انحلال فسفات های معدنی باشد (ایلمر و شینر، ۱۹۹۵) اسیدهای آلی جداشده از محیط کشت باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم موجب انحلال فسفات های معدنی می‌گردد در ضمن مقدار فسفات‌های محلول شده در نتیجه‌ی اثر این اسیدها در محلول‌های فاقد سلول باکتری تقریباً مشابه مقدار فسفات‌های انحلال یافته در محیط‌های کشت حاوی سلول‌های باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم بوده است (هالدر، ۱۹۹۰).



شکل ۵- برهمکنش پرایمینگ بذر با باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR بر میزان پتاس برگ

باتاچارجیا و چاندرا (۲۰۱۳) بیان داشتند که مصرف مزو رایزوبیوم، باعث تجمع بیشتر نیتروژن در دانه و کاه به ترتیب به میزان ۲۰/۳ و ۲۲/۳ درصد در مقایسه با تیمار شاهد (عدم تلقیح) شد. همچنین این تیمار میزان تجمع فسفر را در دانه و کاه به ترتیب ۲۰/۳ و ۲۲/۳ درصد بیشتر از تیمار شاهد افزایش داد. مصرف باکتری‌های PGPR به تنهایی میزان جذب نیتروژن را در دانه و کاه، به ترتیب ۳۵/۷ و ۷۲/۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد. مصرف دوتایی مزورایزوبیوم و باکتری‌های PGPR در مقایسه با مصرف تکی آن‌ها از میزان جذب نیتروژن و فسفر بیشتری برخوردار بود.

رایزوبیوم از طریق تثبیت بیولوژیکی نیتروژن به صورت همزیست و باکتری‌های محرک رشد گیاه نیز از طریق تأثیر بر رشد و توسعه ریشه، تثبیت غیرهمزیست نیتروژن، حل کردن فسفر و پتاسیم تثبیت شده در خاک و سایر مکانیزم‌ها، باعث

جذب بیشتر عناصر غذایی نظیر نیتروژن و فسفر و پتاسیم توسط گیاه میزبان می‌شود (لیفشیتز و همکاران، ۱۹۸۷). آزمایش‌های کاربرد هم زمان PGPR و *Rhizobium Bradyrhizobium* spp.، افزایش ماده خشک اندام‌های هوایی و ریشه، وزن خشک گره، میزان آنزیم نیتروژناز، تثبیت نیتروژن و عملکرد دانه را در گیاه نخود (گال و همکاران، ۲۰۰٤، سیندهو و همکاران، ۲۰۰۲، زیادی و همکاران، ۲۰۰۳) و لگوم‌های گوناگون نشان داده است (تیلاک و همکاران، ۱۹۹۹، سیندهو و همکاران، ۲۰۰٦). اثر هم افزایی باکتری های حل کننده فسفر، تحریک کننده رشد گیاه و تثبیت کننده نیتروژن، روی رشد گیاه، تعداد گره، پروتئین دانه، عملکرد و جذب مواد غذایی در گیاه نخود گزارش شده است (وانی و همکاران، ۲۰۰۷). سلیمانی و اصغرزاده (۱۳۸٦) اعلام کردند که تلقیح باکتری مؤثر (همزیست یا غیرهمزیست) می‌تواند رشد گیاه را از طریق بهبود توسعه رشد و تغذیه بهتر و دسترسی مناسب تر به مواد غذایی افزایش دهد. زفر و همکاران (۲۰۱۲) بیان داشتند که افزایش طول ساقه و ریشه، وزن تر ساقه و ریشه، وزن خشک ساقه و ریشه، در بوته‌های عدس تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاه به خاطر تجمع بیشتر نیتروژن در گیاهان تلقیح شده به دلیل توانایی تثبیت نیتروژن و رشد بهتر ریشه است. آن‌ها بیان داشتند که میزان نیتروژن ریشه، ساقه و بذر به ترتیب ۳۵ ،۲۹ و ۲۵ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. آندرادی و همکاران (۲۰۱۳) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند .باکتری‌های PGPR به دو طریق مستقیم (جذب و انتقال نیتروژن محلول) و غیر مستقیم (با ترشح ترکیبات آلی و تبدیل نیتروژن نامحلول خاک به فاز محلول و سپس انتقال آن، سبب افزایش نیتروژن گیاه میزبان می‌شوند. همچنین استانچیوا و داینو (۲۰۰۳) علت افزایش جذب نیتروژن و فسفر در ذرت و سورگوم تحت تأثیر کودهای زیستی را به واسطه افزایش سیستم ریشه‌ای در این گیاهان گزارش کردند.

آسری و همکاران (۲۰۰۸)، همچنین آندرادی و همکاران (۲۰۱۳). نتیجه گرفتند که حداکثر جذب نیتروژن و فسفر در تیمارهای تلفیقی به واسطه بهبود تثبیت نیتروژن و فعالیت فسفاتاز حاصل می‌شود. جهت صرفه‌جویی و افزایش کارایی مصرف کودهای نیتروژن، استفاده از باکتری‌های محرک رشد که تثبیت کننده نیتروژن بوده و می‌توانند در طول رشد گیاه، نیتروژن را تثبیت کنند و در اختیار گیاه قرار دهند، مناسب به نظر می‌رسد (زیادی، ۲۰۰۲؛ باریا و همکاران، ۲۰۰۲؛ زیادی و محمد، ۲۰۰٦).

کودهای زیستی فسفات که حاوی باکتری‌ها و قارچ‌های حل کننده‌ی فسفات هستند معمولاً با اسیدی کردن خاک و یا ترشح آنزیم‌های فسفاتاز باعث رهاسازی فسفات از ترکیبات نامحلول معدنی و آلی فسفر می‌شوند، که قابل جذب به وسیله گیاهان است. ماهانتا و رایی (۲۰۰۸) گزارش دادند که کودهای زیستی، به ویژه باکتری‌های حل کننده فسفات، مقدار pH خاک را از طریق تولید انواع اسیدهای آلی از قبیل اسیدهای سیتریک، گلوتامیک، لاکتیک، اگزالیک، α-کتوبوتاریک، گلیواگزالیک، مالیک، فوماریک، تارتاریک کاهش می‌دهند. کاهش pH خاک بر اثر کاربرد کودهای زیستی بیانگر این واقعیت است که اسیدی شدن خاک توسط اسیدهای آلی و افزایش مادهٔ آلی خاک ممکن است علت اصلی دسترسی بیشتر عناصری از قبیل فسفر و پتاسیم تثبیت شده باشد؛ در نتیجه می‌توان افزایش دسترسی فسفر و پتاسیم را به کاهش pH خاک نسبت داد. تعدادی زیادی از میکروارگانیسم‌ها از جمله انواع باکتری‌های جنس باسیلوس، بورخولدریا و سدوموناس در آزادسازی پتاسیم به شکل قابل استفاده از ترکیبات معدنی و به دنبال آن افزایش جذب توسط گیاه نقش دارند (مینا و همکاران، ۲۰۱٤). میزان افزایش حلالیت پتاسیم بر اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد ۱۲۷/۹–۸٤/۸ درصد بیشتر نسبت به شاهد بود (مینا و همکاران، ۲۰۱٤). آزادسازی پتاسیم از کانی‌های ایلیت و فلدسپار توسط میکروارگانیسم‌ها به دلیل تولید اسیدهای آلی نظیر اسید اگزالیک، اسید تارتاریک، اسید گلوکونیک، اسید ۲-کتوگلوکونیک، اسید سیتریک، اسید مالیک و اسید سوکسنیک می‌باشد (شینگ و همکاران، ۲۰۰٦). مینا و همکاران (مینا و همکاران، ۲۰۱٤) بیان کردند که اسید تارتاریک تولید شده به عنوان مهم‌ترین عامل آزادسازی پتاسیم تثبیت شده محسوب می‌شود. راثی‌پور و اصغرزاده (۱۳۸٦) در تحقیقی روی اثرات متقابل باکتری‌های حل کننده‌ی فسفات و برادی ریزوبیوم ژاپونیکم در سویا گزارش کردند که باکترهای حل کننده فسفات، باعث افزایش وزن خشک و تر گره‌های ریشه و درصد نیتروژن، فسفر و پتاس در اندام‌های هوایی گیاه شدند. محققین معتقدند کاربرد تلفیقی موجب افزایش فعالیت اسید فسفاتاز و الکالین فسفاتاز در اطراف ریشه‌ها شده و افزایش محتوای فسفر در خاک و جذب بیشتر نیتروژن، روی، مس و آهن را موجب می‌شود. این نوع تلقیح دوگانه می‌تواند مکمل کابرد کودهای فسفره و نیتروژن در گیاهان باشد (بیهیرا و همکاران، ۲۰۱٤).

نتیجه گیری

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد، کاربرد باکتری رایزوبیوم همچنین باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) به‌ویژه مصرف باکتری رایزوبیوم مخلوط با باکتری‌های PGPR (به ویژه مصرف توأم ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم+ سدوموناس) در مقایسه با تیمار عدم مصرف هر دوی باکتری‌های PGPR و رایزوبیوم از عملکرد دانه و محتوی کلروفیل a، b و a+b، مقدار نیتروژن، فسفر و پتاسیم در برگ بیشتری برخوردار بود. باکتری‌های PGPR نیاز نیتروژن و سایر عناصر غذایی مورد نیاز گیاهچه را تا زمانی که گرهک‌ها بر روی ریشه گیاه عدس تشکیل و باکتری‌های جنس رایزوبیوم موجود در آن‌ها شروع به فعالیت و نیتروژن هوا را تثبیت کنند، تامین می‌کند. علاوه بر این پژوهش‌گران زیادی به اثرات هم افزایی بین باکتری‌های محرک رشد گیاه و رایزوبیوم اشاره کرده‌اند، که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، به نظر می‌رسد اثرات هم افزایی باکتری رایزوبیوم و باکتری‌های PGPR در بهبود رشد و نمو و عملکرد دانه گیاه عدس نقش مهمی داشته و توصیه می‌شود در فرمولاسیون مایه تلقیح‌های مورد استفاده در اراضی مناطق خشک و دیم زارهای عدس، این ترکیب استفاده شود.

تشکر و قدر دانی

از مساعدت و همکاری کارشناسان آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه خوارزمی تهران در انجام آزمایش‌ها و نیز ریاست و کارشناسان محترم بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور به ویژه جناب آقای دکتر اسدی رحمانی و سرکار خانوم مهندس شمشیری تقدیر و تشکر بعمل میآید.

منابع

اصغرزاده، ا، صالح راستین، ن و محمدی، م. ۱۳۷۷. بررسی پتانسیل تثبیت نیتروژن گونه‌های بومی *Mesorhizobium ciceri* همزیست با دو رقم نخود (*Cicer arietinum*) در ایران. مجله خاک و آب، جلد ۱۲: ص ۱-۸.

باقری، ع.، گلدانی، م. و حسن زاده، م. ۱۳۷٦. زراعت و ا صلاح عدس (ترجمه). انتشارات دانشگاه مشهد.

پارسا، م. و باقری، ع. ۱۳۸۷. حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

پورمحمد، ع. و مظفری، ا. ۱۳۹۵. بررسی تأثیر تلقیح رایزوبیایی و روش مصرف باکتری های بهبود دهنده رشد گیاه (PGPR) بر میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم و کلروفیل برگ نخود در شرایط دیم. دومین همایش ملی مدیریت پایدار منابع خاک و محیط زیست، ۱۷ و ۱۸ شهریورماه ۱۳۹۵. دانشگاه شهید باهنر کرمان.

راثی پور، ل. و اصغرزاده، ع. ۱۳۸٦. اثرات متقابل باکتری های حل کننده فسفات و *Bradyrhizobium japonicum* بر شاخص‌های رشد، غده بندی و جذب برخی عناصرغذایی در سویا، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی شماره ٤۰ ص ۵۳-٦٤.

سلیمانی، ر. و اصغر زاده، ا. ۱۳۸۹. تأثیر تلقیح مزوریزوبیوم و مصرف کود بر عملکرد و اجزای عملکرد نخود دیم. نشریه پژوهش های حبوبات ایران جلد ۱ شماره۱، ص ۱-۸.

صالح راستین، ن. ۱۳۵۷. بیولوژی خاک. انتشارات دانشگاه تهران، ٤۸۲ صفحه.

مظفری، ا.، حبیبی، د.، اصغرزاده، ا. و مشهدی اکبر بوجار، م. ۱۳۹۵. بررسی تحمل به تنش خشکی دو رقم گندم تلقیح شده با رایزوباکتری‌های محرک رشد گیاه تحت شرایط گلخانه. مجله فیزیولوژی گیاهان زراعی دوره ۸ شماره ۳۱. ص ۲۱-۲۹.

Andrade, M.M.M., N.P., Stamford, C.E.R.S., Santos, A.D.S., Freitas, C.A., Sousa and M.A.L., Junior. 2013. Effects of biofertilizer with diazotrophic bacteria and *mycorrhizal* fungi in soil attribute, cowpea nodulation yield and nutrient uptake in field conditions. Scientia Horticulturae. 162: 374-379.

Anonymous. 2002. Determination of crude protein in cereals and cereal products for food and for fed. Standard methods of the international association for cereal science and technology. ICC Standard No:105/2, Viena.

Aseri, G.K., N., Jain, J., Panwar, A.V., Rao and P.R., Meghwal. 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. Scientia Horticulturae. 117: 130-135.

Asgharzadeh, A., N., SalehRastin and M., Mohammadi. 1999. Investigation of potential of symbiosis nitrogen fixation of indigenous *Mesorhizobium ciceri* with two varieties of *Cicer arietinum* in Iran. Soil and Water. 12: 1-8.

Bhattacharjya, S. and R., Chandra. 2013. Effect of inoculation methods of *Mesorhizobium ciceri* and PGPR in chickpea (*Cicer areietinum* L.) on symbiotic traits, yields, nutrient uptake and soil properties. Legume Research. 36(4): 331-337.

Boddey, R.M. and J., Dobereiner. 1988. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent results and perspective for future research. Plant and Soil. 108: 53-65.

Bremer, E., C.V., Kessel, L.K.J., Nelson and D.A., Rennie. 1990. Selection of *Rhizobium leguminosarum* strains for lentil (*Lens culinaris*) under growth room and field condition. Plant and Soil. 121: 47-56.

Chapman, H.D. and F.P., Pratt. 1987. Ammonium vandate-molybdate method for determination of phosphorus. In: Methods of analysis for soils, plants and water. 1st Ed. California: California University, Agriculture Division, pp: 184-203.

Dashti, N., F., Zhang, R., Hynes and D.L., Smith. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] under short season conditions. Plant and Soil. 200: 205-213.

Dubey, S.K. 1996. Combined effect of *Bradyrhizobium japonicum* and phosphate–solubilizing Pseudomonas striata on nodulation, yield attributes and yield of rainfed soyabean (*Glycine max*) under different sources of phosphorus in Vertisols. Indian Journal of Microbiology. 33: 61-65.

Dudeja, S.S., N.P. Singh, Poonam Sharma, S.C. Gupta,. Ramesh Chandra, Bansi Dhar, R.K. Bansal, G.P. Brahmaprakash,. S.R. Potdukhe, R.C. Gundappagol, B.G. Gaikawad and K.S. Nagaraj. 2011. Biofertilizer Technology and Pulse Production. In: Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol. (A. Singh et al. Eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 43-63.

Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-Living bacteria. Canadian Journal of Microbiology. 41:109-117.

Gull, M., F.Y., Hafeez, M., Saleem and K.A., Malik. 2004. Phosphorus uptake and growth promotion of chickpea by co-inoculation of mineral phosphate solubilizing bacteria and a mixed rhizobial culture. Australian Journal of Experimental Agriculture. 44: 623-628.

Halder, A.K. 1990. Solublelization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. Journal of Application Microbial. 36: 81-92.

Jayas, D.S., S., Sokhansanj and N.D.G., White. 1989. Bulk density and porosity of two canola species. Trans. ASAE. 32: 291-294.

Illmer, P. and F., Schinner. 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates. Soil Biology and Biochemistry. 46: 257-263.

Kennedy, I.R., A.T.M.A., Choudhury and M.L., Kecskes. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop farming systems: Can their potential for plant growth promotion be better exploited. Soil Biology and Biochemistry. 36: 1229-1244.

Khanna, V., P., Sharma and S., Sharma. 2011. Studies on synergism between Rhizobium and plant growth promoting rhizobacteria in lentil (*Lens culinaris Medikus*). Journal of Food Legumes. 24: 158-59.

Kloepper, J.W. and M.N., Schroth. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. IV. International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Angers France. 2: 879-882.

Lifshitz, R., I.W., Kloepper and H., Kozlowski. 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedling by a strain of *Pseudomonas putida* under genobiotic conditions. Canadian Journal of Microbiology. 33: 390-395.

Mahanta, D. and R.K., Rai 2008. Effects of sources of phosphorus and biofertilizers on productivity and profitability of soybean (*Glycine max*)–wheat (*Triticum aestivum*) system. Indian Journal of Agronomy. 53: 279-284.

Meena, V.S., B.R., Maurya and J.P., Verma. 2014. Does a rhizospheric microorganism enhance K+ availability in agricultural soils? Microbiological Research. 169: 337-347.

Mia M.B., Z.H., Shamsuddin, W., Zakaria and M., Marziah. 2009. The effect of rhizobacterial inoculation on growth and nutrient accumulation of tissue-cultured chickpea plantlets under low N-fertilizer regime. African Journal of Biotechnology. 8(21): 5855–5866.

Misson J., M.C., Thibaud, N., Bechtold, K., Raghothama and L., Nussaume. 2004. Transcriptional regulation and functional properties of Arabidopsis Pht1;4, a high affinity transporter contributing greatly to phosphate uptake in phosphate deprived plants. Plant Molecular Biology. 55: 727–741.

Molla, A.H., Z.H., Shamsuddin, M.S., Halimi, M., Morziah and A.B., Putech. 2001. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in Laboratory systems. Soil Biol and Biochemistry. 33: 457-463.

Porra, R.J., W.A., Thompson and P.E., Kriedemann. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochim Biophys Acta. 975: 384-94.

Sabaghpour, H., A.A., Mahmoudi, A., Saeed, M., Kamel and R.S., Malthora. 2006. Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. Indian Journal of Crop Science. 1: 70-73.

Sheng, X.F. and L.Y., He. 2006. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild type strain of *Bacillus edaphicus* and its mutants and increased potassium uptake by wheat. Canadian Journal of Microbiology. 52: 66-72.

Sindhu, S.S., S.K., Gupta. and K.R., Dadarwal. 1999. Antagonistic effect of *Pseudomonas* spp. on pathogenic fungi and enhancement of plant growth in green gram (*Vigna radiata*). Biological Fertility of Soils. 29: 62-68.

Sindhu, S.S., S., Suneja, A.K., Goel, N., Parmar and K.R., Dadarwal. 2002. Plant growth promoting effects of *Pseudomonas sp*. on coinoculation with *Mesorhizobium sp.* cicer strain under sterile and "wilt sick" soil conditions. Applied Soil Ecology. 19: 57-64.

Stancheva, I. and N., Dinev. 2003. Effect of inoculation of maize and species of tribe *Triticeae* with *Azospirillum brasilense*. Journal of Plant Physiology. 4: 550-552.

Starr, M.P., H., Stolp, H.G., Truper, A., Balows and H.G., Schlegel. 1995. The Prokaryotes, Springer-Verlage.

Sturz, A.V. and B.R., Christie. 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. Soil and Tillage Research. 72: 107-123.

Tilak, K.V.B.R., N., Ranganayaki and C., Manoharachari. 2006. Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and Rhizobium on nodulation and nitrogen fixation by Pigeonpea (*Cajanus cajan*). European Journal of Soil Science. 57: 67-71.

Wani, P.A., M.S., Khan and A., Zaidi. 2007. Synergistic effect of the inoculation with nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing rhizobacteria on performance of field-grown chickpea. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 170: 283-287.

Zafar, M., M.K., Abbasi, M.A., Khan, A., Khaliq, T., Sultan and M., Aslam. 2012. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth, nodulation and nutrient accumulation of lentil under controlled conditions. Pedosphere. 22: 848-859.

Zaidi, A. and S., Mohammad. 2006. Co-inoculation effects of phosphate solubilizing micro-organisms and *Glomus fasciculatum* on green gram-bradyrhizobium symbiosis. Agriculture Science. 30: 223-230.

Zaidi, A., M.S., Khan and M., Amil. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Europian Journal of Agronomy. 19: 15-21.

Zhang, Z.L. 1990. Guide to plant physiology experiments. Beijing: Higher Education Press.

Zahir, A.Z., M., Arshad and W.F., Frankenberger (Jr.). 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy. 81: 97-68.

Investigation on the effect of seed priming with rhizobium bioinoculant and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on chlorophyll, nutrients and grain yield in lentil under rainfed condition

A. Seyyed-Moradi[1], A. Mozafari[2]

Recieved: 2018-10-22 Accepted: 2019-5-23

Abstract

To study the effect of seed priming with rhizobium bioinoculant and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on chlorophyll, nutrients and grain yield in lentil rainfed, a factorial experiment was carried out in a randomized complete block design (RCBD) with four replicates in Karazan districts of Sirvan located in Ilam province during 2016-2017. Experimental treatments include the application of PGPR consists of five levels: inoculation seed with *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas* individually, inoculation of seeds with mixed PGPR (*Azotobacter* + *Azospirillum* + *Pseudomonas*) and non-using of PGPR, and rhizobium bacteria factor at two levels: seed inoculation with rhizobium and non-use of Rhizobium. Simple and interaction effects of Rhizobium bacteria and PGPR bacteria application on all studied traits (except for interaction effect of experimental factors on grain yield and chlorophyll b content) showed highly significant ($P < 0.01$). In general, the results of the experiment showed that the use of Rhizobium bacteria with PGPR bacteria, in particular, combined consumption treatment (*Azotobacter* + *Azospirillum* + *pseudomonas*), increased the grain yield, nitrogen, phosphorus and potassium, and chlorophyll a, b and a+b contents of leaf compared to Non-use rhizobium and PGPR bacteria. With regard to synergistic effects of Rhizobium and PGPR bacteria in improving the growth and grain yield of lentil plant, it is recommended to use the combination of Rhizobium and PGPR bacteria in the inoculum formulation used under arid and dry land areas.

Keywords: *Azospirillum, Azotobacter,* lentil*, Pseudomonas, Rhizobium.*

1- Masters student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ilam Branch, Islamic Azad university, Illam, Iran
2- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ilam Branch, Islamic Azad university, Illam, Iran