تاثیر کود نیتروژن و *ازتوباکتر* بر برخی خصوصیات کمی و کیفی توتون گرمخانه‌ای (*Nicotiana tabacum* L.)

محمد علی ثابتی امیرهنده[1*]، علیرضا فلاح نصرت آباد[2]، مهدی نوروزی[3]، ابراهیم امیری[4] و ابراهیم آذرپور[5]

تاریخ دریافت: 90/5/2 تاریخ پذیرش: 91/1/22

1- محقق، مرکز تحقیقات توتون گیلان، رشت

2- استادیار، موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج

3- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

4- دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان

5-دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

* مسئول مکاتبه: Email: alisabet60@yahoo.com

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر مقادیر کود نیتروژن و *ازتوباکتر* کروکوکوم بر صفات کمی و کیفی توتون در سال زراعی 1388 در مرکز تحقیقات توتون رشت‌به اجرا درآمد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل مقادیر کود نیتروژن (صفر، 15، 30 و45 کیلوگرم در هکتار) از منبع نیترات آمونیوم و مایه *ازتوباکتر* کرکوکوم (صفر، 1 و 2 کیلوگرم در هکتار) بود. نتایج نشان داد که کاربرد کود نیتروژنه بر خصوصیات کمی (بجز تعداد برگ، عرض برگ و شاخص سطح برگ)، جذب نیتروژن و خصوصیات کیفی توتون اثر معنی‌دار گذاشت. مصرف کود نیتروژن به طور معنی‌داری موجب افزایش وزن خشک توتون در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف کود نیتروژن) شد. به علاوه تلقیح ریشه توتون با *ازتوباکتر* به طورمعنی‌داری بر وزن خشک پابرگ، قیمت یک کیلوگرم توتون، جذب نیتروژن و خصوصیات کیفی توتون نیز تاثیر داشت. همچنین با افزایش کود نیتروژن و ازتوباکتر مقدار نیتروژن و نیکوتین افزایش و مقدار قند نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. تیمار N4B3 (45 کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و 2 کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر*) بیشترین مقدار نیکوتین در پابرگ و کمترین مقدار قند در لچه برگ را داشت. بیشترین قیمت یک کیلوگرم توتون نیز متعلق به تیمار N3B2 (30 کیلوگرم در هکتار کود نیتروژنه و یک کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر*) بود. بطور کلی تلقیح ازتوباکتر کرکوکوم در سطوح پایین کود نیتروژن باعث افزایش خصوصیات کیفی توتون شد که از نظر اقتصادی بسیار موثر بود.

واژه‌های کلیدی: *ازتوباکتر* کرکوکوم، توتون، قند، نیتروژن، نیکوتین

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of Nitrogen Fertilizer and *Azotobacter* on some Quantitative and Qualitative Characteristics of (flue-cured) Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)

MA Sabeti Amirhandeh[1*], AR Fallah Nosrat Abad [2], M Norouzi [3], E Amiri [4] and E Azarpour [5]

Received: July 24, 2011 Accepted: April 10, 2012
[1]Researcher, Guilan Tobacco Research Center, Rasht, Iran
[2]Assist. Prof., Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran
[3]Former MSc Student, Dept. of Soil Sci., Univ. of Guilan, Rasht, Iran
[4]Assoc. Prof., Islamic Azad Univ., Lahijan, Iran
[5]Former MSc Student, Dept. of Agron., Islamic Azad Univ., Lahijan, Iran
Corresponding author: Email: Alisabet60@yahoo.com

Abstract

This study was carried out at tobacco Research Institute in Rasht during the cultivation year 2008 in order to investigate on the effects of nitrogen fertilizer level and *Azotobacter chroococcum* on quantitative and qualitative characteristics of tobacco as a factorial trial and randomized completely block design (RCBD). Four levels of nitrogen fertilizer (non fertilizer, 15, 30 and 45 $kgha^{-1}$) and three levels of *Azotobacter chroococcum* (non inoculation and 1 and 2 $kgha^{-1}$) with three replications were applied. Results indicated that application of nitrogen fertilizer had significant effect on quantitative characteristics (except number and width of leaf and leaf area index), nitrogen uptake and qualitative characteristics. Application of nitrogen significantly increased dry weight of tobacco in comparison with control treatment (non nitrogen fertilizer). Inoculation of roots with *Azotobacter* had significant effect on dry weight of priming, the price per kg, nitrogen uptake and qualitative characteristics. Moreover, application of nitrogen fertilizer and *Azotobacter* significantly increased nitrogen uptake and nicotine and significantly decreased sugar in comparison with the control. In addition, N4B3 (with 45 $kgha^{-1}$ N fertilizer and 2 $kgha^{-1}$ bacterium) treatment had maximum content of nicotine in priming, and minimum content of sugar in tips. Furthermore, N3B2 (with 30 $kgha^{-1}$ N fertilizer and 1 $kgha^{-1}$ Azotobacter) led to maximum price per kg tobacco. Azotobacter inoculation was economically most efficient at lower doses of fertilizer nitrogen which increased tobacco yield qualitative characteristics.

Keywords: *Azotobacter chroococcum*, Nicotine, Nitrogen, Sugar, Tobacco

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

توتون یکی از محصولات با ارزش کشاورزی و صنعتی است که در شرایط مختلف آب و هوایی در بیش از صد کشور دنیا کشت می‌شود و در اقتصاد بعضی از آن‌ها تاثیر بسزایی دارد (تسو 2005). با اینکه توتون امروزه یکی از گیاهان صنعتی مهم در سطح جهان محسوب می‌شود، اما به علت سیمای منفی آن در زمینهٔ تولید سیگار مورد بی‌مهری بسیاری از محققین قرار می‌گیرد. با این وجود گیاه توتون در حال حاضر کاربردهای دیگری نیز دارد. به عنوان مثال استخراج نیکوتین از این گیاه در سطح وسیعی صورت می‌گیرد و در زمینه بیوتکنولوژی نیز به عنوان گیاه مدل استفاده می‌شود (چاولا 2003). در آینده نیز به علت بیوماس بالا می‌تواند کاربردهای بیشتری در زمینهٔ تولید مواد مختلف با استفاده از خاصیت تراریختی داشته باشد (دیمانو 2001). سطح زیر کشت توتون در دنیا 3/69 میلیون هکتار و تولید سالانه آن 6/88 میلیون تن در هکتار می‌باشد. توتون معمولی را بر اساس روش خشک کردن به انواع گرمخانه‌ای، هوا خشک، آفتاب خشک و آتش خشک تقسیم می‌نمایند. توتون گرمخانه-ای که با جریان هوای گرم خشک می‌شود و با نامهای روشن و ویرجینیا نیز شناخته می‌شود، دارای برگ‌هایی به رنگ زرد تا نارنجی با مقدار قند بالا، مزه کمی اسیدی، نیکوتین کم تا متوسط و خصوصیات سوختن ملایم می‌باشد (خواجه پور 1385). مراحل خشک کردن توتون گرمخانه‌ای شامل زرد شدن، تثبیت رنگ، خشک شدن برگ و خشک شدن رگبرگ‌ها می‌باشد. این دوره 5 تا 7 روز طول می‌کشد و طی آن حدود 97 درصد از رطوبت برگ گرفته می‌شود. این نوع توتون با سایر انواع اختلاط داده شده و بیشتر در تولید سیگار معمولی و به مقدار کمی در تولید توتون پیپ، جویدن و سیگار برگ مصرف می‌شود. کمیت و کیفیت برگ توتون به شدت تحت تاثیر مقدار و موازنه عناصر غذایی در خاک و گیاه قرار دارد. نیتروژن علاوه بر اینکه در مهم‌ترین ترکیبات حیاتی نظیر اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئوئیک مشارکت دارد، جزء مهمی از مولکول‌های کلروفیل و روبیسکو بوده و رشد سبزینه‌ای گیاه را افزایش می‌دهد. نیتروژن از مهم‌ترین عناصر غذایی رشد توتون می‌باشد، به طوری که کمبود نیتروژن موجب افزایش نسبت قندها به آلکالوئیدها، کوچکی بوته‌ها، زودرسی برگ‌های مسن و کاهش عملکرد؛ و زیادی نیتروژن در گیاه موجب افزایش مقدار نیکوتین، آلکالوییدها، نیتروژن- نیتروزامین (ماده‌ای سرطان‌زا)، بد رنگ شدن، بد سوختن و آلودگی‌های زیست محیطی می‌شود (تسو 2005). همچنین زیادی نیتروژن سبب افزایش احتمال گسترش بیماری‌ها، ایجاد بوته‌های بزرگ، تاخیر در رسیدگی و افزایش پاجوش‌دهی، مشکلات برداشت و خشک کردن توتون می‌شود. با توجه به مطالب گفته شده زیادی و کمی نیتروژن نامطلوب می‌باشد. در نشست فائو در سال 1996 کشورها در خصوص امنیت غذایی به تامین غذای کافی، سالم و عاری بودن آن از هر نوع آلاینده از قبیل نیترات متعهد شدند (ملکوتی و همکاران 1387). مصرف زیاد کودهای شیمیایی، در سال‌های اخیر موجب ایجاد نگرانی‌هایی در بخش کشاورزی، محیط زیست، صنعت و بهداشت شده است. آلودگی آب‌های زیرزمینی به نیترات یکی از چالش‌های اساسی محیط زیست در قرن حاضر محسوب می‌شود. اراضی کشاورزی به دلیل مصرف بی رویه کودهای نیتروژن‌دار، از منابع عمده آلوده کننده آب‌های زیرزمینی به نیترات به شمار می‌روند. بالا بودن غلظت نیترات در اندام‌های قابل مصرف گیاهان نیز بسیار حائز اهمیت می‌باشد (ملکوتی و همکاران 1387). در دو دهه گذشته طیف وسیعی از باکتری‌های خاک در ریزوسفر شناخته شده‌اند، که می‌توانند رشد بسیاری از گونه‌های گیاهی مهم را از نظر زراعی بهبود بخشند، این گروه پراکنده از نظر سیستماتیکی، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهان خوانده می‌شوند (باشان و هولگین 1997). مطالعات نشان داده است که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به طور مستقیم از طریق تثبیت بیولوژیک نیتروژن و تولید هورمون‌های رشد (یوسف و همکاران 2004، هان و لی 2005، توران و همکاران 2006)، موجب افزایش میزان جذب و دسترسی به مواد غذایی (لادها و ریدی 2003) و کاهش اثرات مضر

Archive of SID

www.SID.ir

بیماریهای گیاهی به کمک روش های آنتاگونیستی (نیکولای و همکاران 2006) می‌شوند. *ازتوباکتر* کروکوکوم یک باکتری آزادزی تثبیت کننده نیتروژن هوا می‌باشد که در گیاهان مختلف باعث افزایش محصول، دانه و غلظت نیتروژن برگ می‌شود (امتیازی و همکاران 2004). افزایش عملکرد توتون در اثر افزایش مصرف کود نیتروژن، چنانچه با بهبود صفات کیفی آن-ها به عنوان مثال از نظر مقدار آلکالوئیدها همراه باشد، می‌تواند نتایج اقتصادی مطلوبی داشته و قیمت واحد وزن توتون و درآمد ریالی آن در هکتار را افزایش دهد.

با توجه به این‌که عملکرد در توتون بر پایه رشد سبزینه‌ای و میزان تولید برگ استوار است، تاثیر کود ازته و *ازتوباکتر* بر عملکرد در این محصول می‌تواند حائز اهمیت باشد. هدف از این تحقیق، مطالعه اثر مقادیر مختلف کود نیتروژن و تلقیح *ازتوباکتر* کروکوکوم بر عملکرد کمی و کیفی توتون می‌باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال زراعی 1388 در مرکز تحقیقات توتون گیلان در رشت (عرض جغرافیایی 37 درجه و 16 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 41 درجه و 36 دقیقه شرقی) به اجرا در آمد. فاکتورهای آزمایش شامل کود ازته خالص در چهار سطح (صفر=N1، N2=15، N3=30 و N4=45 کیلوگرم در هکتار از منبع نیترات آمونیم) و تلقیح *ازتوباکتر* کروکوکوم در سه سطح (صفر=B1، B2=1 و B3=2 کیلوگرم در هکتار) در نظر گرفته شد. رقم انتخاب شده کوکر 347 (Coker 347) بود. زمین آزمایش (2000 متر مربع) پس از شخم، دیسک و تسطیح اولیه آماده شد. سپس گیاه توتون با تراکم 20000 بوته در هکتار (فاصله بین ردیف 100 سانتی متر و فاصله روی ردیف 50 سانتی متر) در کرتهایی به ابعاد 5×6 متر کاشته شد. فاصله بین کرت‌ها 1/5 متر و فاصله بین تکرارها از همدیگر 2/5 متر انتخاب شد. نشاکاری در نیمه دوم اردیبهشت ماه انجام شد. کنترل علفهای هرز قبل و بعد از کاشت بوسیله بیل مخصوص انجام گرفت. بر اساس توصیه کودی ایستگاه تحقیقات توتون، کودهای فسفره (96 کیلوگرم P_2O_5 در هکتار) و پتاسه (200 کیلوگرم K_2O در هکتار) بر اساس آزمون خاک برای تمام تیمارها اعمال شد. کود ازته نیز در دو مرحله (دوسوم در زمان نشاکاری و یک سوم باقی مانده سی روز پس از نشاکاری) بصورت خطی پای بوته (عمق 10 سانتی‌متر) به خاک داده شد. جدول 1 خصوصیات مورد مطالعه خاک را قبل از کودپاشی نشان می‌دهد. کود *ازتوباکتر* به کار رفته در این آزمایش به صورت جامد پودری در موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد که حاوی 10^8 سلول در هر گرم مایه بود. روش مصرف این مایه به این صورت است که ابتدا محلول ساکارز 20 درصد تهیه شد و بعد پودر باکتری به آن اضافه و کاملاً مخلوط گردید و سپس ریشه‌های گیاه توتون را قبل از نشاکاری به مدت 5 دقیقه در این مخلوط آغشته شد. خصوصیات مورد ارزیابی در این مطالعه وزن خشک، ارتفاع، تعداد برگ، طول برگ، عرض برگ، شاخص سطح برگ، قیمت یک کیلوگرم توتون، درصد نیتروژن، نیکوتین و قند می‌باشد. نمونه‌برداری در زمان رسیدگی صنعتی از سه قسمت برگ (پابرگ، کمربرگ و لچه برگ) گیاه توتون به صورت جداگانه (شکل 1) و در پنج چین انجام شد و به واحدهای مربوطه جهت توزین، عمل‌آوری و خشکانیدن انتقال یافت. سطح برگ گیاهان در این آزمایش توسط دستگاه سطح برگ سنج (مدل GA-5 ساخت شرکت OSK ژاپن) در مرحله ای که گیاه توتون حداکثر رشد را داشته و بیشترین پوشش را بر سطح زمین داشت، اندازه‌گیری شد. قیمت یک کیلوگرم توتون در نمونه-های مربوط به هر طبقه از برگ‌ها بر اساس جدول نرخ خرید تضمینی توتون تعیین شده از سوی شرکت دخانیات ایران برای سال آزمایش 1388 تعیین شد.

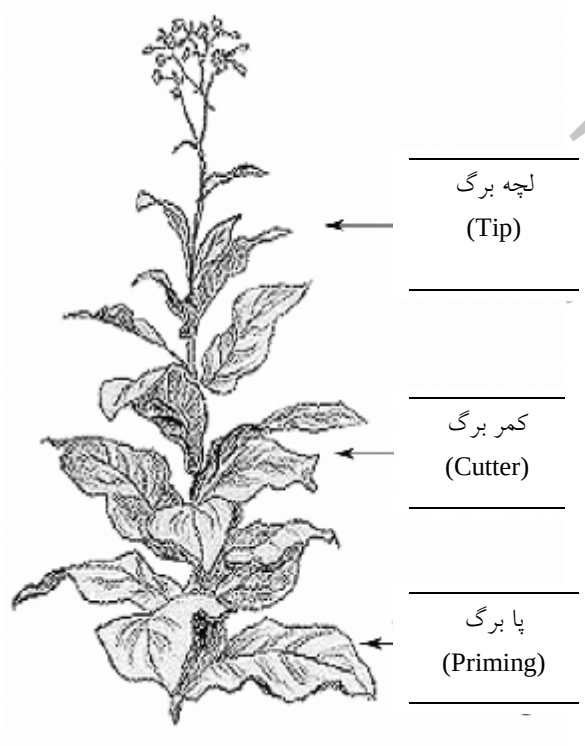
درصد نیتروژن برگ پس از نمونه‌برداری گیاهی و هضم به وسیله اسید سولفوریک از روش کجلدال اندازه‌گیری شد (برمنر 1996). درصد قند و نیکوتین چین‌های مختلف برگ خشک توتون به ترتیب به روش برتراند و تقطیر با بخار آب با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شده است (کورستا 1994a، کورستا 1994b).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1- مشخصات خاک محل اجرای آزمایش

عمق (cm)	بافت خاک	هدایت الکتریکی ($dS\ m^{-1}$)	pH	نیتروژن کل (%)	فسفر قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب ($mg\ kg^{-1}$)
0-30	لومی	0/37	6/5	0/07	25	185



شکل 1- موقعیت برگ‌های گیاه توتون

این مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل 3×4 (سطوح باکتری × سطوح نیتروژن) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی (RCBD)، با سه تکرار اجرا شد. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SAS اجرا شد (SAS Institute 2002). مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال 0/05 انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مرتبط با وزن خشک گیاه مشخص کرد که مقادیر کود نیتروژن تاثیر معنی‌داری ($P<\%5$) بر وزن خشک گیاه در پا برگ و لچه برگ و بر وزن خشک گیاه در کمر برگ و کل ($P<\%1$) دارد (جدول 2). در حالیکه *ازتو باکتر کروکوکوم* فقط بر وزن خشک گیاه در پا برگ معنی‌دار ($P<\%5$) می‌باشد (جدول 2). مقایسه میانگین داده‌ها (جدول 4) نشان داد بیشترین وزن خشک گیاه

www.SID.ir

در پا برگ، کمر برگ، لچه برگ و کل مربوط به تیمار 45 کیلوگرم کود نیتروژنه بود که (به ترتیب 23، 32، 26 و 27 درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد (بدون مصرف کود نیتروژن) داشتند. که البته با سایر تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین کمترین وزن خشک گیاه در پا برگ، کمر برگ، لچه برگ و کل مربوط به تیمار شاهد بود. کمبود نیتروژن تجمع ماده خشک را به شدت کاهش می‌دهد، لذا مصرف کود نیتروژن موجب افزایش وزن خشک گیاه می‌گردد. نتایج فوق با نتایج آزمایشات کاراوازوگلو و همکاران (2005)، کاراوازوگلو و همکاران (2007) و لی ون و همکاران (2008) در مورد اثر مثبت نیتروژن بر وزن خشک گیاه توتون مطابقت دارد. کاربرد *ازتوباکتر کروکوکوم* تنها اثر معنی‌داری ($P<\%5$) بر وزن خشک پابرگ داشت. به‌طوریکه با افزایش ازتو باکتر مقدار وزن خشک پابرگ به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول 4). به علاوه اثر متقابل مقادیر کود نیتروژن و باکتری *ازتوباکتر* بر روی وزن خشک گیاه در تمامی بخش‌های برگ گیاه و کل معنی‌دار نبود (جدول 2).

ارتفاع گیاه: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول 2) نشان داد که مقادیر کود نیتروژن اختلاف معنی‌داری ($P<\%1$) بر ارتفاع گیاه دارد ولی اثر مقادیر *ازتوباکتر کروکوکوم* و اثر متقابل مقادیر کود نیتروژن و ازتوباکتر معنی‌دار نبود (جدول 2). در میان مقادیر کود نیتروژن، گیاهان با تیمار مصرفی 45 کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار با 147 سانتیمتر بیشترین ارتفاع را داشتند. البته این تیمار کودی با تیمار 30 کیلوگرم در هکتار اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول 4). نیتروژن به واسطه نقشی که در تولید و صدور هورمون سیتوکنین از ریشه به اندام‌های هوایی دارد، موجب افزایش سرعت تقسیم سلولی و رشد و ارتفاع گیاه می‌شود (کاراوازوگلو و همکاران 2005). نتایج مشابه با این تحقیق نیز در گزارشات کاراوازوگلو و همکاران (2005) و کاراوازوگلو و همکاران (2007) در مورد اثر مقادیر کود نیتروژن بر صفت ارتفاع بوته توتون دیده می‌شود.

تعداد برگ: همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود مقادیر کود نیتروژن و *ازتوباکتر کروکوکوم* و همچنین اثر متقابل آنها بر این صفت غیرمعنی‌دار می‌باشد. کاریوازوگلو و همکاران (2005) بیان کردند که افزایش کود نیتروژن تا 50 کیلوگرم در هکتار تاثیری بر تعداد برگ ندارد و در اثر مصرف 70 کیلوگرم نیتروژن در هکتار تعداد برگ توتون افزایش می‌یابد. اصل مهمی که در کشت و کار توتون وجود دارد این است که کیفیت برگ در توتون بسیار مهمتر از تعداد آن است. لذا یک بوته با تعداد برگ کم و اندازه بزرگتر برگ از نظر عملکرد برگ سبز و کیفیت برگ مطلوب‌تر خواهد بود.

طول برگ: جدول تجزیه واریانس (جدول 2) نشان می‌دهد که طول برگ در سطح احتمال 5 درصد تحت تاثیر مقادیر کود نیتروژن قرار گرفت ولی اثر ازتوباکتر و اثر متقابل مقادیر کود نیتروژن و ازتوباکتر بر این صفت غیرمعنی‌دار بود. گیاهان تیمار مصرفی صفر کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار کمترین طول برگ را داشتند، این در حالی بود که بیشترین طول برگ در تیمارهای کودی مشاهده شد (جدول 4). افزایش کود نیتروژن در خاک تا یک حد معینی موجب افزایش طول برگ می‌شود و بیشتر از آن حد تاثیری در طول برگ نخواهد داشت (کولسون 1959، کورت و همدل 1986 و کریک و همکاران 1994). برگ‌های طویل تر موجب تولید بیشتر قندها می‌شوند (لادها و ریدی 2003).

عرض برگ: نتایج داده‌های مربوط به خصوصیت عرض برگ در این مطالعه نشان داد که مقادیر کود نیتروژن و *ازتوباکتر کروکوکوم* و هم چنین اثر متقابل آن‌ها همانند خصوصیت تعداد برگ از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول 2). این نتیجه با گزارش قلی زاده و همکاران (1389) مطابقت دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات کمی اندازه گیری شده توتون

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک برگ		وزن خشک کل	ارتفاع گیاه	تعداد برگ	طول برگ	عرض برگ	شاخص سطح برگ	قیمت ۱ کیلوگرم
		بالا برگ	کمر برگ	لهجه برگ						
تکرار	۲	۴۵۳۷	۴۱۷۱۵	۲۶۴۸۲ ns	۱۲۲/۸۶	۲/۳۳۳	۹/۳۶	۲/۵۸۲	۰/۱۲۸	۴۷۲/۲۲
نیتروژن	۲	۹۴۸۴ ns	۳۷۷۱۴ ns	۲۸۶۲۷ ns	۳۹۱/۶۵ ns	۵/۳۶۱	۷۶/۰۷ ns	۷/۷۳۱	۰/۷۶۲ ns	۲۷۱۵۰۰ ns
باکتری	۲	۹۱۰۳ ns	۲۰۰۴	۱۶۴۷	۹۶/۰۲	۵/۰۸۳	۲۷/۶۹	۷/۵۸۲	۱/۳۹۵	۴۲۹۵۳۶ ns
نیتروژن × باکتری	۶	۲۳۶۴	۷۲۷۷	۱۰۲۱۵	۱۲۳/۲۱	۴/۵۲۷	۲۷/۷۶	۵/۵۰۹	۰/۱۹۲۶	۱۲۲۵۲۳۲ ns
خطا	۲۲	۲۵۷۱	۷۴۷۵	۸۵۶۱	۷۷/۸۶	۲/۴۸۴	۱۷/۰۸	۴/۲۸	۰/۵۸۹	۴۵۰۲/۸۹
ضریب تغییرات (٪)		۱۶	۲۱	۱۹	۶/۳۴	۶/۷۷	۹/۰۹	۱۰	۲۳	۱

ns ، * و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

of SID

www.SID.ir

شاخص سطح برگ: یکی از شاخص‌های مهم رشد که از آن به عنوان معیار اندازه‌گیری سیستم فتوسنتزی استفاده می‌کنند، شاخص سطح برگ است. شاخص سطح برگ با عملکرد بیولوژیک و اقتصادی مرتبط بوده و افزایش آن باعث دستیابی به عملکرد بالاتر می‌شود (سینگ و همکاران 1997). نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول 2) که شاخص سطح برگ در سطح احتمال 5 درصد تحت تاثیر مقادیر کود نیتروژن قرار گرفت به طوری که کمترین شاخص سطح برگ، در تیمار مصرفی صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار (2/62) مشاهده شد و سایر تیمارهای کودی در یک گروه قرار گرفتند (جدول 4). اثر مقادیر *ازتوباکتر* کروکوکوم و اثر متقابل مقادیر کود نیتروژن و ازتو باکتر بر این صفت بی معنی بود. در آزمایشات آنگلینو و همکاران (2004) همانند این آزمایش با افزایش مصرف کود نیتروژن، شاخص سطح برگ توتون افزایش یافت.

قیمت یک کیلوگرم توتون: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به قیمت یک کیلوگرم توتون (جدول 2) نشان داد که این صفت تحت تاثیر مقادیر مختلف کود نیتروژن، *ازتوباکتر* کروکوکوم و همچنین اثر متقابل این عوامل قرار گرفت (P<%1). به طوری که در میان مقادیر مختلف کود نیتروژن تیمار مصرفی 30 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (8164 ریال) و در میان مقادیر مختلف *ازتوباکتر* کروکوکوم، تیمار مصرفی 2 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (8352 ریال) بالاترین قیمت یک کیلوگرم توتون را به خود اختصاص دادند و سایر تیمارها در رتبه بعدی قرار گرفتند (جدول 4). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل داده‌ها نیز نشان داد که بالاترین قیمت یک کیلوگرم توتون (9652 ریال) در تیمار N3B2 (30 کیلوگرم در هکتار از کود نیتروژنه و 1 کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر*) و پایین ترین قیمت یک کیلوگرم توتون (6638 و 6733 ریال) به ترتیب در تیمارهای N4B1 و N4B3 حاصل شد (شکل 2). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش کود نیتروژنه از منبع معدنی و زیستی فقط تا محدوده خاصی موجب افزایش قیمت یک کیلوگرم توتون می‌شود و مصرف بیشتر آن با توجه به کاهش کیفیت برگ توتون موجب کاهش قیمت یک کیلوگرم توتون می‌شود.

درصد جذب نیتروژن: یون‌های نیترات و آمونیم دو شکل اصلی نیتروژن هستند که به وسیله گیاهان جذب می‌شوند (ریوس گونزالز و همکاران 2002). نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول 3) نشان داد که میزان درصد جذب نیتروژن در پابرگ، کمربرگ و لچه-برگ به شدت تحت تأثیر مقادیر کود نیتروژن و *ازتوباکتر* کروکوکوم قرار گرفت (P<%1). در میان مقادیر کود نیتروژن، بیشترین جذب نیتروژن در پابرگ، کمربرگ و لچه‌برگ در تیمار مصرفی 45 کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود که به ترتیب 29، 31 و29 درصد افزایش را نسبت به تیمار شاهد (کمترین جذب نیتروژن) داشت (جدول 5). همچنین کاربرد 2 کیلوگرم در هکتار از *ازتوباکتر* کروکوکوم در پابرگ، کمربرگ و لچه‌برگ به ترتیب باعث افزایش 10، 9 و 8 درصدی نیتروژن نسبت به تیمار شاهد شد (جدول 5) و با آن اختلاف معنی‌داری داشت. در این مطالعه میزان جذب نیتروژن در لچه‌برگ نسبت به کمربرگ و پابرگ بیشتر بود، این را می‌توان به محل قرارگیری برگ در طول ساقه گیاه و زمان جذب نیتروژن نسبت داد (الیوت 1970).

درصد نیکوتین: مهم‌ترین ماده شیمیایی توتون نیکوتین می‌باشد که نقش آلکالوئیدی دارد، بیشترین تجمع نیکوتین در کناره برگ است و کمترین آن در وسط برگ می‌باشد (تسو 2005). نیکوتین در ریشه ساخته می‌شود و سپس به برگ‌ها منتقل می‌شود (تسو 2005). در این آزمایش مقادیر کود نیتروژن بر صفت درصد نیکوتین پا برگ، کمر برگ و لچه برگ توتون در سطح احتمال 1 درصد معنی دار می‌باشد، نتایج نشان داد که مقادیر *ازتوباکتر* کروکوکوم بر درصد نیکوتین پابرگ و لچه برگ (P<%1) و بر درصد نیکوتین کمر-برگ (P<%5) معنی‌دار می‌باشد (جدول 3). جدول

Archive of SID

www.SID.ir

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول 5) نشان داد که تیمار مصرفی 45 کیلوگرم نیتروژن در هکتار بیشترین مقدار نیکوتین را در پابرگ، کمربرگ و لچه‌برگ را داشت. کاربرد این تیمار در پابرگ، کمربرگ و لچه‌برگ به ترتیب 40، 32 و 30 درصد افزایش را نسبت به تیمار شاهد نشان داد. کمترین درصد نیکوتین پا برگ، کمر-برگ و لچه برگ در تیمار شاهد بدست آمد (جدول 5). همچنین کاربرد *ازتوباکتر* نیز باعث اختلاف معنی‌دار نیکوتین در پابرگ، لچه برگ (P<%1) و کمربرگ (P<%5) شد (جدول 3). بیشترین مقدار نیکوتین در صورت کاربرد *ازتوباکتر* در تیمار 2 کیلوگرم در هکتار از *ازتوباکتر* مشاهده شد که در پابرگ، کمربرگ و لچه-برگ به ترتیب 14، 9 و 8 درصد افزایش را نسبت به تیمار شاهد نشان داد (جدول 5). تاثیر مثبت کود نیتروژن در افزایش مقدار نیکوتین در آزمایشات دیگر محققین صحت نتایج این پژوهش را تایید می‌کند (چادویک و همکاران 2000، کاراوازوگلو و همکاران 2005، کاراوازوگلو و همکاران 2007، لی و همکاران 2008). با توجه به جدول 3 مشاهده شد که اثر متقابل مقادیر کود نیتروژن و ازتوباکتر تنها بر مقدار نیکوتین پابرگ معنی‌دار (P<%5) بوده است. بالاترین درصد نیکوتین پابرگ در تیمار N4B3 (45 کیلوگرم درهکتار از کود نیتروژنه و 2 کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر*) و پایین‌ترین درصد نیکوتین در تیمار شاهد (بدون مصرف کود نیتروژنه و *ازتوباکتر*) مشاهده شد (شکل 3). عدم معنی‌داری اثر متقابل مقادیر کود نیتروژنه و *ازتوباکتر* (در کمربرگ و لچه برگ) احتمالاً به علت اثر آنتاگونیستی کود نیتروژنه و *ازتوباکتر* می‌باشد. کود نیتروژنه بکار رفته در موسسه تحقیقات توتون از نوع نیترات آمونیوم بوده که نیترات موجود در آن (به-خصوص در سطوح بالای کود) باعث عدم فعالیت باکتری در تثبیت نیتروژن خاک می‌شود و این امر احتمالاً بر مقدار نیکوتین که در ریشه گیاه ساخته می-شود تاثیر گذار بوده است. البته باید توجه داشت که با افزایش کود نیتروژن (در کمربرگ و لچه برگ) نیز افزایش نیکوتین ایجاد شده که از نظر آماری معنی‌دار نبود. نتایج میشرام و شنده (1982) نیز نشان داد که *ازتوباکتر* کرکوکوم تنها در سطوح پایین نیتروژن اثر معنی‌دار دارد.

درصد قند: براساس نتایج تجزیه واریانس، کاربرد کود نیتروژن بر درصد قندهای محلول پابرگ، کمربرگ و لچه‌برگ توتون معنی‌دار می‌باشد (P < %1). کاربرد 45 کیلوگرم در هکتار از کود نیتروژنه درصد قند را در پابرگ، کمربرگ و لچه برگ به ترتیب 67، 53 و 72 درصد کاهش (نسبت به تیمار شاهد) داد (جدول 5). همچنین مقادیر قند محلول در قسمت کمربرگ بیشتر از سایر بخش‌های گیاه بود. کاربرد *ازتوباکتر* کروکوکوم نیز اختلاف معنی‌داری بر قندهای محلول کمربرگ و لچه برگ (P<%1) و بر قندهای محلول پا برگ (P<%5) نشان داد (جدول 3). نتایج مقایسه میانگین نیز نشان داد که کاربرد 2 کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر* مقدار قند پابرگ، کمربرگ و لچه برگ را به ترتیب به مقدار 26، 41 و 34 درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (جدول 5). کاهش میزان درصد قند با افزایش مصرف نیتروژن در گزارشات کاراوازوگلو و همکاران (2005) و کاراوازوگلو و همکاران (2007) صحت نتایج این آزمایش را اثبات می‌کند. اثر متقابل مقادیر کود نیتروژن و *ازتوباکتر* کروکوکوم فقط بر مقدار قند لچه‌برگ معنی دار (P<%5) می‌باشد به طوریکه بالاترین درصد قند لچه برگ (22/12) در تیمار N1B1 (تیمار شاهد بدون کود نیتروژنه و *ازتوباکتر*) مشاهده شد. همچنین پایین‌ترین درصد قند در تیمار N4B3 (با 45 کیلوگرم در هکتار از کود نیتروژنه و 2 کیلوگرم از *ازتوباکتر*) به دست آمد (شکل 4).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات کیفی اندازه گیری شده تورتون

منابع تغییرات	درجه آزادی	بیترورژن			بیکونیس			قند		
		بابرگ	کمبرگ	لجه برگ	بابرگ	کمبرگ	لجه برگ	بابرگ	کمبرگ	لجه برگ
تکرار	۲	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۱۶	۰/۰۰۱	۰/۰۳۶	۰/۱۰۵	۰/۰۲۵	۳۰/۰۴۷	۱۸/۸۴۴	۲۳/۱۵
بیترورژن	۳	۰/۷۲۶**	۱/۶۴۸**	۰/۰۶۷**	۰/۹۳۱**	۱/۰۸۶**	۱/۰۶۴**	۸۷/۸۱۵**	۱۷۸/۲۹۳**	۷۲/۹۴**
باکتری	۲	۰/۱۱۱**	۰/۱۸۵**	۰/۱۲۵**	۰/۱۶۵**	۰/۱۶۱*	۰/۱۱**	۱۲/۳۱۷*	۲۱/۹۶۸**	۱۲/۹۸۷**
بیترورژن× باکتری	۶	۰/۰۱۹	۰/۰۱۴	۰/۰۰۴	۰/۱۳*	۰/۰۳۷	۰/۰۱	۵/۸۵۲	۱/۶۰۷	۴/۱۸۳*
خطا	۲۲	۰/۰۱۶	۰/۰۲۴	۰/۰۲۰	۰/۰۰۴	۰/۰۲۹	۰/۰۰۹	۲/۴۳۵	۲/۰۲۳	۱/۴۶۸
ضریب تغییرات (٪)		۶	۵	۶	۴	۸	۴	۲۲	۹	۲۳

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه گیری

از آنجا که رویکرد امروز مبنی بر کاهش استفاده از کودهای شیمیایی است، استفاده از کودهای بیولوژی می‌تواند امری مثبت در این راه باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد کود ازته و تلقیح ریشه گیاه با *ازتوباکتر* کرکوکوم اثرات معنی‌داری بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه توتون نشان داد. کاربرد کود نیتروژنه تقریباً بر تمامی خصوصیات کمی و کیفی توتون اثر معنی‌دار داشت در حالیکه کاربرد *ازتوباکتر* بیشتر بر خصوصیات کیفی توتون اثر معنی‌دار داشت. از آنجا که در گیاهانی مثل توتون بالابردن کیفیت گیاه می‌تواند امری مثبت در بازار پسندی آن باشد، کاربرد *ازتوباکتر* می‌تواند جایگزینی مناسب برای کودهای شیمیایی باشد. علاوه بر آن تلقیح *ازتوباکتر* در سطوح پایین نیتروژن می‌تواند از نظر اقتصادی نیز موثر باشد.

جدول 4- مقایسه میانگین صفات کمی اندازه گیری شده توتون

منابع تغییرات	وزن خشک (کیلوگرم بر هکتار)				ارتفاع گیاه	طول برگ	شاخص سطح برگ	قیمت یک (کیلوگرم ریال)
	پا برگ	کمر برگ	لچه برگ	کل	(سانتیمتر)		مترمربع/مترمربع	توتون
نیتروژن								
0	266b	313b	394b	974b	131b	41b	2/62b	8019 b
15	319a	420a	456ab	1198a	137b	44ab	3/27ab	7620 c
30	330a	425a	521a	1277a	140ab	46a	3/35ab	8164 a
45	337a	464a	537a	1338a	147a	47a	3/67a	6937 d
باکتری								
0	291b	395a	470a	1156a	139a	45a	3/11a	7505 b
1	304ab	420a	470a	1194a	141a	47a	3/61a	8352 a
2	344a	402a	491a	1237a	135a	44a	2/95a	7197 c

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند از لحاظ آزمون توکی دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

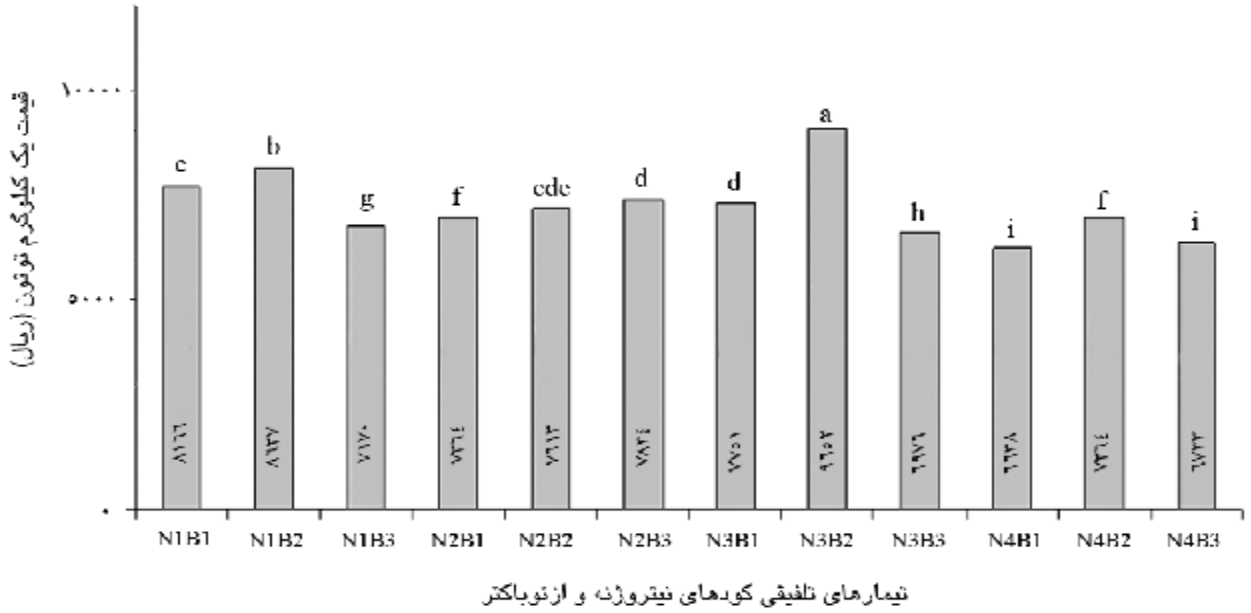
جدول 5- مقایسه میانگین صفات کیفی اندازه گیری شده توتون

منابع تغییرات	نیتروژن (%)			نیکوتین (%)			قند (%)		
	پا برگ	کمر برگ	لچه برگ	پا برگ	کمر برگ	لچه برگ	پا برگ	کمر برگ	لچه برگ
نیتروژن									
0	1/6d	2/21d	1/96d	1/17d	1/65d	1/89d	11/2 a	20/05 a	9/07 a
15	1/8c	2/63c	2/25c	1/46c	2/01c	2/19c	7/1 b	15/74 b	5/31 b
30	1/9b	2/89b	2/54b	1/62b	2/25b	2/44b	6/1 b	13/5 c	3/71 c
45	2/3a	3/22a	2/75a	1/94a	2/42a	2/69a	3/7 c	9/39 d	2/53 c
باکتری									
0	1/8b	2/62b	2/27b	1/45c	2/01b	2/21c	8/1 a	6/01 a	6/31 a
1	1/9ab	2/73b	2/37ab	1/52b	2/03b	2/30b	6/9 ab	4/09 b	4/98 b
2	2a	2/87a	2/48a	1/68a	2/22a	2/40a	6/0 b	3/31 c	4/17 b

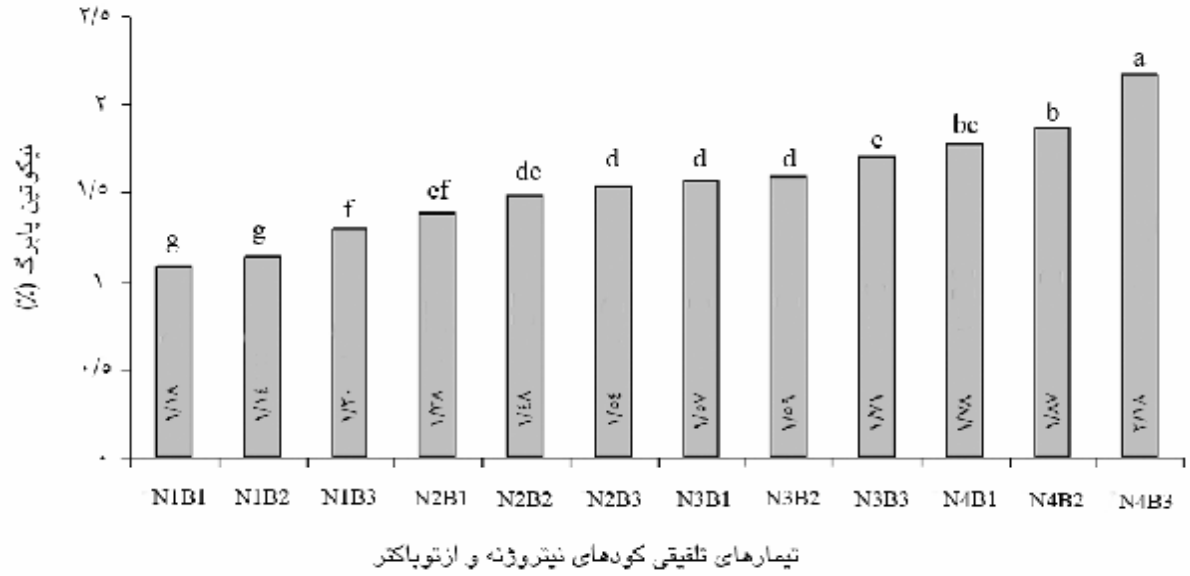
میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند از لحاظ آزمون توکی دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند

Archive of SID

www.SID.ir

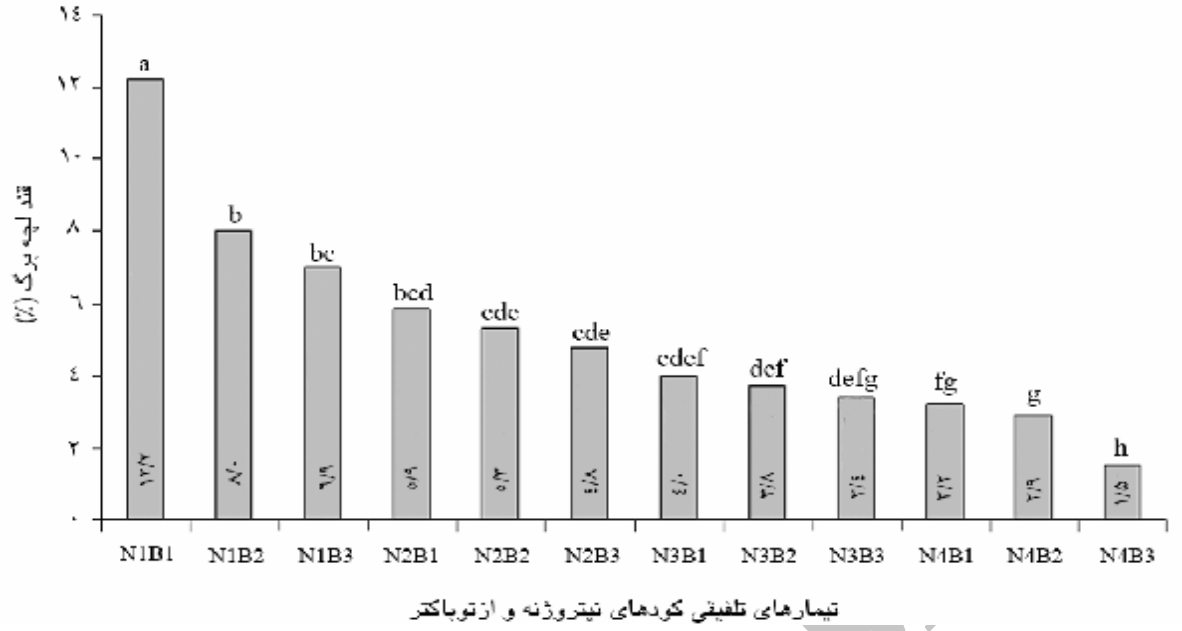


شکل 2- اثر متقابل باکتری و کود نیتروژن بر قیمت یک کیلوگرم توتون (N1=0، N2=15، N3=30 و N4=45 کیلوگرم در هکتار نیترات آمونیوم و B1=0، B2=1 و B3=2 کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر کرکوکوم*)



شکل 3- اثر متقابل باکتری و کود نیتروژن بر نیکوتین پا برگ (N1=0، N2=15، N3=30 و N4=45 کیلوگرم در هکتار نیترات آمونیوم و B1=0، B2=1 و B3=2 کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر کرکوکوم*)

www.SID.ir



شکل 4- اثر متقابل باکتری و کود نیتروژن بر قند لچه برگ (N1=0، N2=15، N3=30 و N4=45 کیلوگرم در هکتار نیترات آمونیوم و B1=0، B2=1 و B3=2 کیلوگرم در هکتار *ازتوباکتر کرکوکوم*)

Archive of SID

منابع مورد استفاده

خواجه پور مر، 1385. گیاهان صنعتی. چاپ دوم. جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان.

قلی زاده ع، مهدوی ع، حسین زاده ت و مشتاقی م، 1389. بررسی اثرات تراکم بوته و سطوح کودی مختلف بر خصوصیات زراعی و عملکرد توتون. یازدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. صفحه 2471-2467.

ملکوتی مج، کشاورز پ و کریمیان ن، 1387. روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار. چاپ هفتم. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس تهران.

Angellino G, Ascione S and Ruggiero C, 2004. Effect of water and nitrogen supply on leaf growth and anatomy of Burley tobacco. Agric Mediterr 134: 185–192.

Bashan Y and Holguin G, 1997. *Azospirillum*-plant relationships. Environmental and physiological advances (1990-1996). Can J Microbiol 43: 103-121.

Bremner AK, 1996. Nitrogen-total. Pp. 1085-1121. In: Sparks DL (ed). Methods of Soil Analysis. Part 3- Chemical methods. Agronomy Monograph, vol 9. ASA and SSSA, Madison, WI.

Chadwick DR, John F, Pain BF, Chambers BJ and Williams J, 2000. Plant uptake of nitrogen from the organic nitrogen fraction of animal manures: A Laboratory experiment. J Agri Sci 134: 159-163.

Chawla HS, 2003. Plant Biotechnology a practical approach. Science Publishers Inc. USA.

www.SID.ir

Coresta, 1994a, Recommended method no. 35. Determination of total alkaloids (as nicotine) in tobacco by continuous. Flow analysis. http:// www.coresta. org/ Recommended_Methods/ CRM_35.pdf

Coresta, 1994b, Recommended method no. 38. Determination of reducing carbohydrates in tobacco by continuous flow analysis. http:// www.coresta.org/ Recommended_Methods/ CRM_38.pdf.

Coulson DA, 1959. Some effects of maletic hydrazid on flue cured tobacco quality. Tab Sci 30: 69-72.

Court WA and Hendel JG, 1986. Characteristics of flue –cured tobacco grown under varying proportions of ammonium and nitrate fertilization. Tab Sci 30: 69-72.

Creek L, Capehart T and Grice V, 1994. US tobacco statistics, 1935-92. USDA/ERS Star. Bull. NO 869. Washington.

Dimanov D, 2001. Hereditability, correlation and regression coefficients of some quantitative characters in Somaclonal oriental tobacco progenies. Tutun 51: 325-329.

Elliot JM, 1970. Effects of rates of ammonium and nitrate nitrogen on bright tobacco in Ontario. Tab Sci 14: 131-7.

Emtiazi G, Naderi A and Etemadifar Z, 2004. Effectt of Nitrogen fixing bacteria on growth of potato tubers. Adv Food Sci 26: 56-58.

Han HS, and Lee KD, 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. Res J Agri Biol Sci 1: 210-215.

Karaivazoglou NA, Papakosta DK and Divanidis S, 2005. Effect of chloride in irrigation water and form of nitrogen fertilizer on Virginia (flue-cured) tobacco. Field Crops Res 92: 61-74.

Karaivazoglou NA, Tsotsolis NC, and Tsadilas CD, 2007. Influence of liming and form of nitrogen fertilizer on nutrient uptake, growth, yield, and quality of Virginia (flue- cured) tobacco. Field Crops Res 100: 52-60.

Ladha JK and Reddy PM, 2003. Nitrogen fixation in rice systems state of knowledge and future prospects. Plant and Soil 252: 151-167.

Li Wen Q, Chen Shun H and Jiang RF, 2008. Effects of nitrogenous fertilizer on total nitrogen and nicotine accumulation in flue-cured tobacco. Acta Tobacaria Sinica 4-13.

Meshram SU and Shende ST, 1982. Response of maize to Azotobacter chroococcum. Plant and Soil 69: 265-273.

Nikolay S, Strigul A and Kravchenco V. 2006. Mathematical modeling of PGPR inoculation into the rhizosphere. Environmental Modeling and Software 21: 1158-1171.

Archive of SID

www.SID.ir

Rios-Gonzalez K, Erdei L and Lips SH, 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. Plant Sci 162: 923-930.

SAS Institute, 2002. SAS/STAT User's Guide. In: Version 9.1., SAS Institute, Cary, NC.

Singh KB, Malhotra RS, Saxena MC and Bejiga G. 1997. Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in the Mediterranean region. Agron J 89: 112-118.

Tso TC, 2005. Production, physiology and biochemistry of tobacco plant. Institute of international development and education in agricultural and life sciences, New York, USA.

Turan M, Ataoglu N and Sahin F, 2006. Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. Sustainable Agriculture 28: 99-108.

Yousef AA, Edris AE and Gomaa AM, 2004. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Saliva officinalis* L. Plant Annals of Agricultural Science 49: 299-311.

Archive of SID

www.SID.ir