مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۴ ، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱

مجله پژوهش‌های به زراعی

اثر سویه‌های باکتری سودوموناس بر عملکرد و جذب عناصر غذایی جو تحت کاربرد قارچ میکوریزا

علی بشیرزاده [۱]، محمد حسین انصاری [۲]*

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد آستارا، دانشگاه آزاد اسلامی، آستارا، ایران
۲- گروه زراعت، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸

چکیده

جو یکی از مهمترین گیاهان قابل کشت در دیمزارهای ایران می‌باشد. استان اردبیل یکی از مناطقی است که تولید جو دیم در آن موفقیت‌آمیز بوده است، اما یکی از مشکلات کشاورزان در این مناطق هزینه بالا و جنبه‌های منفی مصرف کودهای شیمیایی است. امروزه کاربرد برخی از میکروارگانیسم‌ها در دیمزارها به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی اهمیت یافته است. به همین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو سال در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اردبیل اجرا شد. عامل‌های آزمایش شامل کاربرد میکوریزا گونه *Rhizophagus irregularis* و عدم کاربرد و چهار سویه باکتری سودوموناس (سویه‌های S153، S169، S4، S8 و عدم تلقیح) بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر متقابل سودوموناس × میکوریزا بر اغلب صفات معنی‌دار بود. اندازه‌گیری غلظت نیتروژن اندام هوایی در مراحل مختلف رشد گیاه نشان داد که بیشترین غلظت نیتروژن در مرحله ظهور برگ پرچم مشاهده شد و سویه‌های باکتری سودوموناس در شرایط کاربرد میکوریزا غلظت نیتروژن بیشتری را نشان دادند. تلقیح دوگانه میکوریزا- سودوموناس ضمن افزایش کلونیزاسیون میکوریزایی، غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن و منگنز دانه را به طور معنی‌دار افزایش داد. ضمن آن‌که فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی را در ریزوسفر ریشه در گیاهان تلقیحی با سودوموناس تحت شرایط کاربرد میکوریزا افزایش یافت. در این آزمایش حداکثر عملکرد دانه در سال اول ۱۵۷۲ کیلوگرم و در سال دوم ۲۲۳۹ کیلوگرم دانه در هکتار از تیمار تلقیح دو گانه قارچ میکوریزا + سویه S4 حاصل گردید. با توجه به نتایج به دست آمده و با وجود اینکه در اغلب صفات اندازه‌گیری شده تیمارهای تلقیحی نسبت به تیمار عدم تلقیح از برتری برخوردار بودند، به‌نظرکاربرد قارچ میکوریزا نیز کارایی تلقیح باکتریایی را افزایش داده و علاوه بر افزایش غلظت عناصر دانه، عملکرد دانه را نیز افزایش داد. بنابراین برای زراعت جو در شرایط دیم اردبیل تلقیح گیاه با باکتری سودوموناس فلورسنس سویه S4 تحت کاربرد قارچ میکوریزا توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آهن، فسفاتاز، کلونیزاسیون میکوریزایی، نیتروژن

* نگارنده مسئول (ansary330@gmail.com)

مقدمه

بیش از دو سوم آب آبیاری در جهان صرف تولید محصولات دانه‌ای می‌شود و در حدود ۷۰ درصد نیازهای غذایی بشر از غلات تأمین می‌شود. سرعت افزایش جمعیت بیشتر از سرعت افزایش تولید غلات است و تأمین غذای مردم نیاز به تولید بالاتری دارد (Godfray *et al.*, 2010). جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهمترین و قدیمی‌ترین غلات کشور است که دامنهٔ انتشار و سازش اقلیمی وسیعی دارد و در عین حال ارزش تجاری آن به مراتب کمتر از گندم می‌باشد و به همین دلیل در نقاطی از مناطق خشک که میزان بارندگی بسیار اندک و غیر قابل پیشبینی و متغیر است و تکاپوی تولید محصول رضایت بخش گندم را نمی‌کند، زراعت می‌شود (Dijkman *et al.*, 2017). به گزارش وزارت جهاد کشاورزی ایران (۱۳۹۵) سطح زیر کشت جو در ایران در سال زراعی ۹۴ -۱۳۹۳ حدود ۱/۷۶ میلیون هکتار بود که از این میزان ۴۰ درصد آبی (۷۰۵ هزار هکتار) و ۶۰ درصد (۱/۰۵ میلیون هکتار) به صورت دیم می‌باشد و میانگین عملکرد این محصول در مزارع آبی و دیم به ترتیب ۳/۰۷ و ۰/۹۸ تن در هکتار بود. بخش اعظم اراضی کشور ایران جزء مناطق خشک و نیمه خشک طبقه بندی می‌شود و در این نواحی مهمترین منبع محدود کننده برای افزایش عملکرد تولیدات کشاورزی، کمبود آب می‌باشد. از این رو، افزایش بهره‌وری آب در مقایسه با محصول تولیدی در واحد سطح بهترین راهکار برای سامانه‌های زراعی دیم می‌باشد. در زراعت دیم، بسیاری از پدیده‌ها و عوامل علیرغم تاثیر گذار بودن آنها در زراعت، غیر قابل کنترل یا تعدیل هستند (توکلی، ۱۳۸۲). تغییرات بارندگی در سال‌های مختلف، تغییرات مقدار و نحوه پراکنش نزولات جوی، تغییرات درجه حرارت و عدم وقوع بارندگی در بخشی از سال زراعی که از ویژگی‌های خاص زراعت دیم است، سبب شده که میزان خطرپذیری در زراعت دیم بالا بوده و ضریب اعتماد و درجه ثبات و پایداری تولید اندک باشد. لذا، ابزارها و شیوه‌های مختلفی که در

کاهش ریسک و ایجاد ثبات و پایداری عملکرد محصولات دیم موثر باشند مورد توجه است (Shiferaw *et al.* 2013). یکی از این شیوه‌ها، استفاده از ترکیبات زیستی مانند باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR[1]) است (Mercado-Blanco *et al.*, 2016).

تعدادی از باکتری‌های موجود در خاک می‌توانند رشد گیاه را به طور مستقیم (مانند جذب عناصر غذایی و تولید هورمون‌های محرک رشد گیاهی) و یا به طور غیر مستقیم (مانند کنترل بیماری‌ها و آفات و یا کاهش آثار زیان‌آور تنش‌های زیستی) افزایش دهند (Borriss, 2011). اثر مفیدی که توسط هر گونه از باکتری‌های محرک رشد بر گیاه القاء می‌شود، در ابتدا بر کلونیزاسیون موفق و پشتیبانی توسط سطح جمعیتی قابل قبول تکیه می‌کند (Djavaheri *et al.*, 2012). کلونیزاسیون باکتری‌ها در ریشه‌های گیاه بستگی به ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی خاک، ژنوتیپ گیاه میزبان، ترکیب ترشحات ریشه، میکروبیوم خاک و همچنین فنوتیپ‌های خاص باکتریایی دارد (Raaijmakers *et al.*, 2009). ریزوسفر محلی است که در آن بسیاری از تعاملات میکروب - میکروب و میکروب - ریشه گیاه، و همچنین رویدادهای سیگنالی چندتروفی[2] کلیدی حادث می‌شود. عواقب این تعامل پیچیده‌ای که در زیر سطح زمین رخ می‌دهد اهمیت فوق العاده‌ای برای رشد، نمو و تولید گیاه دارد (Kowalski *et al.* 2015). باکتری *Pseudomonas* spp. یکی از مهمترین باکتری‌های مفید همیار ریشه است که به دلیل قابلیت آنها در تحریک رشد و محافظت از گیاه، بسیاری از سویه‌های سودوموناس مورد توجه قرار گرفته‌اند (Höfte & Altier, 2010). یکی دیگر از میکروارگانیسم‌هایی که در تولید گیاهان زراعی، بویژه در شرایط تنش خشکی و شوری، مورد توجه است، قارچ میکوریزا می‌باشد (Songachan *et al.*, 2015). قارچ میکوریز در خاک‌هایی که غلظت عناصر

[1]- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

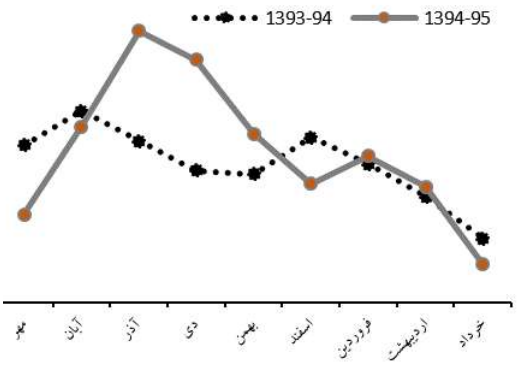
[2]- Multitrophic Signaling

غذایی، به ویژه فسفر، کم تا متوسط باشد، قادرند نیاز گیاه به فسفر و عناصر دیگر نظیر نیتروژن، پتاسیم، مس و روی را تأمین کنند و در مقابل، گلوکز مورد نیاز خود را از گیاه دریافت نمایند (Wu *et al.*, 2014). این همزیستی قارچ - ریشه‌ای بین گیاهان و قارچ‌های شاخه Glumeromycotina صورت می‌گیرد (Roy *et al.*, 2006). تحقیقات نشان داده که گیاهان میکوریزایی علاوه بر فسفر، جذب نیتروژن را نیز افزایش می‌دهند (Varma & Hock, 1998). نقش عمده قارچ در این همزیستی‌ها، جذب و انتقال عناصر غذایی، به ویژه فسفر، به گیاه میزبان می باشد (Shnyerva & Kulaev, 1994). از طرف دیگر قارچ میکوریزا با تولید ترکیبات فعال بیولوژیکی و فراهم کردن مواد مغذی به زنده ماندن و تکثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه کمک می‌کند (Marschner *et al.*, 2001; Egamberdieva *et al.*, 2015). این هم‌افزایی منجر به تولید ترکیبات مفید و موثر برای گیاه شده و با بهبود دسترسی مواد مغذی و القای مقاومت به گیاه در مقابل تنش‌های مختلف مانند کمبود مواد مغذی، شوری، خشکی، اسیدیته و درجه حرارت خاک، رشد گیاه را افزایش می‌دهد (Egamberdieva *et al.*,2015). گزارش شده است که آنها تحمل گیاه را در برابر تنش با تحریک فعالیت سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی (Wu *et al.*, 2014; Ahmad *et al.*, 2015)، پراکسیداسیون لیپیدی (Abd-Allah *et al.*, 2015) و سنتز هورمون‌های رشد (Navarro *et al.*, 2013)، افزایش می‌دهند.

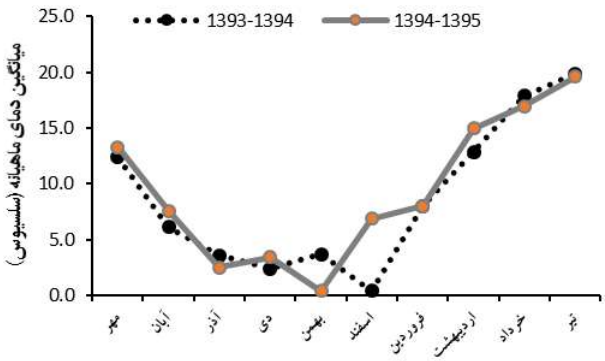
از آنجا که بخش زیادی از سطح زیر کشت جو در شهرستان اردبیل به صورت دیم می‌باشد، این آزمایش به منظور ارزیابی اثر قارچ میکوریزا بر جذب عناصر و عملکرد دانه ارقام جو تحت تلقیح با سویه های مختلف باکتری سودوموناس فلورسنت در منطقه اردبیل اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی اثر قارچ میکوریزا بر عملکرد دانه و جذب عناصر غذایی ارقام جو تحت تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس عملیات مزرعه ای در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل با ارتفاع ۱۴۶۰ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ′۲۰ °۴۸ و عرض جغرافیایی ′۱۹ °۳۸ در سال‌های زراعی ۹۴-۱۳۹۳ و ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. محل آزمایش از نظر آب و هوا و طبقه‌بندی اقلیمی جزو مناطق نیمه مرطوب سرد محسوب می‌شود. بنا به گزارش ایستگاه هواشناسی سرعین، مجموع بارش در طول فصل زراعی در سال اول و دوم به ترتیب ۳۷۷ و ۴۱۶ میلی‌متر بود (شکل ۱)، ضمن آن‌که میانگین دمای ماهانه در طول فصل زراعی سال اول و دوم در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج حاصل از تجزیه خاک مزرعه آزمایشی که از عمق ۳۰-۰ و ۶۰-۳۰ سانتیمتر نمونه برداری انجام شد که مشخصات تجزیه خاک به شرح جدول ۱ می‌باشد.



شکل ۱- میانگین بارندگی ماهانه در طول دوره رشد گیاه در سال‌های زراعی ۹۴-۱۳۹۳ و ۹۵-۱۳۹۴



شکل ۲- میانگین در جه حرارت ماهانه در طول دوره رشد گیاه در سال‌های زراعی ۹۴-۱۳۹۳ و ۹۵-۱۳۹۴

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

سال	عمق (cm)	Mn	Fe	Zn	K	P	N (%)	Organic Carbon (%)	pH	Ec (dS/m)	Clay	Silt (%)	Sand
		(mg/kg)											
سال اول	۰-۳۰	۹/۱۲	۳/۹	۰/۵۲	۱۸۸	۱۳/۲	۰/۰۸	۰/۸	۷/۳	۰/۸۳	۳۲	۴۲	۲۶
	۳۰-۶۰	۶/۲	۲/۹	۰/۳۱	۱۵۶	۱۰/۱	۰/۰۵	۰/۵۱	۷/۳	۱/۰۴	۴۳	۳۱	۲۶
سال دوم	۰-۳۰	۱۰/۶	۵/۸	۰/۸۵	۱۵۵	۱۴/۱	۰/۰۷	۰/۸۲	۷/۴	۱/۱۰	۳۶	۳۵	۲۹
	۳۰-۶۰	۶/۶	۴/۶	۰/۴۱	۱۳۱	۱۰/۸	۰/۰۶۶	۰/۶۱	۷/۳	۱/۶۰	۴۴	۲۹	۲۷

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل قارچ میکوریزا در دو سطح (کاربرد میکوریزا گونه *Rhizophagus irregularis* و عدم کاربرد) و چهار سویه باکتری سودوموناس فلورسنس (سویه‌های S153، S169، S4، S8 و عدم تلقیح) بودند. هر واحد آزمایشی شامل پنج خط کاشت هر یک به طول پنج متر و فاصله ردیف‌های کشت ۳۰ سانتی‌متر بود. در پاییز قبل از کاشت، عملیات شخم و دیسک انجام و بعد از تسطیح زمین، اقدام به کاشت گردید. اولین بارندگی موثر در سال اول در ۱۷ مهر ماه و در سال دوم ۱۲ مهر ماه بود که عملیات کشت بعد از آن شروع شد. بعد از عملیات آماده‌سازی زمین، بذرها (رقم آبیدر) با تراکم ۳۵۰ بذر در متر مربع کشت شدند. جهت تهیه تیمارها، بذرها به‌وسیله صمغ عربی، آغشته و باکتری‌های مورد نظر (میزان مصرف بر اساس دستورالعمل بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب هفت گرم مایه تلقیح برای هر کیلو گرم بذر بود در هر گرم آن 10^7 عدد باکتری زنده و فعال وجود دارد) به توده بذر اضافه گردید. این باکتری‌ها، 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.

قارچ میکوریزا نیز در زیر بذر ریخته شده و پس از قرار دادن بذر روی آن با خاک پوشانده شد. مبارزه با علف‌های هرز به روش مکانیکی (وجین) انجام گرفت. نمونه‌برداری از خطوط اصلی هر کرت با رعایت حاشیه و از بین بوته‌های رقابت‌کننده انجام گرفت.

برای تعیین درصد کلونیزاسیون، در مرحله ظهور سنبله از هر واحد آزمایشی، ۵ بوته به طور تصادفی انتخاب، و به همراه ریشه‌هایشان (تا عمق ۳۰ سانتی متری) از خاک خارج گردیدند. پس از تمیز کردن ریشه‌ها، رنگ‌آمیزی ریشه با استفاده از روش فیلیپ و هایمان (۱۹۷۰) انجام شد. ریشه‌های رنگ‌آمیزی با روش تقاطع خطوط شبکه[1] اندازه‌گیری شد (جیووانتی و موس،۱۹۸۰). وابستگی میکوریزایی طبق رابطه زیر محاسبه شد (Gerdemann, 1975):

$$MD = (Ym - Ymn)/Ym$$

که در آن وابستگی میکوریزایی با MD، وزن خشک گیاه میکوریزایی با Ym و وزن خشک گیاه غیرمیکوریزایی با Ynm نشان داده شده است.

نظر به اهمیت فعالیت فسفاتاز اسیدی در معدنی شدن مواد آلی خاک در این آزمایش، فعالیت این آنزیم‌ها در خاک اطراف ریشه در زمان ساقه رفتن اندازه‌گیری شد. در این آزمایش روش عیوضی و طباطبایی (۱۳۵۶) مورد استفاده قرار گرفت.

در زمان رسیدگی فیزیولوژیک، عملکرد دانه از سه ردیف وسطی دست‌نخورده هر کرت آزمایشی به مساحت یک متر مربع برآورد گردید. از دانه‌های برداشت شده به مقدار ۱۰۰ گرم تهیه شد و به آزمایشگاه چهت اندازه‌گیری عناصر منتقل گردید. اندازه‌گیری نیتروژن به روش کجلدال، فسفر به روش کالری‌متری (رنگ زرد مولیبدات و وانادات)، پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم و امیشن اسپکترومتر[2] (فیلم فوتومتر)، آهن، منگنز، روی و مس با دستگاه جذب اتمی[3] به روش هضم به طریقه سوزاندن خشک و استفاده از اسیدکلریدریک انجام گرفت (امامی، ۱۳۷۵). پس از انجام آزمون یکنواختی واریانس خطاهای آزمایشی (بارتلت)، تجزیه واریانس

[1]- Gridline intersect method

[2]- Flame Emission Spectrometer
[3]- Perkin Elmer

مرکب با استفاده از نرم افزار $SAS_{9.1}$ انجام و مقایسه میانگین‌های برهمکنش با استفاده از روش برش و روش L.S.Means و با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

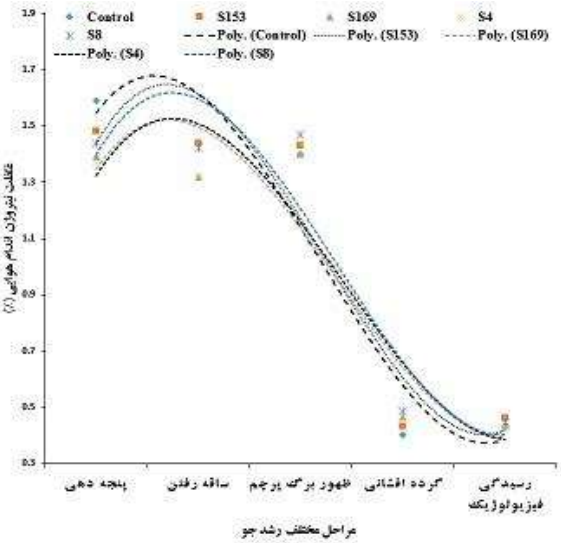
نتایج و بحث

غلظت نیتروژن دانه و اندام‌هوایی در دوره رشد گیاه

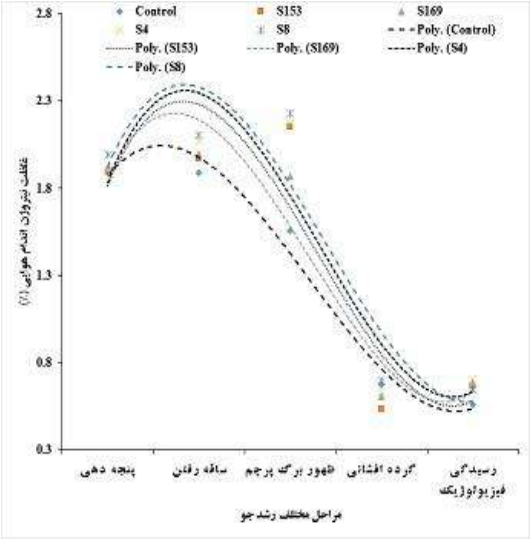
نتایج نشان داد که در شرایط عدم کاربرد میکوریزا، با افزایش رشد گیاه از مرحله پنجه دهی تا ساقه دهی، در اغلب تیمارهای تلقیحی با سویه‌های سودوموناس کاهش غلظت نیتروژن مشاهده شد و از مرحله ساقه روی تا مرحله ظهور برگ پرچم تغییر چشمگیری در غلظت نیتروژن اندام هوایی مشاهده نشد اما از مرحله ظهور برگ پرچم به بعد، یعنی در مرحله گرده‌افشانی و رسیدگی فیزیولوژیک کاهش غلظت نیتروژن در همه تیمارهای تلقیحی با سویه‌های سودوموناس مشاهده شد (شکل ۳). در شرایط کاربرد میکوریزا، از مرحله پنجه‌دهی تا مرحله ظهور برگ پرچم تغییر چندانی در تیمارهای سودوموناسی مشاهده نشد (اگرچه سویه‌های S153 وS8 در مرحله ظهور برگ پرچم نسبت به سایر سویه‌ها، نیتروژن بیشتری نشان دادند ولی این تفاوت قابل ملاحظه نبود)، اما از مرحله ظهور برگ به مراحل گرده‌افشانی و رسیدگی فیزیولوژیک کاهش غلظت نیتروژن اندام هوایی گیاه در تمام سویه‌های سودوموناس مشاهده شد(شکل ۴). بیشترین غلظت نیتروژن در مرحله ظهور برگ پرچم مشاهده شد که در این مرحله در شرایط عدم کاربرد میکوریزا، سویه S8، S153 و S169 (شکل ۳) و در شرایط کاربرد میکوریزا سویه S153 وS8 (شکل ۴)، بیشترین غلظت نیتروژن را نشان دادند. علت کاهش غلظت نیتروژن اندام‌هوایی پس از ظهور برگ پرچم را می‌توان ناشی از انتقال نیتروژن از ساقه و برگ به سمت اجزای زایشی دانست که این انتقال تا زمان رسیدگی فیزیولوژیک ادامه دارد. گزارش شده است که در حدود نیمی از جذب نیتروژن گیاهان، تا زمان گلدهی و بقیه طی یک دوره

۳۰ روزه در طول دوره پر شدن دانه‌ها انجام می‌شود (Narula *et al.*, 2010). بنا به گزارش Meena *et al* (2016) جذب نیتروژن در گیاه ماش تا زمانی که اندام‌های سبز گیاه فتوسنتز نمایند تداوم دارد. در این راستا Cazzato *et al* (2012) نیز گزارش کردند که در زمان پر شدن دانه‌ها جذب نیتروژن، انتقال نیتروژن ذخیره شده در بافت‌های مختلف گیاه به سمت دانه‌ها را افزایش می‌دهند که منتهی به افزایش پروتئین دانه می‌شود. نکته مورد توجه این است که تیمارها در شرایط کاربرد میکوریزا مقدار نیتروژن بیشتری نسبت به شرایط عدم کاربرد میکوریزا نشان دادند. همچنین مقایسه میانگین برهمکنش قارچ میکوریزا × باکتری سودوموناس بر غلظت نیتروژن دانه نشان داد که در همه‌ی گیاهان تیمار شده با سودوموناس، کاربرد میکوریزا غلظت نیتروژن دانه را افزایش داد و بیشترین غلظت نیتروژن دانه از سویه S4 تحت کاربرد قارچ میکوریزا به دست آمد (شکل ۵). تاثیر میکوریزا در افزایش جذب نیتروژن در اندام هوایی گیاه گندم (کرمانی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵)، جو (Moyano *et al.*, 2007)، ذرت (Subramanian & Charest, 1997) و ترتیکاله (Cazzato *et al.*, 2012)، گزارش شده است. هارواس و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که سودوموناس پوتیدا سویه NtrC می‌تواند نیتروژن خاک را برای ریشه تنظیم کرده و ترکیبات آمینواسیدی در اختیار ریشه قرار دهد. نتایج این تحقیق با نتایج ویلیامز و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد. ضمن آن‌که Sultana *et al* (2016) با ارزیابی برهمکنش میکوریزا، سودوموناس و ازتوباکتر بر جذب عناصر در سورگوم اظهار نمودند که تلقیح میکوریزایی به همراه سودوموناس غلظت آهن، فسفر و پروتئین دانه را افزایش داد که ناشی از تاثیر تلقیح دوگانه بذری سودوموناس+ میکوریزا در توسعه جنبی ریشه گیاه گزارش کردند. این در حالی است که Haling *et al* (2010) با مطالعه ریشه گندمیان در شرایط کمبود عناصر غذایی و آب اذعان داشتند که در خاک‌هایی فقیر و

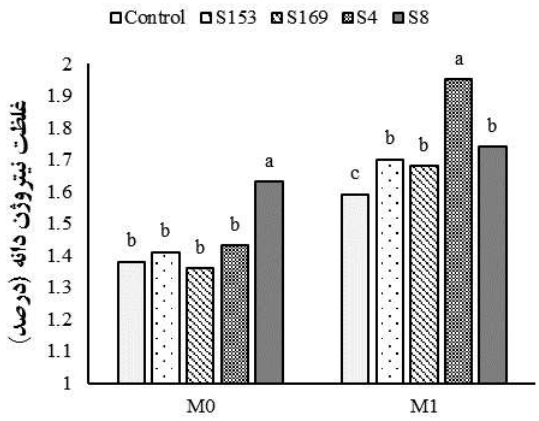
قلیایی، هر چقدر ریشه در تولید اسیدهای آلی توانمندتر باشد و ریزوسفر را به سمت اسیدی شدن سوق دهد، جذب عناصری مانند نیتروژن و فسفر را افزایش می‌دهد. بنابراین میکروارگانیسم‌های به کاربرده شده در این آزمایش که قابلیت تولید اسیدهای آلی را دارند، می‌توانند از این طریق و کاهش pH خاک جذب عناصر غذایی را افزایش دهند.



شکل ۳- اثر سویه‌های سودوموناس بر غلظت نیتروژن اندام‌هوایی در مراحل مختلف رشد در شرایط عدم کاربرد میکوریزا



شکل ۴- اثر سویه‌های سودوموناس بر غلظت نیتروژن اندام‌هوایی در مراحل مختلف رشد جو تحت شرایط کاربرد قارچ میکوریزا



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل میکوریزا × باکتری بر غلظت نیتروژن دانه

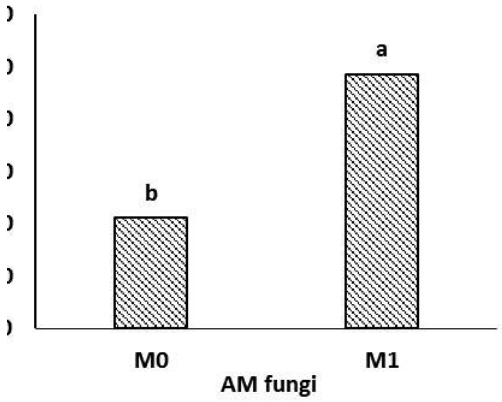
کلونیزاسیون ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر اصلی باکتری، قارچ میکوریزا بر کلونیزاسیون ریشه معنی‌دار بود (جدول ۲). بررسی اثر سویه‌های باکتری نشان داد که باکتری‌های تنظیم کننده رشد هیچ اثر هم‌ناسازی با میکوریزا در آلوده کردن ریشه گیاه میزبان نداشته و نه تنها منجر به کاهش کلونیزاسیون ریشه نشدند بلکه سویه S4 درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به تیمار عدم تلقیح، ۲۹ درصد افزایش داد (شکل ۶ و ۷). رابطه بین باکتری محرک رشد گیاه و قارچ میکوریزا که توسط فستر و همکاران (۱۹۹۹) تشریح شده است، به این صورت که کلونیزاسیون قارچ میکوریزا در ریشه جو و گندم منجر به تولید مجدد مشتقات ایزوپرنویید سیکلوهگزنون با بلومنین (9-O-(2′-O-β-glucuronosyl)-β-glucopyranoside از 6-(3-hydroxybutyl)-1,1,5-trimethyl-4-cyclohexen-3-one) به عنوان عامل اصلی ساخت و ذخیره موقت آمیدهای سینامات (4-coumaroylagmatine and –putrescine) می‌شود. تجمع این مواد در ریشه‌های میکوریزایی گیاهان دو هفته پس از کاشت همراه با شروع شکل‌گیری آربوسکول‌ها آغاز می‌شود و فرایند میکوریزایی تداوم می‌یابد. بعد از سه الی چهار هفته در ریشه‌های ثانویه (ریشه‌های درجه اول و بالاتر) به وسیله تشکیل وزیکول‌ها به بالاترین سطح خود می‌رسد. در مراحل نهایی توسعه، قارچ حجم انبوهی از اسپور را تولید می‌کند که بخش‌های پیرتر ریشه (در ریشه‌هایی که سن بالاتر از پنج هفته دارند) را احاطه می‌کنند. در این بخش از ریشه‌ها، در واقع در بافت کورتیکال ریشه، متابولیت‌های ثانویه تولید و تجمع می‌یابند. باکتری‌هایی مانند *Agrobacterium rhizogenes* و *P. fluorescens*به طور چشمگیری تجمع بلومین و کلونیزاسیون قارچی را تحریک می‌کنند، بنابراین به عنوان یک حامی میکوریزا[1] عمل می‌کنند.

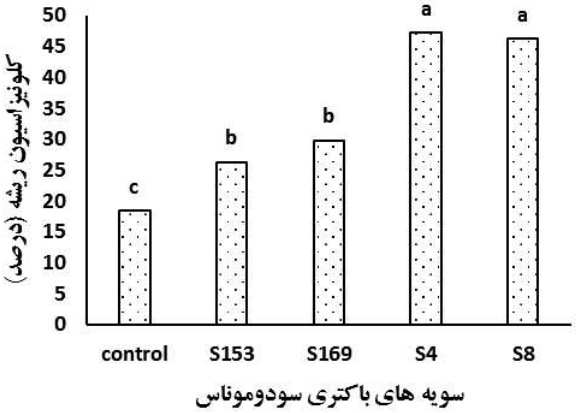
Sajedi & Rejali (2011) عنوان داشتند با افزایش کلونیزاسیون ریشه، سیستم

[1]- Mycorrhiza-Helper Bacteria (MHB)

ریشه‌ای گیاه میزبان توسعه یافته و باعث افزایش سطح جذب ریشه‌ها به علت نفوذ ریسه‌های قارچ در خاک می‌شود و در نتیجه ریشه به حجم بیشتری از خاک دسترسی پیدا کرده و کارایی جذب آب و عناصر غذایی افزایش می‌یابد.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر قارچ میکوریزا بر کلونیزاسیون ریشه



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر سویه‌های سودوموناس بر کلونیزاسیون ریشه

آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی

نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر متقابل سودوموناس × قارچ میکوریزا × سال بر فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی ریزوسفر ریشه معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین فسفاتاز قلیایی نشان داد در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد میکوریزا، سویه‌های سودوموناس نسبت به شاهد برتری معنی‌دار داشتند به طوری که در شرایط عدم کاربرد میکوریزا، سویه‌های سودوموناس فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را ۱۲-۸ درصد در سال اول و ۵۲-۲۴ درصد در سال دوم، نسبت به شاهد افزایش دادند. در شرایط کاربرد میکوریزا نیز، سویه‌های سودوموناس فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را ۲۵-۵ درصد در سال اول و ۶۱-۴۴ درصد در سال دوم، نسبت به شاهد افزایش دادند. چندین نوع فسفاتاز در خاک وجود دارد و آنهایی که بیشتر معمولند شامل فسفومنواسترازها و

فسفودی استرازها و فیتازها هستند. فسفومنواسترازها بر روی منواسترهای فسفات عمل می‌کنند و بر اساس اپتیمم pH محیط به دو صورت فسفومنواسترازهای اسیدی و قلیایی تقسیم می‌شوند. فسفومنواسترازهای اسیدی در خاک‌های اسیدی و فسفومنواسترازهای قلیایی در خاک‌های بازی و خنثی بیشترین فعالیت را دارند (Saparatka, 2003). از آنجا که خاک مزرعه ما نیز تقریبا قلیایی بود، بنابراین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در سویه‌های سودوموناس بیشتر از فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی مشاهده شد. Philip *et al* (2008) گزارش کردند که پروسه معدنی شدن فسفر از ترکیبات فسفر آلی توسط آنزیم‌ها بخصوص فسفاتاز و فیتاز صورت می‌گیرد، این مکانیزم‌ها در مدیریت حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه نقش مهمی دارند. اینوزیتول پنتا - هگزا فسفات‌ها (فیتات) و مشتقات آن (فیتات کلسیم و منیزیم‌دار) و همچنین گلیسرو فسفات سدیم از جمله ترکیبات فسفر آلی خاک محسوب می‌شوند (Turner *et al*., 2005). فسفاتاز نقش مهمی در حل کردن فسفات نامحلول خاک، جدای از دیگر مکانیسم‌های حل فسفات، بازی می‌کند (Relwani *et al*., 2008). طبق گزارش Sultana *et al* (2016) تلقیح دوگانه قارچ و باکتری، فعالیت فسفاتاز را از طریق افزایش تولید سیدروفورها و نیز دیگر فعالیت‌های آنزیمی افزایش می‌دهند. یکی از نظریه‌ها برای تفسیر تجمع فسفات به فرم $H_2PO_4^-$ در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌ها، فعالیت آنزیم فسفاتاز باکتریایی است. این تئوری تا حدودی افزایش تجمع فسفر در دانه و ساقه را بر مبنای ازدیاد سرعت تحول و حل کردن فسفر به کمک باکتری توجیه می‌نماید (Sharma *et al*., 2015). مکانیسم موثر برای این امر به توسعه سیستم ریشه‌ای در اثر تولید هورمون، ترشح اسیدهای آلی، تولید پروتون، تولید سیدروفور و فسفاتازهای اسیدی و قلیایی توسط این باکتری‌ها نسبت داده شده است (Lavakush *et al*., 2014).

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب فسفاتاز اسیدی، فسفاتاز قلیایی و ارتفاع بوته ارقام جو تحت تاثیر قارچ میکوریزا و سویه‌های باکتری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		درصد کلونیزاسیون	آنزیم فسفاتاز اسیدی	آنزیم فسفاتاز قلیایی	غلظت نیتروژن دانه	غلظت پتاسیم دانه	غلظت فسفر دانه	غلظت مس دانه	غلظت روی دانه	غلظت منگنز دانه	عملکرد دانه
سال (Y)	۱	۱۵۶*	۰/۳۶۶**	۰/۰۸۳*	۰/۱۳۷^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۱۴۲**	۶/۸۷۵*	۱۳۵**	۱۶/۵۰ns	۲۹۳۵۳۲۱**
سال (تکرار)	۴	۲۱۶۲**	۰/۰۱۲^{ns}	۰/۰۳۹	۱۵/۱^{ns}	۰/۰۰۰۴^{ns}	۰/۰۰۱۴^{ns}	۱/۴۷^{ns}	۰/۶۶۶^{ns}	۳۵/۴۲*	۴۱۸۴۰۹**
میکوریزا (M)	۱	۶۲۰**	۰/۰۴۴**	۱/۰۹**	۴۶/۳*	۰/۰۰۳۳*	۰/۱۰۹**	۰/۲۷۵^{ns}	۶/۷۶^{ns}	۵۹/۸۲**	۵۳۰۹۳^{ns}
باکتری (B)	۴	۱۰۶۶**	۰/۱۰۳**	۰/۱۴۵*	۷۷/۲**	۰/۰۰۹*	۰/۱۳۵**	۱/۱۴^{ns}	۴۸/۸*	۲۸/۸۵ns	۱۲۹۳۹۳**
Y×M	۱	۳۴۷**	۰/۰۱۶^{ns}	۰/۲۷۳**	۲/۶۲^{ns}	۰/۰۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۶^{ns}	۰/۷۱^{ns}	۱/۳۰^{ns}	۲۷۴**	۱۸۳۵۵^{ns}
Y×B	۴	۱۷/۶^{ns}	۰/۱۱۴**	۰/۰۸۵*	۵/۳^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}	۰/۱۱۵**	۱/۷۶^{ns}	۹/۴۱^{ns}	۳۶/۶۱*	۷۲۱۰۳**
M×B	۴	۳۸/۸^{ns}	۰/۱۰۱**	۰/۱۸۲**	۲۹/۷*	۰/۰۴۳*	۰/۰۲۲*	۱/۰۸^{ns}	۴۲/۲۰*	۱۷/۴۰ns	۳۱۲۵۱^{ns}
Y×M×B	۴	۱۲/۲^{ns}	۰/۰۴۷*	۰/۲۸۲**	۸/۵^{ns}	۰/۰۵۴*	۰/۱۳۳**	۱/۱۱^{ns}	۶/۳۲^{ns}	۳۷/۶۸*	۴۶۴۱۵**
خطا	۳۶	۳۴/۲	۰/۰۰۶	۰/۰۳۴	۷/۵۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۳۷	۱/۷۷	۱۰/۱۲	۱۴/۲۵	۱۵۹۴۹
ضریب تغییرات (٪)		۱۶/۵	۸/۹۷	۱۹/۱	۱۲/۱	۴/۸۸	۱۷/۵	۱۲/۹	۷/۱۱	۸/۵۹	۸/۳۳

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر برهمکنش رقم×باکتری×میکوریزا×سال بر فسفاتاز قلیایی، فسفاتاز اسیدی و ارتفاع بوته

قارچ میکوریزا	سویه‌های سودوموناس	فسفاتاز قلیایی (µg PNP/ml/h)		فسفاتاز اسیدی (µg PNP/ml/h)		غلظت فسفر دانه (٪)		غلظت پتاسیم دانه (٪)		غلظت منگنز دانه (میلی‌گرم در کیلوگرم)	
		سال اول	سال دوم	سال اول	سال دوم	سال اول	سال دوم	سال اول	سال دوم	سال اول	سال دوم
M0	Control	۰/۴۹۹c	۰/۷۸۶a	۰/۵۲۵d	۰/۸۸۱b	۰/۲۸۶c	۰/۲۸۹c	۰/۲۹۰c	۰/۳۷۰ab	40.50c	41.16b
	S153	۰/۸۲۶b	۰/۹۵۲a	۰/۹۴۰a	۱/۰۷۱a	۰/۳۸۳a	۰/۳۵۰ab	۰/۳۷۳a	۰/۳۶۳b	41.66c	49.59a
	S169	۱/۰۱۴a	۱/۰۴a	۰/۶۹۷b	۱/۰۰۷ab	۰/۳۵۰b	۰/۳۴۰b	۰/۳۵۶ab	۰/۳۸۰ab	43.33b	49.07a
	S4	۱/۰۵۴a	۱/۰۹a	۰/۵۵۵d	۰/۸۷۲b	۰/۳۶۳ab	۰/۳۷۶a	۰/۳۵۰b	۰/۳۶۰b	45.66a	43.50b
	S8	۰/۶۶۴b	۰/۹۵۱a	۰/۶۳۳c	۰/۸۶۱b	۰/۳۴۳b	۰/۳۳۰bc	۰/۳۷۰a	۰/۳۹۰a	41.00c	42.33b
M1	Control	۰/۶۶۰b	۰/۷۶۰c	۰/۶۲۷c	۰/۸۹۳b	۰/۳۱۶b	۰/۳۲۷c	۰/۳۲۶b	۰/۳۴۶c	42.83b	38.83b
	S153	۱/۴۲۰a	۰/۹۰۵ab	۰/۸۸۳b	۱/۰۵۰ab	۰/۳۷۶a	۰/۳۶۹b	۰/۳۵۰ab	۰/۳۷۳b	45.83ab	43.33a
	S169	۱/۶۱۴a	۰/۸۰۴bc	۱/۱۶۸a	۰/۹۷۹ab	۰/۳۹۰a	۰/۳۵۴b	۰/۳۵۳ab	۰/۳۶۶bc	46.47a	41.16ab
	S4	۱/۷۲۹a	۱/۰۲۶a	۱/۰۸۴a	۱/۱۳۷a	۰/۳۹۶a	۰/۴۰۳a	۰/۳۹۹a	۰/۳۵۳bc	46.51a	42.16a
	S8	۱/۳۷۷a	۰/۹۴۸a	a۱/۱۶۲	۱/۱۵۶a	۰/۳۷۴b	۰/۳۵۸b	۰/۳۷۳ab	۰/۳۹۶a	45.50ab	42.66a

میانگین هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد به روش آزمون LSD می‌باشند.

عملکرد دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر متقابل سودوموناس × قارچ میکوریزا × سال بر عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین عملکرد دانه نشان داد که در سال اول، سویه‌های سودوموناس در شرایط عدم کاربرد میکوریزا ۲۱-۳ درصد و در شرایط کاربرد میکوریزا ۲۶-۶ درصد، نسبت به کنترل افزایش دادند. در سال دوم سویه‌های سودوموناس در شرایط عدم کاربرد میکوریزا ۲۳-۸ درصد و در شرایط کاربرد میکوریزا ۴۱-۲۶ درصد، عملکرد دانه را نسبت به کنترل افزایش دادند. سویه S4 هم در شرایط کاربرد (۲۲۳۹ کیلوگرم در هکتار) و هم در شرایط عدم کاربرد میکوریزا (۱۸۰۶ کیلوگرم در هکتار)

بیشترین عملکرد دانه را تولید کرد. تأثیر باکتری بر گیاه بستگی به عوامل زیادی دارد از جمله ماده آلی خاک، میزان عناصر موجود در خاک، بافت خاک، رطوبت خاک، نوع سویه و رقم گیاه (Kowalski *et al.*, 2015). هر چند در شرایط عدم کاربرد میکوریزا، تلقیح باکتری سودوموناس نسبت به تیمار عدم تلقیح منجر به افزایش عملکرد دانه شد ولی افزایش عملکرد دانه با کاربرد قارچ میکوریزا بیشتر شد. تاثیر میکوریزا بر افزایش کارایی تلقیح باکتریایی توسط *et al* Sultana (2016) نیز گزارش شده است. اثر سودمند همزیستی میکوریزایی و تلقیح باکتریایی باعث افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی می‌شود (Li *et al.*, 2014). همچنین افزایش عملکرد دانه را می‌توان به نقش قارچ میکوریزا و باکتری سودوموناس در افزایش جذب عناصری مانند نیتروژن، آهن و فسفر نیز نسبت داد (Kaur & Reddy, 2014)، ولی بخشی از افزایش عملکرد دانه جو را می‌توان ناشی از هورمون‌های گیاهی ترشح شده توسط میکروارگانیسم‌ها مانند اکسین دانست (Mercado-Blanco *et al.*, 2016). ترشح ایندول استیک اسید و دیگر هورمون‌های گیاهی رشد در کلزا، گندم و گوجه‌فرنگی تلقیح شده با باکتری سودوموناس توسط Glick (2014) گزارش شده است. همچنین میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه با تأثیر بر اندازه و مورفولوژی ریشه، بر توانایی ریشه در دسترسی به حجم وسیع‌تر خاک اثر گذاشته و در نتیجه جذب آب و عملکرد گیاه را افزایش می‌دهند (Lavakush *et al.*, 2014).

غلظت فسفر دانه

در هر دو سال آزمایش، میکوریزا قابلیت سویه‌های سودوموناس در افزایش غلظت فسفر دانه را افزایش داد به طوری که در اغلب تیمارهای سودوموناسی، کاربرد میکوریزا غلظت فسفر دانه را به طور معنی‌دار افزایش داد (جدول ۲). نتایج به دست آمده هماهنگ با گزارش Fester *et al* (1999) و Kumar *et al* (2015) درباره اثر هم‌افزایی باکتری و قارچ میکوریزا بر افزایش

جذب فسفر، می‌باشد. آزمایش‌های اولیه بر سویه‌های باکتری به کار برده شده در این آزمایش نشان داده است این باکتری‌ها قادر به انحلال فسفات 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 می‌باشند. همچنین کارایی سویه S4 در مقایسه با سه سویه دیگر در این ویژگی‌ها بالاتر بود. بنابراین بدیهی است که مقدار جذب و انتقال فسفر در سویه S4بالاتر باشد و تیمارهای تلقیح‌شده 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 (Sharma *et al.*, 2015). اما Kaur & Reddy (2014) 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 را برای گیاه فراهم می‌نماید. این میکروارگانیسم‌ها که قابلیت حل کردن فسفات معدنی دارند، با ترشح اسیدهای آلی مانند اسیداگزالیک و اسیدسیتریک، از طریق کلاته کردن و تشکیل کمپلکس‌های پایدار با کاتیون‌های آهن و آلومنیوم و کلسیم سبب آزاد شدن فسفات به داخل محلول خاک می‌شوند و همچنین اسید گلوکونیک و اسید ۲-کتواگزالیک با آزادسازی پروتون سبب کاهش pH محیط و انحلال فسفات‌های نامحلول خاک می‌گردند (Glick, 2014)، در نتیجه آزاد شدن فسفر در خاک قابلیت دسترسی ریشه به این عنصر زیاد شده و راندمان جذب فسفر در گیاه هم بالا می‌رود. البته نوع و مقدار اسیدهای آلی در هر محیط به نوع میکروارگانیسم‌های تولیدکننده آن‌ها مربوط می‌باشد (Williams *et al.*, 2017).

جذب پتاسیم دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر متقابل سودوموناس × قارچ میکوریزا × سال بر غلظت پتاسیم دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد

که در سال اول در شرایط عدم کاربرد میکوریزا همه سویه‌های سودوموناس نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری نشان دادند اما در شرایط کاربرد میکوریزا، فقط سویه‌های S4 و S8 نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری معنی‌دار نشان دادند. در سال دوم سویه‌های سودوموناس به استثنای سویه S153، از نظر غلظت پتاسیم با تیمار عدم تلقیح اختلاف معنی‌دار نداشتند، اما در شرایط کاربرد میکوریزا سویه‌های سودوموناس برتری معنی‌دار نسبت به تیمار عدم تلقیح نشان دادند و سویه S8 بیشترین غلظت پتاسیم را نشان داد (شکل ۳-۲۲).

Baon *et al* (1993) با ارزیابی واکنش ارقام مختلف جو نسبت به میکوریزا گزارش کردند که علت واکنش بهتر برخی از ارقام جو به میکوریزا را ناشی از هماهنگی بین ترشحات ریشه‌ای و میکوریزا می‌باشد که تاثیر زیادی بر جذب عناصری مانند فسفر، نیتروژن و پتاسیم دارد. Lee et al (2014)) نیز با ارزیابی نقش میکوریزا در توسعه ریشه‌های مویین جو، گزارش کردند که میکوریزا با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و بهبود روابط آبی گیاه منجر به افزایش جذب عناصرغذایی از خاک می‌شود. گزارش شده است که هیف‌های قارچ‌های میکوریزا قادر به تأمین ۱۰ درصد از نیاز گیاه همزیست خود به پتاسیم هستند (Marschner *et al.*, 2011). لطفی و همکاران (۱۳۹۴) با بررسی اثر قارچ میکوریزا، باکتری محرک رشد گیاه و تنش خشکی بر شکل‌های مختلف پتاسیم و تغییرات کانی‌های رسی گزارش کردند که کودهای زیستی در هوادیدگی و انحلال کانی‌ها و رهاسازی پتاسیم موثر هستند، بدین شکل که تلقیح میکروبی درصد کلنیزاسیون ریشه و همه شکل‌های پتاسیم خاک را در مقایسه با تیمارهای تلقیح نشده افزایش داد. افزایش غلظت پتاسیم اندام هوایی و ریشه در اثر تلقیح با باکتری‌های آزاد کننده پتاسیم توسط محققین مختلفی گزارش شده است (Badr, 2006; Sheng *et al.*, 2008). این باکتری‌ها با تخریب کانی‌های پتاسیم دار، این عنصر را از کانی آزاد کرده و به شکل قابل استفاده برای گیاه در می‌آورند.

مکانیسم تجزیه سیلیکات‌ها بر حسب نوع باکتری تجزیه کننده متفاوت خواهد بود. ولی اساساً این فرایند در نتیجه تأثیر فرایندهای متابولیک این باکتری‌ها روی کانی‌ها انجام می‌شود. حضور پلی ساکاریدهای باکتریایی به عنوان عوامل موثر در رهاسازی پتاسیم از کانی‌های خاک گزارش شده است. پلی ساکاریدها (مثل اسیدهای اورنیک) مواد لعابی و لزجی هستند که دارای عوامل کربوکسیلی و فنلی می‌باشند که فنل و کربوکسیل موجود در پلی ساکاریدها با عناصر موجود در سیلیکات‌ها واکنش داده و تشکیل پیوندهای پیچیده‌ای می‌دهند که منجر به آزاد شدن عناصر از شبکه کریستالی شده و باعث انتقال آنها به داخل محلول خاک می‌شوند (Welch *et al.*, 1999). این مواد لزج تولید شده توسط سویه‌های نام برده، مواد پلی‌ساکاریدی باشند که توسط این سویه‌ها تولید و ترشح شده و در آزادسازی پتاسیم مؤثر واقع شده است. محققین گزارش کردند که این باکتری‌ها قادر به تولید ایندول استیک اسید (IAA) و سیدروفور می‌باشد که سیدروفور تولید شده می‌تواند با عناصر موجود در سطح کانی کمپلکس برقرار کند و در آزادسازی عناصری مثل فسفر، پتاسیم و آهن مؤثر واقع شود (Chakraborty *et al.*, 2006). بنابراین تجزیه کانی‌های پتاسیم‌دار و آزاد شدن پتاسیم در اثر این مکانیسم و یا سایر مکانیسم‌ها می‌تواند نقش مؤثری در افزایش پتاسیم قابل استفاده در خاک باشد، همچنین IAAتولید شده توسط این باکتری می‌تواند به عنوان یک ترکیب آلی محرک رشد گیاه عمل کند (Badr, 2006).

غلظت آهن دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر متقابل باکتری × میکوریزا بر غلظت آهن دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد که در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد میکوریزا سویه S4 بیشترین غلظت آهن را نشان داد. همچنین به استثنای سویه S153، سایر سویه‌ها نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری معنی‌دار نشان دادند (شکل ۳-۱۵). نتیجه

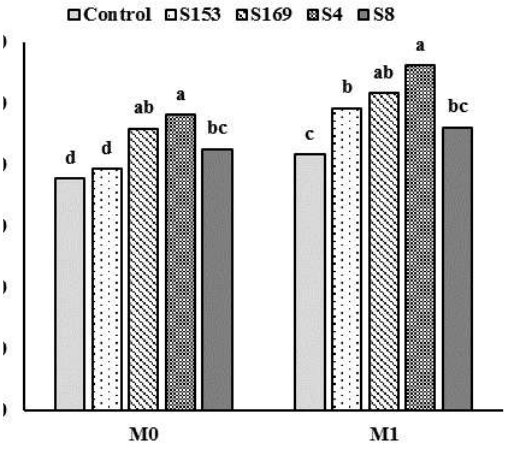
حاضر با گزارش Vinale *et al* (2008) مطابقت دارد، آنها اظهار داشتند که باکتری سودوموناس میزان آهن دانه را افزایش می‌دهد. باکتری سودوموناس با افزایش انشعابات ریشه و تارهای کشنده باعث افزایش جذب عناصر غذایی می‌شود و همچنین اسیدهای آلی تولید شده توسط این باکتری از طریق تشکیل کمپلکس‌های محلول با یون‌های فلزی باعث افزایش جذب این عناصر غذایی می‌گردند (Glick, 2014). از ویژگی مهم ریشه غلات مانند سرعت رشد، عمق ریشه دوانی و تراکم آن (طول ریشه در واحد حجم خاک) از خصوصیات شناخته شده‌ای هستند که در جذب عناصر غذایی نقش مهمی دارد (King *et al.*, 2003)، ازسویی دیگر جذب عناصر کم مصرف بخصوص آهن است مربوط به توانایی تولید سیدروفر گیاهان یا سیدروفورهای میکروبی می‌باشد (Mercado-Blanco *et al.*, 2016).

غلظت روی دانه

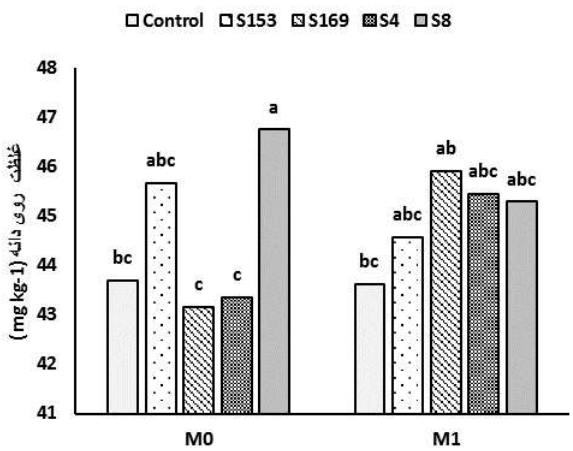
نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر متقابل باکتری × میکوریزا بر غلظت روی دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری × میکوریزا بر غلظت روی دانه نشان داد که در شرایط عدم مصرف میکوریزا سویه S153 و S8 نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری معنی‌دار داشتند و حتی سویه‌های S4 و S169 نسبت به تیمار عدم تلقیح مقدار روی کمتری نشان دادند. اما در سطح مصرف میکوریزا سویه‌های سودوموناس نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری معنی‌دار داشتند و سویه S169 بیشترین روی دانه را نشان داد (شکل ۸).

Sahni *et al* (2008) ضمن به دست آوردن نتایج مشابه اظهار داشتند که باکتری سودوموناس میزان روی و منگنز دانه را افزایش می‌دهد که ناشی از افزایش جذب آن و انتقال به اندام‌های هوایی بود. Gou *et al* (2015) نیز گزارش کردند که غلظت روی در تنش شدید کمبود آب نسبت

به عدم تنش و تنش متوسط کاهش یافت. بنابراین چنین می‌توان گفت که تنش کمبود آب فعالیت ریشه‌های پیرتر را متوقف می‌کند و فقط نوک ریشه‌ها جذب عناصر غذایی را انجام می‌دهند که کاتیون‌های دو ظرفیتی بیشتر جذب می‌شوند، از طرفی جذب آنیون‌ها نیز محدود می‌شود (Lavakush *et al.*, 2014). گزارش شده است که طویل شدن ریشه و جذب عناصر ریزمغذی بعد از تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه اصلاح می‌شود De & Kar (1995) ترشح پروتون از طریق غشای سلول‌های ریشه، که در اسیدیفیکاسیون ریزوسفر تاثیر می‌گذارد، مهمترین مکانیسم در انتقال عناصر در گیاهان پیشنهاد شده است (Heidari & Golpayegani, 2011). در این آزمایش نیز سویه‌های سودوموناس برتری نسبت به شاهد را از نظر جذب روی در زمان کاربرد میکوریزا نشان دادند که Meyer (2000) علت آن را تولید سیدروفورهایی بیان می‌کنند که می‌توانند در اکسیداسیون روی نقش داشته باشند. همچنین بررسی Raja *et al* (1990) و امیر آبادی و همکاران (۱۳۸۸) نشان داد که کاربرد کودهای فسفره جذب عنصر روی، همزیستی میکوریزایی و کلنیزاسیون ریشه را کاهش می‌دهد. بنابراین این آزمایش که در شرایط دیم و فسفر پایین خاک انجام شده است نقش میکوریزا را در جذب عناصری مانند روی، آهن و فسفر را بهتر نشان می‌دهد به طوری که در تیمارهای تلقیح دوگانه روی بیشتری در دانه مشاهده شد.



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل میکوریزا × باکتری بر غلظت آهن دانه



شکل ۹-مقایسه میانگین اثر متقابل میکوریزا × باکتری بر غلظت روی دانه

غلظت منگنز دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر متقابل سودوموناس × قارچ میکوریز × سال بر غلظت منگنز دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل سودوموناس × قارچ میکوریز × سال بر غلظت منگنز دانه نشان داد که در سال اول و در شرایط عدم کاربرد میکوریز سویه S4 و در شرایط کاربرد میکوریز سویه S169 و S4 بیشترین منگنز دانه را نشان دادند. در سال دوم نیز در هر دو سطح میکوریز سویه S153 بیشترین مقدار منگنز دانه را نشان داد هر چند در سطح مصرف میکوریز با سویه S4 و S8 اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۳-۱۷). آذرمی و همکاران (۱۳۹۴) ضمن به دست آوردن نتایج مشابه گزارش کردند که تلقیح سویه‌های سودوموناس موجب افزایش فراهمی و در نتیجه جذب عناصر کم مصرف آهن، روی، منگنز و مس در دانه کلزا نسبت به تیمار شاهد شد. سیدروفورها ترکیبات آلی با وزن مولکولی اندک هستند که تمایل زیادی برای ترکیب شدن با کاتیون‌های مختلف از جمله آهن دارند (Arzanesh *et al.*, 2010). تولید سیدروفور در PGPR های مختلف از جمله

سودوموناس‌ها به اثبات رسیده است (Young *et al.*,2011). نتایج مطالعات Chen *et al* (1994) نشان داد که سیدروفور تولید شده توسط باکتری سودوموناس پوتیدا حلالیت آهن، روی، منگنز و مس را افزایش داد. Dobbelaere *et al*(2002) نیز نشان دادند که تلقیح با باکتری‌هایی با توانایی تولید اکسین، موجب افزایش طول ریشه، طول تارهای کشنده و انشعابات ریشه‌های فرعی گیاهان شد. در این آزمایش نیز برخی از سویه‌های سودوموناس نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری معنی‌دار در افزایش منگنز دانه نشان دادند و قارچ میکوریز نیز در تیمار عدم تلقیح با سودوموناس اگرچه مقدار منگنز دانه را افزایش داد ولی در برخی از سویه‌ها آن را کاهش داد. هر چند این نکته را هم نباید درباره رقابت برای جذب فسفر، روی و منگنز نادیده گرفت (Kaur & Reddy, 2014). در این زمینه نیز Martins *et al* (2013) گزارش کردند که در شرایط کمبود آب جذب آهن، مس و روی افزایش اما جذب منگنز کاهش نشان داد. اما مطابق با نتایج این آزمایش، آقابابایی و همکاران (۱۳۹۰) عدم تاثیر گونه‌های میکوریز بر جذب منگنز و مس در بادام را گزارش کردند. آنها علت را ناشی اثر همزیستی میکوریزایی بر افزایش میزان برداشت روی و فسفر هم در اندام‌های زیرزمینی و هم در اندام هوایی گیاه بادام گزارش کردند که این امر می‌تواند به دلیل افزایش رشد گیاهان بر اثر همزیستی میکوریزایی رخ دهد چراکه با افزایش وزن خشک گیاه میزان جذب عناصر غذایی بیشتر می‌شود و خاک را به مقدار بیشتری از عناصر غذایی تخلیه می‌کند، بنابراین غلظت کمتر منگنز را در اندام‌های خود نشان داد. در این آزمایش نیز کاهش غلظت منگنز دانه به ویژه در سال دوم (که عملکرد دانه نسبت به سال اول بیشتر بود) را می‌توان به افزایش رشد و عملکرد گیاه توسط میکوریز نسبت داد.

وابستگی میکوریزایی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد وابستگی میکوریزایی تحت تأثیر سال × باکتری قرار گرفت (جدول ۴). مقایسه میانگین نشان داد که در سال اول فقط سویه S4 نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری معنی‌دار داشت اما در سال دوم سایر سویه‌ها نیز نسبت به تیمار عدم تلقیح برتری معنی‌دار داشتند. در هر دو سال سویه S4 بیشترین وابستگی میکوریزایی را نشان داد (شکل ۱۰). در این آزمایش در سال اول اگرچه در برخی از سویه‌های سودوموناس وابستگی میکوریزایی اختلاف معنی‌دار با تیمار عدم تلقیح مشاهده نشد اما در سال دوم وابستگی میکوریزایی در سویه‌های سودوموناس نسبت به تیمار عدم تلقیح به طور معنی‌دار افزایش یافت که علت پایین بودن وابستگی میکوریزایی در سال اول به دلیل بارندگی کمتر در آن سال بود.

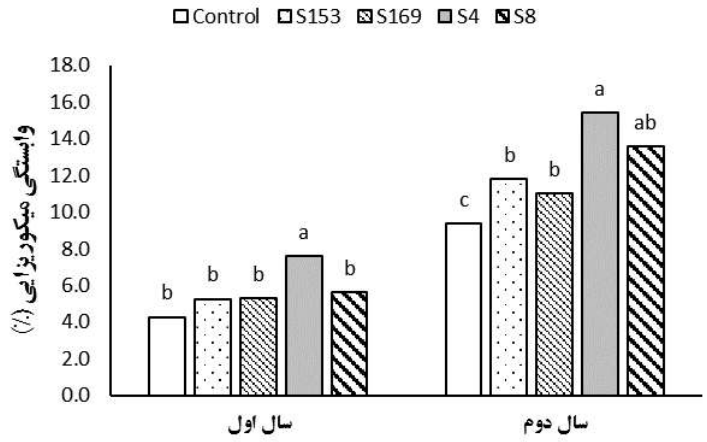
Lalita *et al* (2017) گزارش کردند که میزان سودمندی میکوریزایی (وابستگی میکوریزایی) در مقایسه با درصد کلونیزاسیون ریشه از اهمیت بیشتری برخوردار است .

Pizano *et al* (2017) ضمن به دست آوردن نتایج مشابه، گزارش کردند که باکتری‌ها با ایجاد یک زیستگاه قوی برای میکوریزا نقش مهمی در وابستگی میکوریزایی دارند. میزان وابستگی یک گیاه به قارچ‌های میکوریزا تحت تأثیر عواملی نظیر نوع خاک، محتوی فسفر خاک، گونه قارچ و وضعیت میکروبی خاک قرار می‌گیرد، برخی گیاهان هرگز میکوریزایی نمی‌شوند و بنابراین وابستگی میکوریزایی ندارند (Evelin *et al.*, 2009). اگرچه گیاه جو وابستگی میکوریزایی چندان بالایی در سال اول نشان نداده است ولی بهبود رشد پس از میکوریزایی شدن در سال دوم، نشانگر توانایی قارچ میکوریزا در برقراری همزیستی فعال و ارزشمند است.

جدول ۴- تجزیه واریانس مرکب عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و شاخص برداشت ارقام جو تحت تاثیر قارچ میکوریزا و سویه‌های باکتری در سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		وابستگی میکوریزایی
سال (Y)	۱	۸۷۲**
سال (تکرار)	۴	۳/۴۷
باکتری (B)	۴	۹/۵۳*
B×Y	۴	۱۷/۱**
خطا	۱۶	۳/۴۳
ضریب تغییرات (درصد)		۲۳/۳

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و معنی دار در سطح احتمال یک درصد



شکل ۱۰- اثر سویه‌های سودوموناس بر میزان وابستگی میکوریزایی

نتیجه‌گیری نهایی

در این آزمایش، عملکرد دانه در سال دوم به دلیل بارندگی بیشتر و پراکندگی موثرتر (از نظر رشدی برای گیاه جو) بیشتر بود و به همین دلیل واکنش گیاه به تیمارهای تلقیحی در سال دوم نسبت به سال اول قدری متفاوت بود. حداکثر عملکرد دانه در هر دو سال از تیمار تلقیح دوگانه قارچ میکوریزا + باکتری سویه S4 به دست آمد که

در سال اول ۱۵۷۲ کیلوگرم و در سال دوم ۲۲۳۹ کیلوگرم دانه در هکتار تولید کرد. افزایش عملکرد دانه می‌تواند ناشی از تغذیه مناسب و فراهم نمودن عناصر غذایی توسط قارچ میکوریزا و سودوموناس دانست زیرا تلقیح دوگانه غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منگنز، روی و آهن را به طور معنی‌دار افزایش داد ولی بر غلظت مس دانه اثر معنی‌دار نداشت. این افزایش غلظت عناصر در دانه ناشی از جذب عناصر و انتقال آن به سمت دانه‌ها بوده است که این افزایش جذب عناصر، رشد و تولید گیاه را بهبود بخشیده و گیاه را در رسیدن به پتانسیل تولید یاری می‌کند. از قابلیت‌های دیگر سویه‌های باکتری سودوموناس توانایی در تولید آنزیم فسفاتاز بود که از این طریق جذب عناصر غذایی بویژه فسفر را افزایش می‌دهد. هر چند نباید قابلیت میکوریزا در توسعه سطح جذب ریشه را از نظر دور داشت که با این کار موجب افزایش جذب و احتباس آب در ریزوسفر گیاه می‌شود. ضمن آن که سویه‌های به کار برده شده در این آزمایش قابلیت تولید آنزیم ACC دآمیناز داشته و کاهش تولید اتیلن (در شرایط دیم که گیاه معمولا با کمبود آب مواجه بوده و اتیلن در شرایط بروز استرس تولید می‌شود) را به همراه دارند. با توجه به آن چه که گفته شد و با وجود اینکه در اغلب صفات اندازه‌گیری شده تیمارهای تلقیحی نسبت به تیمار عدم تلقیح از برتری برخوردار بودند، کاربرد قارچ میکوریزا نیز کارایی تلقیح باکتریایی را افزایش داده و از طریق افزایش جذب عناصر غذایی و افزایش تحمل شرایط کم آبی عملکرد دانه را افزایش داد. سویه S4 در شرایط عدم کاربرد قارچ میکوریزا عملکرد دانه را ۱۳/۳۳ درصد و در شرایط کاربرد قارچ میکوریزا ۱۸/۶۶ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح افزایش داد. بنابراین برای زراعت جو در شرایط دیم اردبیل کاربرد قارچ میکوریزا + باکتری سودوموناس سویه S4 را می‌توان توصیه نمود. همچنین ارزیابی کاربرد کودهای آلی به همراه این میکروارگانیسم‌ها بر ارقام دیگر جو در شرایط دیم برای مطالعات آتی پیشنهاد می‌شود.

منابع

آذرمی، ف.، م.ج. ملکوتی، ک. خاوازی، و ک. ثقفی کبری. ۱۳۹۴. تأثیر کاربرد همزمان باکتری سودوموناس فلوروسنس و کودهای فسفاتی بر عملکرد و جذب فسفر و عناصر کم مصرف در کلزا. نشریه زیست‌شناسی خاک ۳(۱): ۳۰-۲۲.

آقابابایی، ف.، ف. رییسی فائز، و ح. نادیان. ۱۳۹۰. اثر همزیستی میکوریزایی بر جذب عناصر غذایی توسط برخی ژنوتیپ‌های تجاری گیاه بادام در یک خاک لوم شنی. پژوهش‌های خاک، ۲۵(۲): ۱۳۶-۱۴۸.

امامی علی. ۱۳۷۵. شرح روش‌های تجریه گیاه. موسسه تحقیقات خاک و آب. نشریه فنی شماره ۷۹. تهران، ایران.

امیرآبادی، م.، ف. رجالی، م.ر. اردکانی، و م. برجی. ۱۳۸۸ .تاثیر کاربرد مایه تلقیح ازتوباکتر و قارچ میکوریزی بر جذب برخی عناصر معدنی توسط ذرت علوفه‌ای رقم سینگل کراس۷۰۴ در سطوح مختلف فسفر. مجله پژوهش‌های خاک علوم خاک آب، ۲۳(۱): ۱۱۵ - ۱۰۷.

توکلی، ع.ر. ۱۳۸۲. نیتروژن بر عملکرد واجزای عملکرد گندم دیم رقم مجله نهال و بذر، ۱۹ (۳): ۳۶۷-۳۸۱.

کرمانی‌زاده، ب.، س.ک. صباغ، ا. غلامعلی‌زاده آهنگر، و ع. سیروس‌مهر. ۱۳۹۵. تأثیر کاربرد قارچ میکوریز آربوسکولار و کودهای آلی بر عملکرد و میزان جذب عناصر غذایی دو رقم گندم. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۲۶ (۷): ۶۸-۵۹.

لطفی، ا.، م. باقرنژاد، ن.ع. کریمیان، و م. زارعی. ۱۳۹۴. اثر قارچ میکوریز آربسکولار، باکتری، و تنش خشکی بر شکل‌های مختلف پتاسیم در خاک و جذب پتاسیم در گیاه ذرت. پژوهش‌های حفاظت آب و خاک (علوم کشاورزی و منابع طبیعی)، ۲۲(۶): ۲۸۲-۲۷۱.

Abd_Allah, E.F., A. Hashem, A.A. Alqarawi, and A. Hend. 2015. Alleviation of adverse impact of cadmium stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. Pakistan Journal of Botany, 47:785–795.

Ahmad, P., A. Hashem, E.F. Abd-Allah, A.A. Alqarawi, R. John, and D. Egamberdieva. 2015. Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica*

Agriculture and Food Systems, 27(4): 278-286.

Chakraborty, U., B. Chakraborty, and M. Basnet. 2006. Plant growth promotion and induction of resistance in Camellia sinensis by Bacillus megaterium. Journal of Basic Microbiology JBM cyclic nucleotids. Jornal of Plant Physiology, 127: 1617-1625.

Chauhan, H. and D.j. Bagyaraj. 2015. Inoculation with selected microbial consortia not only enhances growth and yield of French bean but also reduces fertilizer application under field condition. Scientia Horticulturae, 197: 441-446.

Chen, Y., E. Jurkevitch, E. Bar-Ness, and Y. Hadar. 1994. Stability constants of pseudobactin complexes with transition metals. Soil Science Society of America Journal, 58: 390-396

De, R, and R.K. Kar. 1995. Seed germination and seedling growth of mungbeen (*Vigna radiata*) under water stress induced by PEG 6000. Seed Science and Technology, 23:301-308.

Dijkman, T.J, M. Birkved, H. Saxe, H. Wenzel, and M.Z. Hauschild. 2017. Environmental impacts of barley *juncea* L) through antioxidative defense system. Front Plant Science 6:868.doi:10.3389/fpls.2015.00868

Arzanesh, M.H., H.A. Alikhani, K. Khavazi, H.A. Rahimian, M. Miransari. 2010. Wheat *Triticum aestivum* L. growth enhancement by *Azospirillum sp.* under drought stress. World Journal of Biotechnology, 26: 101-109.

Badr, M.A, 2006. Efficiency of K-feldspar combined with organic materials and silicate dissolving bacteria on tomato yield. Journal of Applied Sciences Research 2: 1191-1198.

Baon, J.B, S.E. Smith, and A.M. Alston. 1993. Mycorrhizal responses of barley cultivars differing in P efficiency. Plant and Soil, 1571, 97-105.

Borriss R. 2011. Use of plant-associated Bacillus strains as biofertilizers and biocontrol agents. In: Maheshwari DK (ed.). Bacteria in Agrobiology: Plant Growth Responses. Berlin, Heidelberg: Springer, 41–76.

Cazzato E., V. Laudadio, and V. Tufarelli V. 2012. Effects of harvest period, nitrogen fertilization and mycorrhizal fungus inoculation on triticale (*X triticosecale* Wittmack) forage yield and quality. Renewable

imbalance in NaCl - stressed *Trigonella foenum – graecum*. Mycorrhiza, 22: 203-217.

Fester, T., W. Maier, and D. Strack. 1999. Accumulation of secondary compounds in barley and wheat roots in response to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus and co-inoculation with rhizosphere bacteria. Mycorrhiza, 85: 241-246.

Frohlich, A, K. Buddrus-Schiemann, and J. Durner. 2012. Response of barley to root colonization by *Pseudomonas* sp DSMZ 13134 under laboratory, greenhouse, and field conditions. Journal of Plant Interaction, 7:1–9.

Gerdemann, J.W. 1975. Vesicular–arbuscular mycorrhizae In: Torrey JG, Clarkson DT (eds) The development and function of roots Academic, London, pp 575-591

Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrizal infection in roots New Phytologist, 84: 489-500

Glick, B.R. 2014 Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and cultivation under current and future climatic conditions. Journal of cleaner production, 140: 644-653

Djavaheri M., J. Mercado-Blanco, and C. Versluis. 2012. Iron regulated metabolites produced by *Pseudomonas fluorescens* WCS374 are not required for eliciting induced systemic resistance against *Pseudomonas syringae* pv tomato in Arabidopsis. Microbiology open, 1:311–325.

Dobbelaere S, A. Croonenborgh, and A. Ptacek. 2002. Response of agronomically important crops to uptake by maize evaluated with an uptake mode. Soil Science Society of America Journal, 54: 1032-1036.

Egamberdieva, D., Jabborova D, and G. Berg. 2015. Synergistic inter actions between *Bradyrhizobium japonicum* and the endophyte *Stenotrophomonas rhizophila* and their effects on growth, nodulation and nutrition of soybean under salt stress. Plant and Soil 39:1–11.

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

Evelin, H., B. Giri, and R. Kapoor. 2012. Contribution of *Glomus intraradices* inoculation to nutrient acquisition and mitigation of ionic

Herva´s, A.B., I. Canosa, and E. Santero. 2008. Transcriptome analysis of *Pseudomonas putida* in response to nitrogen availability. Journal of Bacteriology, 190: 416–420.

Höfte, M. and N. Altier. 2010. Fluorescent pseudomonads as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. Research of Microbiology 161: 464–471.

Kader, MA., M.H. Mahn, and M.S. Haque. 2002. Effects of azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Online Journal of Biological Science, 2: 259-261.

Kaur, G. and M.S. Reddy. 2014. Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. European Journal of Soil Biology, 61: 35-40.

King, J., A. Gay, R. Sylvester-Bradley, I. Bingham, J. Foulkes, P. Gregory, and D. Robinson. 2003. Modeling cereal root systems for water and nitrogen capture: Towards an economic optimum. Annals of Botany, 91: 383–390.

Kowalski, K.P., C. Bacon, and W. Bickford. 2015. Advancing the science of microbial symbiosis to support invasive species management: a case help to feed the world. Microbiological Research, 16(91): 30-39.

Godfray, H.C.J., J.R. Beddington, and I.R. Crute. 2010. Food security: the challenge of feeding 9 billion people Science, 327:812.

Gou, W., L. Tian L, Z. Ruan, P.E. Zheng, F.U. Chen, L. Zhang, Z. Cui, P. Zheng, Z. Li, M. Gao, and W. Shi. 2015. Accusation of choline and glycinebetaine and drought stress tolerance induced in maize (*Zea mays*) by three plant growth promoting rhizobacteria strains. Pakistan Journal of Botany, 47(2): 581-6.

Haling, R.E., A.E. Richardson, R.A. Culvenor, H. Lambers, and R.J. Simpson. 2010. Root morphology root-hair development and rhizo sheath formation on perennial grass seedlings is influenced by soil acidity. Plant and Soil, 335:457–468.

Heidari, M. and A. Golpayegani. 2011. Effect of water stress and inoculation with plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Saudi Social Agricultural Science, 23:1-50.

Marschner, P., C.H. Yang, R. Lieberei, and D.E. Crowley. 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry 33: 1437–1445.

Martins, A.L.C., O.C. Batagha, O.A. Camargo, and H. Contarella. 2003. Corn yield and uptake of Cu, Mn and Zn from sowage slodge-amend soil with and without liming. Revista Basilica-deciencia, 27:563- 574.

Meena, S.S., J. Yadav, D.K. Singhal, L.K. Jat, and R.K. Meena. 2016. The assessment of rice husk biochar, carpet waste, FYM and PGPR on growth and yield of Mungbean (*Vigna radiata* L.). Journal of Pure and Applied Microbiology, 10(3): 2427-2432.

Mercado-Blanco, J., E. Alós, M.D. Rey, and P. Prieto. 2016. *Pseudomonas fluorescens* PICF7 displays an endophytic lifestyle in cultivated cereals and enhances yield in barley. FEMS Microbiology Ecology, 92(8).

Meyer, DM. 2000. Pyoverdins: Pigments siderophores and potential taxanomic markes of fluorescent pseudomonads species, Archive Microbiology, 174: 135-142.

study on Phragmites in the Great Lakes. Front Microbiology, 6:95.

Kumar, M., A. Kaur, C.U. Pachouri, and J. Singh. 2015. Growth promoting characteristics of rhizobacteria and AM Fungi for biomass amelioration of *Zea mays*. Archives of Biological Sciences, 673: 877-887.

Lalitha, M, K.A. Kumar, S. Dharumarajan, N. Balakrishnan, R. Srinivasan, K.M. Nair, and S.K. Singh. 2017. Role of vesicular-arbuscular mycorrhizae in mobilization of soil phosphorus. In Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agriculture (pp 317-331) Springer, Singapore .

Lavakush, Y.J, J.P. Verma, D.K. Jaiswal, and A. Kumar. 2014. Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice *Oryza sativa*. Ecological Engineering, 62: 123-8.

Li, T., G. Lin, X. Zhang, Y. Chen, S. Zhang, and B. Chen. 2014. Relative importance of an arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus intraradices* and root hairs in plant drought tolerance. Mycorrhiza, 248: 595-602.

filtrates prevail over those of arbuscular mycorrhizae in a fragmented landscape. Ecological Applications, 27 (6): 1946–1957.

Raaijmakers, J.M., T.C. Paulitz, and C. Steinberg. 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soil borne pathogens and beneficial microorganisms. Plant and Soil, 321:341–361.

Raja, P.S., R.B. Clark, J.R. Ellis, and J.W. Maranville. 1990. Mineral uptake and growth of sorghum colonized with VA mycorrhiza at varied soil phosphorus levels. Journal of Plant Nutrition, 13: 843 – 859.

Relwani, L., P. Krishna, and M.S. Reddy. 2008. Effect of carbon and nitrogen sources on phosphate solubilization by a wild-type strain and UV-induced mutants of *Aspergillus tubingensi*. Current Microbiology, 57: 401- 406.

Roy, D.K. and B.P. Singh. 2006. Effect of level and time of nitrogen application with and without vermicompost on yield, yield attributes and quality of malt barley (*Hordeum vulgare*). Indian Journal of Agronomy, 51: 40-42.

Sahni, S., B.K. Sarma, D.P. Singh, S.H. Singh, and K.P. Singh. 2008. **Moyano, F.E., Kutsch, W.L, and E.D. Schulze**. 2007. Response of mycorrhizal, rhizosphere and soil basal respiration to temperature and photosynthesis in a barley field. Soil Biology and Biochemistry, 39(4): 843-853.

Narula, N., V. Kumar, R.K. Behl, A. Deubel, A. Gransee, and W. Merbach. 2010. 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.

Navarro, J.M., O. Perez-Tornero, and A. Morte. 2013. Alleviation of salt stress in citrus seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi depends on the root stock salt tolerance. Journal of Plant Physiology 171: 76–85.

Phillips, J. and D. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicularar buscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55:158–161.

Pizano, C., S.A. Mangan, J.H. Graham, and K. Kitajima. 2017. Host-specific effects of soil microbial

composition of arbuscular mycorrhizal fungi in *Clerodendrum* species. Mycosphere, 6(2):150–158.

Subramanian, K.S. and C. Charest. 1997. Nutritional, growth and reporductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. Mycorrhiza 7: 25-32.

Sultana, U., S. Desai, and G. Reddy. 2016. Successful AM colonization of roots and plant growth promotion of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) by seed treatment with *Pseudomonas putida* and *Azotobacter chroococcum*. World Journal of Microbiology, 31:043-049.

Turner, B.L., E. Frossard, and D.S. Baldwin, D.S 2005 Organic Phosphorus in the Environment CABI Publishing Series 412.

Varma, A. and B. Hock. 1998. Mycorrhiza Springer Verlag, Berlin, 704 p.

Vinale, F., K. Sivasithamparam, E.L. Ghisalberti, S.L. Woo, and M. Lorito. 2008 Trichoderma-plantpathogen interactions Soil Biol Biochem, 40: 1-10.

Welch, S.A., W.W. Barker, and J.F. Banfield. 1999. Microbial extra cellular polysaccharides and plagioclase Vermicompost enhances performance of plant growth-promoting rhizobacteria in *Cicer arietinum* rhizosphere against Sclerotium rolfsii. Crop Protection, 27(2): 369- 376.

Saparatka, N. 2003. Phosphatase activities ACP- ALP in Agro ecosystem Soils Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences.

Sharma, S., H.S. Thind, Y. Singh, V. Singh, and B. Singh. 2015. Soil enzyme activities with biomass ashes and phosphorus fertilization to rice–wheat cropping system in the Indo-Genetic plains of India. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 1013: 391-400.

Sheng, X.F., F. Zhao, L.Y. He, G. Qiu, and L. Chen. 2008. Isolation and characterization of silicate mineral solubilizing Bacillus globisporus Q12 from the surfacees of weathered feldspar. Canadian Journal of Microbiology, 54: 1064-1068.

Shnyerva, A.V. and K. Kulaev. 1994. Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza on phosphorus metabolism in agricultural plants. Mycological Research 149(2): 139-143.

Songachan, L.S., H. Kayang, and P. Moinao. 2015. Diversity and species

dissolution Geochimica et Cosmochimica Acta 63: 1405-1419.

Williams, A., L. Manoharan, N.P. Rosenstock, P.A. Olsson, and K. Hedlund. 2017. Long-term agricultural fertilization alters arbuscular mycorrhizal fungal community composition and barley (*Hordeum vulgare*) mycorrhizal carbon and phosphorus exchange New Phytologist, 213(2): 874-885.

Wu, Q.S., Z. Ying-Ning, and E.F. Abd-Allah. 2014. Mycorrhizal association and ros in plants, in oxidative damageton plants, edPAhmad (NewYork, NY: Academic Press; Elsevier), 453–475.

Effect of *Pseudomonas* strains on grain yield and nutrients absorption of Barley under mycorrhiza fungi application

A. Bashirzadeh[1], M.H. Ansari[2*]

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Astara Branch, Islamic Azad University, Astara, Iran.
2. Department of Agronomy, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

Abstract

Barley is one of the most cultivated plants in Iran's dryland. Ardebil province is one of the areas where the production of barley has been successful. But one of the problems for farmers in these areas is the high cost and negative aspects of the use of chemical fertilizers. Today, the application of some microorganisms in farms is important as an alternative to chemical fertilizers. A factorial experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications in two years at experimental farm of Ardebil Islamic Azad University. The experimental factors included mycorrhiza fungi application (application of *Rhizophagus irregularis* and non-application) and four strains of *Pseudomonas* strains (strains of S153, S169, S4, S8 and control). The results of analysis of variance showed that the interaction of *Pseudomonas* × mycorrhiza on the most traits was significant. Detection of shoot nitrogen concentration at different stages of plant growth showed that the highest nitrogen concentration was observed at the flag leaf emergence stage and *Pseudomonas* strains showed higher nitrogen concentrations under mycorrhizal application. Co-inoculation mycorrhiza-pseudomonas, while increasing mycorrhizal colonization, nitrogen concentration, Phosphorus, potassium, iron and manganese increased significantly. In addition, the activity of acid and alkaline phosphatase in the root rhizosphere increased in plants under inoculum with *Pseudomonas* under mycorrhizal application condition. In this experiment, the maximum grain yield was 1572 kg ha^{-1} in the first year and 2239 kg ha^{-1} in the second year was obtained from co-inoculation treatment of mycorrhizal fungus + S4 strain. According to the results, although in most of the measured traits, inoculum treatments were superior to control, the application of mycorrhizal fungus also increased the bacterial inoculation efficiency and, in addition to increasing the elements concentration in grain, also the grain yield increased. Therefore, for barley farming in Ardabil rainfed conditions, inoculation with *Pseudomonas fluorescens* strain S4 is recommended under the use of mycorrhiza fungi.

Keywords: Fe, Mycorrhizal colonization, Nitrogen, Phosphatase

* Corresponding author (ansary330@gmail.com)