نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴ ، زمستان ۱۳۹۳، ص. ۸۳۳-۸۲۲

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 12, No. 4, Winter. 2015, p. 822-833

اثر تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) و سطوح مختلف کودهای نیتروژن و فسفر بر عملکرد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک جو (*Hordeum vulgare* L.)

سعید حکم علی پور[1*]- رئوف سید شریفی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۱۲

چکیده

به منظور بررسی تاثیر باکتری‌های افزاینده رشد گیاه بر روند رشد و عملکرد جو در سطوح مختلف کودهای نیتروژن و فسفر، آزمایشی دو ساله به صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل در سال‌های زراعی ۸۹ -۱۳۸۸ و ۹۰-۱۳۸۹ انجام شد. کرت‌های اصلی شامل دو عامل نیتروژن در سه سطح (صفر، ۴۰ و۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع اوره) و کود فسفر (صفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به‌صورت P_2O_5) و کرت‌های فرعی به تلقیح بذور با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در ۴ سطح (بدون تلقیح، تلقیح با *ازتوباکتر کروکوکوم* استرین ۵، *آزوسپیریلوم لیپوفرم* استرین OF و مخلوط دو باکتری) اختصاص داده شدند. نتایج نشان داد که با افزایش کاربرد نیتروژن، فسفر و نیز پیش تیمار بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه کلیه‌ی شاخص‌های رشد نظیر ماده خشک کل، سرعت رشد محصول، شاخص سطح برگ و سرعت رشد نسبی جو افزایش یافتند. همچنین پیش تیمار توام بذر با باکتری‌های مورد مطالعه در تمامی مراحل نمونه‌برداری شاخص‌های رشد در مقایسه با شاهد بیشتر بود. حداکثر عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و وزن خشک برگ به ترتیب برابر با ۳۲۰۰ کیلوگرم در هکتار، ۱۰۰۰۰/ کیلوگرم در هکتار و ۴۳۸ گرم بر متر مربع در بالاترین مقادیر کودهای نیتروژن و فسفر و پیش تیمار توام بذر با *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* مشاهده شد و کم‌ترین آن‌ها در عدم کاربرد فاکتورهای آزمایشی (سطح شاهد) به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: سرعت رشد محصول، سرعت رشد نسبی، شاخص سطح برگ، ماده خشک کل، وزن خشک برگ

مقدمه

در کشاورزی نوین، هدف رسیدن به حداکثر سرعت رشد و عملکرد از طریق اصلاحات ژنتیکی و محیطی می‌باشد. تجزیه و تحلیل کمّی رشد روشی مناسب برای بررسی واکنش گیاه نسبت به شرایط محیطی مختلف در طول دوره زندگی گیاه می‌باشد. به کمک این روش چگونکی توزیع مواد فتوسنتزی بین اندام‌های مختلف و انباشت آن‌ها از طریق اندازه‌گیری ماده خشک تولیدی در طول فصل رشد ارزیابی می‌گردد. از پارامتر تجمع وزن خشک به‌دلیل اهمیت اقتصادی بیش‌تر آن به‌عنوان یک پارامتر مشخص کننده رشد استفاده می‌شود. از آن‌جایی‌که عملکرد محصولات زراعی در طول فصل رشد تحت تاثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد لذا، تجزیه رشد در بیان مطلوب تفاوت های عملکرد گیاهان زراعی مفید می‌باشد (۷). از جمله مهم‌ترین شاخص‌هایی که در مطالعه فیزیولوژی رشد گیاهان کاربرد فراوان دارند ماده خشک کل[3]، سرعت رشد محصول [4]، سرعت رشد نسبی [5] و شاخص سطح برگ [6] می‌باشند. تامین عناصر غذایی گیاه یکی از مهم ترین راهکارها جهت افزایش شاخص های رشد می باشد. تامین عناصر مهمی مانند نیتروژن و فسفر از طریق کودهای شیمیایی علاوه بر افزایش هزینه‌های تولید و حمل و نقل، آسیب‌های زیست محیطی بسیار وسیعی نیز به دنبال دارد (۳). استفاده از کودهای زیستی می‌تواند مانع از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی شود (۱۵).

۱- استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: hokmalipour@yahoo.com
۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

3- Total Dry Matter
4- Crop Growth Rate
5- Relative Growth Rate
6- Leaf Area Index

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد آزمایش

سال	عمق نمونه برداری (cm)	pH	عصاره اشباع (٪)	رس (٪)	لوم (٪)	شن (٪)	بافت (٪)	کربن آلی (٪)	نیتروژن (٪)	فسفر قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)
۱۳۸۸	۰-۳۵	۸/۲	۴۶	۵	۷۲	۲۳	سیلتی لوم	۰/۷۸	۰/۱۶	۱۶
۱۳۸۹	۰-۳۵	۸/۳	۴۷	۵	۷۱	۲۲	سیلتی لوم	۰/۷۹	۰/۱۷	۱۶

در این راستا تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه [1] (PGPR) به صورت تلفیق با کودهای شیمیایی، مهم‌ترین راهبرد برای مدیریت پایدار بوم نظام های کشاورزی و افزایش تولید در سیستم کشاورزی پایدار می‌باشد. *ازتوباکتر و آزوسپیریلوم* از جمله باکتری‌های مفید خاکزی می‌باشند که در مواردی در اثر تلقیح بذر با این باکتری های افزایش عملکردی حدود ۱۲ تا ۳۹ درصد گزارش شده است (۴). این باکتری‌ها علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک، با تولید مقادیر قابل توجهی از هورمون‌های تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین، رشد و نمو گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۳۱).

برخی بررسی‌های انجام شده نشان داده است که وزن اندام‌های هوایی جو (*Hordeum vulgare* L.) در اثر تلقیح توسط باکتری‌های افزاینده رشد ۲۸/۸ تا ۴۵/۲ درصد بسته به نوع باکتری افزایش می‌یابد (۱۵). بررسی‌های کاپولینگ و همکاران (۲۳) افزایش وزن تر و خشک برگ‌های بوته ذرت (*Zea mays* L.) در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های جنس *آزوسپیریلوم* را نشان داد. ریحانی تبار (۹) نشان داد که پاسخ گندم (*Triticum aestivum* L.) به تلفیح با سویه‌های *سودموناس فلورسنس* اغلب شاخص‌های رشد مثبت بود. یافته‌های غلامی و همکارن (۱۸) نیز حاکی از آن است که بسیاری از پارامتری های رشدی گیاه ذرت از جمله وزن خشک اندام‌های هوایی تحت تاثیر باکتری‌های افزاینده رشد افزایش می‌یابند. افزایش وزن تر بخش های هوایی بوته و تعداد برگ جو (۱۴) و نیز گسترش سطح برگ در گیاه جو، در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد توسط محققین مختلفی گزارش شده است (۱۷و ۱۳). برخی بررسی‌ها نشان داده‌اند که تلقیح بذر برخی غلات توسط *آزوسپیریلوم* موجب تغییرات معنی داری در شاخص‌های مختلف رشدی از قبیل افزایش در ماده خشک گیاه و اندازه برگ می‌شود (۱۲). در آزمایشی که توسط کلوپر و همکارن (۲۵) انجام گرفت، مشخص شد که عملکرد گندم‌های تلقیح شده با *ازتوباکتر* و *باسیلوس* به ترتیب ۳۰ و ۴۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. نتایج مشابهی توسط ذبیحی و همکاران (۵) و حسن زاده و همکاران (۱) گزارش شده است.

هدف از این آزمایش ارزیابی تاثیر تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه بر روند رشد و عملکرد جو بهاره متاثر از سطوح مختلف کودهای نیتروژن و فسفر بود.

مواد و روش ها

با هدف بررسی تاثیر باکتری‌های افزاینده رشد گیاه بر روند رشد و عملکرد جو بهاره در سطوح مختلف کودهای نیتروژن و فسفر، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی، ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا با آب و هوای نیمه خشک سرد در دو سال زراعی ۸۹ -۱۳۸۸ و۹۰- ۱۳۸۹ انجام شد. نتایج خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

کرت‌های اصلی شامل فاکتورهای کود نیتروژن در ۳ سطح (صفر، ۴۰ و۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع اوره) و کود فسفر (صفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوکرم فسفر در هکتار به‌صورت P_2O_5) و کرت‌های فرعی به تلقیح بذر با باکتری، در ۴ سطح (بدون تلقیح، تلقیح با *ازتوباکتر کروکوکوم* استرین ۵[2]، *آزوسپیریلوم لیپوفرم* استرین OF[3] و مخلوط دو باکتری) اختصاص داده شد. باکتری‌ها بومی خاک‌های ایران بوده و مایه تلقیح آن از بخش تحقیقات بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. هر کرت فرعی دارای شش ردیف کاشت به طول پنج متر با فاصله بین ردیف ۱۸ سانتی متر بود. تراکم مورد استفاده برای همه کرت‌های آزمایشی ثابت و برابر با ۴۰۰ بذر در متر مربع در نظر گرفته شد. برای تلقیح بذر با باکتری‌ها، میزان هفت گرم مایه تلقیح از هر باکتری که هر گرم آن دارای 10^7 سلول باکتری زنده و فعال بود استفاده گردید. به منظور تلقیح بذر با باکتری‌ها و ایجاد چسبندگی مناسب از محلول صمغ عربی استفاده شد (۱۸). آبیاری مزرعه به صورت کرتی و با توجه به شرایط محیطی، به طور متوسط هر هفت روز یک‌بار و بر اساس مشاهده وضعیت رطوبتی

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

2 - Azotobacter chroococcum strain5

3 - Azospirillum lipoferum strain of

خاک انجام و در طول دوره رشد به‌منظور مبارزه با علف‌های هرز وجین دستی اعمال گردید.

به منظور تعیین شاخص‌های رشد در مراحل مختلف رشد، نمونه‌برداری پس از سبز شدن کامل هر کرت و در هر کرت از ۴ ردیف اصلی انجام شد. برای این منظور هر ۱۰ روز یک‌بار حدود سی بوته (۰/۰۷۵ متر مربع) از خطوط اصلی هر کرت فرعی و از بین بوته‌های رقابت کننده به صورت تصادفی و با در نظر گرفتن اثرات حاشیه انتخاب و در هر مرحله بعد از قرار دادن نمونه ها در آون الکتریکی در دمای ۵ ±۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت (تا زمان تثبیت وزن خشک) توزین و با استفاده از فرمول‌های زیر (رابطه‌های ۱، ۲، ۳ و۴) نسبت به برآورد شاخص‌های رشدی اقدام شد (۳ و ۲۴). برای اندازه‌گیری سطح برگ از دستگاه سطح برگ سنج[1] استفاده گردید. در این روابط (روابط ۱ تا ۴) t فاصله زمانی بین مراحل نمونه برداری، a، b، c و d ضرایب معادله هستند. برای برازش نمودارهای شاخص‌های رشدی از طریق امکان دیتا آنالیز نرم افزار اکسل انجام گردید.

$$TDM = e^{(a+bt+ct^2+dt^3)} \quad (۱)$$

[2]

$$CGR = (b + 2ct + 3dt^2)e^{(a+bt+ct^2+dt^3)} \quad (۲)$$

[3]

$$RGR = b + 2ct + 3dt^2 \quad (۳)$$

[4]

$$LAI = e^{(a+bt+ct^2)} \quad (۴)$$

[5]

عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک نیز از سطحی معادل نیم متر مربع از خطوط اصلی هر کرت و با رعایت اثر حاشیه ای برداشت و مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم افزارهای SAS (نسخه ۹.۲) و Excel استفاده گردید. مقایسات میانگین نیز توسط آزمون LSD انجام گرفت.

نتایج و بحث

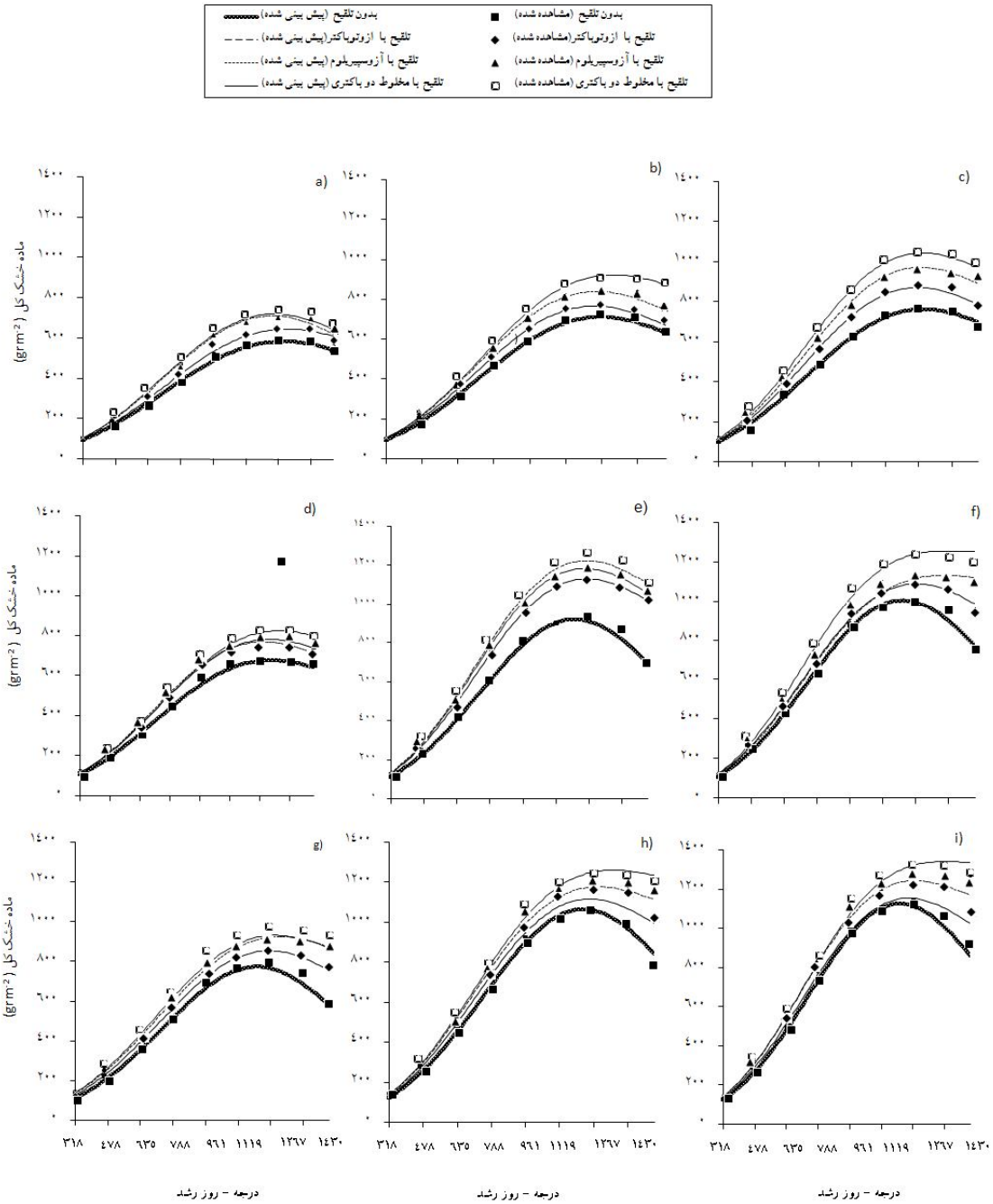
ماده خشک کل

روند تغییرات ماده خشک کل متاثر از فاکتورهای مورد بررسی طی دو سال آزمایش نشان داد که در تمامی مراحل نمونه برداری تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه و نیز کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر موجب افزایش انباشت ماده خشک جو می‌شود (شکل ۱). در ضمن تلقیح بذر با *ازتوباکتر* همراه با *آزوسپیریلوم* در مقایسه با کاربرد انفرادی آن‌ها منجر به افزایش بیش‌تر این صفت شد. به‌طوری‌که در سطوح شاهد کودهای نیتروژن و فسفر، تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد موجب افزایش حدود ۲۰ درصدی در ماده خشک کل گردید. در کاربرد انفرادی دو باکتری، افزایش در ماده خشک کل در تلقیح بذر با *آزوسپیریلوم* در مقایسه با *ازتوباکتر* بیش‌تر مشهود بود. تاثیر کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر بر روی این صفت نیز روندی مشابه کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد داشت. به این صورت که با افزایش کاربرد سطوح هر دو کود، ماده خشک کل افزایش یافت. حسن زاده و همکاران (۱) اظهار داشتند که انباشت ماده خشک جو به طور معنی‌داری تحت تاثیر سویه های باکتری‌های افزاینده رشد قرار دارد. کاماکسی و همکاران (۱۴) افزایش ۴۵/۹ درصدی در ماده خشک کل را به واسطه ی تلقیح بذر جو با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه گزارش نمودند. نتایج مشابهی نیز توسط ذبیحی و همکاران (۵)؛ غلامی و همکاران (۱۸) گزارش شده است. افزایش در ماده خشک کل به همراه کاربرد کود نیتروژن توسط حکم‌علی‌پور و همکاران (۲) گزارش شده است. به نظر می‌رسد افزایش کاربرد کود نیتروژن با افزایش سطح برگ (شکل۴) توانسته میزان تشعشع بیش‌تری را جذب کرده و در نتیجه تولید ماده خشک بالاتر را داشته باشد (۲۰).

سرعت رشد محصول

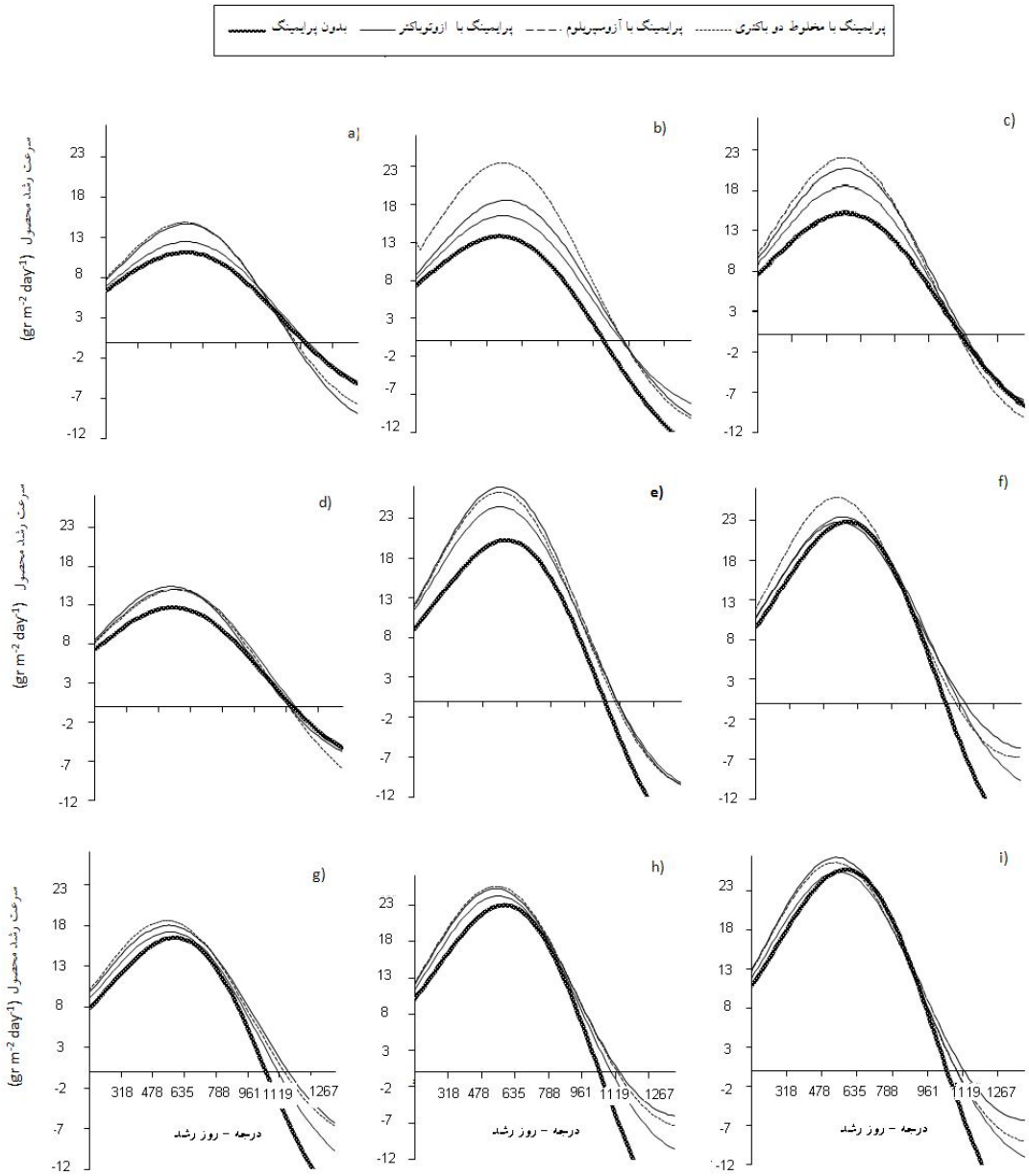
با توجه به شکل‌های مربوط به سرعت رشد محصول (شکل ۲) مشخص می‌شود که کاربرد نیتروژن، فسفر و نیز تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه منجر به افزایش چشمگیر سرعت رشد محصول جو دارد. تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در تمام مراحل نمونه‌برداری در مقایسه با شاهد سرعت رشد محصول بالاتری داشت. تلقیح بذر با *ازتوباکتر* همراه با *آزوسپیریلوم* در مقایسه با کاربرد انفرادی آن‌ها منجر به افزایش بیش‌تر سرعت رشد محصول شد. در کاربرد انفرادی دو باکتری، افزایش در سرعت رشد محصول در تلقیح بذر با *آزوسپیریلوم* در مقایسه با *ازتوباکتر* بیش‌تر مشخص بود. سرعت رشد محصول در مراحل اولیه به دلیل کامل نبودن پوشش گیاه و کم بودن سطح برگ و پایین بودن درصد نور جذبی کم‌تر است، ولی با رشد و نمو گیاه افزایش سریعی در میزان آن رخ می‌دهد زیرا سطح برگ توسعه می‌یابد (شکل ۲) و نور کم‌تری از لابه لای پوشش گیاه به سطح خاک نفوذ می‌کند. سرعت رشد محصول زمانی به حداکثر می‌رسد که شاخص سطح برگ در آن زمان به حداکثر رسیده است. در گیاهان رشد محدود با ورود گیاه به فاز زایشی گسترش سطح برگ و به تبع آن سرعت رشد محصول کم می‌شود.

1 - Leaf Area Meter
2 - Total dry Matter
3 -Crop growth rate
4 - Relative growth rate
5 - Leaf area index



شکل۱ - روند تغییرات ماده خشک کل (TDM) جو متاثر از باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در ترکیب‌های تیماری a) N_0P_0 b) N_0P_1 c) N_0P_2 d) N_1P_0 e) N_1P_1 f) N_1P_2 g) N_2P_0 h) N_2P_1 i) N_2P_2.

* N_0، N_1 و N_2 به ترتیب سطح شاهد کود نیتروژن، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار. P_0، P_1 و P_2 به ترتیب سطح شاهد کود فسفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار.

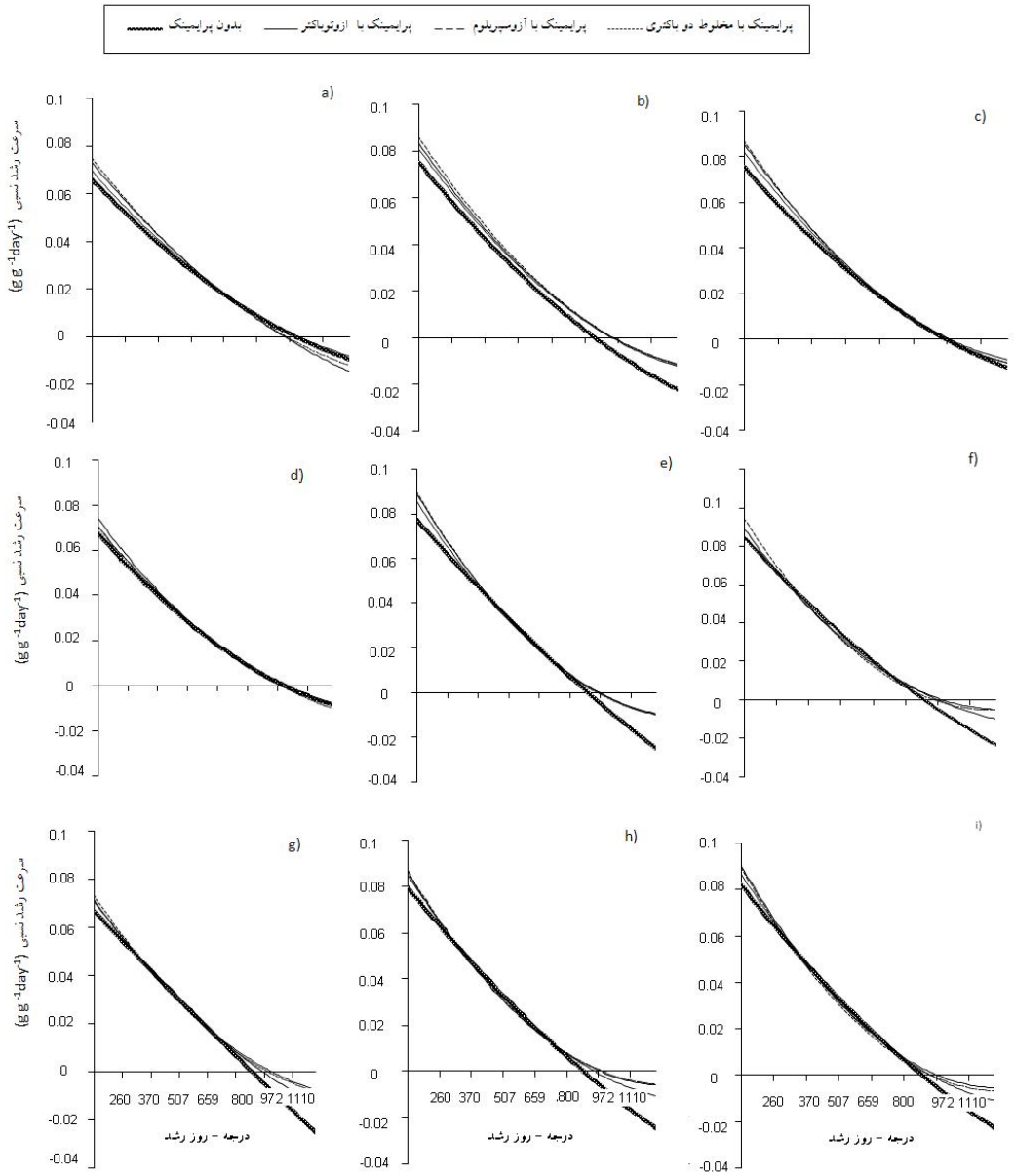


شکل ۲- روند تغییرات سرعت رشد محصول (CGR) جو متاثر از باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در ترکیب‌های تیماری a) N_0P_0 b) N_0P_1 c) N_0P_2 d) N_1P_0 e) N_1P_1 f) N_1P_2 g) N_2P_0 h) N_2P_1 i) N_2P_2

* N_0، N_1 و N_2 به ترتیب سطح شاهد کود نیتروژن، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار. P_0، P_1 و P_2 به ترتیب سطح شاهد کود فسفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار.

سرعت رشد نسبی

با توجه به شکل‌های مربوط به سرعت رشد نسبی (شکل ۳) مشخص می‌شود کاربرد نیتروژن، فسفر و نیز تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه تاثیر مثبتی بر سرعت رشد نسبی دارد. به این ترتیب که تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در تمام مراحل نمونه برداری در مقایسه با شاهد از سرعت رشد نسبی بالاتری برخوردار بود. تلقیح بذر با *ازتوباکتر* همراه با *آزوسپیریلوم* در مقایسه با کاربرد انفرادی آن‌ها منجر به افزایش بیش‌تر این صفت شد. در کاربرد انفرادی دو باکتری، افزایش در سرعت رشد نسبی در تلقیح بذر با *آزوسپیریلوم* در مقایسه با *ازتوباکتر* بیش‌تر مشهود بود. با توجه به این‌که در طول زمان بر میزان بافت‌های ساختاری گیاه که جزء بافت‌های فعال متابولیکی محسوب نمی‌شوند و سهمی در رشد ندارند افزوده می‌شوند و در نتیجه سرعت رشد نسبی با گذشت زمان کاهش می‌یابد.

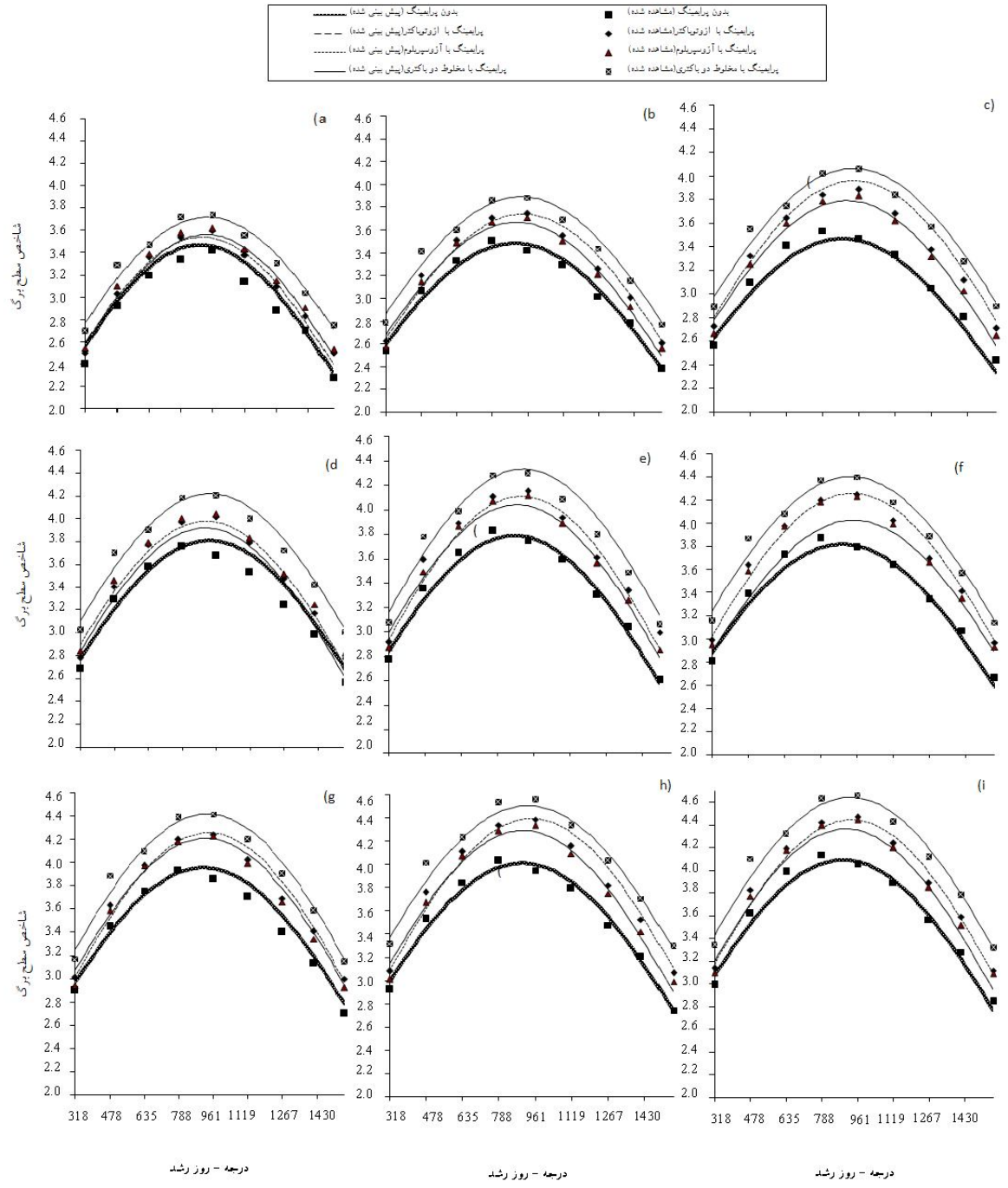


شکل ۳- روند تغییرات سرعت رشد نسبی (RGR) جو متاثر از باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در ترکیب تیماری a) N_0P_0 b) N_0P_1 c) N_0P_2 d) N_1P_0 e) N_1P_1 f) N_1P_2 g) N_2P_0 h) N_2P_1 i) N_2P_2

* N_0، N_1 و N_2 به ترتیب سطح شاهد کود نیتروژن، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار. P_0، P_1 و P_2 به ترتیب سطح شاهد کود فسفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار

شاخص سطح برگ

روند تغییرات شاخص سطح برگ متاثر از تیمارهای مورد بررسی نشان داد که تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه و نیز کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر موجب افزایش شاخص سطح برگ جو می‌شود (شکل ۴). به این ترتیب که تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه با گذشت زمان در مقایسه با شاهد از شاخص سطح برگ بالاتری برخوردار بود. ضمن این که تلقیح توام بذر با *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* در مقایسه با کاربرد انفرادی آن‌ها منجر به افزایش بیش‌تر شاخص سطح برگ شد. این در حالی است که در کاربرد انفرادی دو باکتری، افزایش در شاخص سطح برگ در تلقیح بذر با *آزوسپیریلوم* در مقایسه با *ازتوباکتر* بیش‌تر مشهود بود. ریحانی‌تبار (۹) در بررسی گلخانه‌ای نشان داد که پاسخ گندم به تلفیح با سویه‌های *سودوموناس فلورسنس* در مورد بیش‌تر شاخص‌های رشد از جمله شاخص سطح برگ مثبت بود.



شکل ٤- روند تغییرات شاخص سطح برگ جو متاثر از باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در ترکیب تیماری a) N_0P_0 b) N_0P_1 c) N_0P_2 d) N_1P_0 e) N_1P_1 f) N_1P_2 g) N_2P_0 h) N_2P_1 i) N_2P_2

* N_0، N_1 و N_2 به ترتیب سطح شاهد کود نیتروژن، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار. P_0، P_1 و P_2 به ترتیب سطح شاهد کود فسفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار

تاثیر کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر بر روی شاخص سطح برگ نیز روندی مشابه کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد داشت. به این صورت که با افزایش کاربرد سطوح هر دو کود، شاخص سطح برگ افزایش یافت. بررسی روند تغییرات شاخص سطح برگ در مراحل مختلف یادداشت برداری در تمامی تیمارهای مورد آزمایش نشان دهنده روند رشد صعودی در مراحل ابتدایی توسعه برگ و روند نزولی

در مراحل نهایی گسترش سطح برگ بود. در گیاهان رشد محدود همچون جو با شروع فاز زایشی، فاز رویشی از جمله گسترش سطح برگ کاهش می یابد و نقطه اوج شاخص سطح برگ با شروع فاز زایشی روند نزولی به خود می گیرد. کاهش شاخص سطح برگ در مراحل انتهایی به دلیل افزایش ریزش برگ‌ها در اثر پیری می‌باشد (شکل ۴). افزایش در شاخص سطح برگ به همراه کاربرد کود نیتروژن توسط حکم‌علی‌پور و همکاران (۲) نیز گزارش شده است.

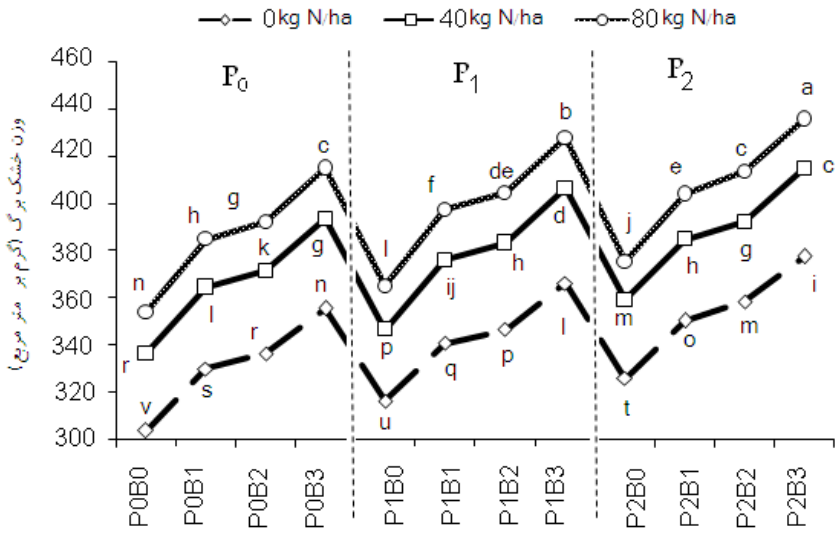
وزن خشک برگ

اثر اصلی و متقابل تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول۲). مطالعه‌ی اثر متقابل نیتروژن × فسفر × باکتری نشان داد که در بالاترین سطح کاربرد ترکیبات تیماری بیش‌ترین و در سطوح شاهد آن‌ها کم‌ترین وزن خشک برگ حاصل گردید به‌طوری‌که در بالاترین سطح کاربرد کود نیتروژن و فسفر به همراه تلقیح بذر با باکتری آزوسپیریلوم بیش‌ترین وزن خشک برگ برابر با ۴۳۸ گرم بر متر مربع و در سطوح شاهد تیمارهای مورد مطالعه کم‌ترین ماده خشک برگ برابر با ۳۰۰ گرم بر متر مربع حاصل گردید (شکل۵). به عبارت دیگر این ترکیب تیماری در مقایسه با سطوح شاهد تیمارهای مورد مطالعه منجر به افزایش ۳۰/۲۵ درصدی در ماده خشک برگ گردید. از آن‌جایی‌که نیتروژن یکی از اجزای اصلی کلروفیل می باشد به نظر می‌رسد تامین مقادیر کافی از این عنصر موجب افزیش کلروفیل و در نتیجه افزایش رشد و وزن خشک برگ گردیده است. کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد نیز می‌تواند از طریق افزایش جذب عناصر مورد نیاز گیاه موجب افزایش رشد برگ و در نتیجه افزایش وزن خشک برگ گردد. کاپولینک و همکاران (۲۳) نیز در بررسی‌های جداگانه افزایش وزن تر و خشک برگ‌های ذرت را در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گزارش کرده‌اند. افزایش وزن خشک برگ به دنبال تلقیح بذر با باکتری *آزوسپیریلوم* توسط باسیلیو و همکاران (۱۱) در گندم نیز گزارش شده است. نتایج مشابهی نیز توسط غلامی و همکاران (۱۸) ارایه شده است. موسوی و همکاران (۶) افزایش ۴۶ تا ۶۴ درصدی در وزن خشک برگ را در اثر به کارگیری نیتروژن اعلام نمودند.

عملکرد دانه

نتایج نشان داد که اثر اصلی فاکتورهای آزمایشی و اثر متقابل نیتروژن × فسفر، نیتروژن × باکتری و فسفر × باکتری برای این عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر متقابل نیتروژن × باکتری‌های افزاینده رشد گیاه نشان داد که در بالاترین سطح نیتروژن و تلقیح توام بذر با باکتری‌های افزاینده رشد بالاترین میزان عملکرد دانه به دست آمد که با ترکیب تیماری تلقیح بذر با آزوسپیریلوم در بالاترین سطح کود نیتروژن اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (شکل۶). مطالعه اثر متقابل فسفر× باکتری‌های افزاینده رشد نیز مشخص کرد بیش‌ترین عملکرد دانه در بالاترین میزان کاربرد فسفر به همراه تلقیح توام بذر با باکتری‌های افزاینده رشد به دست آمد که در یک گروه مشترک با کاربرد آزوسپیریلوم در بالاترین سطح کود فسفر قرار گرفت (شکل۷).



شکل ۵- اثر متقابل نیتروژن × فسفر × باکتری بر وزن خشک برگ جو

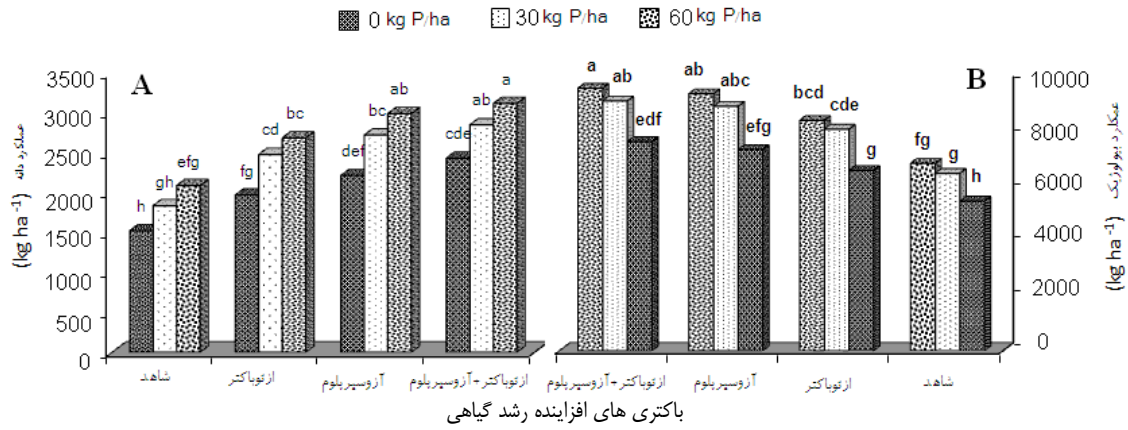
P_0، P_1 و P_2 به ترتیب سطح شاهد کود فسفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار

حسن زاده و همکاران (۱) نیز گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در سطوح مختلف فسفر موجب افزایش قابل توجهی در عملکرد دانه ی جو شد. در بررسی اثر متقابل نیتروژن و فسفر مشخص گردید که در بالاترین سطح کاربرد این دو عنصر بالاترین عملکرد دانه به دست می آید (شکل ۸). حکم‌علی‌پور و همکاران (۲) افزایش عملکرد دانه را در به کارگیری نیتروژن گزارش کردند. افزایش عملکرد دانه به واسطه کاربرد کود فسفر توسط حسن زاده و همکاران (۱) و نیتروژن توسط موسوی و همکاران (۶) در گندم نیز گزارش شده است. به نظر می رسد افزایش عملکرد دانه در آزمایش حاضر در نتیجه‌ی استفاده توام *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* حاکی از وجود رابطه ی سینرژیستی بین این دو باکتری می‌باشد. رای و گاور (۲۹) در یک آزمایش گلدانی در مطالعه تاثیر *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* به تنهایی و با هم، روی رشد و عملکرد اظهار داشتند که اثر توأم دو باکتری بیش‌تر از اثر هر یک از آن‌ها به تنهایی بود که تایید کننده‌ی وجود رابطه‌ی سینرژیستی بین این دو باکتری می‌باشد. باکتری‌های افزاینده رشد گیاهی با سازوکارهای مختلف موجب افزایش جذب عناصر ضروری متعددی توسط گیاهان مختلف می‌شوند به عنوان نمونه کاتلن و همکاران (۱۶)، دلیل اصلی افزایش عملکرد گیاه از طریق تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه را به افزایش دسترسی گیاه به فسفر از طریق حل آنزیمی و غیر آنزیمی فسفات-های نامحلول آلی و معدنی توسط باکتری‌های افزاینده رشد گیاه نسبت دادند. وگر و همکاران (۳۰)؛ کاماکسی و همکاران (۱۴) افزایش عملکرد به واسطه‌ی باکتری‌های افزاینده رشد گیاه را به افزایش رشد سیستم ریشه‌ای گیاه و در نتیجه افزایش جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن نسبت دادند. مارتی و همکاران (۲۶) و جاین و همکاران (۲۲) افزایش جذب یون‌هایی نظیر NO_3^-، NH_4^+ و PO_4^{-3} به واسطه‌ی حضور آزوسپیریلوم را دلیل اصلی افزایش عملکرد اعلام نمودند.

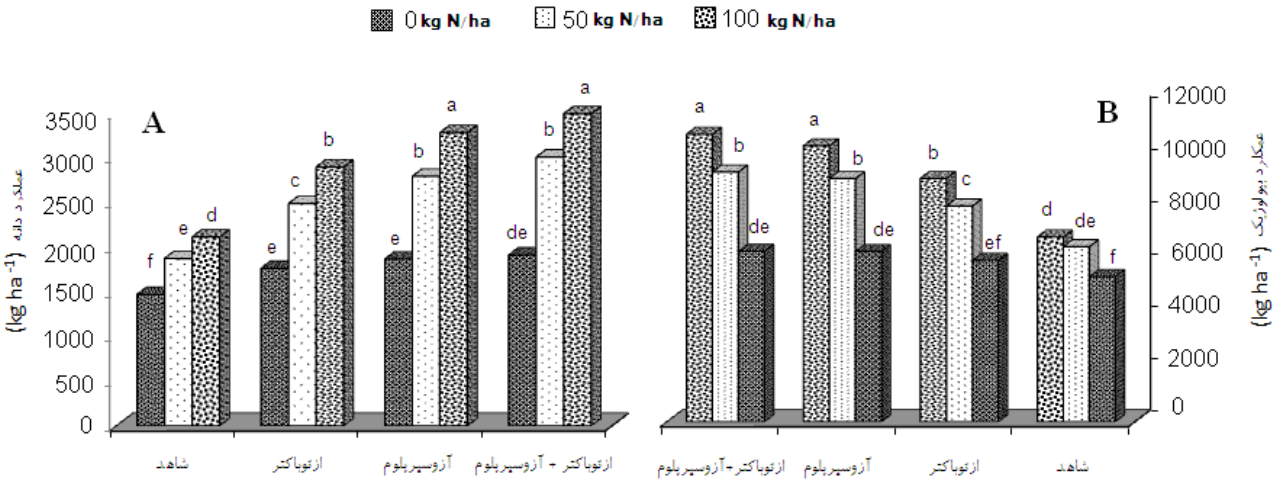
عملکرد بیولوژیک

نتایج تجزیه واریانس اثر فاکتورهای آزمایشی بر عملکرد بیولوژیک گندم در تجزیه مرکب دو سال آزمایش نشان داد که اثر اصلی و اثر متقابل ترکیب‌های تیماری به جز اثر سه‌جانبه نیتروژن × فسفر × باکتری‌های افزاینده رشد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲).

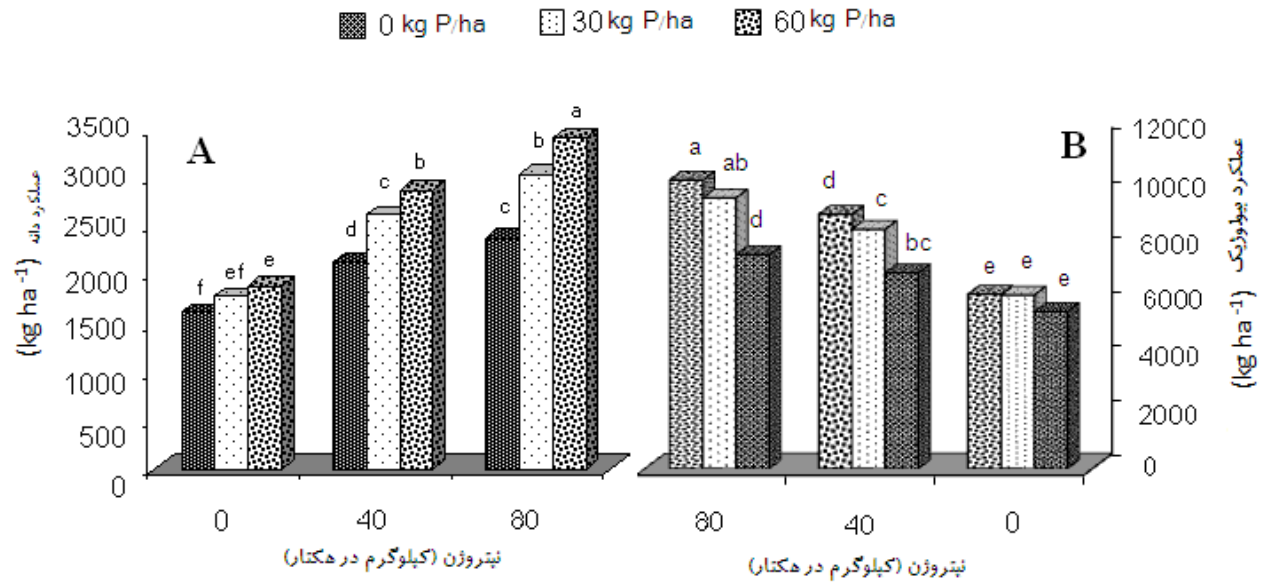
در مطالعه اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی مشخص گردید که در بالاترین سطوح ترکیبات تیماری نیتروژن × فسفر، نیتروژن × باکتری و فسفر × باکتری، بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک و در سطوح شاهد این ترکیبات کم‌ترین آن برآورد گردید (شکل های ۶، ۷ و ۸). کاماکسی و همکاران (۱۴) نیز نشان دادند که تلقیح بذر جو با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه موجب افزایش زی توده کل تا ۴۵/۹ درصد شده است. افزایش عملکرد بیولوژیک جو در نتیجه‌ی استفاده از این باکتری‌ها توسط ذبیحی و همکاران (۵)؛ پاملا و همکاران (۲۸) نیز گزارش شده است. آن‌ها اثر باکتری در افزایش عملکرد ماده‌ی خشک را به مصرف بهتر فسفر نسبت دادند. در مطالعه‌ی حاضر نیز به نظر می‌رسد باکتری‌های افزاینده رشد گیاه موجب افزایش قابلیت دسترسی و استفاده از نیتروژن و فسفر در تیمارهای کودی مربوطه شده و با بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه توانسته‌اند افزایش چشمگیری در عملکرد بیولوژیک ایجاد نمایند. نتایج مشابهی نیز توسط عرب و همکاران (۱۰) و مایاک و همکاران (۲۷) گزارش شده است. حسن زاده و همکاران (۱) نیز اظهار داشتند که فسفر، باکتری‌های افزاینده رشد گیاه و کاربرد توام فسفر و باکتری‌های افزاینده رشد گیاهی، موجب افزایش قابل توجهی در عملکرد بیولوژیک جو می‌شود. افزایش عملکرد بیولوژیک به دنبال کاربرد نیتروژن توسط حکم‌علی‌پور و همکاران (۲۱) نیز گزارش شده است.



شکل۶- اثر متقابل فسفر در باکتری‌های افزاینده رشد گیاهی بر عملکرد دانه (A) و عملکرد بیولوژیک (B) جو



شکل۷- اثر متقابل نیتروژن در باکتری‌های افزاینده رشد گیاهی بر عملکرد دانه (A) و عملکرد بیولوژیک (B) جو



شکل۸- اثر متقابل مصرف نیتروژن و فسفر بر عملکرد دانه (A) و عملکرد بیولوژیک (B) جو

نتیجه‌گیری

همانطور که مشاهد شد تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد و نیز کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر روی ماده خشک کل، سرعت رشد محصول، شاخص سطح برگ، سرعت رشد نسبی، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و وزن خشک برگ اثر مثبت و معنی داری داشتند. در کلیه‌ی صفات مورد مطالعه بیش‌ترین مقادیر در پیش تیمار توام بذر با *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* و بالاترین سطح کاربرد کودهای فسفر و نیتروژن و کم‌ترین مقادیر در عدم کاربرد فاکتورهای آزمایشی (سطح شاهد) به دست آمد. از آنجایی که بالاترین عملکرد دانه در کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر در تلقیح توام بذر با دوباکتری مورد مطالعه به دست آمد، لذا می‌توان نتیجه گرفت تلقیح بذر با ازتوباکتر و آزوسپیریلوم موجب واکنش بهتر گیاه جو به کودهای نیتروژن و فسفر گردیده و در نتیجه عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک افزایش می‌یابد. لذا توصیه می‌شود برای دستیابی به حداکثر عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک تلقیح توام بذر با ازتوباکتر و آزوسپیریلوم و کاربرد به ترتیب ۶۰ و ۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و فسفر مد نظر قرار گیرد.

منابع

۱- حسن‌زاده، ا.، د. مظاهری، م. ر. چایی‌چی و ک. خاوازی. ۱۳۸۶. کارایی مصرف باکتری‌های تسهیل کننده جذب فسفر بر عملکرد و اجزا عملکرد جو. مجله پژوهش و سازندگی. ویژه زراعت و باغبانی. ۷۷ : ۱۱۸- ۱۱۱.

۲- حکم‌علی‌پو، س.، ر. سید شریفی و م. قدیم زاده. ۱۳۸۶. بررسی تراکم بوته و سطوح کود نیتروژن بر عملکرد دانه و انتقال مجدد ماده خشک در ذرت. مجله خاک و آب تهران. ۱ (۲۱) : ۲۱-۱۵.

۳- حکم‌علی‌پور، س.، ر. سید شریفی. ۱۳۸۹. تاثیر تراکم بوته و سطوح کود نیتروژن بر عملکرد، کارایی مصرف کود و روند رشد ذرت. مجله دانش کشاورزی. ۲ (۳): ۱۳-۲۵.

۴- خاوازی، ن. و م. ج. ملکوتی. ۱۳۸۰. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. وزارت جهاد کشاورزی. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. موسسه تحقیقات آب و خاک. ۲۵۶ صفحه.

۵- ذبیحی، ح. ر.، غ. ر. ثواقبی، ک. خاوازی و ع. گنجعلی. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر کاربرد سویه‌هایی از سودوموناس‌های فلوروسنت بر عملکرد و اجزای عمکلرد گندم در سطوح مختلف شوری خاک. مجله آب و خاک. ۱ (۲۳): ۲۰۸- ۱۹۹.

۶- موسوی، س. ک.، م. فیضیان و ا. ع. احمدی. ۱۳۸۸. تاثیر روش های کاربرد کود نیتروژن بر روند رشد گندم آبی در لرستان. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب) ۲۳(۲): ۱۴۷- ۱۳۵.

۷- سرمدنیا، غ. ح. و ع. کوچکی. ۱۳۷۳. فیزیولوژی گیاهان زراعی (ترجمه) چاپ چهارم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. مشهد، ۳۸۹ صفحه.

۸- اسدی رحمانی، ه. و ع. ر. فلاح. ۱۳۷۹. ضرورت تولید و ترویج کودهای بیولوژیک افزاینده رشد گیاهی. مجله خاک و آب. ویژه نامه بیولوژی خاک. ۱۲(۷): ۱۰۵-۹۷.

۹- ریحانی‌تبار، ع. ۱۳۷۹. بررسی جمعیت پسودوموناس های فلوروسنت در ریزوسفر گندم کشت شده در خاک‌های زراعی استان تهران و تعیین پتانسیل آن‌ها برای افزایش رشد گیاهان. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد گروه خاک‌شناسی. دانشگاه تهران. ۱۹۳ صفحه.

۱۰- عرب، س. م.، غ. ع. اکبری، ح. علیخانی، م. ح. ارزانش و ا. اله دادی. ۱۳۸۷. بررسی توانایی تولید اکسین توسط باکتری‌های جداسازی شده بومی جنس *آزوسپیریلوم* و ارزیابی اثرات افزاینده رشدی جدایه برتر گیاه ذرت شیرین. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۶ (۲): ۲۲۵-۲۱۷.

11- Bacilio, M., H. Rodríguez, M. Hernandez J-Pablo, and Y .Bashan. 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a gfp-tagged *Azospirillum lipoferum*. Biology Fertil Soil Journal 40:188-193.

12- Bashan, Y. G., L. E. Holguin, and De. Bashan. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances. Canadian journal of Microbiology. 50: 521–577.

13- Cakmakci, R. 2005. Bitki geliflimini teflvik eden rizobakterilerin tarımda kullanımı. Ataturk Univ, Ziraat Fakultesi Dergisi, 36:97-107.

14- Cakmakci, R., M. F. Donmez, and U. Erdogan. 2007a. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts. Turk Journal Agriculture 31: 189-199.

15- Cakmakci, R., M. Erat, U. G. Erdoman, and M. F. Donmez. 2007b. The influence of PGPR on growth parameters, antioxidant and pentose phosphate oxidative cycle enzymes in wheat and spinach plants. Journal Plant Nutrition. Soil Science. 170: 288-295.

16- Cattelan, A. J., P. G. Hartel and J. J. Fuhrmann. 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. Journal Soil Science. 63:1670–1680.

17- Dobbelaere, S., J. Vanderleyden, and Y. Yaacov Okon. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviwe. Plant Science. 22:107-149.

18- Gholami, A., S. Shahsavani, and S. Nezarat. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. Proceedings of World Academy of Science. Enginering and Technology. 37:2070-3740

19- Gholami, A., S. Shahsavani, and S. Nezarat. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. Proceedings of World Academy of Science. Enginering and Technology. 37: 2070-3740

20- Hokmalipour, S., and M. Hamele Darbandi. 2011. Physiological growth indices in corn (*Zea mays* L.) cultivars as affected by nitrogen Fertilizer Levels. World Applied Sciences Journal. 15 (12): 1800-1805.

21- Hokmalipour, S., R. Seyedsharifi, S. H. Jamaati-e-Somarin, M. Hassanzadeh, M. Shiri-e-Janagard, and R. Zabihi-e-Mahmoodabad. 2010. Evaluation of Plant Density and Nitrogen Fertilizer on Yield, Yield Components and Growth of Maize. World Applied Sciences Journal. 8: 1157-1162.

22- Jain, D. K., and D. G. Patriquin. 1985. Characterization of substance produced by Azospirillum with causes branching of wheat root hairs. Journal of Microbiol. 31:206-210.

23- Kapulnik, Y., S. Sarig, A. Nur, Y. Okon, and Y. Henis. 1982. The effect of *Azospirillum* priming on growth and yield of corn. Jounal of Botany. 31:247-255.
24- Karimi, M. M., and K. H. M. Siddiqe. 1991. Crop growth and relative growth rate of old and modern wheat cultivars. Australian journal of Agriculture. Research. 42:13-20.
25- Kloepper, J. W., and C. J. Beauchamp. 1992. A review of issues related to measuring of plant roots by bacteria. Canadian journal of Microbiology. 38:1219–1232.
26- Marty, M. G., and. J. K. Ladha. 1987. Differential colonization of Azospirillum lipoferum on roots of two varieties of rice *Oryzea sativa*. Biology of Fertil Soils. 1: 3-7.
27- Mayak, S., T. Tirosh, and B. Glick. 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiology and Biochemistry. 42:565-572.
28- Pamella, A. C., S. H. Steven. 1982. Inorganic phosphate solubilization by rhizospher in a zostera marin community. Canadian journal of Microbiology. 28:605–610.
29- Rai, S. N., and A. C. Guar. 1988. Characterization of Azobacter spp. and effect of Azobacter andA zospirillum as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop. Plant Soil. 109:131-134.
30- Wagar, A., B. Shahroona, Z. A. Zahir, and M. Arshad. 2004. Priming with Acc deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat. Pakistan Journal of Agriculture. 41:119-124.
31- Zahir, A., M. Arshad, and W. F. Frankenberger. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria. Application and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy. 81: 97-168.