نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۹، پاییز ۱۳۹۴ / صفحات: ۷۸-۶۶

اثر تلقیح سویه‌های باکتری محرک رشد تحت سطوح مختلف کود نیتروژن بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گندم رقم مروارید

بهزاد کاویانی

استادیار، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه ازاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹٤/٦/۲۳ تاریخ پذیرش:۹٤/۸/۲۰

چکیده

مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی باعث تخریب اکوسیستم‌های کشاورزی شده است. یکی از برنامه‌های کشاورزی پایدار کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش کارایی آنها می‌باشد. در این راستا آزمایشی به منظور ارزیابی اثر سطوح مختلف کود نیتروژن و دو سویه باکتری ازتوباکتر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد گندم رقم مروارید اجرا شد. آزمایش مزرعه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در شهرستان اردبیل به مرحله اجرا در آمد. فاکتورهای آزمایش شامل کود نیتروژن در سه سطح (N0، N75 و N150) به‌ترتیب شامل ۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار و باکتری در سه سطح (دو سویه MZ11 و MZ26 از باکتری *Aztobacter chroococcum*) به همراه شاهد بود. نتایج نشان داد که با افزایش میزان کود نیتروژن، میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی افزایش یافت. بیشترین غلظت نیتروژن و فسفر ریشه و اندام‌های هوایی در تیمار N150MZ11 به دست آمد. همچنین تلقیح سویه MZ26 ازتوباکتر به همراه تیمار کود نیتروژن ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار بیشترین عملکرد دانه را حاصل کرد. با توجه به نتایج به دست آمده، تلقیح گیاه گندم با سویه MZ26 ازتوباکتر و کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن برای حصول حداکثر عملکرد قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر، فسفاتاز، عملکرد، گندم، نیتروژن

مقدمه

در چند دهه اخیر، تلاش برای افزایش تولید در واحد سطح و مصرف زیاد و نامتعادل کودهای شیمیایی، پیامدهایی منفی زیست‌محیطی و افزایش هزینه تولید را به همراه داشته است و این امر ضرورت تجدید نظر در شیوه‌های جدید افزایش تولید محصول را گوشزد می‌نماید (Sharma, 2005). اصطلاح کودهای زیستی منحصراً به مواد آلی حاصل از کودهای دامی، بقایای گیاهی، کود سبز و غیره اطلاق نمی‌گردد، بلکه باکتریی‌ها و قارچ‌ها به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاه و مواد حاصل از فعالیت آنها از جمله مهمترین کودهای زیستی محسوب می‌شوند (Manaffe and Kloepper, 1994). این گروه از باکتری‌ها علاوه بر افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، محلول-کردن فسفر و پتاسیم و مهار عوامل بیماری‌زا، با تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Sturz et al., 2012). این باکتری‌ها با توجه به اثر افزایندگی بر رشد و نمو گیاهان زراعی اصطلاحاً باکتری‌های محرک عملکرد

*نویسنده مسئول: b.kaviani@yahoo.com

نامیده می‌شوند (Vessey, 2003). امروزه روش‌های تاثیرگذاری میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه[1] مانند تولید فیتوهورمون‌ها (اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها و ....)، افزایش دسترسی گیاه به عناصر، افزایش جوانه‌زنی، توسعه سیستم ریشه‌ای، فعالیت‌های آنزیمی چون آنزیم آمینو سیکلو پرویان-۱- کربوکسیلات سینتاز (ACC -دی‌آمیناز) و در نهایت تثبیت بیولوژیک نیتروژن مولکولی به اثبات رسیده است (Ahmad et al., 2005). پتانسیل تولید سیدروفورهای مختلف توسط ازتوباکتر و افزایش قابلیت جذب Zn، Fe و Mo، همچنین توانایی این باکتری‌ها در افزایش حلالیت فسفر و ترکیبات نامحلول معدنی تایید شده است که دراین راستا می‌توان به روش‌های افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی اشاره نمود (Narula et al., 2000).

در حقیقت افزایش رشد گیاه در اثر تلقیح ازتوباکتر، بیشتر به هورمون‌های تولیدشده توسط این باکتری و افزایش رشد ریشه نسبت داده شده است تا تثبیت بیولوژیک نیتروژن (Zaied et al., 2003). فیتوهورمون‌ها با افزایش سطح ریشه و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز دارای اثر مثبت بر جذب مواد غذایی توسط گیاه هستند (Kizilkaya, 2008).

Govedarica و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که جذب نیتروژن و رشد طولی گیاه گوجه فرنگی در تیمارهای تلقیح شده با ازتوباکتر کروکوکوم بیشترین بود. اثر تلقیح سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم تولیدکننده ایندول استیک اسید و حل‌کننده فسفات بر جذب عناصر NPK در ژنوتیپ‌های گندم تحت شرایط گلخانه‌ای مثبت و معنی‌دار گزارش شده است (Narula et al., 2000). همچنین اثر سویه‌هایی از ازتوباکتر کروکوکوم دارای پتانسیل بالای تولید ایندول استیک اسید در حضور سطوح مختلف کودهای نیتروژنی، روی وزن هزار دانه، مثبت و معنی‌دار ولی روی درصد پروتیین دانه گندم غیرمعنی‌دار بود (Zaied et al., 2003). رجایی و همکاران (۱۳۸٦) نیز نشان دادند هر چند تلقیح ازتوباکتر اثر معنی‌دار بر عملکرد دانه در گیاه که مهم‌ترین فاکتور عملکرد گیاه زراعی می‌باشد نداشته است، ولی باعث افزایش جذب عناصر غذایی و درصد پروتئین دانه و در نهایت کیفیت محصول گندم شده است.

کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه، مهم‌ترین راهبرد در مدیریت تلفیقی تغذیه گیاهی برای سیستم کشاورزی پایدار می‌باشد (Sharma, 2005). بنابراین با عنایت بر لزوم توسعه این دسته از باکتری‌ها و افزایش کارایی کود نیتروژن انجام این آزمایش به منظور مطالعه تاثیر تلقیح باکتری ازتوباکتر به همراه سطوح مختلف کود نیتروژن بر خصوصیات فیزیولوژیکی، عملکرد و اجزای عملکرد گندم، ضروری به نظر می‌رسد که از جمله اهداف تحقیق حاضر بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی بستر کشت و اعمال تیمارها: به منظور ارزیابی اثر باکتری‌های محرک رشد بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گندم آبی رقم مروارید آزمایش مزرعه‌ای در اردبیل، با ارتفاع ۱٤٦۰ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ′۲۰ °٤۸ و عرض جغرافیایی ′۱۹ °۳۸ انجام شد. محل آزمایش از نظر آب و هوا و طبقه‌بندی اقلیمی جزو مناطق نیمه‌خشک سرد محسوب می‌شود. نتایج حاصل از تجزیه خاک مزرعه آزمایشی به شرح جدول ۱ می‌باشد.

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

جدول ۱: خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

شوری	اسیدیته	درصد اشباع	آهک (٪)	رس (٪)	لوم (٪)	شن (٪)	بافت	کربن آلی (٪)	نیتروژن (٪)	فسفر قابل جذب (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)
۰/۹٤	۷/٤۰	۳۸	۱٤	۸	٦٦	۲٦	سیلتی - لومی	۰/٦	۰/۰۷	۱۳	۲۲۰

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح کود نیتروژن (N0، N75 و N150) به ترتیب شامل (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) و دو سویه باکتری *Aztobacter chroococcum* (MZ26 و MZ11) به همراه شاهد (بدون تلقیح) بود. برای هر واحد آزمایشی ۵ خط کاشت به طول ۳ متر و فاصله ردیف‌های کشت ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در پاییز قبل از کاشت، عملیات شخم و دیسک انجام و بعد از تسطیح زمین، اقدام به کاشت گردید. بعد از عملیات آماده‌سازی زمین، بوته‌ها با تراکم ٤۰ بوته در متر مربع کشت شدند. جهت تهیه تیمارها، بذرها به صمغ عربی آغشته و باکتری‌های موردنظر (میزان مصرف بر اساس دستورالعمل بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب، ۷ گرم مایه تلقیح برای هر کیلوگرم بذر بود که در هر گرم آن $۱۰^{۷}$ عدد باکتری زنده و فعال وجود دارد) به توده بذر اضافه گردید. این باکتری‌ها، بومی خاک‌های کشور بوده و توسط بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب جدا و خالص‌سازی شده و مایه تلقیح آنها تهیه گردیده است. پس از تلقیح بذور و خشک‌کردن در سایه، عملیات کاشت با توصیه‌های صورت گرفته، انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز به روش مکانیکی (وجین) صورت گرفت. آبیاری مزرعه به صورت نشتی در مواقع لازم انجام شد. نمونه‌برداری از خطوط اصلی هر کرت با رعایت حاشیه و از بین بوته‌های رقابت‌کننده انجام گرفت.

سنجش فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی: نظر به اهمیت فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی در معدنی شدن ذرات آلی خاک، فعالیت این آنزیم‌ها در خاک اطراف ریشه در سه نوبت (۲۰، ٤۰ و ٦۰ روز پس از کشت) و با روش Eivazi و Tabatabai (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. به این منظور، ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره خاک تهیه شده را برداشته و به آن ٤ میلی‌لیتر MUB (بافر اسیدی با pH = ٦/۵ جهت اندازه‌گیری فسفاتاز اسیدی و بافر قلیایی با pH=۱۰/۵ جهت اندازه‌گیری فسفاتاز قلیایی) و ۱ میلی‌لیتر محلول پارانیتروفنیل فسفات اضافه شد. سپس ظروف حاوی این مواد در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ ساعت قرار گرفتند. بعد از یک ساعت به محلول فوق ۱ میلی‌لیتر محلول کلرید کلسیم ۰/۵ مولار و ٤ میلی‌لیتر سود ۰/۵ مولار اضافه شد. در این حالت در نتیجه فعالیت آنزیم، تبدیل پارانیتروفنیل به پارانیتروفنل که زرد رنگ است صورت گرفت و با تعیین شدت رنگ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۱۰ نانومتر، فعالیت فسفاتاز اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر اساس توانایی که یک آنزیم برای آزادکردن یک میکروگرم پارانیتروفنل در یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد دارد، تعریف می‌شود. میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز از طریق منحنی استاندارد تعیین شد.

سنجش مقدار نیتروژن کل: مقدار نیتروژن کل بخش هوایی و ریشه‌ها به روش کجلدال اندازه‌گیری شد (امامی، ۱۳۷۵). به این منظور، یک گرم از گیاه خشک در بالن کجلدال ریخته و به آن ۲۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک خالص و به اندازه یک قاشق کوچک کاتالیزور اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت و به آرامی حرارت داده تا رنگ آن به سبز روشن تغییر یابد. سپس در هوا سرد شده و تقطیر گشت. بعد از معدنی‌کردن، ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آرامی به داخل بالن ریخته و توسط لوله مبرد به ارلن مایر محتوی ۳۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک دسی‌نرمال و چند قطره معرف افزوده گشت به طوری که انتهای لوله مبرد یک سانتی‌متر درون اسید قرار گرفت. سپس توسط یک قیف که روی بالن قرار داشت ۸۰ میلی‌لیتر سود ٤٠ درصد با احتیاط کامل روی اسید ریخته شد، به نحوی که دو محلول با هم مخلوط نشده و سطح مشخصی ایجاد نمایند. دستگاه به مدت نیم ساعت با ملایمت حرارت داده شد تا حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع تقطیر گشت (اگر مایعی که پس از نیم ساعت از انتهای لوله مبرد خارج می‌شود، کاغذ تورنوسل را آبی کرد، تقطیر تا تحصیل ۵۰ میلی‌لیتر دیگر ادامه می‌یابد). پس از خاتمه تقطیر، مازاد اسید سولفوریک خنثی‌نشده توسط آمونیاک و با سود دسی نرمال از طریق تیتراسیون تعیین و محاسبه گشت. برای اندازه‌گیری ماده ازته در ۱۰۰ گرم نمونه از فرمول زیر استفاده گشت

$$(n - n_1) \times 6.25 \times 0.0014 \times 100 / P$$

که در آن؛ n= مقدار اسید سولفوریک دسی‌نرمال، n_1= مقدار سود دسی‌نرمال مصرفی و P= وزن نمونه است.

سنجش مقدار فسفر کل: فسفر کل بخش هوایی و ریشه‌ها به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد (امامی، ۱۳۷۵). ابتدا ۵ گرم از نمونه گیاهی برداشته شد و داخل یک ارلن قرار گرفت. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر بی‌کربنات کلسیم ۰/۵ مولار روی آن ریخته شد. سوسپانسیون ایجادشده به‌مدت نیم ساعت روی دستگاه شیکر، چرخانده و پس از آن توسط کاغذ صافی صاف گشت تا عصاره زلالی حاصل شد. ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست آمده در یک بالن ۲۵ میلی-لیتری پیپت ریخته و به آرامی ۵ میلی‌لیتر محلول آمونیوم مولیبدات به آن اضافه گشت. بالن به‌تدریج تکان داده شد تا گاز دی اکسید کربن خارج گشت. بعد از این مرحله مقدار ۱ میلی‌لیتر کلرید قلع اضافه شده و بالن به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانیده شد. شدت عبور نور (T) پس از کالیبراسیون استانداردهای ۰/۱، ۰/۳، ۰/۷ و ۰/۹ و صفر پی‌پی‌ام در طول موج ٦٦٠ نانومتر قرائت گشت.

تعیین عملکرد: عملکرد دانه از سه ردیف وسطی دست‌نخورده هر کرت آزمایشی به مساحت یک متر مربع برآورد گردید. برای تعیین تعداد دانه در سنبله، برداشت ۳۰ بوته انتخاب و میانگین بوته‌های برداشتی به عنوان ارزش آن صفت در جدول تجزیه واریانس در نظر گرفته شد.

پس از انجام آزمون چولگی[1] و کشیدگی[2]، به‌ترتیب تجزیه واریانس ساده و تجزیه مرکب با استفاده از نرم افزار $SAS_{9.1}$ انجام گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی: نتایج نشان داد که اثر نیتروژن بر فعالیت آنزیم فسفاتاز

1- Skewness
2- Kurtosis

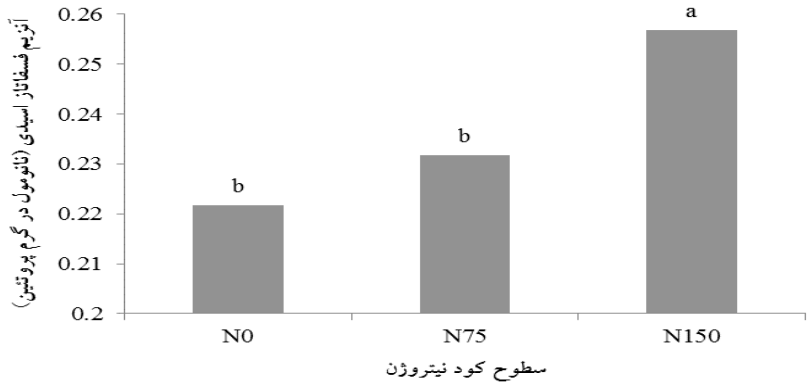
اسیدی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر باکتری نیز بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارها برای فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی نشان داد که با افزایش کاربرد نیتروژن، میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی نیز افزایش یافت اما این افزایش از سطح صفر نیتروژن به سطح ۷۵ کیلوگرم در هکتار معنی‌دار نبود و سطح ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن از دو سطح دیگر میانگین بالاتری داشت (شکل ۱).

مقایسه میانگین اثر سویه‌های باکتری بر آنزیم فسفاتاز اسیدی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سویه MZ26 با شاهد وجود داشت، اما سویه MZ11 برتری معنی‌دار نسبت به شاهد نشان نداد (شکل ۲). با این حال از نظر اثر سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر آنزیم فسفاتاز قلیایی هر دو سویه نسبت به شاهد از برتری معنی‌داری برخوردار بودند اما بین سویه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (شکل ۳).

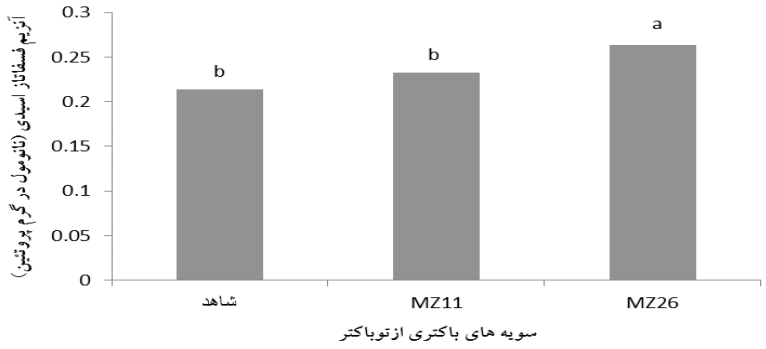
جدول ۲: تجزیه واریانس آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی اندازه‌گیری‌شده در خاک اطراف ریشه در زمان‌های مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	آنزیم فسفاتاز اسیدی	آنزیم فسفاتاز قلیایی
زمان	۲	۰/۰۰۰۵۶۷^{ns}	۰/۰۰۰۵۲^{ns}
تکرار (زمان)	٦	۰/۰۰۰۶۱۳^{ns}	۰/۰۰۷٦
باکتری × زمان	٤	۰/۰۰۰۵۵۰^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}
تکرار × باکتری (زمان)	۱۲	۰/۰۰۱٤۸۲^{ns}	۰/۰۱۱^{ns}
نیتروژن	۲	۰/۰۰۲۳٦٤*	۰/۰۰۷۹^{ns}
باکتری	۲	۰/۰۰۵٦٦**	۰/۱۰۵**
نیتروژن × باکتری	٤	۰/۰۰۰۹۹۹^{ns}	۰/۰۰۸٤^{ns}
نیتروژن × زمان	٤	۰/۰۰۰٤۱۲^{ns}	۰/۰۰٤۵^{ns}
نیتروژن × باکتری × زمان	۸	۰/۰۰۰۵٦٦^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}
خطا	٦٤	۰/۰۰۰٦۲۷۷	۰/۰۰٦^{ns}
ضریب تغییرات		۱۱/٦۱	۱۱/۹۹

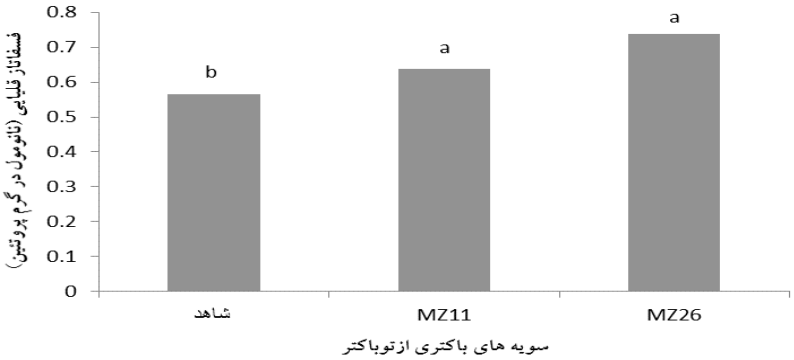
** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و ^{ns} عدم وجود تفاوت معنی‌دار



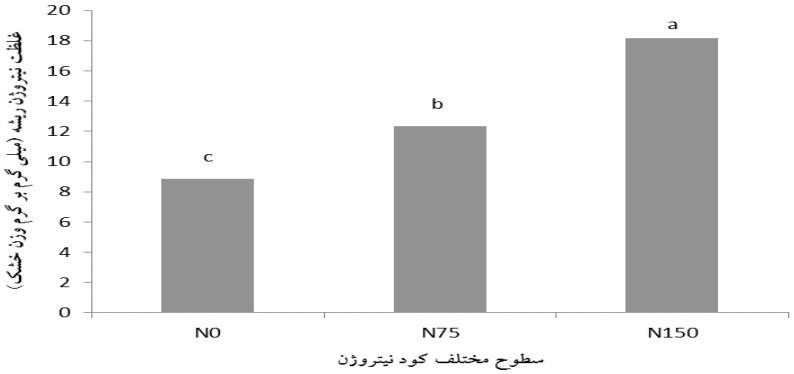
شکل ۱: اثر سطوح مختلف کود نیتروژن (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی



شکل ۲: اثر سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی



شکل ۳: اثر سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی



شکل ٤: اثر سطوح مختلف کود نیتروژن (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) بر غلظت نیتروژن

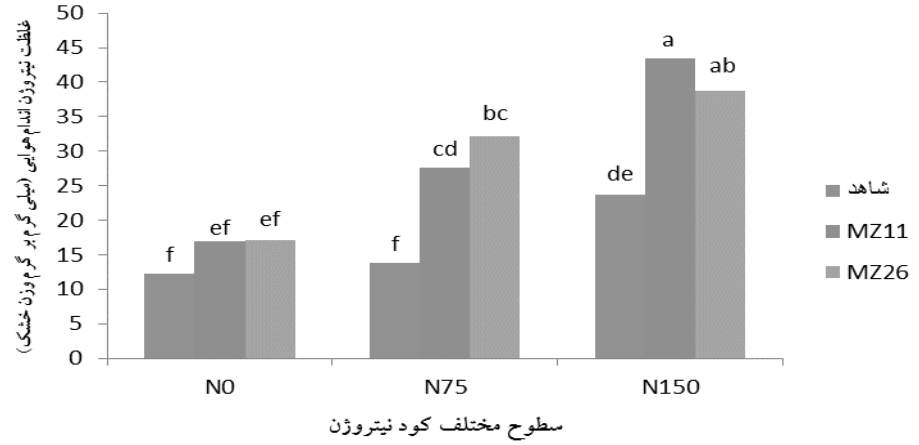
نیتروژن ریشه و اندام‌های هوایی: اثر نیتروژن بر غلظت نیتروژن ریشه و اندام هوایی در سطح احتمال ۱درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل نیتروژن و باکتری نیز روی غلظت نیتروژن اندام هوایی در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کود نیتروژن بر غلظت نیتروژن ریشه نشان داد که با افزایش مصرف کود نیتروژن، افزایش معنی‌داری در غلظت نیتروژن ریشه مشاهده شد (شکل ٤). اثر متقابل نیتروژن و باکتری نیز روی غلظت نیتروژن اندام هوایی نشان داد که در هر سه

سطح کود نیتروژن تیمارهای تلقیح‌شده با ازتوباکتر نسبت به شاهد برتری معنی‌دار داشتند. همچنین در سطح صفر نیتروژن بین سویه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت اما در دو سطح دیگر کود نیتروژن این اختلاف معنی‌دار بود و بیشترین میانگین غلظت نیتروژن اندام هوایی در تیمار N150MZ11 مشاهده شد (شکل ۵).

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر سطوح کود نیتروژن و باکتری بر صفات اندازه‌گیری‌شده

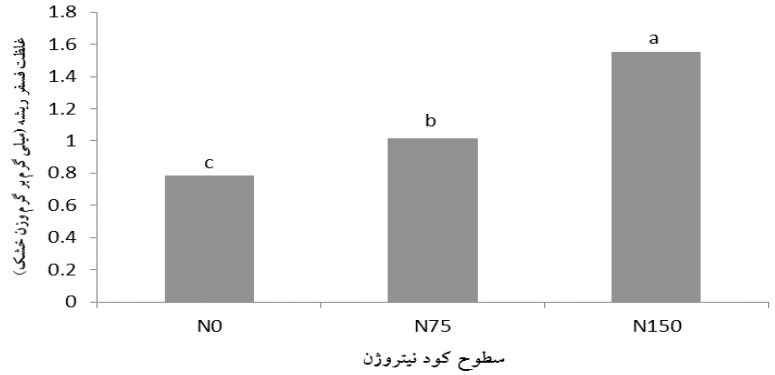
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد دانه در سنبله	عملکرد دانه	غلظت نیتروژن		غلظت فسفر	
				ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی
تکرار	۳	۱۸/۸٤^{ns}	٦٥٥٤٨٩^{ns}	۱/٤٥۷^{ns}	۷/٤^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/٥۰۹^{ns}
نیتروژن	۲	٦۲/۱۸**	٥٦۹۷۰۸۰**	۱۳۲/٦**	٥۹٥/٦**	۰/۹۳**	٤/٥۱**
ازتوباکتر	۲	۱٦/۷٤*	۲٥٦۱۰۰۲**	۰/۲۳۷^{ns}	۳۲٥/۲**	۰/۰۰۰۱^{ns}	۲/۲٤٥**
نیتروژن × ازتوباکتر	٤	٤۲/۹۹**	۲٥۳۲۹۸۱*	۰/۰۸٥^{ns}	٤۳/۳*	۰/۰۰٦^{ns}	۰/٦۳٦^{ns}
خطا	۱۸	٤/٤۳	٥۳۳۳٦٤	۰/۹٦٤	۱۳/۲۹	۰/۰۰۹	۰/۱۳٥
ضریب تغییرات		٤/۷۱	۱۰/٤۳	۷/٤۸	۱٤/٥۳	۸/۳٤	۱٦/۱۹

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و ^{ns} عدم وجود تفاوت معنی‌دار

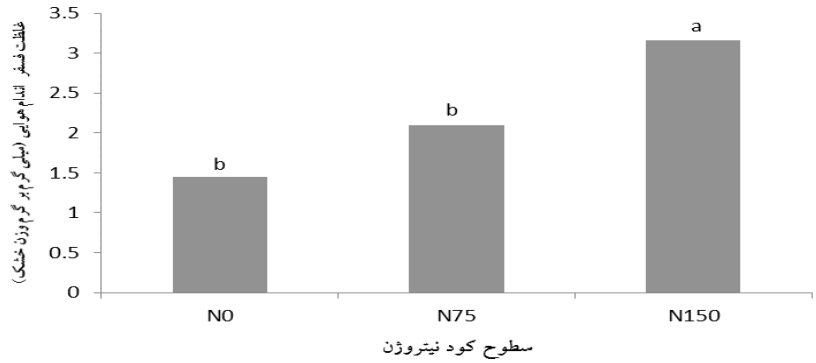


شکل ۵: مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف کود نیتروژن (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) و سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر غلظت نیتروژن اندام هوایی

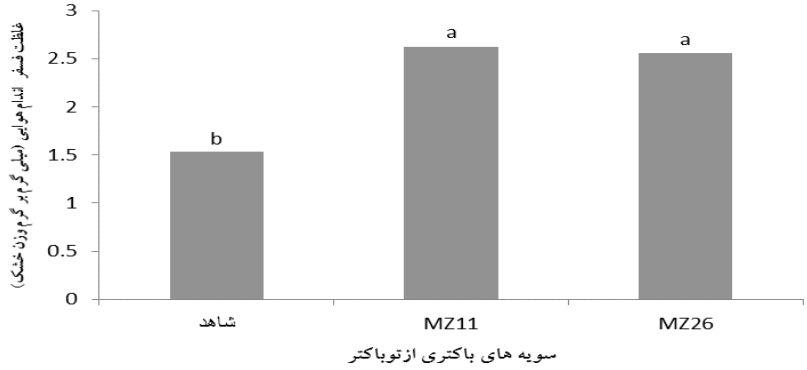
غلظت فسفر ریشه و اندام‌های هوایی: اثر باکتری بر غلظت فسفر ریشه و اندام هوایی و اثر نیتروژن بر غلظت فسفر اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش مصرف کود نیتروژن افزایش معنی‌دار در غلظت فسفر ریشه مشاهده شد (شکل ٦). همچنین مقایسه میانگین اثر سطوح نیتروژن بر غلظت فسفر اندام هوایی نشان داد که تفاوت معنی‌دار بین سطح ۷۵ و صفر نیتروژن وجود نداشت اما سطح ۱۵۰ از برتری معنی‌دار نسبت به دو سطح دیگر برخوردار بود (شکل ۷). همچنین برتری معنی‌دار تیمارهای تلقیح شده نسبت به شاهد از نظر فسفر اندام هوایی مشاهده شد (شکل ۸).



شکل ٦: اثر سطوح مختلف کود نیتروژن (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) بر غلظت فسفر ریشه

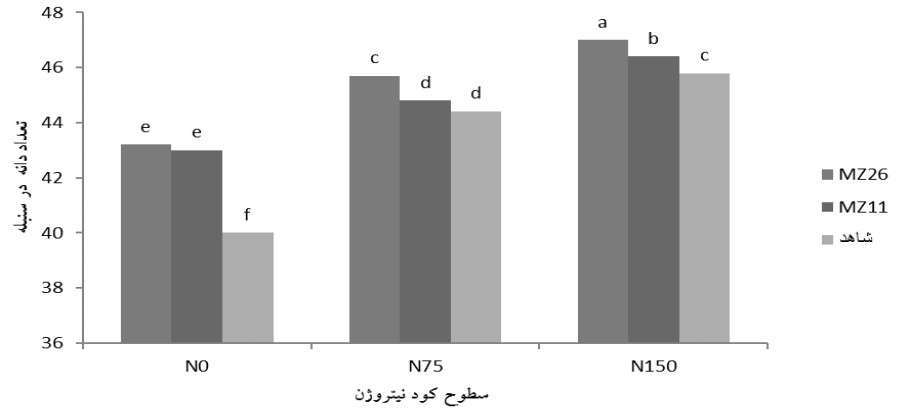


شکل ۷: اثر سطوح مختلف کود نیتروژن (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) بر غلظت فسفر اندام هوایی



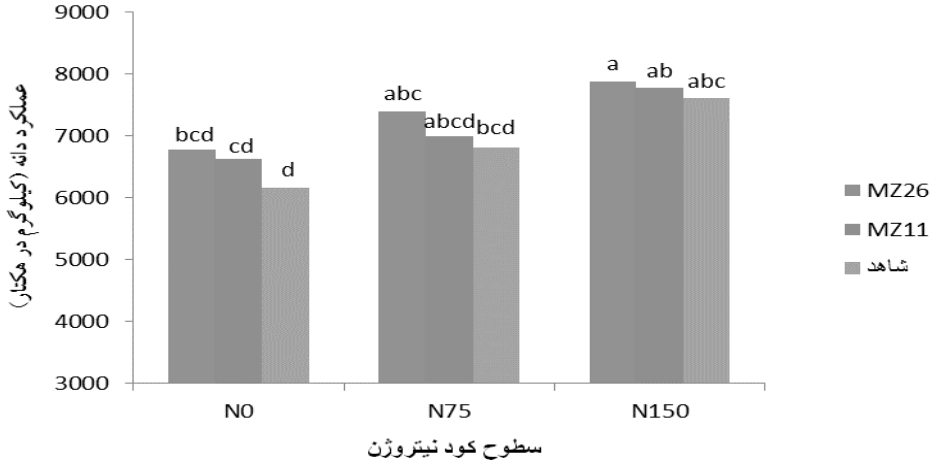
شکل ۸: اثر سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر غلظت فسفر اندام هوایی

تعداد دانه در سنبله: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر متقابل کودی و باکتری بر روی تعداد دانه در سنبله در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تیمار کودی و باکتری نشان داد که در سطوح کود نیتروژن صفر و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سویه‌های باکتری نسبت به شاهد برتر بودند اما در سطح کود ۷۵ کیلوگرم در هکتار بین سویه MZ11 با شاهد اختلاف معنی‌دار وجود نداشت اما سویه MZ26 نسبت به شاهد برتری معنی‌دار داشت (شکل ۹).



شکل ۹: اثر متقابل سطوح مختلف کود نیتروژن (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) و سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر تعداد دانه در سنبله

عملکرد دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر متقابل کودی و باکتری بر روی عملکرد دانه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. مقایسه میانگین بین اثر متقابل سطوح مختلف تیمار کودی و باکتری نشان داد که در هر سه سطح کودی سویه‌های باکتری نسبت به شاهد برتر بودند و سویه MZ26 نسبت به سویه MZ11 برتر بود. بیشترین عملکرد دانه نیز از تیمار N150MZ26 با میانگین ۸۸٦۹ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (شکل۱۰).



شکل ۱۰: اثر متقابل سطوح مختلف کود نیتروژن (۰، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار معادل صفر، ۳٤/۵ و ٦۹ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار) و سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر عملکرد دانه

بحث

تحقیقات نشان داده است برخی سویه‌های باکتری ازتوباکتر کروکوکوم سبب افزایش مقدار عناصر نیتروژن و فسفر و انتقال آنها از ریشه به بخش هوایی گیاه می‌شوند (Afzal et al., 2010). یکی از دلایل آن می‌تواند توانایی تولید اسید (H^+)، فسفاتاز اسیدی و قلیایی و اثر حل‌کنندگی فسفات معدنی توسط باکتری باشد (Narula et al., 2000). طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی با افزایش کاربرد نیتروژن، افزایش یافت و بیشترین فعالیت آن در سطح ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن مشاهده شد، ولی کود نیتروژن اثر معنی‌داری

بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نداشت. اثر سویه‌های باکتری بر آنزیم فسفاتاز اسیدی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سویه MZ26 با تیمار عدم تلقیح وجود داشت، اما سویه MZ11 برتری معنی‌دار نشان نداد. با این حال از نظر اثر سویه‌های باکتری ازتوباکتر بر آنزیم فسفاتاز قلیایی، هر دو سویه نسبت به شاهد از برتری معنی‌دار برخوردار بود، اما بین سویه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. طبق گزارش رحیمی و همکاران (۱۳۹۰) کودهای معدنی فاقد فسفر نظیر اوره، نیترات آمونیوم با پتاسیم یا بدون آن، فعالیت فسفاتاز را زیاد می‌کند. از طرفی با توجه به اینکه آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی توسط گیاه و نیز باکتری تولید و ترشح می‌شود، لذا توزیع مطلوبی از این آنزیم در خاک کرت‌ها وجود داشته است. یکی دیگر از نظریه‌ها ی مربوط به تفسیر تجمع نیتروژن به دنبال تلقیح گیاهان گندم با ازتوباکتر، فعالیت نیترات ردوکتاز باکتریایی است. این نظریه تا حدودی افزایش تجمع نیتروژن در دانه و ساقه را بر مبنای ازدیاد سرعت تحول و احیای نیتروژن به کمک باکتری توجیه می‌نماید (Okon, 1994). در این راستا مکانیسم موثر به توسعه سیستم ریشه‌ای در اثر تولید هورمون توسط این باکتری‌ها نسبت داده شده است که منجر به افزایش سطح جذب ترکیبات نیتروژنه می‌شود (Bashan et al., 1989).

آزمایش‌های اولیه روی سویه‌های باکتری به کار برده شده در این آزمایش نشان داد این باکتری‌ها قادر به انحلال فسفر معدنی نامحلول از طریق کاهش pH بوده و نیز قادر به تولید و ترشح آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی و کسب فسفر از منابع آلی می‌باشد. همچنین کارایی سویه MZ26 در مقایسه با سویه MZ11 از این نظر برتر است. بنابراین بدیهی است که مقدار جذب و انتقال فسفر در سویه MZ26 بالاتر از سویه MZ11 باشد و تیمارهای تلقیح شده نسبت به شاهد مقدار فسفر بالاتری داشته باشند. برخی معتقدند که این افزایش محتوای یونی مربوط به توسعه سیستم ریشه‌ای و افزایش عمومی سطح جذب یون‌ها بوده و با مکانسیم خاصی همراه نیست (Govedarica et al., 2003). اما Kader و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که تلقیح باکتریایی بر عمل ATPase و پمپ الکتروژنیک در غشای سلول‌های ریشه اثر کرده و با ازدیاد تراوش پروتون از ریشه، نیروی محرکه لازم برای جذب سایر یون‌ها برای گیاه را فراهم می‌نماید. مطالعه Bhattarai وHess (۱۹۹۳) نشان داد که تلقیح با ازتوباکتر و آزوسپریلوم افزایش معنی‌داری در محتوای نیتروژن و فسفر دانه ذرت به‌وجود می‌آورد ولی تأثیری بر محتوای پتاسیم ندارد. آنها گزارش کردند که جذب بیشتر نیتروژن و فسفر ذرت مبین این مطلب است که ازتوباکتر و آزوسپریلوم قابلیت جذب نیتروژن و حل کردن فسفر و در نتیجه تحریک رشد گیاه را دارند. عموماً گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های محرک رشد دارای محتوای نیتروژن بالاتری نسبت به گیاهان غیرتلقیحی هستند (Puentes-Ramirez et al., 2006). Kader و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تلقیح با *Azospirillum brasilense* جذب PO_4^{-3} و NH_4^+ را به‌وسیله گیاه گندم افزایش می‌دهد. اعتقاد بر این است که باکتری‌های محرک، رشد گیاه را به‌وسیله افزایش جذب مواد غذایی بالا می‌برند (Yasemin et al., 2006). حاجی‌بلند و همکاران (۱۳۸۳) بالاتربودن مقدار جذب و خصوصًا انتقال فسفر در تیمار تلقیح با ازتوباکتر را به اثر احتمالی ترکیبات آلی تولید شده ریشه که فسفر را با خود به بخش هوایی انتقال می‌دهند نسبت دادند. هم‌چنین Narula و همکاران (۲۰۰۰) در یک آزمایش، تلقیح ژنوتیپ‌های گندم را با ازتوباکتر کروکوکوم‌های حل‌کننده فسفات در سطوح مختلف کود نیتروژنی و فسفری بررسی و گزارش نمودند که مقدار جذب عناصر نیتروژن، فسفر و

پتاسیم در گیاهان مذکور به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافته است.

نیتروژن مهم‌ترین عنصر غذایی تاثیرگذار بر عملکرد دانه غلات می‌باشد (کاظمی، ۱۳۷٤). در این آزمایش نیز با افزایش مصرف کود نیتروژن، عملکرد دانه افزایش یافت. این نتیجه با نتایج هروی (۱۳۸۳) هماهنگ می‌باشد. افزایش عملکرد دانه در تیمارهای تلقیحی نسبت به شاهد در سطوح مختلف کود نیتروژن مبین افزایش کارایی کود مصرفی توسط سویه‌های باکتری است. Kader و همکاران (۲۰۰۲) ضمن به دست آوردن نتایج مشابه گزارش کردند که سویه‌های باکتری ازتوباکتر کارایی نیتروژن را در بالابردن عملکرد دانه افزایش داد و این کارایی در سطوح پایین‌تر نیتروژن بیشتر بود. Milani و Anthofer (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که تلقیح بذرها با آزوسپریلوم و ازتوباکتر تحت کاربرد سطوح مختلف کود نیتروژن به‌طور معنی‌داری عملکرد دانه گندم و جو را افزایش داد. آزمایش Berg (۲۰۰۷) نشان داد که باکتری‌های محرک رشد گیاه به طور معنی‌دار عملکرد گندم دیم را افزایش می‌دهد و این افزایش مستقل از شاخص محیطی می‌باشد. به علاوه بدون در نظر گرفتن سطح حاصلخیزی مکان مورد کشت و کار، افزایش این چنینی را می‌توان پیش‌بینی نمود. شرایط محیطی از نظر شیب، ارتفاع و خاک به طور گسترده‌ای تأثیر باکتری بر گیاه را متأثر می‌سازد (Defauus et al., 2008). Afzal و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی تاثیر سویه‌های مختلف باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس روی گندم گزارش نمودند که تلقیح بذر با این دو باکتری باعث افزایش معنی‌دار عملکرد دانه نسبت به شرایط عدم کاربرد آن می‌شود.

نتیجه‌گیری نهایی

تلقیح باکتری اثر معنی‌داری بر جذب و انتقال عناصر نیتروژن و فسفر از ریشه به بخش هوایی گذاشت. بدین‌صورت که تیمارهای تلقیحی در انتقال نیتروژن از ریشه به بخش هوایی نسبت به تیمار عدم تلقیح از برتری معنی‌دار برخوردار بودند. با توجه به مقدار کاربرد پایین نیتروژن در حضور این سویه‌ها، آنها با تثبیت نیتروژن و تولید مواد محرک رشد اطراف ریشه سبب انتقال بهتر این عناصر از ریشه به بخش هوایی شدند. باکتری‌های همیار تثبیت‌کننده نیتروژن در این پژوهش از طریق جذب و انتقال عناصر سبب تغییر مثبت اکثر صفات اندازه‌گیری شده و عملکرد گندم گشتند. به نظر می‌رسد که در حضور این باکتری‌ها می‌توان کارایی مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن را افزایش داد ولی بایستی توجه داشت که از اثر سینرژیستی مثبت این باکتری‌ها زمانی می‌توان به خوبی بهره برد که کود شیمیایی نیتروژن در حد بهینه در اختیار گیاه باشد. در غیر این صورت، گیاه ترجیح می‌دهد که از کود شیمیایی نیتروژنه استفاده کند و کاربرد این باکتری‌ها در عمل بی‌تأثیر خواهد بود. به علاوه، اثر متقابل کود نیتروژن و سویه‌های باکتری ازتوباکتر سهم بسزایی در ارتقاء غلظت عناصر غذایی دانه نظیر فسفر و نیتروژن داشت. بدین ترتیب، کاربرد سویه MZ26 باکتری ازتوباکتر در زراعت گندم برای افزایش کمیت و کیفیت دانه گندم ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

امامی، ع. (۱۳۷۵). شرح روش‌های تجزیه گیاه. موسسه تحقیقات خاک و آب. نشریه فنی شماره ۷۹. صفحه ۲۰۹ .

حاجی بلنـد، ر.، علـی اصـغرزاده، ن و مهرفـر، ز. (۱۳۸۳). بررسـی اکولـوژیکی ازتوبـاکتر در دو منطقه مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن روی رشد و تغذیه معدنی گیاه گندم. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. شماره ۲. صفحات ۹۰-۷۵.

رجایی، س.، علیخـانی، ح. و رئیسـی، ف. (۱۳۸٦). اثر پتانسیل‌های محـرک رشـد سـویه‌هـای بـومی ازتوباکتر کروکوکوم روی رشد، عملکرد و جـذب عناصـر غـذایی در گنـدم. مجلـه علـوم و فنـون کشاورزی و منابع طبیعـی. جلـد ۱۱. شـماره ٤۱. صفحات ۲۹٦- ۲۸۵.

رحیمی، ل.، علی‌اصغرزاد، ن. و اوسـتان، ش. (۱۳۹۰). اثر سویه‌های بومی ازتوبـاکتر کروکوکـوم بـر رشـد، جـذب نیتـروژن و فسـفر گیـاه گنـدم در شـرایط گلخانه‌ای. مجله علـوم و فنـون کشـاورزی و منـابع طبیعی.جلد ۱۵. شماره ۵۸. صفحات ۱۷۱-۱۵۹.

کـاظمی، ح. (۱۳۷٤). زراعـت خصوصـی (جلـد اول، غلات). مرکز نشر دانشگاهی. صفحات ۱٦٤-۱٦۰.

هروی، ع. (۱۳۸٤). ارزیابی تـاثیر و کـارایی سـطوح مختلف کود نیتروژن بر خصوصیات کمی و کیفی ارقام گندم. پایان نامه کارشناسی ارشـد. دانشـکده کشاورزی. دانشگاه تهران، صفحه ۸۲.

Afzal, A., Ashraf, M., Asad, S.A. and Farooq, M. (2010). Effect of phosphate solubilizing microorganisms on phosphorus uptake, yield and yield traits of wheat (*Triticum aestivum*) in rainfed area. Journal of Agriculture and Biology. 7 (2): 207–209.

Ahmad, F., Ahmad, I. and Khan, M.S. (2005). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbial Research. 36: 1-9.

Bashan, Y., Singh, M., and Levanony, H. (1989). Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. Canadian Journal of Botany. 67: 2429-2434.

Berg, G. (2007). Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. Applied Microbiology and Biotechnology. 84: 11–18.

Bhattarai, T. and Hess, D. (1993). Yield responses of Nepalese spring wheat cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepalese origin. Plant and Soil. 151: 67-70.

De Freitas, J.R. (2000). Yield and N assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum* L., var Norstar) inoculated with rhizobacteria. Pedobiologia. 44: 97–104.

Eivazi, F. and Tabatabai, M. (1977). Phosphates in soils. Soil Biology and Biochemistry. 9: 167-172.

Govedarica, M., Miliv, V. and Gvozdenoviv, D.J. (2003). Efficiency of the association between *Azotobacter chroococcum* and tomato varieties. Plant Soil. 42: 113-120.

Kader, M.A., Main, M.H. and Hogue, M.S. (2002). Effects of Azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Science. 2: 259-261.

Kizilkaya, R. 2008. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. Ecology Engineering. 33: 150-156.

Manaffee, W.F. and Kloepper, J.W. (1994). Applications of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. In: Soil biota management in sustainable farming systems, Pankburst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. and Grace, P.R., eds. pp. 23-31 CSIRO Publication. East Melbourne, Australia.

Milani. P.M and Anthofer, J. (2008). Effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* on the yield of wheat (*Triticum aestivum*) and barley (*Hordeum vulgare*) in Kermanshah and Lorestan, Iran. European Journal Soil Science. 59 (1): 67-71.

Narula, N., Kumar, V., Behl, R.K., Deubel, A., Gransee, A. and Merbach, W. (2000). Effect of P-solubilizing *Azotobacter chroococcum* on N, P, K uptake in P-responsive wheat genotypes grown under greenhouse conditions. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 163: 393–398.

Okon, Y. and Labandera-Gonzalez, C.A. (1994). Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years world wild field inoculation. Soil, Biology and Biochemistry. 26: 1591-1601.

Puentes-Ramirez, L.E., Bustillos-Cristales, R., Tapia-Hernandez, A., Jimenez-Salgado, T., Wang, E.T., Martinez-Romero, E. and Caballero-Mellado, J. (2006). Novel nitrogen fixing acetic acid

bacteria, *Gluconacetobacter johannae* sp. nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov., associated with coffee plants. International Journal of Systematic and Evolution Microbiology. 51: 1305–1314.

Sharma, A.K. (2005). Bio-fertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India.

Sturze, I., Dimitrev, I., Kuloyanova, N., Dimitrova, A. and Anyelov, M. (2012). Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense*, photosynthetic enzyme activities and grain yield in maize. Agronomie. 12: 319-324.

Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil. 255: 271-586.

Yasamin, S., Bakar, M.A.R., Malik, K.A. and Hafeez, F. (2004). Isolation, characterization and benefical effects of rice associated plant growth promoting bacteria from Zanibar soils. Journal of Basic Microbiology. 44: 241-252.

Zaied, K.A., Abd-El-Hady, A.H., Afify, A.H. and Nassef, M.A. (2003). Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. Pakistant Journal of Biological Science. 6: 344-358.