# اثر سویه‌های بومی ازتوباکتر کروکوکوم بر رشد، جذب نیتروژن و فسفر گیاه گندم در شرایط گلخانه‌ای

لقمان رحیمی[۱*]، ناصر علی اصغرزاد[۲] و شاهین اوستان[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۹/۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۲۲)

## چکیده

**ازتوباکتر کروکوکوم با داشتن توان تثبیت نیتروژن و برخی خصوصیات محرک رشد گیاه می‌تواند تغذیه معدنی گیاهان را بهبود بخشد. چهارده سویه ازتوباکتر کروکوکوم از ریزوسفرگندم در مزارع مختلف اطراف تبریز جداسازی شدند.در یک آزمایش گلدانی با گیاه گندم بهاره رقم فلات در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار شامل تلقیح با ۱۴ سویه باکتریائی، شاهد مثبت (دریافت نیتروژن کودی و بدون باکتری) و شاهد منفی (بدون کود نیتروژنه و بدون باکتری) با چهار تکرار مورد مطالعه قرارگرفتند. شاخص‌های رشد گیاه و غلظت نیتروژن و فسفر ریشه و بخش هوایی گیاه در زمان برداشت اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تلقیح با سویه‌های ازتوباکتر وزن خشک محصول (سنبله گندم)، وزن خشک کل بخش هوایی(محصول به‌علاوه بخش هوایی) و وزن خشک ریشه‌ها را به‌طور معنی‌دار افزایش داد. در مقایسه با شاهدهای مثبت و منفی، تلقیح باکتری اثر معنی‌داری بر افزایش غلظت و مقدار N و P بخش هوایی، غلظت و مقدار N ریشه‌ها، مقدار P ریشه‌ها و انتقال آنها از ریشه به بخش هوایی گندم گذاشت. درحالی‌که اثر تلقیح بر غلظت فسفر ریشه‌ها معنی‌دار نشد. هم‌چنین سویه‌های ۱ و ۴۸ که در شرایط درون شیشه‌ای از توان حل‌کنندگی فسفات و فعالیت فسفاتاز قلیایی بالایی نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند بیشترین اثر بر افزایش غلظت و مقدار P بخش هوایی و انتقال آن از ریشه به بخش هوایی را داشتند.**

**واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر کروکوکوم، تثبیت بیولوژیک نیتروژن، گندم، فسفر، انتقال عناصر**

۱. مدرس مدعو دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷- ۱۹۳۹۵، تهران

۲. به ترتیب استاد و دانشیار علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rahimiloghman@yahoo.com



[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

## مقدمه

لزوم دستیابی به مواد غذایی کافی و سالم برای جمعیت روزافزون جهانی ایجاب می‌کند که در کنار روش‌های شیمیایی برای افزایش تولید محصولات کشاورزی، از روش‌های بیولوژیک نیز استفاده شود. یکی از شیوه‌های بیولوژیک برای افزایش تولید محصولات کشاورزی استفاده از ریزجانداران خاکزی است. از جمله این موجودات می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه ( PGPR: Plant growth promoting rhizobacteria) اشاره کرد. این گروه از باکتری‌ها در منطقه ریزوسفر از طریق سازوکارهای مختلفی باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند (۴). از مهم‌ترین جنس‌هایی که عمدتاً در مجاورت ریشه گونه‌های گرامینه یافت می‌شوند می‌توان به ازتوباکتر (Azotobacter) ، آزوسپریلوم(Azospirillum)، کلبسیلا (Klebsiella) ، انتروباکتر(Enterobacter) و سودوموناس(Psedomonas) اشاره کرد.

از این میان، ازتوباکترها به دلیل فراوانی و وسعت انتشار بیش از سایر انواع تثبیت‌کننده‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند و در خاک‌های مناطق معتدله نیز بیشترین اهمیت را دارند (۱۲). حاجی بلند و همکاران (۱) اثر تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم(*A. Chroococcum*) بر رشد، جذب و انتقال عناصر N و K توسط گیاه گندم در شرایط گلخانه‌ای را مثبت و معنی‌دار گزارش نمودند و بالاتر بودن مقدار جذب و خصوصاً انتقال پتاسیم در تیمار تلقیح با ازتوباکتر را به اثر احتمالی ترکیبات آلی تولید شده ریشه که پتاسیم را با خود به بخش هوایی انتقال می‌دهند نسبت دادند. محققان دیگر، نتایج مشابهی را با سایر سویه‌های ازتوباکتر و با گیاه گندم گزارش نموده‌اند (۳ و ۲۳). خسروی و همکاران (۲۱) تلقیح نهال‌های جوان سیب با ازتوباکتر در شرایط مزرعه‌ای و تأثیر آن بر جذب عناصر K، Mg، Fe، Mn، Zn و B برگ سیب و N، P، K، Mn و Zn ریشه نهال های سیب را مثبت و معنی‌دار گزارش کردند. برخی از ریزجانداران در چرخه فسفر خاک نقش داشته و باعث انحلال فسفات‌های آلی و معدنی کم محلول می‌شوند (۲۹). فیتوهورمون‌ها با افزایش سطح ریشه و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز دارای اثر مثبت بر جذب مواد غذایی توسط گیاه هستند (۱۷). گوداریکا و همکاران (۱۶) گزارش نمودند که جذب نیتروژن و رشد طولی گیاه گوجه فرنگی در تیمارهای تلقیح شده با ازتوباکتر کروکوکوم بیشترین بود.

در برخی موارد مشاهده شده است که حتی در سطوح و مقادیر کافی کودهای نیتروژنی، تلقیح گیاهان با ازتوباکتر موجب افزایش رشد و نمو گیاهان شده است ولی این که این افزایش در رشد به دلیل تثبیت نیتروژن است یا سایر خصوصیات مثل تولید هورمون یا سیدروفور و.... توسط باکتری هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است (۱۹). مطالعات بسیاری نشان داده که ازتوباکترکروکوکوم به عنوان مایه تلقیح بذر نه تنها در تثبیت نیتروژن بلکه بر سایر خصوصیات از قبیل تولید هورمون‌های رشد (۲۸)، مواد ضد قارچی (۲۵)، سیدروفور (۳۲) و اثر حل‌کنندگی فسفات ( ۲۷) نیز مؤثر است. این مجموعه بررسی‌های انجام شده بیانگر آن است که کارایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن در سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم علاوه بر فیزیولوژی باکتری، به نوع گونه گیاهی و شرایط محیطی نیز وابسته است. هم‌چنین برخی سویه‌ها سبب افزایش مقدار عناصر نیتروژن و فسفر و انتقال آنها از ریشه به بخش هوایی گیاه می‌شوند ولی سازوکارهای اصلی دخیل در این افزایش هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. یکی از دلایل آن می‌تواند پتانسیل توانایی تولید اسید ($H^+$)، فسفاتاز اسیدی و قلیایی و تست اثر حل‌کنندگی فسفات معدنی توسط باکتری باشد که در این تحقیق به موازات بررسی پتانسیل تثبیت نیتروژن در ۱۴ سویه بومی، به‌صورت درون شیشه‌ای ارزیابی شدند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر سویه‌های بومی ازتوباکتر کروکوکوم بر رشد و جذب نیتروژن و فسفر گیاه گندم در شرایط گلخانه‌ای و معرفی سویه‌های موثر بر افزایش رشد، غلظت، مقدار و انتقال نیتروژن و فسفر در گیاه گندم است.



[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

## مواد و روش‌ها

۱۴ سویه ازتوباکتر کروکوکوم از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت شدند (A-۱، A-۲، A-۳، A-۵، A-۹، A-۱۰،A-۲۰، A-۲۲، A-۲۳، A-۲۴، A-۲۹، A-۳۱، A-۴۸ و A-۵۱). این سویه‌ها از مزارع گندم اطراف تبریز با شرایط مختلف(شور، غیرشور، دیم و آبی)و عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری اطراف ریشه گیاه گندم جداسازی شده‌اند. برای شناسایی جنس و گونه سویه‌ها، علاوه بر آزمون‌های مرفولوژیک و بیوشیمیایی، از تکنیک تعیین توالی 16S rRNA نیز استفاده شد (۵). ابتدا باکتری‌ها در محیط کشت وینوگرادسکی (۸) تکثیر و کلنی‌های مورد نظر به‌دست آمدند. سپس توانایی تولید اسید ($H^+$)، فسفاتاز اسیدی و قلیایی و تست حل‌کنندگی فسفات معدنی (۶ و ۳۱) در این سویه‌ها اندازه‌گیری شدند. به‌منظور آماده نمودن خاک گلدان‌ها و انجام آزمایش گلخانه‌ای در شهریور ماه ۱۳۸۷ مقدار ۲۰۰ کیلوگرم خاک از مزرعه ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان (واقع در شمال شرق شهر تبریز) با مشخصات جدول ۱ از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تهیه شد.

سپس گلدان‌ها با ۲ کیلوگرم از خاک عبور داده شده از الک ۴ میلی‌متری با مشخصات جدول ۱ پر و در اتوکلاو (۱۲۱درجه سانتی‌گراد، فشار یک اتمسفر، به مدت ۲ ساعت)استریل شدند. در این بررسی از گندم بهاره رقم فلات(*Triticum.aestivum* L. cv. Falat) استفاده شد که این رقم از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی تبریز تهیه شد. بذرهای درشتر، سالم‌تر و هم اندازه انتخاب و استریل و جوانه‌دار شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمارشامل ۱۴ سویه باکتریایی، شاهد مثبت (دریافت نیتروژن کودی و بدون باکتری) و شاهد منفی (بدون کود نیتروژنه و بدون باکتری) با چهار تکرار در گلدان‌هایی به قطر ۱۴/۵سانتی‌متر و ارتفاع ۱۲/۵سانتی‌متر انجام گرفت. پس از رشد و تکثیر سویه‌های مورد نظر در محیط کشت مایع وینوگرادسکی، جمعیت میکروبی آنها براساس معیار مک فارلند در حد ۰/۷ =$OD_{600}$ تنظیم شد (۱۰). گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از کاشت توسط ۳۶۵ میلی‌لیتر آب مقطر آبیاری شدند تا رطوبت به۱۰- کیلوپاسکال (FC) برسد (۲۲). سپس ۵ حفره سطحی کوچک درون هر گلدان ایجاد و یک عدد بذر جوانه‌دار در داخل هر حفره قرار گرفت. سپس ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی مطابق تیمار مورد نظر بر روی هر بذر و دیواره حفره اضافه و در نهایت روی بذر با مقدار کمی خاک پوشانده شد، هم‌چنین جهت حفظ رطوبت خاک و جلوگیری از آلودگی بیشتر سطح خاک گلدان‌ها با لایه نازکی از پرلیت پوشانیده شد. رطوبت خاک تمامی گلدان‌ها روزانه از طریق توزین و با آب مقطر استریل در حد ظرفیت زراعی(F.C) نگه داشته شدند. پس از خروج گیاهک‌ها از خاک از طریق تنک کردن، چهار گیاهچه در هر گلدان نگه داشته شد. براساس آزمون خاک مقدار $mgkg^{-1}$ ۷۵/۶ فسفر از منبع کود سوپر فسفات تریپل، $mgkg^{-1}$ ۲۷/۲ پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم به تمامی تیمارها و $mgkg^{-1}$ ۱۱۳/۴ نیتروژن از منبع اوره فقط به تیمار شاهد مثبت در همان روز اول (۲۴ ساعت قبل از کاشت توسط ۳۶۵ میلی‌لیتر آب مقطر ) به خاک گلدان‌ها اضافه شد (۹). گلدان‌ها در شرایط کنترل شده اتاقک رشد با طول دوره روشنائی ۱۴ ساعت، دمای اتاقک رشد در شب و روز به‌ترتیب ۲±۱۵ و ۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد و با نور فلورسنت (۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ ) لوکس و تا انتهای مرحله سنبله‌دهی نگهداری شدند.

در پایان دوره رشد که حدود سه ماه به طول انجامید شاخص‌های فیزیولوژیک شامل وزن خشک محصول (سنبله گندم)، وزن خشک کل بخش هوایی (محصول به‌علاوه بخش هوایی) و وزن خشک ریشه‌ها اندازه‌گیری شدند. هم‌چنین غلظت نیتروژن و فسفر کل بخش هوایی و ریشه‌ها اندازه گیری شدند و مقدار و انتقال آنها از ریشه به بخش هوایی نیز محاسبه گردید (۱۳). غلظت نیتروژن به روش کجلدال (۳۳) و غلظت فسفر به روش رنگ سنجی (۱۱) اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس‌ها و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS و



[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

**جدول۱. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده**

| شن | سیلت | رس | بافت | O.M | EC | pH | CCE* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | | | % | $dS\ m^{-1}$ | | % |
| ۵۸ | ۲۱ | ۲۱ | لوم رس شنی | ۱/۰۱ | ۱/۸۱ | ۸ | ۱۱/۵۲ |

*CCE: کربنات کلسیم معادل

**ادامه جدول۱. غلظت عناصر در خاک مورد استفاده**

| N | P | K | Fe | Zn | Mn | Cu |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $mg\ kg^{-1}$ | | | |
| ۳۰۰ | ۶/۹ | ۲۲۵ | ۲/۸ | ۱/۴ | ۶/۲ | ۱/۲ |

N (روش کجلدال) ، P (روش اولسون) ، K (روش استات آمونیوم یک نرمال PH=7) ، عناصر ریزمغذی (عصاره گیری با DTPA)

MSTATC انجام شد. هم‌چنین رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم گردیدند.

## نتایج

### آزمایش‌های درون شیشه‌ای(in vitro)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری توان تولید اسید ($H^+$) و فسفاتاز اسیدی توسط سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم نشان داد که هیچ یک از سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم مورد بررسی در این تحقیق قادر به تولید اسید و فسفاتاز اسیدی نمی‌باشند. محیط‌های انتخابی اثر بازدارندگی بر رشد ازتوباکتر کروکوکوم نداشتند به‌طوری‌که سویه‌های مختلف ازتوباکتر کروکوکوم در هر دو محیط کشت به خوبی رشد نمودند و با کهنه شدن کشت، سیست(Cyct) تشکیل دادند. از بین ۱۴ سویه مورد مطالعه، تنها سویه‌های ۱ و ۴۸ مخصوصاً سویه ۱ قادر به حل‌کردن فسفات نامحلول محیط کشت اسپربر(Sperber) بودند و سایر سویه‌ها فقط بر روی محیط کشت اسپربر رشد نمودند اما فاقد توان حل‌کنندگی فسفات بودند. جهت تعیین توان حل‌کنندگی فسفات توسط سویه‌های مورد مطالعه نسبت قطر هاله به قطر کلنی اندازه‌گیری می‌شود که نسبت قطر هاله به قطر کلنی در سویه ۱ از ۲ تا ۲/۳ و در سویه ۴۸ از ۱ تا ۱/۵ متغیر بود. براساس نتایج به‌دست آمده سویه ۴۸ بیشترین و سویه ۲۰ کمترین تولیدکننده فسفاتاز قلیایی هستند (شکل ۱).

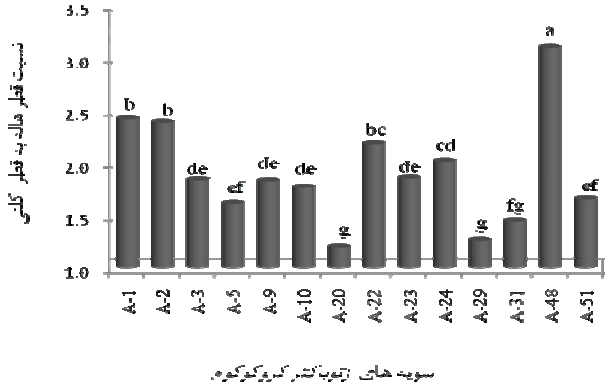
### شاخص‌های رشد گندم

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) نشان داد که سویه‌های ۱ و ۲ به ترتیب ۴۶۲ و ۵۶۶ درصد در مقایسه با تیمار شاهد منفی و ۶۷ و ۹۸ درصد در مقایسه با تیمار شاهد مثبت وزن خشک محصول گندم را افزایش دادند. هم‌چنین سویه‌های باکتری ۱ و ۲ در مقایسه با تیمار شاهد منفی به ترتیب ۴۰ و ۵۴ درصد و ۱۶ و ۲۷ درصد در مقایسه با تیمار شاهد مثبت باعث افزایش وزن خشک بخش هوایی شدند. اثر سویه‌های ۲ و ۹ باکتری بر رشد گندم در شکل ۲ و ۳ نشان داده شده است. سویه‌های ۲ و ۳ به ترتیب ۶۵ و ۵۰ درصد در مقایسه با تیمار شاهد مثبت و ۵۷ و ۴۳ درصد در مقایسه با تیمار شاهد منفی و سویه‌های ۱ و ۹ در مقایسه با تیمار شاهد منفی به ترتیب ۲۳ و ۳۰ درصد باعث افزایش وزن خشک ریشه‌ها شده‌اند (جدول ۲).

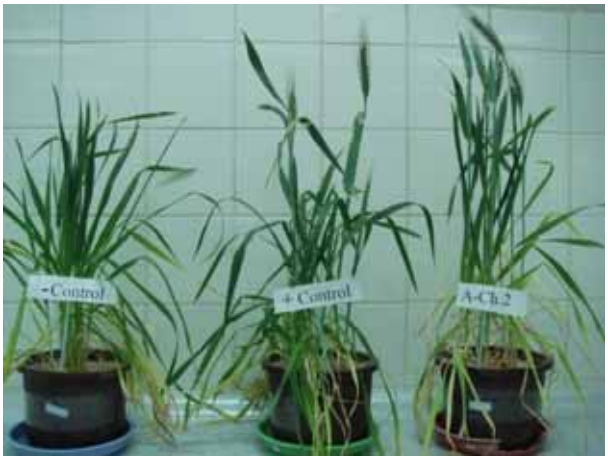


[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]




**شکل۱. مقایسه میانگین فسفاتاز قلیایی تولید شده بوسیله سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم**




**شکل۲. تأثیر تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم بر رشد گیاه گندم (از سمت چپ به راست: تیمار شاهد منفی، تیمار شاهد مثبت و سویه ۲).**

**شکل۳. تأثیر تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم بر رشد گیاه گندم (از سمت چپ به راست: تیمار شاهد منفی، تیمار شاهد مثبت و سویه ۹).**



[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ] [ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]



**جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم بر وزن خشک محصول (سنبله گندم)، وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک ریشه‌ها (گرم در بوته) و همچنین غلظت نیتروژن و فسفر در بخش هوایی و ریشه گیاه گندم (میلی‌گرم بر گلدان)**

| تیمار | وزن خشک محصول | | وزن خشک بخش هوایی | | وزن خشک ریشه‌ها | | غلظت نیتروژن بخش هوایی | | غلظت نیتروژن ریشه‌ها | | غلظت فسفر بخش هوایی | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | گرم در بوته | | | | | | میلی‌گرم بر گلدان | | | | | |
| -Control | ۰/۱۲۴ | h | ۱/۹۳ | g | ۰/۶۶ | e | ۱۱/۵ | h | ۸/۵ | e | ۱/۹۸ | e |
| +Control | ۰/۴۱۵ | g | ۲/۳۴ | ef | ۰/۶۹ | de | ۱۸/۷۵ | g | ۱۲/۷۵ | d | ۲/۲۹ | bc |
| A-۱ | ۰/۶۹۵ | abcd | ۲/۷۰ | abcd | ۰/۸۲ | cde | ۲۴/۲۵ | f | ۱۶/۷۵ | a | ۲/۶۵ | a |
| A-۲ | ۰/۸۲۳ | a | ۲/۹۷ | a | ۱/۰۹ | a | ۲۷/۷۵ | a | ۱۶/۵ | a | ۲/۱۶ | cde |
| A-۳ | ۰/۴۱۷ | fg | ۲/۶۶ | abcd | ۰/۹۹ | abc | ۲۴/۵ | ef | ۱۴/۷۵ | abc | ۲/۱۹ | bcd |
| A-۵ | ۰/۵۶۲ | cdef | ۲/۴۹ | cdef | ۰/۹۱ | abc | ۲۴/۵ | ef | ۱۶ | abc | ۲/۲۸ | bc |
| A-۹ | ۰/۲۸۵ | g | ۲/۲۶ | f | ۰/۸۶ | bcd | ۲۵/۵ | cde | ۱۵/۲۵ | abc | ۲/۳۶ | bc |
| A-۱۰ | ۰/۷۴۸ | ab | ۲/۸۲ | abc | ۰/۹۵ | abc | ۲۷ | ab | ۱۴/۵ | c | ۱/۹۹ | de |
| A-۲۰ | ۰/۶۱۸ | bcde | ۲/۸۱ | abc | ۰/۹۱ | abc | ۲۶/۷۵ | ab | ۱۶ | abc | ۲/۲۹ | bc |
| A-۲۲ | ۰/۷۲۳ | abc | ۲/۷۹ | abc | ۰/۹۸ | abc | ۲۵/۲۵ | def | ۱۶ | abc | ۲/۱۸ | bcde |
| A-۲۳ | ۰/۵۹۷ | bcde | ۲/۵۳ | cdef | ۰/۹۵ | abc | ۲۶/۲۵ | bcd | ۱۶/۲۵ | ab | ۲/۳۶ | bc |
| A-۲۴ | ۰/۵۲۹ | ef | ۲/۶۳ | bdef | ۰/۹۵ | abc | ۲۶/۵ | bc | ۱۵/۵ | abc | ۲/۳۴ | bc |
| A-۲۹ | ۰/۴۵۳ | fg | ۲/۴۱ | def | ۱/۰۸ | a | ۲۵/۵ | cde | ۱۵/۲۵ | abc | ۲/۳۸ | b |
| A-۳۱ | ۰/۵۵۳ | cdef | ۲/۷۳ | abcd | ۱/۰۰ | abc | ۲۷ | ab | ۱۴/۵ | c | ۲/۲۵ | bc |
| A-۴۸ | ۰/۶۵۷ | abcd | ۲/۶۳ | bdef | ۱/۰۴ | ab | ۲۷/۲۵ | ab | ۱۵/۷۵ | abc | ۲/۶۳ | a |
| A-۵۱ | ۰/۷۰۲ | abcd | ۲/۸۸ | ab | ۱/۰۱ | abc | ۲۶/۲۵ | bcd | ۱۵/۵ | abc | ۲/۱۷ | bcde |

حروف لاتین مشابه در هر ستون نشان عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

Control-: تیمار شاهد منفی (بدون کود نیتروژنه و بدون باکتری) × Control+: تیمار شاهد مثبت (دریافت نیتروژن کودی و بدون باکتری)

A-۱، A-۲، A-۳، A-۵، A-۹، A-۱۰، A-۲۰، A-۲۲، A-۲۳، A-۲۴، A-۲۹، A- ۳۱، A-۴۸ و A-۵۱: سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم

**مقدار عناصر غذایی در گیاه**

مقدار نیتروژن جذب شده بخش هوایی در تیمارهای تلقیح شده با سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم نسبت به تیمارهای شاهد مثبت و منفی افزایش معنی‌داری نشان داد. سویه‌های ۲، ۱۰، ۲۰ و ۵۱ در مقایسه با سویه‌های ۱، ۳، ۵، ۹، ۲۳ و ۲۹ و هم‌چنین در مقایسه با تیمارهای شاهد مثبت و منفی باعث افزایش جذب نیتروژن در بخش هوایی گیاه شدند. خط نقطه‌چین حد کفایت نیتروژن در بخش هوایی گندم بهاره است (۲۰). سویه‌های ۲، ۱۰، ۲۰ و ۵۱ در مقایسه با تیمارهای شاهد مثبت به ترتیب ۸۸، ۷۴، ۷۲، ۶۴ درصد و در مقایسه با تیمار شاهد منفی به ترتیب ۲۷۲، ۲۴۴، ۲۳۹ و ۲۴۱ درصد باعث افزایش مقدار نیتروژن در بخش هوایی شدند. هم‌چنین تیمار شاهد مثبت مقدار نیتروژن جذب شده بخش هوایی را ۹۷ درصد از تیمار شاهد منفی افزایش داد (شکل ۴). مقدار نیتروژن ریشه‌ها نیز در تیمارهای تلقیح شده با سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم به طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد منفی افزایش داشت.

هم‌چنین همه سویه‌ها به جز سویه‌های ۱۰ و ۲۰ در مقایسه با تیمار شاهد مثبت باعث افزایش جذب نیتروژن در ریشه شدند. سویه‌های ۲، ۲۹ و ۴۸ دارای تفاوت معنی‌داری نسبت به سویه‌های ۱۰ و ۲۰ از نظر مقدار جذب نیتروژن ریشه بودند، درحالی‌که سویه‌های مذکور با سایر سویه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشتند. سویه‌های ۲، ۲۹ ۴۸ به‌ترتیب ۱۱۰، ۱۱۲ و ۹۰ درصد در مقایسه با تیمار شاهد منفی و ۴۵، ۴۶ و ۳۱ درصد در مقایسه با تیمار شاهد مثبت مقدار نیتروژن ریشه‌ها را افزایش دادند. هم‌چنین تیمار شاهد مثبت در مقایسه با تیمار شاهد منفی مقدار نیتروژن ریشه‌ها را ۴۵ درصد بیشتر افزایش دادند (شکل۵). نتایج نشان می‌دهد که بین سویه‌های ۱ و ۴۸ نسبت به سایر سویه‌ها و تیمارهای شاهد مثبت و منفی در مقدار فسفر جذب شده بخش هوایی گیاه تفاوت معنی‌داری وجود دارد. به طوری‌که سویه‌های ۱ و ۴۸ در مقایسه با تیمار شاهد مثبت ۳۴ و ۳۲ درصد و در مقایسه با تیمار شاهد منفی ۷۹ و ۷۵ درصد مقدار فسفر بخش هوایی گیاه گندم را افزایش دادند (شکل ۶).

مقدار فسفر ریشه‌ها در سویه‌های ۲، ۲۹، ۳۱ و ۴۸ افزایش معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد مثبت و سویه ۱ نشان داد. بین سایر سویه‌ها با تیمارهای شاهد مثبت و شاهد منفی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. سویه‌های ۲، ۲۹، ۳۱ و ۴۸ در مقایسه با تیمار شاهد مثبت به ترتیب ۴۱، ۵۲، ۳۸ و ۴۷ درصد مقدار فسفر ریشه‌ها را افزایش داد (شکل ۷).

**غلظت عناصر غذایی در گیاه**

روند مقایسه میانگین‌ها در مورد غلظت عناصر تقریباً مشابه با وضعیت مقدار عناصر می‌باشد (جدول ۲).

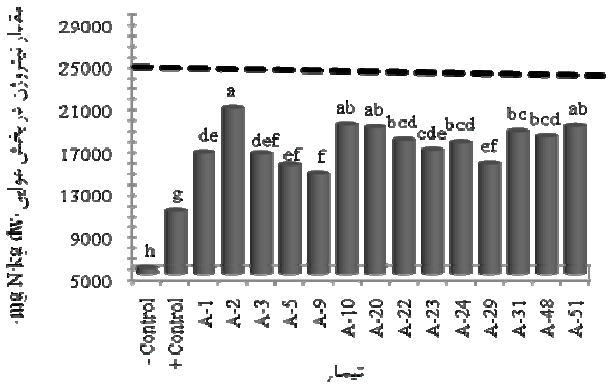
**انتقال نیتروژن و فسفر از ریشه به بخش هوایی (شاخص‌انتقال)**

سویه‌های ۲، ۱۰، ۲۰ و۳۱ در مقایسه با تیمارهای شاهد مثبت و منفی اثر معنی‌داری بر انتقال نیتروژن ریشه به بخش هوایی داشته‌اند. بدین صورت که سویه‌های ۲، ۱۰، ۲۰ و۳۱ در مقایسه با تیمار شاهد مثبت به ترتیب ۴/۸، ۷/۳، ۷/۴ و ۵ درصد و در مقایسه با تیمار شاهد منفی به ترتیب ۱۲/۴، ۱۵/۱، ۱۵/۲ و ۱۲/۶ درصد نیتروژن را به بخش هوایی انتقال داده بودند. هم‌چنین تیمار شاهد مثبت در مقایسه با تیمار شاهد منفی ۷/۲ درصد نیتروژن را از ریشه به بخش هوایی انتقال داده است. سایر سویه‌ها با تیمار شاهد مثبت تفاوت معنی‌داری نداشتند ولی با تیمار شاهد منفی دارای تفاوت معنی‌دار بودند (شکل ۸). انتقال فسفر از ریشه به بخش هوایی در سویه ۱ افزایش معنی‌داری در مقایسه با سایر سویه‌ها و تیمار شاهد منفی نشان می‌دهد، اما سایر سویه‌ها با تیمار شاهد منفی فاقد تفاوت معنی‌دار بودند. سویه ۱ در مقایسه با تیمارهای شاهد مثبت و منفی به ترتیب ۵ و ۱۸/۳ درصد بیشتر مقدار فسفر را از ریشه به بخش هوایی انتقال داده است. هم‌چنین تیمار شاهد مثبت در مقایسه با تیمار شاهد منفی ۱۲/۶ درصد و در مقایسه با سویه‌های ۲، ۳ و ۱۰ به‌ترتیب ۱۲/۶، ۱۱/۱ و ۱۲/۶ درصد فسفر بیشتری را به بخش هوایی انتقال داده است (شکل ۹).

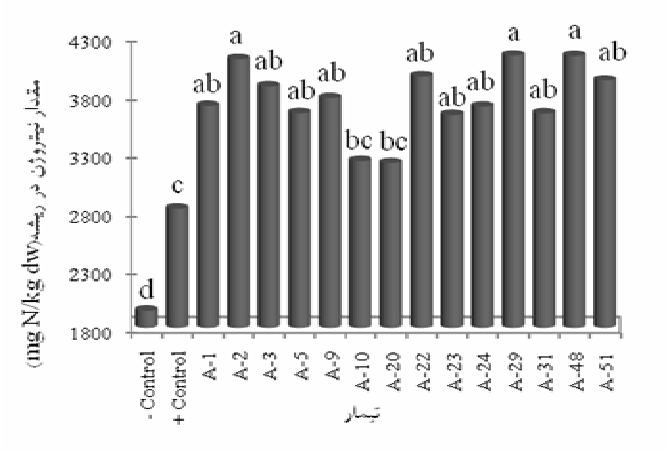


[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

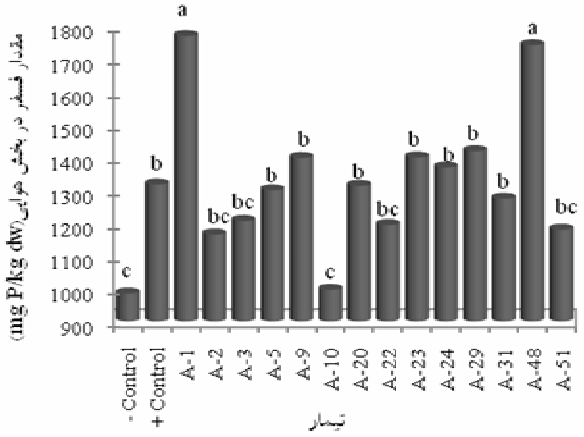
[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]




**شکل۴. مقایسه میانگین تأثیر سویه‌های مختلف ازتوباکتر بر مقدار نیتروژن بخش هوایی گندم**




**شکل۵. مقایسه میانگین تأثیر سویه‌های مختلف ازتوباکتر بر مقدار نیتروژن ریشه گندم**

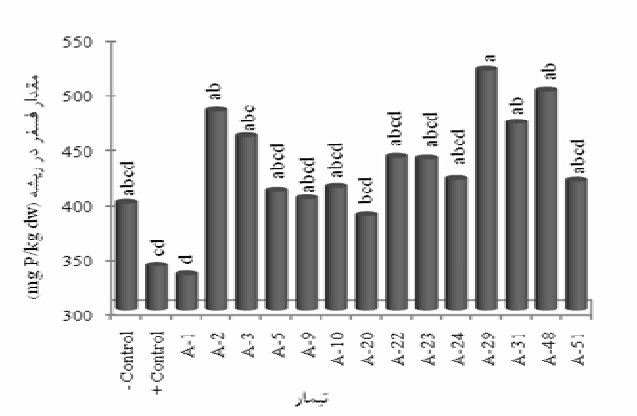



**شکل۶. مقایسه میانگین تأثیر سویه‌های مختلف ازتوباکتر بر مقدار فسفر بخش هوایی گندم**

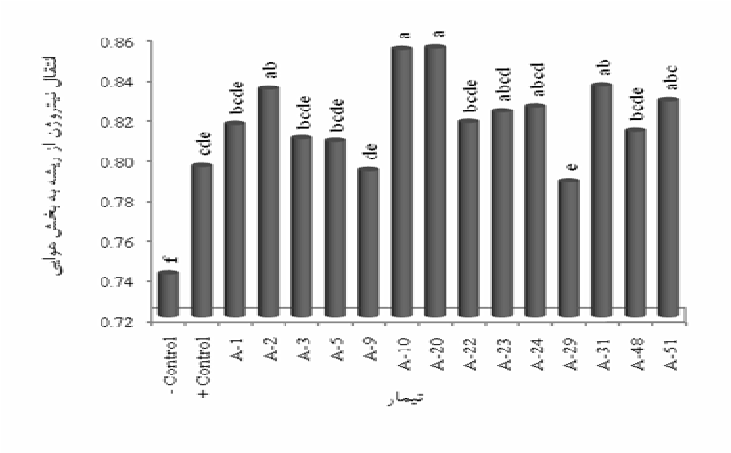


[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

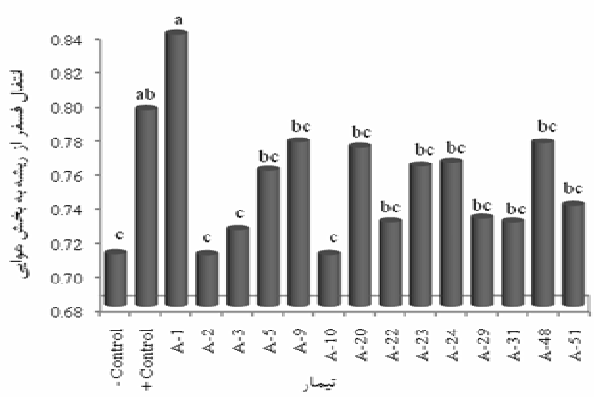
[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]




**شکل۷. مقایسه میانگین تأثیر سویه‌های مختلف ازتوباکتر بر مقدار فسفر ریشه گندم**




**شکل۸ مقایسه میانگین تأثیر سویه‌های مختلف ازتوباکتر بر انتقال نیتروژن از ریشه به بخش هوایی گندم(شاخص انتقال)**




**شکل۹. مقایسه میانگین تأثیر سویه‌های مختلف ازتوباکتر بر انتقال فسفر از ریشه به بخش هوایی گندم (شاخص انتقال)**



[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

## بحث

### وزن خشک (شاخص های رشد گندم)

تلقیح سویه‌های مختلف باکتری ازتوباکتر کروکوکوم سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک محصول (سنبله گندم) و وزن خشک بخش هوایی شد. باکتری ازتوباکتر کروکوکوم با تأمین نیتروژن گیاه و احتمالاً تولید برخی متابولیت‌ها مانند تولید سیدروفور و مواد محرک رشد سبب افزایش رشد گیاه و مخصوصاً افزایش وزن خشک بخش هوایی گیاه شده است. افزایش وزن خشک بخش هوایی گندم در اثر تلقیح سویه‌های مختلف ازتوباکتر کروکوکوم توسط محققان زیادی گزارش شده است (۱ و ۲۰). اثر تلقیح باکتری بر وزن خشک ریشه‌های گندم معنی‌دار بود، به‌طوری‌که وزن خشک ریشه‌ها در مقایسه با تیمارهای شاهد مثبت و منفی افزایش یافت. برخی از سویه‌های مورد مطالعه سبب افزایش مقدار فسفر و وزن خشک ریشه‌ها شدند.

از آنجا که یکی از نقش‌های فسفر در گیاه ازدیاد رشد و تولید ریشه‌های قوی است (۲) احتمالاً یکی از سازوکارهای افزایش وزن خشک ریشه‌ها در مقایسه با تیمارهای شاهد مثبت و شاهد منفی افزایش فسفر ریشه بر اثر تلقیح باکتری بوده است. هم‌چنین گزارش شده است که تولید انواع فاکتورهای رشد مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکینین توسط جنس ازتوباکتر، رشد اولیه گیاه گوجه‌فرنگی را کنترل کرده و باعث افزایش رشد و وزن خشک ریشه گیاه می‌شود (۷). می‌توان تصور نمود که مقدار این مواد در ریشه‌های تلقیح شده با ازتوباکتر افزایش می‌یابد و در نتیجه سبب گسترش سیستم ریشه‌ای و افزایش وزن خشک ریشه می‌شود.

کادر و همکاران (۲۰) و گوداریکا و همکاران (۱۶) اثر تلقیح ازتوباکتر بر وزن خشک و بیوماس ریشه گیاهان گندم و گوجه‌فرنگی را یک اثر مثبت و معنی‌دار گزارش نموده‌اند و آن را به تولید هورمون‌های محرک رشد توسط ازتوباکتر نسبت دادند.

### غلظت و مقدار نیتروژن بخش هوایی و ریشه‌ها

ازتوباکتر کروکوکوم به عنوان یک باکتری آزادزی ثبیت‌کننده نیتروژن تأثیر معنی‌داری بر افزایش غلظت و مقدار نیتروژن ریشه‌ها و بخش هوایی گیاه گندم گذاشت و افزایش معنی‌دار نیتروژن گیاهان تلقیح شده با برخی سویه‌های این باکتری احتمالاً به دلیل تثبیت بیشتر نیتروژن توسط آنها است. سلیمان و همکاران (۳۰)گزارش دادند که تلقیح گیاه گندم با ازتوباکتر در شرایط گلخانه‌ای تا ۵۰ درصد نیتروژن مورد نیاز گیاه را تأمین نمود. کیزلکی (۲۳) واکنش جذب نیتروژن و عملکرد گندم بهاره تلقیح شده با گونه‌های ازتوباکتر کروکوکوم بومی و غیربومی را در شرایط گلخانه و مزرعه مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که تمام سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم در افزایش عملکرد و غلظت نیتروژن گیاه گندم مؤثر بودند. نتایج مشابهی روی گیاهان گندم و ذرت با سایر سویه‌های ازتوباکتر کروکوکوم توسط سایر محققین (۳ و ۱۸) نیز گزارش شده است

### غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی و ریشه‌ها

اثر تلقیح باکتری ازتوباکتر کروکوکوم بر افزایش غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی و هم‌چنین مقدار فسفر ریشه‌ها معنی‌دار ولی بر غلظت فسفر ریشه‌ها فاقد تأثیر معنی‌دار بود که احتمالاً دلیل آن را به تأثیر تغذیه‌ای نیتروژن بر افزایش حجم ریشه‌ها، اثر برهمکنش سینرژیستی نیتروژن و فسفر و برخی از آثار جانبی باکتری بر رشد گیاه مثل تولید فسفاتاز اسیدی و قلیایی یا توان حل‌کنندکی فسفات نامحلول خاک، تولید سیدروفور و احتمالاً تولید اسیدهای آلی مرتبط دانست. سویه‌های ۱و ۴۸ باکتری مخصوصاً سویه ۱ که باعث افزایش غلظت و مقدار فسفر در گیاه شده بودند در کشت‌های درون شیشه‌ای نیز از توان حل‌کنندگی فسفات و فعالیت فسفاتازی (فسفاتاز قلیایی) خیلی بالایی برخوردار بودند و بقیه سویه‌ها فاقد توان حل‌کنندگی فسفات و هم‌چنین دارای فعالیت فسفاتازی (فسفاتاز قلیایی) ضعیفی بودند.



[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

کشیر ساگار و همکاران(۲۴) اثر تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم را همراه با باکتری‌های حل‌کننده فسفات در افزایش جذب فسفر توسط گیاه پیاز مفید ارزیابی نمودند. حسین و همکاران (۱۸) در یک آزمایش مزرعه‌ای با تلقیح بذرهای ذرت با ۱۱ گونه ازتوباکتر و هم‌چنین نارولا و همکاران (۲۷) در یک آزمایش گلخانه‌ای 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 به طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافته است.

**انتقال عناصر نیتروژن و فسفر، از ریشه به بخش هوایی (شاخص انتقال)**

تلقیح باکتری اثر معنی‌داری بر انتقال عناصر نیتروژن و فسفر از ریشه به بخش هوایی گذاشت بدین صورت که سویه‌های مؤثر در انتقال نیتروژن از ریشه به بخش هوایی از لحاظ تثبیت نیتروژن نیز سویه‌های برتر بودند. با توجه به مقدار 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. در مورد انتقال فسفر از ریشه به بخش هوایی سویه ۱ بیشترین تأثیر را نشان داد با توجه به اینکه این سویه در آزمایش درون شیشه‌ای حل‌کنندگی فسفات در مقایسه با سایر سویه‌ها از توان حل‌کنندگی فسفات بالایی برخوردار بود، این سویه با حل کردن فسفر نامحلول خاک اطراف ریشه و برخی اثرات جانبی دیگر، سبب انتقال بهتر فسفر به بخش هوایی شد (۱۳). اساساً انتقال کاتیون‌ها می‌تواند توسط اسیدهای آمینه کربوکسیلی و یا اسیدهای آلی تسهیل شود. ازتوباکتر توانایی ساخت ویتامین‌های $B_1$، $B_2$، $B_6$، $B_{12}$، پانتوتنیک اسید، نیکوتینیک اسید، و اسیدهای آلی مانند اسید مالیک و اسید سیتریک را دارد (۲۶). هم‌چنین قادر به ساختن اسیدهای آمینه مانند آرژینین، لیزین، تریپتوفان، هیستیدین، سیستئین، پالمتیک اسید،گلوتامیک اسید می‌باشد (۱۵). می‌توان تصور نمود که مقدار این مواد در ریشه‌های تلقیح شده با ازتوباکتر افزایش و در نتیجه به دلیل انتقال بیشتر این مواد به بخش‌های هوایی گیاه و یون‌ها نیز به همراه آنها انتقال می‌یابند. هم‌چنین انتقال بیشتر عناصر به بخش‌های هوایی در گیاهان تلقیح شده با ازتوباکتر به اثر احتمالی هورمونی نظیر سیتوکینین و نیز اثر سیدرفور به عنوان عوامل محرک رشد گیاه نسبت داده می‌شود که ضمن تحریک رشد ریشه سبب هدایت یون‌های ضروری به بخش‌های هوایی می‌شود (۱۴ و ۳۲). در نهایت سویه‌های مؤثرتر در شرایط گلدانی و آزمایشگاهی عبارت بودند از:

A-۱، **A-2**، A-۱۰، A-۲۰، A-۲۲، A-۴۸ و A-۵۱

## منابع مورد استفاده


۱. حاجی بلند، ر.، ن. علی اصغرزاده، ز. مهرفر. ۱۳۸۳. بررسی اکولوژیکی ازتوباکتر در دو منطقه مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن روی رشد و تغذیه معدنی گیاه گندم. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۸(۲): ۷۵-۹۰.

۲. خدابنده، ن. ۱۳۷۱. *غلات*. انتشارات دانشگاه تهران.

۳. رجایی، س.، ح. علیخانی، و ف. رئیسی، ۱۳۸۶. اثر پتانسیل‌های محرک رشد سویه‌های بومی ازتوباکتر کروکوکوم روی رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی در گندم. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۱۱(۴۱پ): ۲۸۵-۲۸۷.

٤. علیخانی، ح. و ن. صالح راستین. ۱۳۸۰. ضرورت تولید انبوه کودهای بیولوژیک محرک رشد گیاه PGPB در راستای نیل به کشاورزی پایدار. مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. نشر آموزش کشاورزی، کرج.




[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

۵. فرج‌زاده، د. ۱۳۸۸. بررسی فعالیت ACC- دآمیناز ازتوباکترهای بومی و امکان‌سنجی انتقال ژن این آنزیم از ریزوبیوم بـه ازتوبـاکتر. رساله دکتری، دانشکده کشاورزی. دانشگاه تبریز.

6. Alef, K. and P. Nannipieri. 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press.
7. Azcorn, R. and J. M. Barea 1975. Synthesis of auxins, gibberellins and cytokinins by Azotobacter vinelandi and Azotobacter beijerinckii related to effects produced on tomato plants. Plant Soil 43: 609-619.
8. Becking, J. H. 2006. Prokaryotes. Chapter3. The Family Azotobacteraceae 6: 759-783.
9. Biswas, T. D. and S. K. Mukherjee. 1987. Text Book of Soil Science. 2nd ed., Division of Soil Science and Agricultural Chemistry. IARI. New Delhi.
10. Cappuccino, J. G. and N. Sherman. 1987. Microbiology. A Laboratory Manual. The Benjamin/ Cummings Pub. Co., USA.
11. Cottenie, A. 1980. Soil and Plant Testing. FAO Soils Bulletin. No. 38/2.
12. Dart, P. J. and J. M. Day. 1975. Nitrogen fixation in the field other than by nodules. *In*: N. Walker (Ed.), Soil Microbiology. Butter Worth Sci. Pub., London.
13. Gabos M. B., C. A. Abreu and A. R. Coscione. 2009. EDTA assisted phytoremediation of a Pb contaminated soil: Metal leaching and uptake by jack beans. Sci. Agric. 66: 506-514.
14. Gonzalez-lopes, J., M. V. Martinez-Toledo, S. Reina and V. Slmern. 1991. Root exudates of maize and production of auxins, gibberellins, cytokinins, amino acids and vitamins by Azotobacter chroococcum in chemically-defined media and dialyzed-soil media. Technol. and Environ. Chem. 33:69-78.
15. Gonzalez-lopes, J., V. Slmern and J. Moreno. 1983. Amino acid and vitamins produced by Azotobacter vinelandii in chemically- defined media and dialyzed soil media. Soil Biol. Biochem. 6: 711- 713.
16. Govedarica, M., V. Miliv and D. J. Gvozdenoviv. 1993. Efficiency of the association between Azotobacter chroococcum and tomato varieties. Plant Soil 42: 113-120.
17. Hoflich G., W. Wichc and G. Kuhn. 1994. Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. Experientia 50: 897-905.
18. Husain, A., M. Arshad, A. Husain and E. Husain. 1987. Response of maize (*Zea mays*) to Azotobacter inoculation under fertilized and unfertilized conditions. Biol. Fertil. Soils 4: 73-77.
19. Jagnow, G., G. Hoeflich and K. H. Hoffmann. 1991. Inoculation of non-symbiotic rhizosphere bacteria: Possibilities of increasing and stabilizing yield. Angew. Bottanik. 65: 97-126.
20. Kader, M. A., M. H. Main and M. S. Hogue. 2002. Effects of Azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. O. J. Biologic. Sci. 2:259-261.
21. Khosravi, H., S. M. Samar, E. Fallahi, H. Davoodi and M. Shahabian. 2009. Inoculation of 'Golden Delicious' Apple Trees on M9 Rootstock with Azotobacter Improves Nutrient Uptake and Growth Indices. J. Plant Nutr. 32: 946-953.
22. Kirkham, M. B. 2005. Principles of Soil and Plant Water Relations. Elsevier Academic Press., USA.
23. Kizilkaya, R. 2008. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with Azotobacter chroococcum strains. Ecol. Eng. 33: 150-156.
24. Kshirsager, C. R., V. K. Mandhare, H. B. Kalbhor and P. L. Patil. 1994. Response of onion to Azotobacter and VA-mycorhizal inoculation along with phosphorus levels. J. Maharashtra Agric. Univ. 19: 475-477.
25. Lakshminarayana, K. 1993. Influence of Azotobacter on nutrition of plant and crop productivity. Proc. Ind. Natur. Sci. Acad. B59: 303–308.
26. Martinz-Toledo, M. V., B. Rofelas, V. Salmeron, C. Pozo and J. Gonzalez-Lopez. 1996. Production of pantothenic acid and thiamine by Azotobacter vinelandii in a chemically defined medium and a dialyzed soil medium. Biol. Fertil. Soil 22: 131-135.
27. Narula, N., V. Kumar, R. K. Behl, A. Deubel, A. Gransee and W. Merbach. 2000. Effect of P-solubilizing Azotobacter chroococcum on N, P, K uptake in P-responsive wheat genotypes grown under greenhouse conditions. J. Plant Nutr. Soil Sci. 163: 393–398.
28. Remus, R., S. Ruppel, H. J. Jacob, C. H. Hecht-Buchholz and W. Merbach. 2000. Colonization behavior of two enteobacterial strains on cereals. Biol. Fertil. Soils 30: 550-557.
29. Rodriguez, H. and R. Fraga. 1999. Phoshphat solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnol. Adv. 17: 319- 339.
30. Soliman, S., M. A. Seeda, S. S. M. Aly and A. M. Gadalla. 1995. Nitrogen fixation by wheat plant as affected by nitrogen fertilizer levels Ana no symbiotic bacteria. Egypt. J. Soil Sci. 35: 401-413.
31. Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solbilizing organisms in the rizhosphere and soil. Aust. J. A. Res. 9:778-781.



[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]

32. Suneja, S., N. Narula, R. C. Anand and K. Lakshminarayana. 1996. Relationship of Azotobacter chroococcum siderophores with nitrogen fixation. Folia Microbiol. 41: 154-158.
33. Waling, I., W. V. Vark, V. J. G. Houba and J. J. Vanderlee. 1989. Soil and plant analysis, a seris of syllabi. Part 7, Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, The Netherlands.

[ Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-11-30 ]

[ DOR: 20.1001.1.24763594.1390.15.58.2.6 ]