

Research Article

Agricultural Engin., 44(4) (2022) 463-483
DOI: 10.22055/agen.2022.39592.1624

ISSN (E): 2588-526X

ISSN (P): 2588-5944

Investigating the combined application of different levels of triple superphosphate and native phosphate-solubilizing *Pseudomonas* bacteria on growth indices of maize

A.R. Fallah Nosratabad^{1*} and Sh. Shariati²

1. Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran (rezafayah@yahoo.com)
2. Department of Soil Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran (shayan_shariati@ut.ac.ir)

Received: 6 January 2022

Accepted: 11 March 2022

Abstract

Introduction: Phosphorus (P) is one of the most necessary plant nutrients and the second key plant nutrient after nitrogen, which deeply affects the overall growth of plants. Most of the present P in calcareous soils is biologically unavailable, therefore mobile P is rare despite the abundance of both organic and inorganic forms of P in soils. It has been well-known that P use efficiency of triple superphosphate (TSP) fertilizer in alkaline soils is low. Due to the increase in the price of phosphate fertilizers and their low plant absorption (10–30%), the use of indigenous phosphate solubilizing bacteria (PSB) to increase P-fertilizer-use efficiency and reduce its application amount can be a perfect way. The combined use of bio-fertilizers and superphosphate is an important component of integrated nutrient management, which leads to sustainable agriculture. This research was carried out to investigate the contribution of native phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. along with superphosphate application to increase soil P solubility, yield and nutrient concentration of maize and improve some soil properties in a calcareous soil with low organic matter and phosphorus.

Materials and Methods: Eleven strains of *Pseudomonas* sp (*Pseudomonas* sp. *Pseudomonas koreensis*) bacteria were obtained from the Gene Bank of Iran Soil and Water Research Institute. The phosphate solubilizing activity of each bacterium was evaluated in Sperber medium quantitatively (liquid) and qualitatively (plates). Each bacterium was cultured in two plates with three replications and incubated at 28 °C. Then the colony and halo diameter were measured on the third, fifth, seventh, tenth, and fourteenth days after incubation. To evaluate phosphate solubility by bacteria in a liquid medium, 50 ml of Sperber medium was prepared and sterilized with three replications. Then 1 ml of fresh culture suspension of each bacterium with a population of 10⁷ cells/ml was inoculated into each Erlenmeyer flask (treatments and controls) and incubated at 150 rpm and 150 ° C for 14 days. Soluble phosphorus (Vanadate-molybdate method) and pH on the first, third, tenth and fourteenth days of incubation were measured. To assay the interaction effects of bacteria and triple superphosphate fertilizer on quantitative and qualitative yield of maize plant and characteristics of soil cultivated in a soil with low level of organic matter and phosphorous, a factorial based on randomized completely design including 8 bacteria (B0, B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7) and 4 triple superphosphate fertilizer levels (0, 40, 70 and 100% of the critical limit of soil phosphorus) with 3 replications was conducted in greenhouse conditions. Sterilized pots containing



7 kg of washed sands and soil (in a ratio of one to three) were prepared. A certain amount of triple superphosphate fertilizer was added to each pot based on the treatments. The K as potassium sulfate and N as urea were used based on soil test and fertilizer recommendations for maize. Five germinated seeds (704 single cross cultivar) were planted in each pot. Seeds sown were inoculated with 1 ml of the fresh bacterial suspension inoculum (1×10^8 CFU ml⁻¹). Then after two weeks, three plants per pot were preserved and the rest were removed. Pots including different treatments were irrigated, up to 80% moisture content of field capacity (FC), by distilled water using a weight method. After 90 days, the dry weight of the plant was calculated (oven at 70 ° C for 48 hours). To analyze the nutrients in the plant, roots and shoots were powdered separately by mill and digested through dry burning method. The amount of phosphorus, potassium, nitrogen, iron, zinc, copper and manganese were measured in shoot and root of the plants. Besides, the soil of each pot was sampled and after air drying and passing through a 2 mm sieve, some characteristics of the cultivated soil such as pH, EC, P (ava), TNV, Fe, Mn, Cu, Zn were measured and compared with the initial soil properties (before planting). Data statistical analysis was performed using SAS software and the mean comparison of treatment was carried out using Duncan's method.

Results and Discussion: The results of phosphorus solubilizing bacteria effect on the dissolution of insoluble mineral phosphates in solid and liquid media showed the largest halo diameter (19.11 mm) and the highest dissolution of P (156.25% compared to the control) after the fourteenth day incubation was belong to strain P21-1 and strain P55-1, respectively and a decrease in pH (45.5-47.3 %). The results of the mean comparison showed that P₀B₃ treatment could increase the shoot dry weight by 47.45 %. P₄₀B₁ treatment was able to increase 61.62% of root dry weight. P₇₀B₆ and B₇₀B₂ treatments were also able to increase P in shoots by 17.64%, P₁₀₀B₄ treatment could increase root phosphorus by 160%. Besides, the combined use of bio-fertilizer and superphosphate increased the elements of iron, zinc, manganese, P, and reduced the electrical conductivity of the soil.

Conclusion: All strains used in this study were able to dissolve phosphorus in both liquid and solid media. The results showed that the co-application of biofertilizer and phosphorus fertilizer increased the growth of maize plant (shoot and root dry weight) and shoot and root phosphorus concentration compared to the control. In addition, the use of these treatments increased the available phosphorus, iron and zinc in soil and decreased the electrical conductivity of the soil. Therefore, the findings of this study indicate that the use of inoculants containing *Pseudomonas* sp. and *Pseudomonas koreensis* can be considered as a suitable supplement to triple superphosphate fertilizer in crop cultivation strategies.

Keywords: *Bio-fertilizer, calcareous soil, maize growth, pseudomonas, triple superphosphate.*

بررسی کاربرد تلفیقی سطوح مختلف سوپرفسفات تریپل و باکتری‌های سودوموناس بومی حل‌کننده فسفات بر شاخص‌های رشد گیاه ذرت

علیرضا فلاح نصرت آباد^{۱*} و شایان شریعتی^۲

۱- دانشیار و عضو هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲- دکتری تخصصی بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۶

پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱۲/۲۰

کلمات کلیدی:

خاک آهکی، رشد ذرت، سوپرفسفات تریپل، سودوموناس، کودهای زیستی

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تاثیر استفاده از باکتری‌های جنس *Pseudomonas* با توانایی حل‌کنندگی فسفر، در جهت افزایش حلالیت فسفر در محیط جامد، مایع و خاک، افزایش عملکرد و جذب عناصر غذایی گیاه ذرت و بهبود برخی ویژگی‌های خاک در یک خاک آهکی با محتوای فسفر پائین انجام شد. نتایج اثر سوبه‌های مختلف باکتری سودوموناس در میزان انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی در محیط جامد و مایع اسپربر نشان داد که بعد از روز چهاردهم سوبه P₂₁₋₁ بیشترین قطر هاله (۱۹/۱۱ میلی‌متر) و سوبه P₅₅₋₁ بیشترین میزان انحلال فسفر (۱۵۶/۲۵٪ نسبت به شاهد) و کاهش pH (۴۷/۳ - ۴۵/۵) را داشتند. اثرات متقابل باکتری‌ها و کود سوپرفسفات تریپل بر عملکرد کمی و کیفی گیاه ذرت و خصوصیات خاک تحت کشت به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۷ باکتری (B₀, B₁, B₂, B₃), (B₄, B₅, B₆, B₇) و ۴ سطح کود سوپرفسفات تریپل (P₀, P₄₀, P₇₀ و P₁₀₀) در صد مقدار حد بحرانی فسفر خاک) با ۳ تکرار در شرایط گلخانه بررسی شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمار P₀B₃ توانست وزن خشک اندام هوایی را ۴۷/۴۵ درصد و تیمار P₄₀B₁ توانست ۶۱/۶۲ درصد وزن خشک ریشه را افزایش دهد. تیمار P₇₀B₂ نیز توانست فسفر اندام هوایی را ۱۷/۶۴ درصد افزایش دهد. تیمار P₁₀₀B₄ باعث افزایش فسفر ریشه به مقدار ۱۶۰ درصد گردید. علاوه بر این استفاده تلفیقی از کود زیستی و فسفره موجب افزایش عناصر آهن، روی، منگنز، فسفر و کاهش هدایت الکتریکی خاک شد. یافته‌های این پژوهش بیانگر این است که کاربرد زادمایه‌های زیستی حاوی باکتری *Pseudomonas* می‌تواند به عنوان مکمل مناسب کود سوپرفسفات تریپل در استراتژی‌های کشت محصولات زراعی در نظر گرفته شود.

* عهده دار مکاتبات

Email: rezafayah@yahoo.com

مقدمه

ذرت از مهم ترین گیاهان زراعی بوده که در تامین غذای مورد نیاز جمعیت رو به رشد جهان و ایران به عنوان ماده اولیه خوراک دام و طیور و ماده خام تولیدات صنعتی و غذایی جایگاه ویژه‌ای دارد و به سلطان غلات معروف است. این بدان معنی است که تولید ذرت باید دائماً افزایش یابد تا از کمبودهای غذایی در بسیاری از نقاط جهان و ایران جلوگیری و امنیت غذایی برای کل جامعه حاصل شود (۵۸). فسفر از عناصر ضروری و پر مصرف و محدود کننده‌ترین عنصر بعد از نیتروژن برای گیاه است (۳). فسفر توسط ریشه‌های گیاهان از محلول خاک عمدتاً به صورت یون‌های ارتوفسفات (به‌طور عمده دی‌هیدروژن فسفات $H_2PO_4^-$ و به مقدار کمتر HPO_4^{2-}) جذب می‌شود (۲۴). فسفر در کلیه فرایندهای بیوشیمیایی و انتقال انرژی دخالت داشته و افزون‌بر این جزئی از پروتئین یاخته بوده و به‌عنوان بخشی از پروتئین هسته، غشاء یاخته‌ای و اسیدهای نوکلئیک نقشی ویژه دارد (۱۴). (۳۱)

فسفر حساس‌ترین عنصر غذایی نسبت به pH خاک بوده و مقدار قابل دسترس آن در محلول خاک بسیار کم است (کمتر از ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر) و مناسب‌ترین pH برای جذب فسفر توسط گیاهان ۶/۵-۷ می‌باشد (۲). فسفر در خاک‌ها به دو گروه عمده معدنی و آلی تقسیم می‌شود. بخش آلی آن در هوموس و سایر مواد آلی و بخش معدنی آن در خاک‌های اسیدی در ترکیب با آهن و آلومینیوم در ساختار کانی استرنگایت^۱ ($FePO_4 \cdot 2H_2O$) و واریسایت^۲ ($AlPO_4 \cdot 2H_2O$) (۴۳، ۱۰) و در خاک آهکی در ترکیب با کلسیم در ساختار کانی‌های تری کلسیم فسفات $(Ca_3(PO_4)_2)$ ، دی کلسیم فسفات $(CaHPO_4)$ ، دی کلسیم فسفات دی‌هیدرات $(CaHPO_4 \cdot 2H_2O)$ ، فلور آپاتیت $(Ca_5(PO_4)_3F)$ ،

هیدروکسی آپاتیت $(Ca_5(PO_4)_3OH)$ ، اکتا کلسیم فسفات $(Ca_4H(PO_4)_3 \cdot 2 \cdot 5H_2O)$ تجمع می‌یابد (۲).

در خاک‌های آهکی ایران که در اقلیم خشک و نیمه‌خشک تحول پیدا کرده‌اند، وجود pH بالا، درصد زیاد کربنات کلسیم، کمی مواد آلی و خشکی خاک باعث شده‌اند که مقدار قابل جذب فسفر کمتر از مقدار لازم برای تأمین رشد بهینه اکثر محصولات کشاورزی باشد. به‌منظور جبران کمبود فسفر، سالیانه مقادیر زیادی کودهای شیمیایی فسفاته به‌ویژه سوپرفسفات‌ها به خاک اضافه می‌گردد. فسفر موجود در کودهای شیمیایی پس از ورود به خاک به تدریج به ترکیبات نامحلول تبدیل شده و به صورت غیرقابل استفاده گیاه در خاک ذخیره می‌گردد و همچنین مقداری از فسفر موجود در این کودها تحت تاثیر فرایند رواناب و شستشو از خاک خارج شده لذا بازده کودهای فسفوری در خاک از ۲۰ درصد تجاوز نمی‌کند (۲۲، ۳۴). علاوه بر این، مصرف بی‌رویه کودهای فسفاته و تجمع فسفر در خاک موجب افزایش هزینه‌ها، بهم خوردن تعادل عناصر غذایی، تاثیر منفی بر جذب عناصر غذایی کم مصرف، آلودگی خاک به کادمیوم و بروز پدیده اتروفیکاسیون می‌شود (۴۷). برای رفع این مشکل استفاده از پتانسیل زیستی خاک و تولید کودهای زیستی که یکی از روش‌های کشاورزی پایدار و دوست‌دار محیط زیست محسوب می‌شود، ضرورت می‌یابد (۲).

امروزه باکتری‌های حل‌کننده فسفات در سطوح وسیع به‌عنوان کود زیستی به منظور افزایش تولید و حفظ سلامت خاک استفاده می‌شوند (۳۰). باکتری‌های حل‌کننده فسفات خاک از طریق تولید اسیدهای آلی (۱۸، ۵۴)، آنزیم فسفاتاز (۲۶)، تولید یون هیدروژن (۴۵)، تولید مواد کلات‌کننده و اسیدهای معدنی (۴۲) موجب افزایش حلالیت فسفر در خاک می‌شوند (۲، ۱۲).

جنس *Pseudomonas* به‌عنوان یکی از شناخته شده‌ترین و پرکاربردترین باکتری‌های محرک رشد گیاه با توانایی انحلال فسفر محسوب می‌شود. محققین توانایی

1- Strengite

2- Variscit

پنجم، هفتم، دهم و چهاردهم اندازه‌گیری شد. همچنین توانایی رشد این باکتری‌ها در محیط اسپربر در دمای ۴۰ و ۶۰ درجه سلسیوس نیز مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی توانایی باکتری‌ها از نظر توان آزادسازی فسفر در محیط مایع، ابتدا محیط نوترینت براث تهیه و در ۱۲ ارلن تقسیم شد. سپس باکتری‌ها در آن‌ها کشت و در شیکر-انکوباتور قرار داده تا رشد کنند. برای هر تیمار مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از محیط اسپربر در ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری و با سه تکرار تهیه و استریل شدند. سپس مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون کشت تازه هر باکتری با جمعیت 10^7 سلول در میلی‌لیتر به هر ارلن تلقیح شد. همراه با تیمارها سه ارلن حاوی محیط اسپربر بدون باکتری و سه ارلن حاوی محیط اسپربر که در هر کدام یک میلی‌لیتر از محیط نوترینت براث بدون تلقیح باکتری آماده شد و تمام ارلن‌ها به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در شیکر انکوباتور با ۱۵۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. pH و فسفر محلول (روش زرد مولیبدات وانادات) در روزهای اول، سوم، دهم و چهاردهم مورد سنجش قرار گرفت. برای اندازه‌گیری فسفر، یک میلی‌لیتر از محیط کشت و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول زرد مولیبدات وانادات به همراه ۸ میلی‌لیتر اسپربر صاف شده به لوله ریخته و به خوبی هم زده و از کاغذ صافی عبور داده شد و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (۱، ۲۴).

بررسی تاثیر تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفر بر شاخص‌های رشد گیاه ذرت

در این تحقیق تاثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفر بر عملکرد کمی و کیفی ذرت به صورت طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. تیمارها شامل ۸ باکتری ($B_0, B_1, B_2, B_3, B_4, B_5, B_6, B_7$) و ۴ سطح کود سوپر فسفات تریپل (۰، ۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد مقدار حد بحرانی فسفر خاک) ۳ تکرار در گلدان و در شرایط گلخانه اجرا شد. ضمناً یک تیمار B_0 با دو برابر مقدار فسفر توصیه شده و ۳ تکرار نیز مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام آزمایش ابتدا خاک مورد

انحلال فسفر و افزایش شاخص‌های رشد گیاهان مختلف را توسط این جنس از باکتری‌ها گزارش کرده‌اند (۲۸، ۵۲). ویروئل و همکاران^۱ (۵۶) گزارش کردند تلقیح گیاه ذرت با باکتری‌های *Pseudomonas tolaasii* IEXb و *Pseudomonas koreensis* SP28 به صورت جداگانه به ترتیب موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاه (۴۰٪) و فسفر گیاه (۱۴۵٪) در شرایط گلخانه شد. همچنین این باکتری توانست عملکرد گیاه (۳۲٪)، عملکرد دانه (۴۴٪) و فسفر گیاه (۵۶٪) را در شرایط مزرعه افزایش دهد. نتایج پژوهش (۳۳) نشان داد تلقیح ذرت با استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه *Pseudomonas* sp. موجب افزایش رشد گیاه، عملکرد گیاه و وزن هزاردانه شد. با توجه به موارد گفته شده هدف از این پژوهش بررسی توانایی گونه‌های مختلف بومی جنس *Pseudomonas* در انحلال فسفر و نقش آنها به عنوان مکمل با کود سوپرفسفات تریپل در افزایش شاخص‌های رشد گیاه ذرت و کاهش مصرف کود شیمیایی فسفات در یک خاک آهکی با ماده آلی و فسفر کم بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه توانایی باکتری‌ها از نظر توان حل فسفات معدنی در محیط جامد و مایع

تعداد ۱۱ باکتری از جنس *Pseudomonas* sp. از بانک ژن موسسه تحقیقات خاک و آب ایران تهیه و روی محیط کشت نوترینت آگار (محیط کشت عمومی) کشت داده شدند. به‌منظور بررسی توانایی انحلال فسفات معدنی در محیط جامد از محیط کشت اسپربر (حاوی تری کلسیم فسفات) استفاده گردید (۵۰). بدین منظور هر باکتری در دو پلیت و در هر یک در سه تکرار کشت شد و پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت چهارده روز در گرمخانه قرار داده شدند و قطر کلنی و قطر هاله ظاهر شده در اطراف کلنی در طی ۱۴ روز و در روزهای سوم،

1- Viruel et al.

مشخص تلقیح شدند (یک میلی لیتر با جمعیت 10^8 باکتری به هر بذری) و بعد از دو هفته تعداد سه بوته در هر گلدان حفظ و بقیه حذف شدند (۱، ۱۲). طی دوره رشد آبیاری با بازدید روزانه از گلدانها در صورت نیاز به آنها آب اضافه گردید. (ب) و جین علفهای هرز داخل هر گلدان انجام شد. (ج) کوددهی: کودهای اوره و سولفات پتاسیم در زمانهای معینی به مقدار مساوی به تمام گلدانها اضافه شد. پس از رشد گیاه برداشت بعد از ۳ ماه انجام گرفت. اندام هوایی گیاه را از بالای بند اول جدا کرده و آن را وزن کرده (وزن تر) سپس نمونهها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و بعد از وزن کردن، وزن خشک گیاه محاسبه شد. ریشهها نیز از خاک جدا شد و بعد از شستشو و خشک شدن در معرض هوا وزن تر آنها محاسبه شد و همانند بخش اندام هوایی در دمای ۷۰ درجه سلسیوس آون قرار داده شد و وزن خشک آن اندازه گیری گردید (۹). سپس ریشهها و ساقهها به طور جداگانه با آسیاب پودر و از روش هضم به روش سوزاندن خشک برای تجزیه گیاه استفاده شد. فسفر به روش اولسن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، نیتروژن به روش هضم و تقطیر (سیستم کجلدال)، و پتاسیم با استفاده از فلیم فتومتری در اندام هوایی گیاه و ریشه اندازه گیری شد (۸، ۳۸). همچنین پس از برداشت گیاه، از خاک هر گلدان نمونه برداری شد و پس از هوا خشک شدن و عبور خاک از الک ۲ میلی متری برخی از خصوصیات خاک تحت کشت مانند فسفر قابل دسترس (P_{ava})، EC، pH، درصد مواد خنثی شونده (TNV)، Zn، Cu، Mn و Fe اندازه گیری و با ویژگیهای اولیه خاک (قبل کشت) مقایسه شد. محاسبات آماری دادهها با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 انجام گرفت و مقایسه میانگین دادهها با استفاده از روش دانکن (در سطح احتمال ۵ درصد) و مراحل تنظیم متن و رسم نمودارها به ترتیب با استفاده از نرم افزار Word 2013 و Prism 8.1 انجام شدند.

نظر با حصول اطمینان از پائین بودن میزان فسفر قابل جذب آن (اولسن) از عمق ۳۰-۰ سانتیمتری نمونه برداری شد. سپس خواص شیمیایی آن از جمله واکنش گل اشباع، هدایت الکتریکی عصاره اشباع، درصد مواد خنثی شونده (روش کلسیمتری)، درصد نیتروژن (روش کجلدال)، فسفر (روش اولسن و دستگاه اسپکتروفتومتر) و پتاسیم قابل دسترس (عصاره گیر استات آمونیوم و دستگاه فلیم فتومتر)، میزان آهن و روی قابل دسترس (با استفاده از دستگاه جذب اتمی) تعیین شد (۷، ۴۹). به منظور آماده سازی خاک گلدانها، ابتدا شنها را شسته و pH و EC آن را پس از یک تا سه بار شستشو اندازه گرفته و چون pH و EC آن پایین بود (آهکی نبود) نیازی به شستن با اسید کلریدریک ۷۰ درصد نبوده و بعد از ده مرحله شستن، در مرحله آخر آب آن را خالی نکرده تا تبادل یونی برقرار شد و بعد از ۳۰ دقیقه دوباره هدایت الکتریکی و قدرت اسیدیتهی آن اندازه گرفته شد. بعد از خشک شدن شنها در هوای بیرون، به نسبت یک به سه (یک شن و سه خاک) با خاک مخلوط شده و به مقدار ۷ کیلوگرم در گلدانهای استریل شده با الکل ریخته شد و خاک هر گلدان با مقدار مشخص کود سوپر فسفات تریپل مخلوط شد. رقم بذر مورد کشت در این پژوهش ۷۰۴ سینگل کراس تهیه شده از موسسه تحقیقات نهال و بذر بود. بذرها در بشر استریل ریخته و ۳۰ ثانیه با الکل ۹۶ درصد شستشو داده و سپس ۳ مرحله با آب شسته شد و سپس با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۲ دقیقه ضد عفونی سطحی شدند (۱۲، ۴۸). به منظور جوانه دار کردن بذرها، محیط آب آگار (Water Agar) تهیه شد و در پلیت های شیشه ای بزرگ ریخته و بذرها استریل شده روی آنها قرار داده و سپس در داخل انکوباتور قرار گرفتند تا جوانه دار شوند. عملیات کاشت در خرداد ماه انجام گرفت. بدین منظور پس از شماره گذاری بر روی گلدانها بر اساس تیمارهای تعیین شده ۵ بذر در هر گلدان کاشته شد. در زمان کاشت، بذور با باکتریهای

نتایج و بحث

مقایسه باکتری‌ها از نظر توان حل فسفات معدنی در محیط جامد

همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس (۱) آمده است تاثیر باکتری و روز در ویژگی‌های قطر کلنی، قطر هاله و نسبت قطر هاله به قطر کلنی در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل باکتری و روز فقط بر قطر هاله در سطح یک درصد معنی‌دار بوده و اثر آن بر قطر کلنی و نسبت قطر هاله به قطر کلنی نه در سطح ۱٪ و نه در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود. همچنین در دمای ۴۰ و ۶۰ درجه‌ی سلسیوس رشدی مشاهده نشد که نشان می‌دهد این باکتری‌های حل‌کننده فسفات نسبت به افزایش دما حساس هستند و در دمای بالاتر رشدی نخواهند داشت. جدول-های ۲ و ۳ به ترتیب مقایسه میانگین اثر اصلی باکتری و اثر اصلی روز را بر قطر کلنی، قطر هاله و قطر هاله به کلونی نشان می‌دهند. باکتری P₃ بزرگترین قطر کلنی و روز چهاردهم حداکثر قطر کلنی را نشان داد. در مورد قطر هاله نتایج نشان داد که باکتری P₂₁₋₁ بزرگترین قطر هاله را دارد و با توجه به جدول اثر روز، در روز چهاردهم بزرگترین قطر هاله مشاهده شد. همچنین مقایسه میانگین اثر اصلی باکتری و اثر اصلی روز بر نسبت قطر هاله به قطر کلنی نشان می‌دهد تیمار P₂₁₋₁ بیشترین تاثیر را بر نسبت قطر هاله به قطر کلنی داشته و در مورد اثر اصلی روز بر این صفت، بیش‌ترین قطر هاله نسبت به قطر کلنی در روز چهاردهم مشاهده شد. شکل ۱ نشان داد از لحاظ تاثیر متقابل باکتری و روز بر قطر هاله، باکتری P₂₁₋₁ در روز چهاردهم بیشترین تاثیر را بر قطر هاله داشت، و باکتری P₆₀₋₂ در روز سوم کم‌ترین تاثیر را بر قطر هاله نشان داد. با گذشت زمان، باکتری مقدار بیشتری از تری کلسیم فسفات محیط کشت خود را حل کرده، به طوری که در روز چهاردهم بزرگترین قطر هاله مشاهده شد. به وجود آمدن منطقه روشن اطراف کلونی ارگانسیم‌ها در پلیت نشان‌دهنده وجود میکروارگانسیم‌های حل‌کننده فسفات است. هاله به وسیله‌ی حلالیت فسفات‌های غیرمحلول

تولید می‌شود، که با تولید اسیدهای آلی در محیط اطراف همراه است. حلالیت فسفات و وضوح نقطه در درجه اول به ماهیت ترکیبات فسفات و ارگانسیم‌های استفاده شده بستگی دارد (۳۵). باکتری‌های حل‌کننده فسفات، می‌توانند با ترشح یون هیدروژن یا پروتون و عمدتاً ناشی از تولید اسیدهای آلی، فسفر معدنی را به فرم محلول در می‌آورند (۵۴، ۵۵). گونه‌های مختلفی از جنس *Sordomonas* توانایی انحلال تری کلسیم فسفات را از شکل غیرمحلول به شکل محلول دارند که توسط تعدادی از محققان گزارش شده است (۱، ۳۲، ۴۵، ۵۲).

مقایسه باکتری‌ها از نظر توان آزادسازی فسفر در

محیط مایع و کاهش pH

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۴)، اثر باکتری، روز و اثر متقابل باکتری و روز بر غلظت فسفر و pH در سطح ۱٪ معنی‌دار شدند. با توجه به اینکه اثر متقابل باکتری و روز بر غلظت فسفر و pH در محیط مایع معنی‌دار بود، فقط نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۲، مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری و روز را بر غلظت فسفر و pH نشان می‌دهند. بالاترین اثرات متقابل باکتری و روز بر روی فسفر را باکتری P₅₆₋₂ در روز چهاردهم و کمترین اثرات متقابل باکتری و روز را تیمار (NB) sp در روز سوم داشت. همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین غلظت فسفر محلول در روز چهاردهم مشاهده شد. در واقع از روز سوم تا روز چهاردهم غلظت فسفر به آرامی افزایش یافت. بیشترین کمترین اثرات متقابل باکتری و روز دهم مربوط به باکتری P₂₁₋₁ در روز اول و باکتری P₅₅₋₁ در روز دهم می‌باشند. مقدار فسفر محلول و pH آن در طی ۱۴ روز از کشت باکتری‌ها در محیط حاوی تری کلسیم فسفات اندازه‌گیری شد که فسفات محلول در طی ۱۰ روز، افزایش و سپس کاهش داشت و با افزایش فسفر محلول، pH کاهش یافت. باکتری‌های حل‌کننده فسفات توانایی حلالیت فسفر معدنی را در رنج بین ۲۵ تا ۴۲ میکروگرم فسفر در هر میلی‌لیتر و توانایی معدنی کردن فسفر آلی را

۵۵). مطالعه ژائو و همکاران^۳ (۵۹) بر روی انحلال فسفات‌های نامحلول توسط سویه *B. cepacia* SCAUK0330 و تغییرات pH نشان داد، مقدار فسفر حل شده در محیط با کاهش pH روند مستقیمی دارد. انحلال فسفات‌های نامحلول $(Ca_3(PO_4)_2)$ توسط *Pseudomonas fluorescens* L228 و *Pseudomonas fluorescens* L132 و کاهش pH توسط اوتینو و همکاران^۴ (۳۴) گزارش شده است. توانایی انحلال فسفات‌های نامحلول تری کلسیم فسفات و فسفات آهن و آلومینیوم در محیط مایع در حضور باکتری‌های جنس *Sudomonas* توسط بسیاری از محققین به اثبات رسیده است (۱۵، ۳۷، ۵۱). نتایج بررسی کوماری و همکاران^۵ (۲۱) نشان داد جنس *Sudomonas* توانایی بالایی در انحلال فسفات‌های نامحلول دارد. مطالعه اویس و همکاران^۶ (۵) بر روی جدایه‌های حل‌کننده فسفات نامحلول معدنی جداسازی شده از فراریشه نیشکر و برنج نشان داد دو جدایه *Pseudomonas* و *Klebsiella pneumoniae* *fluorescens* دارای بیشترین توانایی در انحلال فسفات-های نامحلول بودند که با افزایش فسفر محلول، pH محیط مایع کاهش یافت. نوبهار و همکاران^۷ (۳۲) دو سویه *Pseudomonas* sp. C16-20 و *Pseudomonas* sp. C1- با بالاترین پتانسیل انحلال فسفات را تحت عنوان توانمندترین باکتری‌های حل‌کننده فسفات‌های نامحلول گزارش کردند. انحلال فسفات‌های نامحلول و کاهش pH توسط سویه *Pseudomonas* sp. MS16 نیز گزارش شده است (۵۲).

بین ۸ تا ۱۸ میکروگرم فسفر در هر میلی‌لیتر دارند (۵۳). آزمایش روی ۳۱ باکتری و ۱۱ قارچ حل‌کننده فسفات به منظور تعیین قابلیت حل‌کنندگی فسفر در محیط کشت نشان داد که در صورت استفاده از مقدار زیادی باکتری به همراه خاک فسفات، رابطه بسیار معنی‌داری (۰/۹) تا $r = ۰/۷۷$) بین اسیدیته نهایی و فسفر محلول وجود دارد (۲۹). آنزوی و همکاران^۱ (۴) افزایش فسفر محلول و کاهش pH را در اثر استفاده از باکتری‌های *Serratia* sp. S119 و *Serratia* sp. J260 در انحلال فسفات‌های آلومینیوم و آهن نامحلول را گزارش کردند. طی پژوهش پانده و همکاران^۲ (۳۵)، جدایه‌های *Alcaligenes aquatilis* و *Burkholderia cepacia* حل‌کننده فسفات-های نامحلول معدنی با استفاده از محیط کشت حاوی تری کلسیم فسفات جداسازی شدند. این جدایه‌ها دارای توانایی کاهش pH از $۰/۰۸ \pm ۳/۰۸$ تا $۰/۱۲ \pm ۳/۸۲$ و انحلال فسفات نامحلول از $۱۰ \pm ۳۰۵/۴۹$ تا $۱/۴۵ \pm ۲۷۷/۷۲$ میکروگرم بر میلی‌لیتر در محیط مایع بودند (۳۵). محققین (۴۶) بیان کردند گروه‌های کربوکسیل و هیدورکسیل اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌ها باعث کلاته شدن کاتیون‌ها، کاهش pH و آزادسازی فسفر می‌شود. این اسیدهای آلی در فضای پرپلاسمی تولید شده (۵۹) و دفع این اسیدهای آلی با کاهش pH همراه است که در نتیجه منجر به اسیدی شدن سلول‌های میکروبی و اطراف آنها می‌شود. از این رو یون‌های فسفر با جابه‌جایی یون H^+ با Ca^{2+} آزاد می‌شوند (۲، ۱۶). مکانیسم جایگزین تولید اسیدهای آلی برای حل شدن فسفات‌های نامحلول معدنی، انتشار یون H^+ به سطح خارجی در ازای جذب کاتیون به کمک H^+ translocation ATPase می‌باشد (۱۹، ۳۷). ارتباط مشخصی بین کاهش در مقدار pH، افزایش تولید اسیدهای آلی و فسفر قابل‌دسترس در محیط کشت مایع و جامد حاوی تری کلسیم فسفات وجود دارد (۴۴، ۵۴).

3- Zhao et al.
4- Oteino et al.
5- Kumari et al.
6- Awais et al.

1- Anzuay et al.
2- Pande et al.

جدول (۱) تجزیه واریانس اثر باکتری‌ها و زمان انکوباسیون بر قطر کلنی، هاله، نسبت قطر هاله به کلنی

Table (1) Variance analysis of bacteria and incubation time on the colony and halo diameter

Source of variation	Degrees of Freedom	Colony diameter (CD)	Halo diameter (HD)	CD/HD
Bacteria	10	4.97**	92.58**	2.56**
Day	4	3.94**	890.44**	29.29**
Bacteria× Day	40	0.12 ^{ns}	8.26**	0.27
Error	110	0.35	2.23	0.30
CV	-	13.42	9.52	15.33

جدول (۲) مقایسه میانگین اثرات اصلی (اثر باکتری) بر قطر کلنی، قطر هاله و نسبت قطر هاله به قطر کلنی در محیط جامد

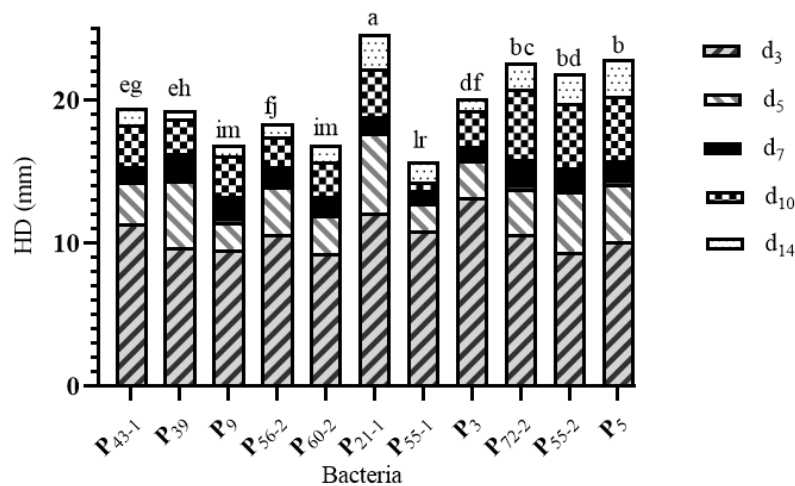
Table (2) The mean comparison of the bacteria effects on CD, HD, and HD/CD.

Bacteria	Colony diameter (mm)	Halo diameter (mm)	HD/CD
<i>Pseudomonas</i> sp.strain p ₄₃₋₁	4.16 d	15.75 de	3/88 a
<i>Pseudomonas</i> sp. strain p ₃₉	4.55 bc	15.68 de	3/46 c
<i>Pseudomonas</i> sp.strain p ₉	4.30 cd	13.47 f	3/10 d
<i>Pseudomonas Koreensis</i> strain p ₅₆₋₂	4.03 d	15.15 e	3/75 ab
<i>Pseudomonas</i> sp.strain p ₆₀₋₂	4.11 d	13.43 f	3/25 cd
<i>Pseudomonas</i> sp. strain p ₂₁₋₁	4.76 b	19.11 a	3/98 a
<i>Pseudomonas Koreensis</i> strain p ₃	5.37 a	17.04 b	3/32 cd
<i>Pseudomonas</i> sp. strain p ₇₂₋₂	4.68 b	16.76 bc	3/53 bc
<i>Pseudomonas</i> sp.strain p ₅₅₋₂	4.13 d	16.00 cd	3/81 ab
<i>Pseudomonas</i> sp.strian p ₅₅₋₁	4.06 d	13.48 f	3/33 cd
<i>Pseudomonas</i> sp. strain p ₅	4.35 cd	16.66 bc	3/78 ab

جدول (۳) مقایسه میانگین اثرات اصلی (اثر روز) بر قطر کلنی، قطر هاله و نسبت قطر هاله به قطر کلنی در محیط جامد

Table (3) The mean comparison of the day effects on CD, HD, and HD/CD.

Days	Colony diameter (mm)	Halo diameter (mm)	HD/CD
3	4.02 c	10/62 e	2/66 e
5	4.39 b	13/99 d	3/21 d
7	4.39 b	15/46 c	3/55 c
10	4.59 ab	18.46 b	4/06 b
14	4.64 a	19.89 a	4/33 a

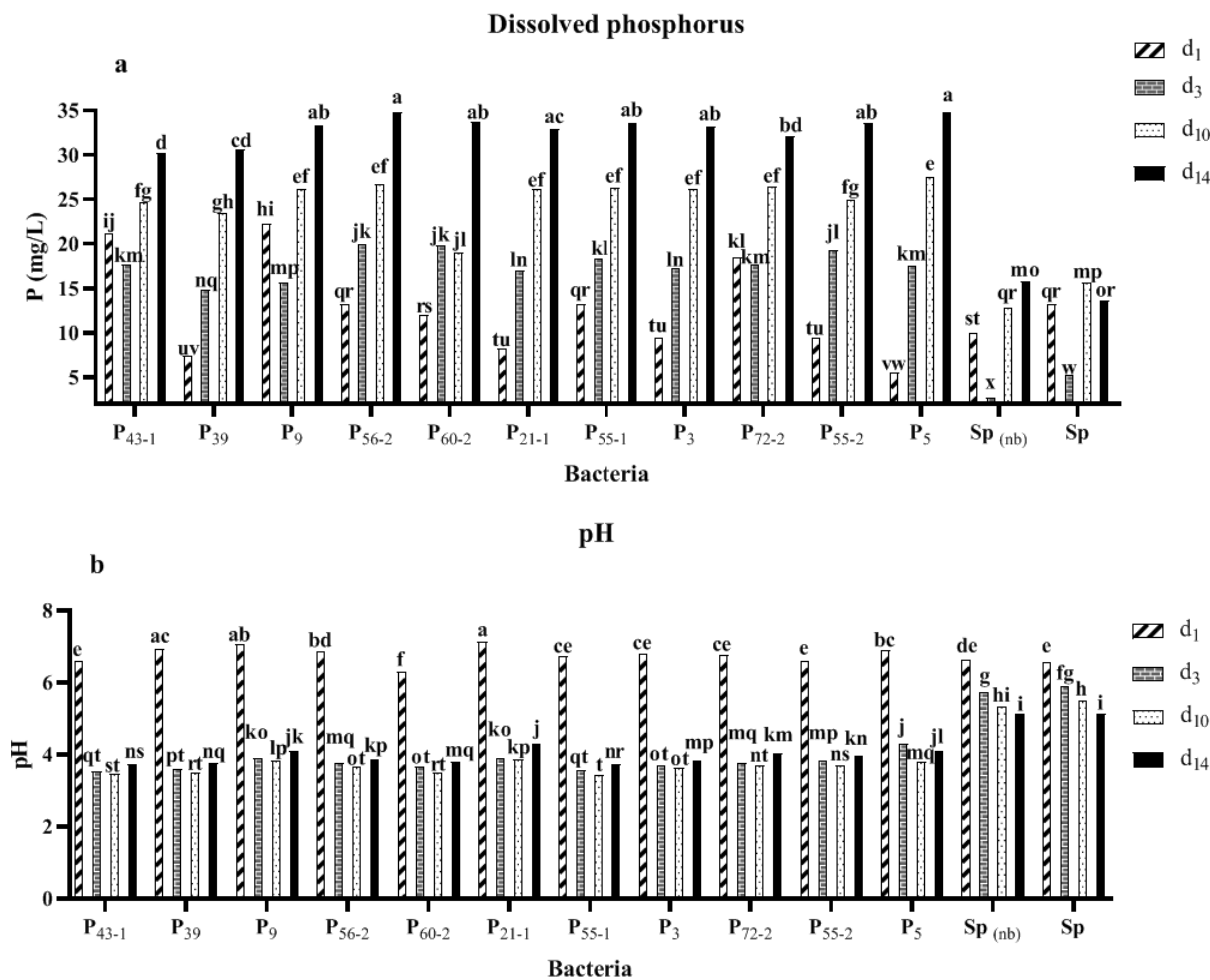


شکل (۱) اثر متقابل باکتری و روز بر قطر هاله (HD) (میلی‌متر)

Figure (1) Interaction effects of bacteria and days on halo diameter (HD) (mm)

جدول (۴) تجزیه واریانس اثر تیمارها بر غلظت فسفر و pH در محیط مایع
Table (4) Variance analysis of treatments effect on the pH and P concentration in the liquid medium

Source of variation	Degrees of Freedom	P concentration	pH
Bacteria	12	231.29**	2.80**
Day	3	2461.16**	70.99**
Bacteria× Day	36	50.23**	0.46**
Error	104	1.00	0.01
CV	-	4.89	2.16



شکل (۲) مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری و روز بر افزایش الف) فسفر محلول و ب) کاهش pH

Figure (2) Mean comparison of interaction effects of bacteria and days on a) soluble P and b) pH

فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. در این تحقیق تیمارها شامل ۸ باکتری (B₀=بدون باکتری، B₁=P₅₆ و B₂=P₇₂₋₂، B₃=P₂₁₋₁، B₄=P₅₅₋₂، B₅=P₃₉، B₆=P₅ و B₇=P₃) با جمعیت تقریباً یکسان (۱×۱۰^۸) و ۴ سطح کود سوپر فسفات تریپل (P₀=۰، P₄₀=۴۰، P₇₀=۷۰ و P₁₀₀=۱۰۰ درصد مقدار حد بحرانی فسفر خاک) با ۳ تکرار در گلدان

انتخاب باکتری‌ها برای آزمون گلخانه‌ای

پس از بررسی و شناسایی موثرترین باکتری‌ها در انحلال فسفر در محیط کشت جامد و در محیط مایع حاوی تری کلسیم فسفات، در شرایط گلخانه‌ای تاثیر باکتری‌های حل کننده فسفر بر عملکرد کمی و کیفی ذرت بصورت

سوپر فسفات تریپل بر وزن خشک اندام هوایی، تیمار B₇P₁₀₀ با ۵۹/۷۹ درصد افزایش نسبت به گیاه شاهد بیشترین و تیمار B₀P₇₀ کمترین تاثیر را بر وزن خشک نشان دادند. در شرایط کمبود فسفر، باکتری‌های حل‌کننده فسفات به‌طور قابل توجهی عملکرد را افزایش می‌دهند. محققین اظهار داشتند که دلایل این مشاهدات حلالیت فسفات نامحلول و تولید تنظیم‌کننده‌های رشد است (۲، ۵۷). علاوه بر این، استفاده از کنسرسیوم میکروبی جایوی باکتری‌های محرک رشد گیاه از جنس *Sodomonas* شامل *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas alcaligenes*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Pseudomonas aurantiaca*، *Pseudomonas chlororaphi*، *Pseudomonas aureofaciens* و *Pseudomonas fluorescens* تاثیر بسزایی در افزایش عملکرد گیاه ذرت داشتند (۱، ۵، ۲۰، ۲۱، ۳۲). باکتری *Pseudomonas tolaasii* IEXb توانست وزن خشک گیاه ذرت را نسبت به شاهد ۴۰ درصد افزایش دهد (۵۶).

باکتری *Pseudomonas aeruginosa* RSP5 توانست طول ساقه، طول ریشه گیاه، تعداد دانه و غلظت آهن در برگ، دانه و ساقه را افزایش دهد (۳۹). نتایج پژوهش (۴۱) نشان داد باکتری *Pseudomonas fluorescens* توانست رشد و عملکرد گیاه ذرت را افزایش و مصرف کود نیتروژنی را کاهش دهد. در مورد اثرات متقابل باکتری و کود سوپر فسفات تریپل بر وزن تر ریشه، تیمار B₆P₁₀₀ با ۳۴۱ درصد افزایش نسبت به گیاه شاهد بیشترین و تیمار B₀P₇₀ کمترین تاثیر را بر وزن تر ریشه نشان دادند. همچنین تیمار B₁P₄₀ بهترین تیمار در افزایش وزن ریشه گیاه ذرت بوده و توانست ۸۲/۱۷ درصد این شاخص را نسبت به گیاه شاهد افزایش دهد. محققین بیان کردند تلقیح گیاه نخود با باکتری تولیدکننده گلوکونیک اسید و حل‌کننده فسفر *Pseudomonas fluorescens* L321 موجب افزایش وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و در مجموع وزن خشک کل گیاه به میزان ۱۴۴٪ شد (۳۴). تلقیح گیاه گندم با باکتری‌های حل‌کننده فسفر *Pseudomonas* sp. MS16 موجب افزایش عملکرد ریشه و اندام هوایی شد (۵۲). باکتری‌های حل‌کننده فسفات

اجرا شد. ضمناً یک تیمار B₀ با دو برابر مقدار فسفر توصیه شده (P_x) و ۳ تکرار نیز مورد بررسی قرار گرفت.

خصوصیات خاک تحت کشت

برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک تحت کشت در جدول ۵ نمایش داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود خاک مورد نظر یک خاک آهکی با فسفر قابل جذب پائین بود. همچنین این خاک از لحاظ ماده آلی و عناصر آهن و روی فقیر بود. از نظر بافت خاک، خاک دارای بافت لومی بوده که مطلوب‌ترین خاک برای کشت گیاهان محسوب می‌شود.

اثرات متقابل باکتری و کود سوپرفسفات بر اجزا عملکرد گیاه ذرت

جدول (۶) نتایج تجزیه واریانس اثرات باکتری‌ها و مقادیر مختلف کود سوپر فسفات تریپل و تاثیر متقابل باکتری و کود سوپر فسفات تریپل را بر ارتفاع، کلروفیل، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه را نشان می‌دهند. اثر اصلی باکتری، کود و اثرات متقابل آن‌ها بر ارتفاع گیاه ذرت تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان ندادند، اما در دیگر صفات در سطح ۱٪ معنی‌دار شدند. با توجه به جدول ۶ که اثرات متقابل باکتری و کود سوپرفسفات بر همه صفات به غیر از ارتفاع گیاه معنی‌دار شد، فقط نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها مورد بررسی قرار گرفت. تاثیرات متقابل سطوح مختلف کود سوپرفسفات و باکتری‌ها بر شاخص‌های رشدی گیاه ذرت در جدول ۷ نشان داده شده است. در مورد شاخص کلروفیل، اگر چه تیمار B₀P₇₀ با افزایش ۱۲ درصدی کلروفیل گیاه نسبت به شاهد بهترین عملکرد را داشت ولی تفاوت معنی‌داری با تیمار B₂P₀ که ۱۰/۷۳ درصد کلروفیل را نسبت به گیاه شاهد افزایش داده بود، نداشت و هر دو در یک سطح معنی‌داری قرار گرفتند. در غیاب کود شیمیایی فسفره، میکروارگانیزم‌های حل‌کننده فسفات به‌طور قابل توجهی قادر به افزایش مقدار کلروفیل برگ هستند (۲۷). در مورد وزن تر اندام هوایی تیمار B₃P₀ توانست وزن تر گیاه ذرت را ۲۳ درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش دهد. و در مورد اثرات متقابل باکتری و کود

را داشت. در مورد فسفر تیمارهای B_0P_0 و B_4P_{100} به ترتیب بالاترین و کمترین مقدار فسفر را نشان داده‌اند. تیمار ترکیبی کود زیستی با کود سوپرفسفات تریپل (B_4P_{100}) توانست فسفر ریشه را ۱۶۰ درصد افزایش دهد. کودهای زیستی فسفره می‌توانند قابلیت جذب فسفر را زیاد کرده و رشد گیاه را با افزایش دسترسی عناصر غذایی و تولید هورمون‌های رشد افزایش دهند (۲، ۸). نتایج پژوهش اسپجیتس و همکاران^۱ (۴۴) نشان داد تلقیح باکتری *Sodomonas فلورسنس* به همراه خاک فسفات و ۳/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر محلول، مقدار فسفر گیاه گندم را بعد از ۶۰ روز به میزان ۶۴ درصد افزایش داد. ماکزیمم جذب نیتروژن و فسفر گیاه جو در تیمارهای شامل باکتری مشاهده شد (۲۷). محققان، افزایش جذب فسفر توسط گیاهان هم‌زیست با ریزجانداران حل‌کننده فسفات را به واسطه تولید دی‌اکسید کربن به وسیله این ریزجانداران و اثر آن بر افزایش قابلیت جذب فسفر را گزارش کرده‌اند (۳۷). لینو و همکاران^۲ (۲۴) گزارش کردند تلقیح تیمارهای *Pseudomonas aeruginosa* PS3، *Pseudomonas aeruginosa* PS2، *Pseudomonas striata*، *Pseudomonas aeruginosa* PS2 + RP60، *Pseudomonas aeruginosa* PS3 + RP60 و *Pseudomonas striata* + RP60 به گیاه فلفل، فسفر کل گیاه را به ترتیب ۲۹۷، ۴۰۸، ۱۹۹، ۹۱۸، ۹۵۱ و ۸۰۲ درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش داد. باکتری‌های جنس *Sodomonas* با تولید اسیدهای آلی و معدنی، آنزیم‌های فسفاتاز موجب انحلال فسفر معدنی و آلی شده و غلظت فسفر قابل جذب را افزایش می‌دهند. از طرفی با تولید هورمون‌های محرک و تنظیم‌کننده رشد گیاه موجب بهبود سیستم ریشه‌ای گیاه شده که نقش بسزایی در افزایش جذب فسفر گیاه دارد (۲، ۳۴، ۴۰).

می‌توانند با سن‌تر هورمون‌های گیاهی باعث افزایش رشد گیاهی شوند به این ترتیب که مراحل اولیه‌ی رشد گیاهی را تحت تاثیر قرار داده و ریشه حجم بیشتری از خاک را اشغال می‌کند و سطح جذب افزایش می‌یابد (۶، ۳۶).

اثرات متقابل باکتری و کود سوپرفسفات بر جذب

برخی عناصر پرمصرف گیاه ذرت

جدول (۸) نتایج تجزیه واریانس اثر باکتری، کود و اثرات متقابل آن‌ها را بر جذب عناصر پرمصرف نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در اندام هوایی و ریشه گیاه ذرت نشان می‌دهد. با توجه به این جدول اثرات متقابل باکتری و کود بر جذب عناصر غذایی پرمصرف در ریشه و اندام هوایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری‌ها و کود سوپرفسفات تریپل بر جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم در اندام هوایی و ریشه گیاه ذرت نشان داد (جدول ۹) در صفات پتاسیم و نیتروژن اندام هوایی تیمار B_0P_0 با تفاوت معنی‌داری نسبت به کود زیستی و کود سوپرفسفات تریپل بیشترین تاثیر را داشت. همانطور مشاهده می‌شود تیمار شاهد B_0P_0 و تیمار B_1P_{70} به ترتیب بیشترین و کمترین تاثیر را بر غلظت پتاسیم اندام هوایی گیاه داشتند. در مورد اثر متقابل باکتری و کود فسفره بر فسفر اندام هوایی گیاه تیمار B_2P_{70} بالاترین مقدار فسفر را داشت و توانست فسفر گیاه را ۱۷/۶۴ درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش دهد. افزایش عملکرد گیاه و جذب فسفر در اثر تلقیح با کود زیستی باکتری‌های حل‌کننده فسفر *Pseudomonas sp.* در گیاه برنج (۱۷)، سویا (۱۳) و گندم (۵۲) گزارش شده است. محققین گزارش کردند باکتری محرک رشد گیاه *Pseudomonas sp.* MS16 توانست فسفر دانه ذرت را ۲/۸ درصد نسبت به تیمار شاهد مثبت (حاوی میزان مورد نیاز کود فسفره) افزایش دهد (۵۲). همچنین اضافه کردن مقداری فسفر معدنی به محیط ریزوسفر موجب معدنی شدن فیتین و بهبود تغذیه فسفر گیاه می‌شود (۶۰). در مورد اثر متقابل باکتری و کود سوپرفسفات تریپل بر جذب عناصر غذایی پرمصرف توسط ریشه، تیمار B_0P_{70} بالاترین غلظت پتاسیم

2- Linu et al.

2- Linu et al.

جدول (۵) ویژگی‌های خاک انتخاب شده

Table (5) Properties of selected soil

Parameter	Soil texture	pH	EC (dS/m)	TNV (%)	OM (%)	SP (W/W %)	P _{ava} (mg/Kg)	Fe _{ava} (mg/Kg)	Zn _{ava} (mg/Kg)	K _{ava} (mg/Kg)
Result	Loam	7.7	1.51	13	0.84	29	5.46	2.04	0.22	212

جدول (۶) تجزیه واریانس اثرات اصلی و متقابل کود سوپر فسفات و باکتری حل کننده فسفر بر صفات عملکرد ذرت

Table (6) Variance analysis of main and the interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on maize growth indices

Source of variation	Degrees of Freedom	Plant height	Chlorophyll	Shoot wet weight	Root wet weigh	Shoot dry weight	Root dry weigh
Bacteria	7	47.21 ^{ns}	3.71 ^{**}	706.63 ^{**}	154.47 ^{**}	17.11 ^{**}	1.28 ^{**}
P	3	164.13 ^{ns}	14.36 ^{**}	1269.43 ^{**}	72.66 ^{**}	56.39 ^{**}	0.93 ^{**}
Bacteria×P	21	79.64 ^{ns}	150.51 ^{**}	602.39 ^{**}	213.23 ^{**}	20.17 ^{**}	1.46 ^{**}
Error	66	94.45	0.43	28.77	10.22	1.18	0.16
CV	-	11.22	2.86	3.33	27.94	4.98	15.50

جدول (۷) مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری و کود سوپر فسفات تریپل بر صفات عملکردی گیاه ذرت

Table (7) The mean comparison of interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on maize growth indices

Bacteria	P	Chlorophyll (µg/cm ²)	Shoot wet weight (g/Pot)	Shoot dry weight (g/Pot)	Root wet weight (g/Pot)	Root dry weight (g/Pot)
B ₀	P ₀	23.28 df	154.93 eh	17.66 kl	7.79 gl	2.58 dj
	P ₄₀	24.11 bd	155.76 dh	20.90 fi	21.21 bd	3.18 bg
	P ₇₀	26.08 a	116.19 k	17.03 l	2.00 l	1.60 j
	P ₁₀₀	22.63 dh	168.74 be	21.29 eh	2.78 kl	1.79 ij
	P _x	23.01 dg	173.57 b	26.54 ab	17.66 bf	3.35 af
B ₁	P ₀	21.48 gh	163.26 bg	21.13 fi	13.85 dh	2.52 dj
	P ₄₀	23/28 df	167.66 be	23.48 cf	22.28 bc	4.17 a
	P ₇₀	22.89 dg	160.60 bh	19.34 hl	9.89 fl	2.16 gj
	P ₁₀₀	22.16 eh	174.36 b	22.62 dg	5.80 hl	2.51 dj
	P ₀	25.78 a	168.44 be	22.47 dg	12.38 ej	2.99 bh
B ₂	P ₄₀	22.51 dh	164.55 bf	25.60 bc	13.00 ei	3.14 bg
	P ₇₀	25.16 ac	140/13 ij	19.34 hl	6.93 gl	1.63 j
	P ₁₀₀	19.74 i	162.51 bg	22.79 dg	8.47 gl	2.42 ej
	P ₀	23.20 df	190.70 a	26.04 ac	21.54 bd	3.48 ad
	P ₄₀	23.33 df	141.30 ij	17.88 jl	3.67 kl	1.85 ij
B ₃	P ₇₀	22.58 dg	167.23 be	23.47 cf	17.42 bf	2.44 ej
	P ₁₀₀	23.85 ce	168.94 bd	22.57 dg	3.70 kl	1.67 j
	P ₀	23.29 df	152.97 fi	20.56 gj	4.90 il	2.19 gj
	P ₄₀	22.55 dh	158.02 ch	20.85 fi	3.62 kl	2.25 gj
	P ₇₀	25.26 ac	163.88 bf	23.94 be	14.84 cg	2.63 cj
B ₄	P ₁₀₀	21.95 fh	156.53 dh	20.86 fi	4.29 jl	2.04 hj
	P ₀	22.78 dg	153.00 fi	20.02 gk	16.99 bf	2.26 gj
	P ₄₀	23.71 ce	155.51 dh	20.93 fi	3.95 kl	1.77 ij
	P ₇₀	21.86 fh	149.75 gi	20.33 gk	5.84 hl	2.08 hj
	P ₁₀₀	21.66 fh	147.84 hi	22.77 dg	7.13 gl	2.63 cj
B ₅	P ₀	21.68 fh	160.93 bh	18.45 il	17.29 bf	2.60 cj
	P ₄₀	21.96 fh	163.91 bf	22.69 dg	10.14 fl	2.79 ci
	P ₇₀	22.16 eh	171.67 bc	24.35 bd	10.79 fk	2.79 ci
	P ₁₀₀	23.80 ce	187.19 a	26.08 ac	34.37 a	3.61 ac
	P ₀	20.96 hi	161.64 bg	22.34 dg	6.78 gl	2.33 fj
B ₆	P ₄₀	23.23 df	131.43 j	20.50 gj	3.44 kl	2.29 gj
	P ₇₀	22.61 dh	165.80 bf	18.78 hl	23.89 b	3.93 ab
	P ₁₀₀	25.41 ab	186.39 a	28.22 a	18.91 be	3.42 ae

جدول (۸) جدول تجزیه واریانس اثر باکتری، کود و اثرات متقابل آن‌ها بر جذب برخی عناصر پرمصرف در گیاه ذرت
 Table(8) Variance analysis of main and the interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on nutrient uptake of maize

Source of variation	Degrees of Freedom	Shoot			Root	
		N	P	K	P	K
Bacteria	7	0.06**	0.0009**	0.23**	0.003**	0.09**
P	3	0.11**	0.004**	0.09*	0.002**	0.22**
Bacteria× P	21	0.05**	0.0004**	0.20**	0.0004**	0.10**
Error	66	0.01	0.0001	0.03	0.00002	0.004
CV	-	5.42	6.26	3.84	5.21	18.50

جدول (۹) مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری و کود سوپر فسفات تریپل بر جذب عناصر پرمصرف در اندام هوایی و ریشه گیاه ذرت
 Table (9) The mean comparison of interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on the shoot and root macronutrient uptake of maize

Bacteria	P	Shoot			Root	
		N (%)	P (%)	K (%)	P (%)	K (%)
B ₀	P ₀	2.32 a	0.17 di	5.24 a	0.05 p	0.21 gj
	P ₄₀	2.14 ah	0.18 bg	4.63 dh	0.07 lm	0.37 dg
	P ₇₀	2.17 af	0.18 af	5.11 ac	0.07 ln	1.20 a
	P ₁₀₀	1.93 dj	0.19 ae	4.75 bh	0.08 km	0.23 fj
	P _x	1.87 fj	0.20 ab	4.67 ch	0.07 mn	0.28 ej
B ₁	P ₀	2.21 ad	0.15 hj	4.59 dh	0.05 op	0.30 ej
	P ₄₀	2.03 ai	0.16 ei	4.67 ch	0.06 no	0.23 fj
	P ₇₀	2.12 ah	0.15 hj	4.28 h	0.06 op	0.33 di
	P ₁₀₀	2.15 ag	0.20 ac	4.55 dh	0.07 mn	0.19 ij
B ₂	P ₀	1.97 cj	0.15 hj	4.87 af	0.05 op	0.19 hj
	P ₄₀	1.92 dj	0.17 ah	4.59 dh	0/09 ijk	0.47 cd
	P ₇₀	2.17 af	0.20 a	4.75 bh	0.10 df	0.38 df
	P ₁₀₀	2.08 ah	0.18 bg	5.21 ab	0.12 ab	0.18 ij
B ₃	P ₀	2.12 ah	0.13 j	4.32 gh	0.10 dg	0.23 fj
	P ₄₀	2.17 ae	0.17 ei	5.15 ac	0.10 dh	0.29 ej
	P ₇₀	2.05 ai	0.16 ei	5.15 ac	0.09 fi	0.37 dg
	P ₁₀₀	2.07 ai	0.19 ae	4.83 af	0.12 bc	0.49 cd
B ₄	P ₀	2.12 ah	0.16 fi	5.03 ad	0.09 ghi	0.19 hj
	P ₄₀	2.13 ah	0.16 ei	4.85 af	0.09 ei	0.61 bc
	P ₇₀	2.15 ag	0.18 ag	4.79 ag	0.09 ik	0.66 b
	P ₁₀₀	2.18 ae	0.20 a	4.67 ch	0.13 a	0.42 de
B ₅	P ₀	2.13 ah	0.13 j	5.03 ad	0.08 jm	0.35 di
	P ₄₀	2.28 ab	0.18 ag	4.60 dh	0.09 hj	0.26 ej
	P ₇₀	2.27 ab	0.19 ad	4.62 dh	0.11 ce	0.42 de
	P ₁₀₀	1.86 gj	0.17 bh	4.45 fgh	0.10 dh	0.14 j
B ₆	P ₀	1.79 ij	0.13 j	4.47 eh	0.08 km	0.29 ej
	P ₄₀	2.11 ah	0.17 di	4.73 bh	0/11 cd	0.35 dh
	P ₇₀	2.17 af	0.15 gj	4.94 ae	0.11 ce	0.27 ej
	P ₁₀₀	1.91 ej	0.16 fi	4.54 eh	0.10 df	0.39 df
B ₇	P ₀	2.23 abc	0.14 ij	4.73 bh	0.08 jl	0.39 df
	P ₄₀	2.03 bi	0.17 di	4.94 ae	0.11 cd	0.22 fj
	P ₇₀	1.85 hj	0.16 ei	5.14 ac	0.10 df	0.34 di
	P ₁₀₀	1.73 j	0.17 di	4.67 ch	0.09 fi	0/18 ij

در اثر استفاده از باکتری *Pseudomonas* sp. MS16 گزارش شده است (۵۲). پژوهش لینو و همکاران (۲۴) نشان داد تلقیح تیمارهای *Pseudomonas aeruginosa* PS 2، *Pseudomonas aeruginosa* PS 3، *Pseudomonas striata* RP60 و *Pseudomonas aeruginosa* PS 3+ RP60 بعد از ۹۰ روز، فسفر ریزوسفر را به ترتیب ۵۲/۴۰، ۱۱۶، ۱۲۳، ۱۹۶، ۱۹۰ و ۱۳۶/۵ درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش داد.

اثرات متقابل باکتری و کود سوپرفسفات تریپل بر برخی خصوصیات خاک

در جدول ۱۰ نتایج تجزیه واریانس اثر اصلی باکتری و مقادیر مختلف کود سوپرفسفات تریپل و اثرات متقابل باکتری و کود سوپرفسفات تریپل را بر برخی خصوصیات خاک تحت کشت گیاه ذرت نشان داده شده است. اثرات متقابل باکتری و کود فسفره بر مقدار آهن، منگنز، روی، فسفر و هدایت الکتریکی در سطح ۱ درصد و در مورد آهک در سطح ۵ درصد معنی دار شد. همچنین اثر متقابل تیمارها بر مقدار مس و pH خاک معنی دار نبود. همانطور که در جدول ۱۰ مشاهده می شود تیمار B_3P_{70} توانست مقدار آهن و روی موجود در خاک را به ترتیب ۴۸/۴۴ و ۵۴۷ درصد افزایش دهد. در مورد منگنز خاک، اگرچه تیمار B_0P_{70} با افزایش ۷/۹۷ درصدی منگنز بهترین تیمار بود ولی تیمار کود زیستی B_1P_0 با افزایش ۷ درصدی تفاوت معنی داری با این تیمار کودی نداشت. همچنین هر دو این تیمارها تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نداشتند. توانایی بالای تولید سیدروفور توسط سویه های مختلفی از جنس *Sordomonas* به اثبات رسیده است. این باکتری ها با تولید سیدروفور و اسیدهای آلی و کاهش pH به ترتیب موجب افزایش دسترسی آهن و روی در خاک می شوند (۴۰، ۲۵). در مورد درصد آهک خاک (TNV)، اگرچه برخی تیمارهای تلفیقی کود زیستی و کود فسفره موجب کاهش درصد آهک خاک نسبت به شاهد شدند ولی با تیمار شاهد در سطح معنی داری یکسانی قرار گرفتند. در مورد هدایت الکتریکی خاک هم دو تیمار B_7P_{100} و B_2P_{40} به ترتیب با ۳۵ و ۳۲/۴۶ درصد کاهش هدایت الکتریکی نسبت به تیمار شاهد، برترین تیمارها در کاهش هدایت الکتریکی خاک بودند. در مورد تاثیر متقابل باکتری حل کننده فسفر و کود فسفره بر فسفر خاک (شکل ۳) تیمارهای B_3P_{100} و B_4P_{100} به ترتیب با ۲۱۲/۵ و ۲۰۷ درصد افزایش فسفر خاک نسبت به شاهد برترین تیمارها بودند. افزایش ۱۴ درصدی فسفر خاک نسبت به تیمار شاهد مثبت (حاوی فسفر مورد نیاز رشد گیاه گندم)

جدول (۱۰) جدول اثرات اصلی و متقابل باکتری و کود سوپر فسفات تریپل بر ویژگی‌های خاک

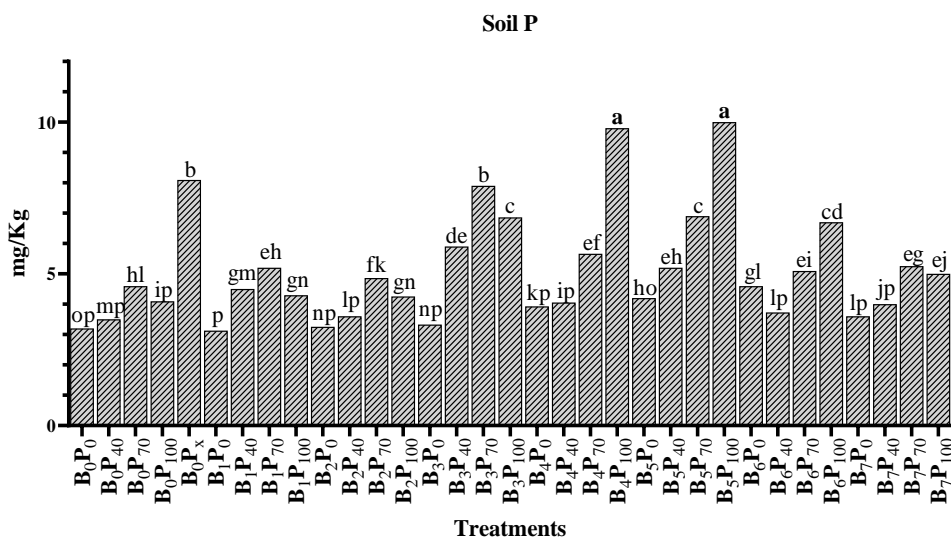
Table (10) Variance analysis of main and interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on some soil properties

Source of variation	Degrees of Freedom	Fe	Cu	Zn	Mn	P _{ava}	TNV	pH	EC
Bacteria	7	7.35**	0.01**	1.45**	4.51**	12.60**	1.14**	0.01**	0.09 ^{ns}
P	3	14.86**	0.04**	3.65**	8.56**	38.72**	0.03 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.03 ^{ns}
Bacteria×P	21	6.25**	0.008 ^{ns}	2.09**	4.44**	3.94**	0.28*	0.008 ^{ns}	0.12**
Error	66	0.22	0.34	0.03	0.15	0.28	0.15	0.004	0.04
CV	-	6.12	7.36	14.69	4.96	10.55	3.96	0.84	15.40

جدول (۱۱) مقایسه میانگین اثرات متقابل باکتری و کود سوپر فسفات تریپل بر برخی ویژگی‌های خاک

Table (11) The mean comparison of interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on some soil properties

Bacteria	P	Fe (mg/Kg)	Mn (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)	P _{ava} (mg/Kg)	TNV (%)	EC (ds/m)
B ₀	P ₀	7.70 gl	9.54 ac	0.88 fi	3.20 op	9.73 bi	1.54 ad
	P ₄₀	8.51 di	6.14 mn	1.11 ch	3.50 mp	10.06 af	1.28 ad
	P ₇₀	10.68 ab	10.30 a	1.33 cf	4.60 hl	10.20 ae	1.55 ad
	P ₁₀₀	7.30 im	8.33 dh	1.41 bd	4.10 ip	10.25 ad	1.54 ad
	P _x	9.03 df	9.25 bd	0.95 di	8.10 b	9.90 ai	1.34 ad
B ₁	P ₀	9.17 ce	10.21 a	0.87 fi	3.13 p	10.53 a	1.75 a
	P ₄₀	6.04 no	6.72 km	0.87 fi	4.50 gm	10.00 ag	1.37 ad
	P ₇₀	8.21 ej	9.15 be	1.84 b	5.20 eh	10.43 ab	1.21 ad
	P ₁₀₀	9.09 cf	7.40 hk	1.06 ci	4.30 gn	9.83 ai	1.23 ad
B ₂	P ₀	8.51 di	8.18 eh	1.09 ci	3.26 np	9.83 ai	1.18 ad
	P ₄₀	7.21 jm	7.85 gj	1.36 ce	3.60 lp	9.80 ai	1.04 cd
	P ₇₀	8.56 dh	8.38 dh	0.87 fi	4.86 fk	10.10 af	1.60 ac
	P ₁₀₀	9.63 bd	8.46 dg	1.19 ch	4.26 gn	10.30 ac	1.17 bd
B ₃	P ₀	4.84 p	5.69 n	0.62 i	3.33 np	9.23 gi	1.19 ad
	P ₄₀	6.74 lo	6.80 km	1.09 ci	5.90 de	9.83 ai	1.52 ad
	P ₇₀	11.43 a	10.01 ab	5.70 a	7.90 b	9.13 i	1.49 ad
	P ₁₀₀	6.25 mo	7.41 hk	1.05 ci	6.86 c	9.80 ai	1.58 ac
B ₄	P ₀	5.87 np	7.45 hk	0.73 hi	3.93 kp	10.20 ae	1.41 ad
	P ₄₀	6.96 kn	6.94 jm	1.41 bd	4.06 ip	9.50 di	1.41 ad
	P ₇₀	8.76 dg	8.05 fi	1.37 ce	5.66 ef	9.40 fi	1.65 ab
	P ₁₀₀	3.57 q	4.38 o	0.89 ei	9.80 a	9.70 bi	1.50 ad
B ₅	P ₀	7.48 hl	7.42 hk	0.96 di	4.20 ho	9.73 bi	1.58 ad
	P ₄₀	8.03 ek	9.15 be	0.89 ei	5.20 eh	9.93 ah	1.54 ad
	P ₇₀	7.92 fl	7.45 hk	0.95 di	6.90 c	9.80 ai	1.43 ad
	P ₁₀₀	8.52 di	8.66 cg	1.29 cg	10.00 a	9.90 ai	1.33 ad
B ₆	P ₀	7.96 ek	7.43 hk	0.83 gi	4.60 gl	9.63 ci	1.20 ad
	P ₄₀	7.61 gl	7.95 fi	1.29 cg	3.73 lp	10.06 af	1.34 ad
	P ₇₀	7.38 hm	8.34 dh	1.82 b	5.10 ei	9.63 ci	1.59 ad
	P ₁₀₀	5.74 op	6.19 ln	0.90 ei	6.70 cd	9.16 hi	1.38 ad
B ₇	P ₀	6.93 kn	7.12 il	0.86 fi	3.60 lp	9.13 i	1.44 ad
	P ₄₀	8.11 ek	7.97 fi	1.11 ch	4.00 jp	9.13 i	1.61 ad
	P ₇₀	10.08 bc	8.90 cf	1.37 ce	5.26 eg	9.46 ei	1.00 d
	P ₁₀₀	7.98 ek	7.83 gj	1.52 bc	5.00 ej	9.40 fi	1.17 ad



شکل (۳) مقایسه میانگین اثرات متقابل کود زیستی و کود سوپرفسفات تریپل بر مقدار فسفر محلول خاک

Figure (3) The mean comparison of interaction effects of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on soil P

کود فسفره موجب افزایش رشد گیاه ذرت (وزن خشک اندام هوایی و ریشه) شد. تیمارهای ترکیبی کود زیستی و سوپرفسفات تریپل توانستند فسفر اندام هوایی و ریشه گیاه را به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش دهند. علاوه بر این، استفاده از این تیمارها موجب افزایش فسفر، آهن و روی قابل دسترس خاک و کاهش هدایت الکتریکی خاک شد. بنابراین بر پایه یافته‌های این پژوهش می‌توان زادمایه‌های زیستی باکتری‌های محرک رشد گیاه و حل-کننده فسفر از جنس *Pseudomonas* را به عنوان مکمل کود سوپرفسفات تریپل به همراه کود فسفره در راستای کاهش استفاده از این کودها و افزایش عملکرد و جذب محصولات زراعی توصیه کرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به درصد بازدهی پائین‌تر استفاده از کودهای شیمیایی فسفره در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه‌خشک و افزایش آلودگی محیط زیست در اثر استفاده از این کودها، هدف از این پژوهش استفاده تلفیقی از کود سوپرفسفات تریپل و زادمایه‌های زیستی باکتری‌های بومی جنس *Pseudomonas* با توانایی انحلال فسفر در افزایش عملکرد و جذب عناصر غذایی گیاه ذرت، افزایش دسترس برخی عناصر غذایی در خاک و بهبود برخی خصوصیات خاک بود. نتایج نشان داد همه سویه‌های استفاده شده در این پژوهش توانایی انحلال فسفر در هر دو محیط مایع و جامد و کاهش pH در محیط مایع را داشتند. بررسی تاثیر تیمارهای تلفیقی بر روی گیاه ذرت در شرایط گلخانه نشان داد استفاده توأم کود زیستی و

References

1. Alikhani H. A., Etesami H., and Mohammadi L. 2018. Evaluation of the effect of rhizospheric and non-rhizospheric phosphate solubilizing bacteria on improving the growth indices of wheat under salinity and drought stress. *Journal of Soil Biology*, 6 (1), 1-15. (In Persian).
2. Alori E.T., Glick B.R., and Babalola O.O. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for Use in sustainable agriculture. *Frontiers Microbiology*, 8, 971.1-8
3. Azziz G., Bajsa N., Haghjou T., Taulé C., Valverde A., Igual J., et al. 2012. Abundance, diversity and prospecting of culturable phosphate solubilizing bacteria on soils under crop–pasture rotations in a no-tillage regime in Uruguay. *Applied Soil Ecology*, 61, 320–326.
4. Anzuay, M. S., Ciancio, M. G. R., Ludueña, L. M., Angelini, J. G., Barros, G., Pastor, N., and Taurian, T. 2017. Growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants by single and mixed cultures of efficient phosphate solubilizing bacteria that are tolerant to abiotic stress and pesticides. *Microbiological Research*, 199: 98-109.
5. Awais, M., Tariq, M., Ali, A., Ali, Q., Khan, A., Tabassum, B., and Husnain, T. 2017. Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 312-321.
6. Backer, R., Rokem, J.S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., and Smith, D.L. 2018. Plant growth-Promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers Plant Science*, 9,1473.
7. Carter, M. R. and Gregorich, E. G: Soil sampling and methods of analysis. 2nd ed. Canadian Society of Soil Science. 2008, 1224.
8. Dal Cortivo, C., Ferrari, M., Visioli, G., Lauro, M., Fornasier, F., Barion, G., Panozzo, A., and Vamerali, T. 2020. Effects of seed-applied biofertilizers on rhizosphere biodiversity and growth of common wheat (*Triticum aestivum* L.) in the field. *Frontiers in Plant Science* 11(72), 1-14.
9. Dimkpa, C. O., Andrews, J., Sanabria, J., Bindraban, P. S., Singh, U., Elmer, W. H., Torresday, J. L. G., and White, J. C. 2020. Interactive effects of drought, organic fertilizer, and zinc oxide nanoscale and bulk particles on wheat performance and grain nutrient accumulation. *Science of the Total Environment*, 722 (137808), 1-12.
10. Doydora, S., Hesterberg, D., and Klysubun, W. 2017. Phosphate solubilization from poorly crystalline iron and aluminum hydroxides by AVAIL copolymer. *Soil Science Society of America Journal*, 81(1), 20-28.
11. Fallah Nosratabad, A., Momeni, S., Shariati, S. 2015. The Effect of bio fertilizer and nitrogen on the yield and yield components of wheat in greenhouse condition. *Journal of Agricultural Engineering*, 37(2), 73-86.
12. Fallah Nosratabad, A., Etesami, H., Shariati, S. 2017. Integrated use of organic fertilizer and bacterial inoculant improves phosphorus use efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.) fertilized with triple superphosphate. *Rhizosphere*, 3,109-111.
13. Fankem, H., Tchakounte, G. V. T., Ngo, nkot L., Mafokoua, H. L., Dondjou, D. T., Simo, C., et al. 2015. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and soya bean (*Glycine max*) growth and nodulation as influenced by rock phosphate solubilizing bacteria under pot grown conditions. *International Journal Agricultural Policy and Research*, 5, 242–250.
14. Fernandez, L. A., Zalba, P., Gomez, M.A., Sagadoy, M.A. 2007. Phosphate-solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse condition. *Biology and Fertility of Soils*, 43, 805-809.

15. Ghaderi, A. Aliasgharzad, N. Oustan, S., and Olsson, P. A. 2008. Efficiency of three *Pseudomonas* isolates in releasing phosphate from an artificial variable-charge mineral (iron III hydroxide). *Soil Environ*, 27,71-76.
16. Goldstein, A. H. 1994. Involvement of the quinoprotein glucose dehydrogenase in the solubilization of exogenous phosphates by gram-negative bacteria,” in *Phosphate in Microorganisms: Cellular and Molecular Biology*, eds A. Torriani-Gorini, E. Yagil, and S. Silver (Washington, DC: ASM Press), 197–203.
17. Gusain, Y. S., Kamal, R., Mehta, C. M., Singh, U. S., and Sharma, A. K. 2015. Phosphate solubilizing and indole-3-acetic acid producing bacteria from the soil of Garhwal Himalaya aimed to improve the growth of rice. *Journal of Environmental Biology*, 36, 301–307.
18. Ingle, K. P., and Padole, D. A. 2017. Phosphate Solubilizing Microbes: An Overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(1), 844-852.
19. Illmer, P., and Schinner, F. 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphates—solubilization mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 257–263.
20. Kour, D., Rana, K. L., Yadav, A.N., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., Vyas, P., Dhaliwal, H. S., and Saxena, A. K. 2020. Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23 (101487), 1-11.
21. Kumari, P., Meena, M., and Upadhyay, R. 2018. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) isolated from the rhizosphere of *Vigna radiata* (*mung bean*). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 155-162.
22. Lambers, H., and Plaxton, W. C. 2018. P: back to the roots. *Annual review of plant*, 48, 3–22.
23. Lindsay, W. L., and Norvell, W. A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42, 421-428.
24. Linu, M.S., Aju, K., Thampi, A., M., Sreekumar, J., and Jisha, M. S. 2019. Plant growth promoting traits of indigenous phosphate solubilizing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Chilli (*Capsicum annuum* L.) rhizosphere. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50 (4), 444-457.
25. Lujan A.M., Gomez P., and Buckling A. 2015. Siderophore cooperation of the bacterium *Pseudomonas fluorescens* in soil. *Biology Letters*, 11: 20140934.
26. Makoudi, B., Kabbadj, A., Mouradi, M., Amenc, L., Domergue, O., Blair, M., and Ghoulam, C. 2018. Phosphorus deficiency increases nodule phytase activity of faba bean–rhizobia symbiosis. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(3), 63.
27. Mehrvarz, S. Chaichi, M., R. Alikhani, H.A. 2008. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of barley (*hordeum vulgare* l.). *American-Eurasia Journal of agricultural and Environmental science*, 3(6), 822-828.
28. Mhatre, P. H., Karthik, C., Kadirvelu, K., Divya, K., Venkatasalam, E., Srinivasan, S., and Shanmuganathan, R. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for Nematodes bio-control. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 119-128.
29. Nahas, E. 1996. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12, 6: 567-572.
30. Naher, U. A., Panhwar, Q. A., Othman, R., Ismail, M. R., and Berahim, Z. 2016. Biofertilizer as a Supplement of Chemical Fertilizer for Yield Maximization of Rice. *Journal of Agriculture Food and Development*, 2, 16-22.

- Nesme, T., Metson, G. S., and Bennett, E. M. 2018. Global P flows through agricultural trade. *Global Environment Change*, 50, 133–141.
32. Nobahar, A., Sarikhani, M. R., and Chalabianlou, N. 2017. Buffering capacity affects phosphorous solubilization assays in rhizobacteria. *Rhizosphere*, 4, 119-125.
33. Olanrewaju, O. S., and Babalola, O. O. 2019. Bacterial consortium for improved Maize (*Zea mays* L.) production. *Microorganisms*, 7, 519.
34. Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J., and Dowling, D.N. 2015. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers Microbiology*, 6,745.
35. Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M., and Kaushik, S. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(2), 379-391.
36. Periera S.I.A., Abreu D., Moriera H., Vega A., and Castro P.M.L. 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Heliyon*, 6 (e05106), 1-9.
37. Rodríguez, H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17(4-5), 319-339.
38. Ryan, J., Estefan G., and Rashid R. 2001. *Soil and Plant Analysis Laboratory Manual*. Second Edition. Available from ICARDA, Aleppo, Syria. 172 p.
39. Sah, S., Singh, N. and Rajni, S. 2017. Iron acquisition in maize (*Zea mays* L.) using *Pseudomonas* siderophore. *3 Biotech*, 7 (2): 121.
40. Sah, S., Singh, N. and Rajni, S. 2021. *Pseudomonas* mediated nutritional and growth promotional activities for sustainable food security. *Current Research in Microbial Sciences*, 2 (100084).
41. Sandini, I.E, Pacentchuk, F., Hungria, M., Nogueira, M.A., Cruz, S.P., Nakatani, A.S., and Araujo, R.S. 2019. Seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* promotes growth, yield and reduces nitrogen application in maize. *International Journal of Agriculture and Biology*, 22, 1369–1375.
42. Satyaprakash, M., Nikitha, T., Reddi, E., Sadhana, B., and Vani, S. S. 2017. Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 2133-2144.
43. Schnug, E., and Haneklaus S. H. 2016. The enigma of fertilizer P utilization,” in *P in Agriculture: 100% Zero*, eds E. Schnug, and L. De Kok, (Dordrecht: Springer). 7–26.
44. Schoebitz, M., Ceballos, C., and Ciampi, L. 2013. Effect of immobilized phosphate solubilizing bacteria on wheat growth and phosphate uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13 (1), 1-10.
45. Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., and Gobi, T. A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus*, 2(1), 587.
46. Seshachala, U., and Tallapragada, P. 2012. Phosphate solubilizers from the rhizosphere of *Piper nigrum* L. in Karnataka, India. *Chilian Journal of Agricultural Research*, 72, 397–403.
47. Singh, S., Raju, N. J., and Nazneen, S. 2015. Environmental risk of heavy metal pollution and contamination sources using multivariate analysis in the soils of Varanasi environs, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(6), 345.

48. Shariati, S., Alikhani, H.A., Shariati, S. 2019. Using plant growth promoting bacteria inoculants- *Pseudomonas fluorescens*- to increase growth and nutrient uptake of wheat. *Applied Soil Research*, 7(1), 165-176.
49. Sparks, D.L. 1996. *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, Soil Science Society of American, Inc. American Society of Agronomy, Inc, Madison Wisconsin, USA.
50. Sperber, J.I. 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian journal of Agricultural Research*, 9,778-781.
51. Srinivasan, R., Yandigeri, M. S., Kashyap, S., and Alagawadi, A. R. 2012. Effect of salt on survival and P-solubilization potential of phosphate solubilizing microorganisms from salt affected soils. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19, 427–434.
52. Suleman, M, Yasmin, S, Rasul, M, Yahya, M, Atta, B.M., and Mirza, M.S. 2018. Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS ONE*, 13 (9), e0204408.
53. Tao, G.S., Cai, T.M., and Xie, G. 2008. Phosphate solubilizing and mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere*, 18,515-523.
54. Valetti, L., Iriarte, L., and Fabra, A. 2018. Growth promotion of rapeseed (*Brassica napus*) associated with the inoculation of phosphate solubilizing bacteria. *Applied Soil Ecology*, 132, 1-10.
55. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., and Nasrulhaq Boyce, A. 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability a review. *Molecules*, 21(5), 573.
56. Viruel, E., Erazzú, L. E., Calsina, L. M., Ferrero, M. A., Lucca, M. E., and Siñeriz, F. 2014. Inoculation of maize with phosphate solubilizing bacteria: effect on plant growth and yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14 (4), 819-831.
57. Wani, P. A., Khan, M. S., and Zaidi, A. 2007. Co-inoculation of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria to promote growth, yield and nutrient uptake in chickpea. *Acta Agronomica Hungarica*, 55, 315–323.
58. USDA .2018. World Agricultural Production <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production>
59. Zhao, K., Penttinen, P., Zhang, X., Ao, X., Liu, M., Yu, X., et al. 2014. Maize rhizosphere in Sichuan, China, hosts plant growth promoting *Burkholderia cepacia* with phosphate solubilizing and antifungal abilities. *Microbiol. Research*, 169, 76–82.
60. Zhang, L., Ding, X., Chen, S., He X., Zhang, F., and Feng, G. 2014. Reducing carbon: phosphorus ratio can enhance microbial phytin mineralization and lessen competition with maize for phosphorus. *Journal of Plant Interaction*, 9, 850–856.