نشریه زراعت

شماره ۱۰۴، پائیز ۱۳۹۳

(پژوهش و سازندگی)

ارزیابی تأثیر تلقیح بذر با باکتری سودوموناس و کاربرد سطوح مختلف فسفر بر جذب عناصر، میزان کلروفیل و عملکرد زیستی دو رقم جو علوفه ای در منطقه فومن

• محیل پورابراهیمی فومنی، دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه گیلان
• سید محمدرضا احتشامی، عضو هیأت علمی دانشگاه گیلان (نویسنده مسئول)
• کاظم خاوازی، دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب
• مهدی رمضانی، دانشجوی دکترای زراعت دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: مرداد ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۹۱
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۲۱۶۵۷۴۸
پست الکترونیک نویسنده مسئول: smrehteshami@yahoo.com

چکیده:

به‌منظور بررسی اثر تلقیح بذر جو علوفه‌ای با باکتری سودوموناس بر جذب عناصر و عمل‌کرد زیستی در سطوح مختلف فسفر، آزمایش مزرعه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شهرستان فومن در استان گیلان اجرا شد. تیمارهای کودی تلفیقی در ۵ سطح شامل تلقیح بذر با *Pseudomonas fluorescence* strain 103 و ۱۰۰٪ کود شیمیایی حاوی فسفر، تلقیح بذر با باکتری و ۷۵٪ کود شیمیایی حاوی فسفر، تلقیح بذر با باکتری و ۵۰٪ کود شیمیایی حاوی فسفر، تلقیح بذر با باکتری و بدون استفاده از کود شیمیایی دارای فسفر، و بدون تلقیح بذر و بدون استفاده از کود شیمیایی حاوی فسفر (شاهد) بودند. رقم‌های علوفه‌ای بهمن و فصیح نیز جهت بررسی انتخاب شدند. ارتفاع و قطر ساقه اصلی، میزان کلروفیل‌های a و b، مقدار جذب فسفر و آهن بافت گیاهی و وزن خشک بوته (عمل‌کرد زیستی) هم صفت‌های مورد اندازه‌گیری بودند. نتایج نشان داد که با افزایش سطح فسفر، ارتفاع و قطر ساقه اصلی، میزان کلروفیل‌های a و b و وزن خشک بوته به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند. بیشینه مقدار صفت‌های ارتفاع ساقه اصلی، کلروفیلb ، جذب فسفر و وزن خشک بوته (عمل‌کرد زیستی) از تیمار تلقیح بذر با باکتری و ۱۰۰٪ کود شیمیایی حاوی فسفر حاصل شد. بیش‌ترین قطر ساقه، جذب آهن و کلروفیل a نیز در تیمار تلقیح بذر با باکتری و ۷۵٪ کود شیمیایی حاوی فسفر مشاهده گردید. در بین دو رقم مورد استفاده، رقم فصیح از نظر قطر ساقه، کلروفیلa و کلروفیل b برتر از رقم بهمن بود. این آزمایش نشان داد که استفاده تلفیقی از ۷۵٪ کود شیمیائی و زیستی باعث بهبود رشد گیاه و عمل‌کرد بیش‌تر شد.

کلمات کلیدی: جو علوفه‌ای، سودوموناس، آهن، کلروفیل، عمل‌کرد زیستی

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No:104 pp: 152-159

Evaluate the effect of seed inoculation with Pseudomonas fluorescens strain 103 and application of phosphorus on nutrients uptake, chlorophyll content and biological yield of two forage barley cultivars in Fuman

By:

- *M.Pourebrahimi, MSc Student of Agronomy, University of Guilan*
- *S. M. R. Ehteshami, (Corresponding Author; Tel: 09122165748), Assistant Professor of University of Guilan*
- *K. Khavazi, Scientific Staff of Research Institute of Soil and Water*
- *M. Ramezani, Ph.D Student of Agronomy, University of Guilan*

Received: August 2012 **Accepted: January 2013**

In order to evaluate the effect of seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* and application of different levels of phosphorus on nutrient uptake, chlorophyll content and biological yield of two forage barley cultivars (Bahman and Fasih), a field experiment carried out in Fuman city from Guilan province. The experimental design consisted of factorial experiment based on randomized complete blocks design in three replications. Integrated fertilizer treatments consisted the application of %100 triple super phosphate fertilizer + seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* strain 103, %75 triple super phosphate fertilizer + seed inoculation, %50 triple super phosphate fertilizer + seed inoculation, seed inoculation with bacteria and without fertilizer (control). Plant height, stem diameter, chlorophyll **a** and **b**, plant tissue P and Fe and biological yield were measured. The results showed that increasing phosphorus application increased plant height, stem diameter, chlorophyll **a** and **b**, plant tissue P and biological yield significantly. The maximum of stem height, chlorophyll **b**, plant tissue P and biological yield obtained at seed inoculation + %100 triple super phosphate fertilizer. The maximum of stem diameter, plant tissue Fe and chlorophyll **a** observed at seed inoculation + %75 triple super phosphate fertilizer. Fasih had the highest of stem diameter, chlorophyll **a** and chlorophyll **b** in compared with Bahman. The results of this experiment showed that integrated application %75 chemical fertilizer and biofertilizer improved plant growth and had higher yield.

key Words: Biological yield, chlorophyll, forage barley, iron, pseudomonas

مقدمه

فسفر پس از نیتروژن، مهم‌ترین عنصر مورد نیاز گیاهان و ریزجانداران بوده، و اصلی‌ترین نقش آن در فرایند تولید و انتقال انرژی است (Wagar *et al*., 2004). فسفر مورد نیاز گیاه عموماً از طریق استفاده از کودهای شیمیایی تأمین می‌شود (Whitelaw *et al*., 1999). با این‌وجود مقدار زیادی از فسفر موجود در کودهای شیمیایی بعد از ورود به خاک، نامحلول یا کم‌محلول شده و در خاک‌های آهکی به ترکیب‌های نامحلول کلسیم و منیزیم، و در خاک‌های اسیدی به فسفات آهن و آلومینیوم تبدیل و از دسترس گیاه خارج می‌گردد. علاوه بر مصرف کودهای شیمیایی، یکی دیگر از روش‌های تأمین‌کننده فسفر مورد نیاز گیاهان، استفاده از منابع زیستی است (Moalem *et al*., 2008). کودهای زیستی در مقایسه با کودهای شیمیایی، مزیت‌های قابل‌توجهی دارند. به‌عنوان مثال عدم تولید مواد سمی و میکرب، قابلیت تکثیر خودبه‌خود، بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک از جمله این مزیت‌ها هستند (Moalem *et al*., 2008). این کودها از نظر اقتصادی مقرون به صرفه و از دیدگاه زیست‌محیطی قابل‌پذیرش می‌باشند. مصرف توأم کودهای شیمیایی و زیستی می‌تواند به افزایش راندمان جذب فسفر در گیاه کمک کند (Zabihi *et al*., 2009b).

ریزجانداران حل‌کننده فسفات به گروهی از ریزجانداران خاک‌زی اطلاق می‌گردد که به‌عنوان اجزاء مکمل چرخه فسفر قادرند از طریق مکانیسم‌های مختلف، فسفر را از منابع نامحلول آزاد کنند (SalehRastin, 2004). باکتری‌ها و قارچ‌های حل‌کننده فسفات از جمله ریزموجودات مؤثر در این فرایند شناخته شده‌اند (Vazques *et al*., 2000). باکتری‌های تسهیل‌کننده جذب فسفات قادرند با مکانیسم‌هایی مانند تولید و ترشح اسیدهای آلی به‌ویژه ۲_کتواگزالیک، سیتریک و مالیک در حلالیت فسفات‌های معدنی کم‌محلول مؤثر باشند. به‌علاوه بسیاری از این باکتری‌ها با تولید آنزیم‌های فسفاتاز سبب آزاد شدن فسفر از ترکیب‌های آلی فسفردار می‌شوند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات سبب کنترل زیستی پاتوژن‌های گیاهی (Weller and Thomashaw, 1994)، حلالیت عناصر غذایی (Rodriguez and Fraga, 1999) و سنتز هورمون‌های گیاهی (Gutierrez-Manero *et al*., 2001) نیز می‌شوند. باکتری‌های ریزوسفری افزایش‌دهنده رشد که به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) اطلاق می‌گردد، از جمله منابع زیستی حل‌کننده فسفات می‌باشند که از طریق مستقیم و غیرمستقیم باعث رشد گیاه می‌شوند (Khalid *et al*., 2006). *Pseudomonas* و *Bacillus* از مهم‌ترین انواع PGPR به‌شمار می‌روند (Tilak *et al*., 2006). باکتری‌های سودوموناس، پتانسیل قابل‌توجهی در بهبود کارآیی جذب فسفر از خود نشان داده و به‌علت وسعت انتشار، تنوع گونه‌ای و مقاوم بودن برخی از گونه‌های آن به تنش‌های محیطی توانسته‌اند به‌عنوان کود زیستی مناسب (Kim *et al*., 1989; Loheurte and Betrthlin, 1988) از جایگاه خاصی برخوردار گردند.

جو *Hordeum vulgare* L. یکی از مهم‌ترین غلات است که مصرف دومنظوره دارد. کشت جو با سابقه دیرینه هزاران‌ساله و انتخاب ژنوتیپ‌های سازگار به شرایط محیطی خاص طی ادوار گذشته از یک سو و جنبه‌های مختلف تغذیه آن از سوی دیگر باعث شده است که زراعت این گیاه به‌عنوان

محور اصلی سیستم‌های زراعی در دنیا ارزیابی گردد. در حال حاضر اهمیت جو در دنیا تقریباً برابر گندم بوده، لیکن تولید آن حدود نصف میزان تولید گندم است. غلات بیش‌ترین نیاز را به کودهای شیمیائی دارند؛ بنابراین استفاده از فرآورده‌های زیستی در جهت تغذیه آن‌ها یکی از راه‌حل‌های اساسی و مفید جهت افزایش عمل‌کرد و بهبود کیفیت محصول، تأمین امنیت غذائی، پایداری در تولید و ارتقاء سطح سلامت جامعه در تولید محصولات کشاورزی عاری از هرگونه سم و آفت‌کش به‌نظر می‌رسد. هدف این پژوهش بررسی تأثیر تلفیق باکتری حل‌کننده فسفات ۱۰۳ *P. fluarescens* strain و کاربرد کود حاوی فسفر بر عمل‌کرد و جذب عناصری هم‌چون فسفر در دو رقم جو علوفه‌ای (فصیح و بهمن) بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ در شهرستان فومن در استان گیلان با آرایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار به اجرا درآمد. فسفر در ۵ سطح [تلقیح بذر با *Pseudomonas fluorescence* strain 103 و ٪۱۰۰ کود شیمیایی حاوی فسفر، تلقیح بذر با باکتری و ٪۷۵ کود شیمیایی دارای فسفر (٪۷۵ از کل فسفری که باید به خاک داده شود)، تلقیح بذر با باکتری و ٪۵۰ کود شیمیایی فسفردار (٪۵۰ از کل فسفری که باید به خاک داده شود)، تلقیح بذر با باکتری و بدون استفاده از کود شیمیایی حاوی فسفر، و تیمار بدون تلقیح بذر و بدون استفاده از کود شیمیایی فسفردار (شاهد)] و رقم در دو سطح بهمن و فصیح (این دو رقم در منطقه به‌میزان زیادی مورد کشت‌وکار قرار می‌گیرند) به‌ترتیب به‌عنوان عامل‌های اول و دوم در نظر گرفته شدند. عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم، دیسک و ماله به‌نحو مطلوب قبل از کاشت انجام شد. سپس از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک محل اجرای آزمایش، نمونه‌گیری مرکب به‌عمل آمد، و میزان عناصر غذائی پرمصرف و کم‌مصرف خاک در بخش خاک‌شناسی مؤسسه تحقیقات برنج اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

جدول ۱- برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

بافت خاک	اسیدیته کل pHاشباع	کربن آلی (٪)	فسفر قابل جذبppm	پتاسیم قابل جذب ppm	نیتروژن کل (٪)
سیلتی لومی	۶/۴	۲/۹	۹/۲	۲۵۰	۰/۱۵

پس از ایجاد شیارها، نقشه آزمایش روی زمین پیاده گردید. هر کرت آزمایشی از ۵ ردیف کاشت با تراکم ۳۵۰ بوته در مترمربع تشکیل شد. فاصله بین کرت‌ها ۰/۵ متر و بین تکرارها ۳ متر در نظر گرفته شد. قبل از کاشت، یک‌سوم نیتروژن (از منبع اوره) به‌میزان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و پتاسیم (از منبع سولفات پتاسیم) به‌مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) با مقادیری متناسب با سطح فسفر موردنظر در تیمارها، به کرت‌های آزمایشی اضافه شدند. نیتروژن در دو نوبت دیگر نیز (شروع ساقه‌دهی و شروع گل‌دهی) به‌صورت سرک در اختیار گیاه قرار داده شد.

ریزجانداران (Microrganisms) حل‌کننده فسفات مورد نظر ابتدا در آزمایشگاه زیست‌شناسی مؤسسه تحقیقات خاک و آب فرموله و تهیه شدند. جمعیت باکتری‌های بومی خاک، $۴/۶ \times ۱۰^{۷}$ (جدول ۲) و جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح، $۹/۸ \times ۱۰^{۷}$ برآورد گردید. ماده حامل نیز پرلیت بود. برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت King B استفاده شد. ۴۸ ساعت پس از کشت انفرادی باکتری‌ها، جمعیت آن‌ها به‌روش Plate Count و بر روی محیط‌های اختصاصی شمارش گردید. سپس حجم مساوی از آن‌ها با یک‌دیگر مخلوط شده و مجدداً جمعیت در محیط کشت، شمارش و مایه تلقیح آماده گردید.

در تیمارهایی که بایستی بذرها با این ریزجانداران تلقیح می‌شدند، **جدول ۲- جمعیت باکتری‌ها در درون خاک در محیط کشت‌های مختلف**

عمومی	سودوموناس	آزوسپریلیوم	ازتوباکتر	اسپربر
$۴/۶ \times ۱۰^{۷}$	$۱/۶ \times ۱۰^{۷}$	$۳/۳ \times ۱۰^{۷}$	$۱/۳ \times ۱۰^{۷}$	۲×۱۰^{۶}

پس از محاسبه میزان بذر برای هر تیمار و ریختن بذرهای جو در داخل یک کیسه پلی‌اتیلنی، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر محلول شکر ۲۰ درصد به آن اضافه گردید. آن‌گاه کیسه حاوی بذر و ماده چسباننده برای مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شد تا سطح تمامی بذرها به‌طور یک‌نواخت چسبناک گردد. پس از آن، مقدار ۲۰ گرم از مایه تلقیح به بذرهای چسبناک اضافه شد؛ و پس از ۴۵ ثانیه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یک‌نواخت مایهٔ تلقیح به آن‌ها، بذرهای آغشته به مایه تلقیح بر روی ورقه آلومینیومی تمیز در زیر سایه پهن گردید تا خشک شدند (Somasegaran and Hoben, 1994). سپس به‌سرعت نسبت به کاشت بذرها اقدام شد. کاشت بذرها بر روی خط‌های کاشت در عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متر انجام گرفت. پس از کاشت، بلافاصله آبیاری انجام شد. تمامی عملیات زراعی از قبیل تنک کردن و وجین به‌طور هم‌زمان و به‌نحو مطلوب انجام گردید. ارتفاع بوته، قطر ساقه، وزن خشک بوته (عمل‌کرد زیستی)، میزان کلروفیل‌های a و b و میزان جذب عنصرهای فسفر و آهن در گیاه، از جمله ویژگی‌های مورد بررسی بودند. قبل از به خوشه رفتن گیاه، از ۴ برگ انتهائی ۴ بوته در هر تیمار نمونه‌برداری شد؛ و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. سپس نمونه خشک‌شده، آسیاب شد. اندازه‌گیری فسفر (بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در گیاه به‌روش کالری‌متری انجام گردید. در این روش ابتدا ۲ میلی‌لیتر از محلول عصاره گیاهی را به بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری منتقل کرده، ۵ میلی‌لیتر از محلول آمونیوم مولیبدو وانادات به آن افزوده گردید و به حجم رسانده شد. پس از گذشت نیم‌ساعت، فسفر نمونه‌ها در طول موج ۶۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (Chapman and Part, 1961). میزان اندازه‌گیری عنصر آهن (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در اندام هوایی گیاه، به‌روش خشک (Dry ashing) و ترکیب با اسید هیدروکلریک ۲ نرمال به‌دست آمد (Chapman and Part, 1961). برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته از خط‌کش مدرج استفاده و از ناحیه طوقه تا انتهائی‌ترین بخش ساقه اندازه‌گیری شد. میانگین ارتفاع ۱۰ بوته به‌عنوان میانگین ارتفاع گیاه در آن تیمار در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری قطر ساقه نیز از کولیس استفاده گردید. برای اندازه‌گیری کلروفیل، ابتدا برگ مشخصی در هر بوته، انتخاب و در ازت مایع پودر، و با ۱۰ سی‌سی استون ٪۸۰ مخلوط گردید. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در یخچال قرار داده شدند. سرانجام، نمونه‌ها سانتری‌فوژ و با اسپکتروفتومتر (در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۶ نانومتر) قرائت گردیدند. در پایان با استفاده از فرمول ذیل، میزان کلروفیل‌های a و b (میلی‌گرم بر سانتی‌مترمربع) محاسبه شد (Loheurte and Betrthlin, 1988).

$$\text{کلروفیل a} = ۱۲/۲۵\ A_{663.2} - 2.79\ A_{646.2}$$

$$\text{کلروفیل b} = A_{646.2} - 5.10\ A_{663.2}\ 21.50$$

در زمان برداشت، تمامی بوته‌های سبز در هر کرت از سطح خاک قطع گردیدند. سپس به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با حرارت ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک و به‌عنوان عمل‌کرد زیستی توزین شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و Excel انجام گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها نیز از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد استفاده گردید.

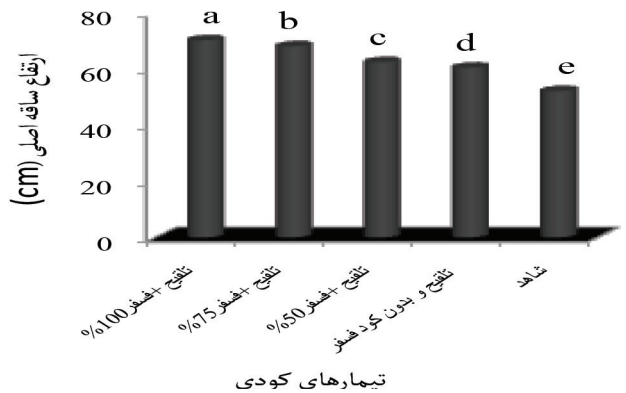
نتایج و بحث

ارتفاع ساقه

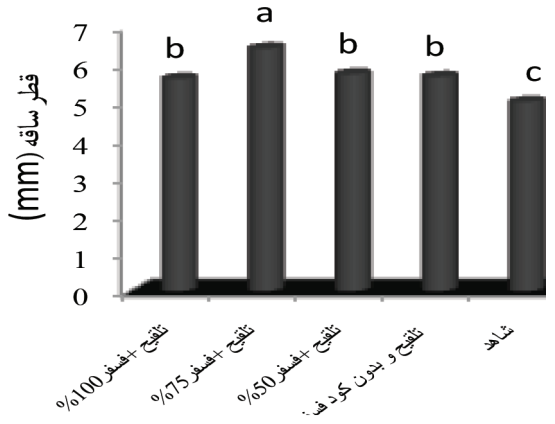
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، نشان داد که تأثیر رقم، کود و برهم‌کنش این دو عامل بر ارتفاع ساقه بسیار معنی‌دار ($P\leq0.01$) بود. مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱) حاکی از آن بود که بیشینه و کمینه ارتفاع ساقه به‌ترتیب از تیمار استفاده از ۱۰۰٪ کود شیمیایی فسفردار و تلقیح با باکتری سودوموناس و تیمار شاهد به‌دست آمد. رقم‌های جو علوفه‌ای (فصیح و بهمن) از نظر ارتفاع ساقه اصلی در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳). رقم‌های مزبور با ۱۰۰ درصد کود شیمیایی حاوی فسفر و تلقیح با باکتری سودوموناس بیش‌ترین و تیمار شاهد کم‌ترین ارتفاع ساقه را داشتند (جدول ۴). به‌نظر می‌رسد که تلقیح میکربی باعث بهبود خصوصیات خاک، قابل‌دسترس بودن آب و عناصر ضروری گیاه از طریق افزایش تعداد گره‌ها و طول میان‌گره‌ها می‌شود؛ و ارتفاع گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Brussard and Ferrera-Cenato, 1997). باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند با سنتز هورمون‌های گیاهی باعث افزایش رشد گیاه شوند؛ به این ترتیب که مراحل اولیه رشد را تحت تأثیر قرار داده و ریشه، حجم بیش‌تری از خاک را اشغال می‌کند و سطح جذب گیاه افزایش می‌یابد (Arcon *et al*., 1976). در یک بررسی، ارتفاع بوته ذرت دورگ (واریته ۷۰۴) تلقیح‌شده با آزوسپریلیوم افزایش یافت (Rousta *et al*., 1998). ارتفاع ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری سودوموناس حدود ۸/۵ درصد بیش‌تر شد (Zahir *et al*., 2002). افزایش ارتفاع ذرت در اثر تلقیح بذر با سودوموناس توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Kapulnik *et al*., 1982).

قطر ساقه

پاسخ قطر ساقه به عامل کودی بسیار معنی‌دار ($P\leq0.01$) بود؛ ولی رقم و برهم‌کنش رقم و کود تأثیری بر قطر ساقه نداشتند (جدول ۲). بیشینه میزان قطر ساقه از تیمار مخلوط ۷۵٪ کود شیمیایی فسفردار و تلقیح با باکتری به‌دست آمد، به‌طوری که تیمار مزبور ۲۸/۲ درصد نسبت به شاهد برتری داشت (شکل ۲). دلیل افزایش قطر ساقه را می‌توان به تجمع مواد و زیست‌توده بالاتر گیاه نسبت داد. هم‌چنین تولید زیست‌توده بالاتر گیاهان تلقیح‌شده با ریزجانداران حل‌کننده فسفات را می‌توان به مشارکت این ریزجانداران در افزایش تغذیه گیاه میزبان درنتیجه افزایش جذب آب و عناصر غذائی مربوط دانست. با توجه به یافته‌های ما مبنی بر بالا بودن غلظت فسفر در بافت گیاهی و بالا بودن وزن خشک گیاه در گیاهان تلقیح‌شده با ریزسازواره‌های تلقیح‌کننده فسفات می‌توان اذعان داشت که افزایش قطر ساقه در این تیمارها دور از انتظار نبود. در ضمن این نتایج به‌روشنی آشکار می‌سازند که مشارکت این ریزجانداران در جذب عناصر و تجمع مواد خشک در گیاه چشم‌گیر است.



شکل ۱- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر ارتفاع ساقه اصلی در جو



شکل ۲- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر قطر ساقه در جو علوفه‌ای

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر رقم، کود حاوی فسفر و باکتری سودوموناس بر پاره‌ای از صفت‌های مورد بررسی در جو علوفه‌ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات MS						
		ارتفاع ساقه	قطر ساقه	کلروفیل a	کلروفیل b	فسفر	آهن	عمل‌کرد زیستی
تکرار	۲	۰/۶^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۰/۰۵^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}	۲۲۲^{ns}
رقم	۱	۵۰/۸**	۰/۰۱^{ns}	۱/۸**	۸/۸**	۲۳/۱**	۰/۰۱^{ns}	۵۹۹**
کود	۴	۳۰۴/۲**	۱/۵**	۱۹۶/۸**	۴۶/۲**	۱۳/۶**	۳/۵**	۱۲۶**
رقم * کود	۴	۱۳/۰۳**	۰/۲^{ns}	۱/۵**	۱/۰^{ns}	۱/۵**	۰/۳**	۷۸۹**
خطا	۱۸	۰/۸	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۲	۰/۰۴	۰/۰۰۱	۵۱۱
ضریب تغییرات	–	۱/۴	۲/۷	۰/۵	۴/۶	۴/۱	۱/۷	۱/۶

Ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۴- مقایسه میانگین صفت‌های مورد بررسی در دو رقم جو علوفه‌ای

رقم‌های جو	ارتفاع ساقه (Cm)	قطر ساقه (mm)	کلروفیلa (mg/m^2)	کلروفیلb (mg/m^2)	فسفر (mg/dl)	عمل‌کرد زیستی (g/m^2)
فصیح	۶۱/۴ b	۵/۷ a	۱۸/۹ a	۱۰/۱ a	۴/۵ b	۴۳۵ b
بهمن	۶۳/۹ a	۵/۷ a	۱۸/۵ b	۱۱/۲ b	۶/۲ a	۴۶۳ a

بر اساس آزمون دانکن اعداد با حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

گزارش شده است که کود زیستی بیوفسفات بر صفت‌های رشدی گیاه اثر معنی‌داری داشته است (Darzi *et al*., 2006). این امر می‌تواند مربوط به تولید و ترشح ترکیب‌های تحریک‌کننده رشد گیاه و یا برخی هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد باشد که توسط ریزموجودات در خاک تولید شده و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار داده است. رقم‌های جو علوفه‌ای از نظر قطر ساقه تفاوتی نداشتند؛ و در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳).

کلروفیل‌های a و b

جدول ۲ نشان می‌دهد که تأثیر رقم و تیمارهای کودی بر افزایش غلظت کلروفیل‌های a و b بسیار معنی‌دار ($P\leq0.01$) شد؛ ولی برهم‌کنش دو عامل رقم و کود بر افزایش غلظت کلروفیل b برگ غیرمعنی‌دار بود. با توجه به جدول ۳ می‌توان بیان کرد که رقم فصیح دارای بیش‌ترین میزان کلروفیل‌های a وb بوده است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشینه مقدار کلروفیلa به‌ترتیب در تیمار تلقیح و ٪۷۵ کود شیمیایی فسفردار، و تیمار تلقیح و ٪۱۰۰ کود شیمیایی حاوی فسفر (شکل ۴) و بیشینه و کمینه مقدار کلروفیل b در تیمار تلقیح و٪۱۰۰ کود شیمیایی فسفردار، و تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۳).

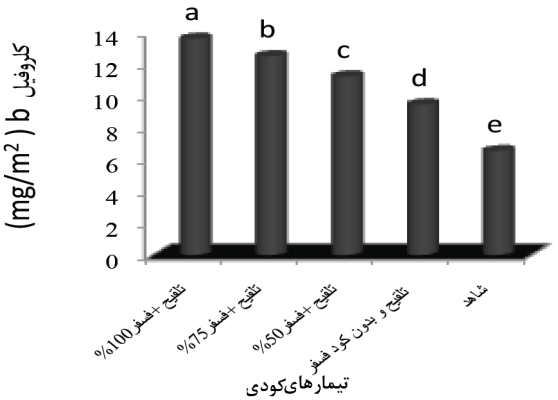
با توجه به جدول ۴ می‌توان گفت که، برهم‌کنش رقم بهمن و ۷۵ درصد کود شیمیایی حاوی فسفر و تلقیح با باکتری سودوموناس با میزان ۲۷/۶ میلی‌گرم بر سانتی‌مترمربع بیش‌ترین، و تیمار شاهد رقم‌های بهمن و فصیح به‌ترتیب با ۱۱/۶ و ۱۲ میلی‌گرم بر سانتی‌مترمربع کم‌ترین میزان کلروفیل a را نشان دادند.

آهن

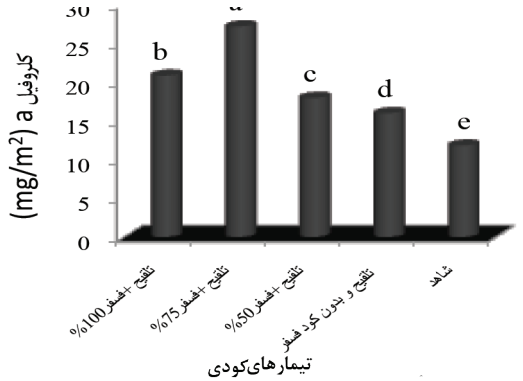
جذب آهن تحت تأثیر تیمار کودی و برهم‌کنش رقم در کود قرار گرفت؛ و تأثیر رقم بر جذب آهن غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲). بیشینه و کمینه میزان جذب آهن به‌ترتیب در تیمار تلقیح باکتری سودوموناس همراه با مصرف ٪۷۵ کود شیمیایی حاوی فسفر و تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۵). با توجه به جدول ۴ می‌توان بیان نمود که رقم‌های بهمن و فصیح با ۷۵ درصد کود شیمیایی و تلقیح با باکتری به‌ترتیب با ۳/۱ و ۳/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در یک گروه آماری قرار گرفتند؛ و بیش‌ترین میزان جذب آهن را نشان دادند. این نتایج دور از انتظار نبود، زیرا *PGPR* توانایی تولید سیدروفور و افزایش سطح آهن را در گیاه دارند. این نتایج با نتایج سایر محققین (Prashan *et al*., 2009) مطابقت داشت. مشخص شده است که باکتری‌های محرک رشد در گندم قادرند با تولید سیدروفور در گیاه تلقیح شده، نقش مهمی در جذب آهن داشته باشند (Rasouli *et al*., 2008). گزارش شده است که باکتری‌های حل‌کننده فسفات سبب افزایش مقدار آهن در تیمارهای تلقیح‌شده با باکتری شدند (Chang and Yang, 2009). به‌نظر می‌رسد که سودوموناس، جذب عناصر معدنی به‌خصوص عناصر کم‌مصرف را از طریق تحریک پمپ پروتونی *ATPase* افزایش می‌دهد (Yang *et al*., 2009).

فسفر

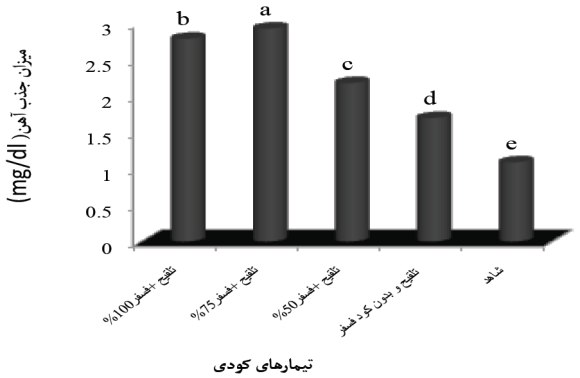
تأثیر تیمارهای کودی و برهم‌کنش دو عامل رقم و سطوح کودی بر افزایش جذب فسفر بسیار معنی‌دار شد (جدول ۲). رقم بهمن از نظر جذب فسفر نسبت به رقم فصیح ۳۹/۳۷ درصد برتری داشت (جدول ۳). بیشینه میزان جذب فسفر به‌ترتیب در تیمار تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنت همراه با مصرف ٪۱۰۰ کود شیمیایی حاوی فسفر و تیمار تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنت همراه با مصرف ٪۷۵ کود شیمیایی فسفردار و کمینه این میزان در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۳- تاثیر تیمارهای مختلف کودی بر کلروفیل b در جو علوفه‌ای



شکل ۴- تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر کلروفیل a در جو علوفه‌ای



شکل۵ - تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر میزان جذب آهن در جو علوفه‌ای

برهم‌کنش رقم در تیمار کودی نشان داد که رقم فصیح در تیمار ۷۵ درصد کود شیمیایی فسفر و تلقیح با باکتری به‌میزان ۸/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بیش‌ترین و رقم‌های فصیح و بهمن در تیمار شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند؛ و به‌ترتیب با ۳/۹ و ۲/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر کم‌ترین میزان جذب فسفر را نشان دادند (جدول ۴).

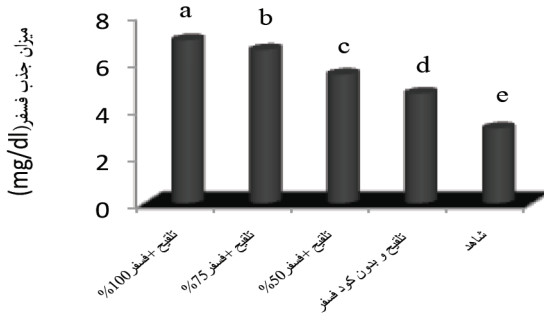
جذب عناصر غذایی توسط گیاه تابع دو عامل رشد سیستم ریشه و فراهمی عناصر غذایی در خاک می‌باشد. بسیاری از محققان نقش اتیلن در تغییرات شکلی (مورفولوژیکی) سیستم ریشه‌ای را بیان کرده‌اند، که خود می‌تواند بر جذب عناصر غذایی توسط ریشه موثر باشد (Afzal *et al*., 2005; Li *et al*., 2000; Glick *et al*., 1995). ساخت اتیلن تا حد زیادی تحت تأثیر قابلیت استفاده عناصر غذایی و به‌ویژه فراهمی فسفر می‌باشد (Shaharoona *et al*., 2006; Arshad and Frankenberger, 2002). بذرهای تلقیح‌شده گندم با باکتری سودوموناس، جذب فسفر و پتاسیم را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (Vazquez *et al*., 2000). بیشینه جذب فسفر در تیمار تلقیح با باکتری سودوموناس به‌همراه ۱۰۰ درصد کود شیمیایی فسفردار مشاهده گردید (Zabihi *et al*., 2009a). نتایج مشابه را می‌توان در تحقیقات Lin و همکاران (۱۹۸۳) و Marty و همکاران (۱۹۸۷) مشاهده کرد.

عمل‌کرد زیستی

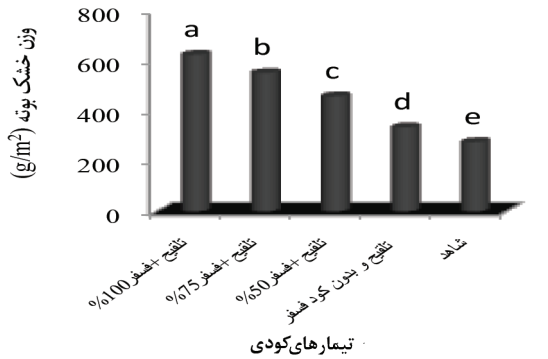
جدول ۲ نشان می‌دهد که تأثیر تیمارهای کودی و رقم و برهم‌کنش آن‌ها بر عمل‌کرد زیستی بسیار معنی‌دار بود. از نظر عمل‌کرد زیستی، رقم بهمن ۶/۴ درصد بر رقم فصیح برتری نشان داد (جدول ۳). با توجه به شکل ۷ می‌توان بیان کرد که تیمار ٪۱۰۰ کود شیمیایی فسفردار و تلقیح به‌نحو قابل‌توجهی بر عمل‌کرد زیستی مؤثر بود. کمینه مقدار این عمل‌کرد در تیمار شاهد (عدم استفاده از کود شیمیایی حاوی فسفر و عدم تلقیح) مشاهده شد. با توجه به جدول ۴ می‌توان گفت که، بیشینه میزان عمل‌کرد زیستی در رقم فصیح در ۱۰۰ درصد کود شیمیایی فسفردار و تلقیح با باکتری به میزان ۴۷۶ گرم بر مترمربع رؤیت گردید؛ و رقم بهمن در ۱۰۰ درصد کود شیمیایی حاوی فسفر و تلقیح با باکتری به میزان ۴۳۴ گرم بر مترمربع در رتبه بعدی قرار گرفت. افزایش وزن خشک بوته (زیست‌توده) ذرت با تلقیح بذر با باکتری ازتوباکتر مشاهده گردید (Tilak *et al*., 1982). افزایش ۱۹/۸درصدی عمل‌کرد ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری سودوموناس گزارش شده است (Zahir *et al*., 1998). افزایش وزن خشک بوته ذرت در اثر PGPR نیز به اثبات رسیده است (Zahir *et al*., 2000). نشان داده شده است که تلقیح بذر نخود با باکتری سودوموناس فلورسنت منجر به افزایش وزن خشک گیاه نسبت به تیمار شاهد شد (Dileep *et al*., 2001). معلوم شده است که تلقیح بذر سویا با باکتری سودوموناس، سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی و جذب عناصر غذایی نسبت به شرایط بدون تلقیح گردید (Zaidi, 2003).

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد که افزایش عمل‌کرد عمدتاً به‌دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آن‌ها بر رشد ریشه بوده که جذب آب و موادغذایی را از خاک بهبود بخشیده است. افزایش در میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه باعث افزایش تجمع ماده خشک گیاه شد. شرایط تغذیه‌ای خاک و متعاقب آن، تعادل کاتیون و آنیون و توانایی جذب عناصر در ریزوسفر، نقش مهمی در ترکیب و مقدار تراوه‌های ریشه به‌خصوص اسیدهای آلی، رشد ریزجانداران و تأثیر آن‌ها بر گیاه میزبان دارد. حتی عناصر غذایی به‌طور مستقیم نیز موجب افزایش رشد و توسعه سیستم ریشه می‌شوند. یافته‌های این تحقیق نشان داد که باکتری‌های محرک رشد همراه با کاربرد ۷۵ درصد کود شیمیائی حاوی فسفر توانستند (به‌دلیل تأثیر بر افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر) منجر به افزایش وزن خشک گردند.



شکل۶ - تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر میزان جذب فسفر در جو علوفه‌ای



شکل۷ - تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر عمل‌کرد زیستی در جو علوفه‌ای

منابع مورد استفاده

1. Afzal, A., M. Ashraf, S. A. Asad and M. Faroog. 2005. Effect of phosphate solubilizing microorganism on phosphorus uptake yield and yield traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) in rainfed area. International Journal of Biological Agriculture, 7: 207-209.
2. Arcon, R., J. M. Barea and D. S. Hayman. 1976. Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria. Soil Biology and Biochememistry, 8: 135-138.
3. Arshad, M. and W. T. Frankenberger Jr. 2002. Ethylene: Agricultural Sources and Applications,. Kluwer Academic Publishers, New York, U.S.A. pp. 342.
4. Brussard. L. and R. Ferrera-Cenato. 1997. Soil Ecology in Sustainable Agricultural Systems. New York: Lewis Publishers, U.S.A. 168p.

5. Chang, C. H. and S. S. Yang. 2009. Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizer preparation. Bioresource Technology, 100: 1648–1658.
6. Chapman, H. D. and P. F. Part. 1961. Method of analysis for soils, plants and waters. University of California. Division of Agriculture Sciences. Pp.309.
7. Darzi, M. T., A. Ghalavand, F. Rejali and F. Sefidkon. 2006. Effects of Biofertilizers Application on Yield and Yield Components in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 22, No. (4): 292-276.
8. Dileep Kumar, S. B., I. Berggren and A. M. Martensson. 2001. Potential for improving pea production by co-inoculation with *Fluorescent Pseudomonas* and Rhizobium. Plant and Soil, 229(1): 25-34.
9. Glick, B. R., D. M. Karaturovic and P. C. Newell. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *pseudomonads*. Canadian Journal of Crop Science, 41: 533-536.
10. Gutierrez-Manero, F. J., B. Ramos-Solano, A. Probanza, J. Mehouachi, F. R. Tadeo and M. Talon. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. Plant Physiology, 111: 206–211.
11. Kapulnik, Y., S. Sarig, A. Nur, Y. Okon and Y. Henis. 1982. The effect of *Azospirillum* inoculation on growth and yield of corn. Israel Journal of Botany, 31: 247-255.
12. Khalid, A., M. Arshad and Z. A. Zahir. 2006. Phytohormones: Microbial production and applications,.In N.Uphoff (ed.), Biological Approaches to Sustainable Soil Systems. pp. 207-220.
13. Kim, K. K., D. Jordan and G. A. MacDonald. 1989. Entro*bacter agglomerans* , phosphate solubilizing bacterial activity in soil: Effect of carbon sources. Soil Biology and Biology and Biochemistry, 89: 995 -1003.
14. Li, J., D. H. Ovakim, T. C. Charles and B. R. Glick. 2000. An ACC deaminase minus mutant of *Enterobacter cloacae* UW4 no longer promotes root elongation. Curr. Microbiology, 41: 101-105.
15. Lin, W., Y. Okon and R. W. F. Hardy. 1983. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. Applied Environmental Microbiology, 45: 1775-1779.
16. Loheurte, F. and J. Betrthlin. 1988. Effect of a phosphate solubilizing bacteria on maize growth and root exudation over four levels of mobile phosphorus. Plant and Soil, 105: 11 – 17.
17. Marty, M. G. and J. K. Ladha. 1987. Differential colonization of *Azospirillum lipoferum* on roots of two varieties of rice *Oryza sativa*. Biological Fertilizer Soils, 4: 3-7.
18. Moalem, A. H. and H. R. Ashaghizadeh. 2008. Application of biofertilizers: premiums and limitations. Abstract book of the Second National Conference on Agroecology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
19. Prashan, S. D., R. Makarand, C. Bhushan, and C. Sudhir. 2009. Sidrophor geniacinetobacter calcoaceticus isolated from wheat rhizosphere with strong PGPR activity. Malaysian Journal of Microbiology, 5(1): 6-12.
20. Rasouli, M. H. S., M. Barin and F. Jalili. 2008. The effect of PGPR inoculation on the growth of wheat. International meeting on soil fertility land management and agroclimatology. Turkey. p:891-898.
21. Rodriguez, H. and R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, 17: 319–339.
22. Rousta, M., N. SalehRastin, and MazaherAsadi. 1998. Effect of active *Azospirillum lipoferom* in some of soils in Iran. Iranian Journal of Crop Sciences, 29: 85-98.
23. SalehRastin, N. 2004. Effect of biofertilizers in sustainable agriculture (Proceeding of papars, second publications). Eds: Khavazi, K., Asadi Rahmani, H., and Malakouti, M. J. pp. 5-32. Water and Soil Research Institute, Agricultural Research and Education Organization, Ministry of Agriculture, 439p.
24. Shaharoona, B., M. Arshad and Z. A. Zahir. 2006. Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vignaradiate* L.). Lett. Applied Microbiology, 42: 155-159.
25. Somasegaran, P., and H. J. Hoben. 1994. Hand book for rhizobia: Methods in legume-*Rhizobium* technology. New York: Springer-Verlag, U.S.A.
26. Tilak, K. V. B. R., C. S. Singh, V. K. Roy and N. S. S. Rao. 1982. *Azospirillum brasilense* and *Azotobacter chroococcum* inoculum: effect on yield of maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor*). Soil Biology and Biochemistry, 14: 417-418.
27. Tilak, K. V. B., N. Ranganayaki, K. K. Pal, R. De, A. K. Saxena, C. Shekhar nautiya, S. Mittal, A. K. Tripathi and B. N. Johri. 2006. Diversity of plant growth and soil health supporting bucteria. Current Science, 89: 136-150.
28. Vazques, P., G. Holguin and M. E. Puente. 2000. Phosphate solubilizing microorganism associtated with the rhizosphere of mangroves in semi arid coast allagoon. Biology Fertility of

Soils, 30: 460-468.

29. Wagar, A., B. Shahroona, Z. A. Zahir and M. Arshad. 2004. Inoculation with Acc deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat. Pakistan Journal of Agriculture, 41: 119-124.
30. Weller, D. G. and L. S. Thomashow. 1994. Current challenges in introducing beneficial microorganisms into rhizosphere. In: O'Gara, F., Dowling, D. N., Boesten, B. (Eds.), Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs.VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, pp. 113.
31. Whitelaw, M. A., T. Y. Harden and K. R. Helya. 1999. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. Soil Biology and Biochemistry, 31: 655-665.
32. Yang, J., J. W. Kloepper and C. M. Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends Plant Sci. 14: 1- 4.
33. Zabihi, H.R., Savaghebi, G.R., Khavazi, K., and Ganjali, A. 2009a. Investigation from the effect of application of *Pseudomonas fluorescence* strains on yield and yield components of wheat in salinity different levels of soil. Journal of Agricultural Sciences and Technology, 23 (1): 199-208.
34. Zabihi, H.R., Savaghebi, G.R., Khavazi, K., and Ganjali, A. 2009b. Response of wheat growth and yield to application of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of phosphorus fertilization. Journal of Iranian Agricultural Research, 7 (1): 41-51.
35. Zahir, A. Z., M. Arshad and A. Khalid. 1998. Improving maize yield by inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. Pakistan Journal of Soil Science, 15: 7- 11.
36. Zahir, A. Z., S. A. Abbas, A. Khalid and M. Arshad. 2000. Substrate dependent microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedlings. Pakistan Journal of Biological Science, 3: 289-291.
37. Zahir, A. Z., M. Arshad and W. F. Frankenberger. 2002. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 81:97-168.
38. Zaidi, S. F. A. 2003. Inoculation with Bradyrhizobium japonicum and fluorescent Pseudomonas to control Rhizoctonia solani in soybean [*Glycine max* (L) Merr]. Annals-of-Agricultural-Research, 24: 151-153.
39.