Archive of SID

مجلهٔ جنگل ایران، انجمن جنگلبانی ایران
سال دهم، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۷
ص ۳۶۱-۳۷۱

امکان استفاده از باکتری‌های محرک رشد در عملیات احیای جنگل‌های بلوط (مطالعهٔ موردی: ایستگاه گاران، مریوان)

مریم تیموری[۱*]، مصطفی خوشنویس[۱]، محمدحسین صادق‌زاده حلاج[۲]، طاهره علی‌زاده[۲]، محمد متینی‌زاده[۳] و مهدی پورهاشمی[۳]

[۱] مربی پژوهشی، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران
[۲] کارشناس پژوهش، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران
[۳] دانشیار، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۲۰)

چکیده

به‌دلیل دخل و تصرف فراوان و بهره‌برداری‌های بی‌رویه به‌تدریج از مساحت جنگل‌های بلوط در مناطق رویشی مختلف کاسته شده است. با توجه به اهمیت بلوط در اکوسیستم ایران به‌ویژه ناحیهٔ رویشی زاگرس، لزوم احیای رویشگاه‌های تخریب‌شده بیش از پیش احساس می‌شود. در این پژوهش، تأثیر باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات معدنی جداشده از خاک نواحی رویشی زاگرس بر زنده‌مانی و رشد نونهال‌های دو گونهٔ برودار و وی‌ول بررسی شده است. ابتدا نمونه‌برداری از خاک منطقهٔ ریزوسفری درختان برودار و وی‌ول در ایستگاه گاران انجام گرفت و باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات از آنها جدا شده و با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی در سطح جنس شناسایی شدند. بذرهای جمع‌آوری‌شده پس از مایه‌زنی در ایستگاه گاران کاشته شدند. پژوهش براساس آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از متغیر گونهٔ بلوط (در دو سطح) و جنس باکتری (در پنج سطح) انجام گرفت. نتایج نشان داد که اثر گونه و باکتری بر زنده‌مانی گونه‌ها معنی‌دار نیست، اما باکتری‌ها موجب افزایش رشد طولی، رشد قطری و درصد وزن خشک‌ریشهٔ نونهال‌های برودار و وی‌ول شدند. براساس مقایسهٔ میانگین پارامترهای رشد طولی، رشد قطری و وزن خشک ریشه، گونهٔ وی‌ول پاسخ بهتری به مایه‌زنی باکتری‌ها از خود نشان داد. به‌علاوه تأثیرات باکتری سودوموناس و باسیلوس در افزایش معنی‌دار متغیرهای تحقیق بیش از باکتری‌های دیگر است و در عملیات احیای جنگل‌های زاگرس، استفاده از آنها را می‌توان توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: احیا، باکتری حل‌کنندهٔ فسفات، برودار، زاگرس، وی‌ول.

مقدمه

ناحیهٔ رویشی زاگرس، وسیع‌ترین رویشگاه گونه‌های مختلف بلوط در ایران است. بلوط‌ها در حدود ۷۰ درصد تیپ گونه‌های جنگلی زاگرس را شامل می‌شوند (Naderi Shahab, 2016). جنس بلوط (*Quercus*) از نظر تعداد گونه، پراکنش جغرافیایی، اهمیت اکولوژیک، و جایگاه زیست‌محیطی و اقتصادی از مهم‌ترین جنس‌های خانوادهٔ راش (*Fagaceae*) محسوب می‌شود. با توجه به پراکندگی گونه‌های جنس بلوط در سطح وسیعی از کشور و حضور

* نویسندهٔ مسئول
شمارهٔ تماس: ۰۲۱۴۴۴۷۸۷۲۷۲
ایمیل: mteimouri@rifr-ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

آنها در اقلیم‌ها و شرایط آب‌وهوایی مختلف، گونه‌های این جنس از اهمیت خاصی برخوردارند. متأسفانه به‌دلیل رشد جمعیت در سدهٔ اخیر، نیاز جنگل‌نشینان به سوخت، تأمین منبع غذایی برای دام‌ها، توسعهٔ اراضی زراعی، احداث جاده و راه، خطوط انتقال برق و تلفن، توسعهٔ شهرها، فعالیت‌های صنعتی و آفات و بیماری‌ها، مساحت جنگل‌های بلوط در حال کاهش است (Abedini et al., 2010; Daghestani et al., 2018). رشد کم جنس بلوط، تغییر اقلیم و پدیدهٔ گرم شدن کرهٔ زمین و شیوع ریزگردها نیز به این مشکلات افزوده و سبب آسیب‌دیدگی جدی درختان بلوط ایران در ناحیهٔ رویشی زاگرسی شده است (Hosseinzadeh and Pourhashemi, 2015). با توجه به عوامل یادشده، باید برای احیای رویشگاه‌های طبیعی بلوط و حفاظت از آنها، اهمیت زیادی قائل بود و آن را در اولویت قرار داد. کاشتن نهال روشی مؤثر و مطمئن برای احیای رویشگاه‌هاست. تولید سریع نهال‌های جنگلی باکیفیت در نهالستان‌ها یا بذرکاری مستقیم در عرصه با استفاده از بذرهای تلقیح‌شده با ریزوباکترهای محرک رشد، اهمیت ویژه‌ای در تسریع روند احیای رویشگاه‌های بلوط و تضمین موفقیت برنامه‌های احیا دارد. فسفر دومین عنصر پرمصرف مورد نیاز برای رشد گیاهان پس از نیتروژن است و کمبود آن به‌ویژه در مراحل نخست رشد ممکن است سبب کاهش رشد کلی گیاه شود. فسفر به‌عنوان یک عنصر در ساختمان اسیدهای نوکلئیک و نیز پروتئین‌ها وجود دارد. فعالیت متابولیکی فسفر انتقال انرژی در گیاهان است که از این طریق به‌طور غیرمستقیم بر رشد و عملکرد گیاهان تأثیر می‌گذارد. باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات به گروهی از باکتری‌های خاک گفته می‌شود که فسفات خاک را که اغلب غیرقابل جذب توسط گیاهان است، به‌شکل محلول و قابل جذب (آنیون‌های ارتوفسفات) برای گیاه تبدیل می‌کنند. بیشتر پژوهش‌ها در زمینهٔ استفاده از باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات، با هدف افزایش رشد محصولات زراعی صورت گرفته ، اما از این باکتری‌ها برای افزایش رشد درختان جنگلی نیز استفاده شده است. در تحقیق Jangandi et al. (2017)، اثر توأم مایه‌زنی باسیلوس پلی‌میکسا و قارچ‌های میکوریزی با و بدون منبع فسفات بررسی شد. یافته‌های آنها نشان‌دهندهٔ تأثیر چشمگیر این تیمارها در مقایسه با شاهد بر رشد، مادهٔ خشک و جذب فسفر در *Terminalia paniculat* و *T. Tomentosa* بوده است. بررسی مایه‌زنی همزمان باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات و قارچ‌های میکوریزی بر چهار گونهٔ *Acacia mangium*،*Leucaena leucocephala*، *Acacia confuse* و *Liquidamber formosana* در مناطق استوایی و نیمه‌استوایی، نشان‌دهندهٔ تأثیر نوع خاک بر آثار مایه‌زنی بوده است (Young, 1990). در تحقیق Rezaee (2017)، اثر دو باکتری محلول‌کنندهٔ فسفات *Microbacterium aurantiacum* و *Streptomyces cinereorectus* بر رشد و عملکرد نهال‌های بلوط بررسی شد که نتایج، بیانگر تأثیرات مثبت این باکتری‌ها بر استقرار و در نتیجه موفقیت بیشتر جنگلکاری‌ها بود. Zaady et al. (2004) نشان دادند که مایه‌زنی توأم قارچ اکتومیکوریز (*Ballota* sp.) و باکتری *B. licheniformis* در بلوط همیشه‌سبز (*Quercus ilex*)، سبب تغییر جذب ازت توسط گیاه، جمعیت میکروبی خاک و کلنیزاسیون میکوریزی می‌شود. در تحقیق دیگری، مایه‌زنی *Azospirillu braziliensis* به نهال‌های *Q. ithaburensis* موجب افزایش سطح ریشه، وزن خشک ریشه، شاخه و برگ پس از سی روز شد (Zaady& Perevolotsky, 1995). تحقیقات Pandey et al. (1986) نشان‌دهندهٔ افزایش ۳۸ درصدی زی‌تودهٔ نهال‌های *Q. serrates* پس از مایه‌زنی با ازتوباکتر بود. بررسی تأثیرات باکتری‌های افزایش‌دهندهٔ رشد بر *Q. ithaburensis* نشان‌دهندهٔ افزایش سطح ریشه، وزن خشک ریشه، ساقه و برگ به میزان ۷۰ درصد در شرایط کنترل بود

www.SID.ir

Archive of SID

(Zaady et al., 1993). پژوهش Jangandi et al. (2016) نشان داد که مایه‌زنی همزمان بذرهای *Terminalia paniculata* و *T. tomentosa* (دو گونهٔ درختی) با قارچ‌های میکوریزی (*Rhizophagus fasiculatus*) و باکتری محلول‌کنندهٔ فسفات (*Bacillus polymyxa*) ممکن است سبب افزایش چشمگیر رشد گیاه، وزن خشک و جذب فسفر در مقایسه با نهال‌های کنترل یا مایه‌زنی هر یک به‌تنهایی شود. نتایج تحقیق Domínguez- Núñez et al. (2013) نشان داد که مایه‌زنی با سودوموناس‌های فلورسانت می‌تواند سبب افزایش مقاومت به شوری در نهال‌های *Pinus halepensis* شود. یافته‌های آنها همچنین نشان می‌دهد که مایه‌زنی توأم سودوموناس‌های فلورسانت و *Pisolithus tinctorius* می‌تواند سبب موفقیت جنگلکاری با گونهٔ *Pinus halepensis* شود. استفاده از کودهای زیستی به‌ویژه باکتری *M. aurantiacum* عمل مهمی در رشد بیشتر نهال‌های بلوط در سال‌های اول استقرار و در نتیجه موفقیت بیشتر جنگلکاری‌هاست (Rezaee et al., 2018).

در این تحقیق، اثر باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات جداشده از ایستگاه گاران بر رشد و زنده‌مانی و نیز مقدار فسفر اندام‌های مختلف گیاهی در دو گونهٔ بلوط ایرانی (برودار) و وی‌ول در شرایط طبیعی بررسی و مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

منطقهٔ پژوهش

ایستگاه تحقیقاتی گاران به مساحت ۱۲۸ هکتار در استان کردستان، شهرستان مریوان (کیلومتر ۸ جادهٔ مریوان- سقز)، در طول ´۱۷ °۴۶ شمالی و عرض ´۳۲ °۳۵ شرقی قرار دارد. میانگین بارندگی سالانهٔ منطقه ۸۶۱/۵ میلی‌متر است. متوسط دمای سالانه از ۰/۳- در دی ماه تا ۲۵/۶ درجهٔ سانتی‌گراد در مرداد ماه نوسان دارد. اقلیم منطقه نیز براساس روش دومارتن (با ضریب خشکی ۳۸) مرطوب است.

روش پژوهش

نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات

نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری درختان برودار (*Q. brantii* Lindl.) و وی‌ول (*Q. libani* Oliv.) در ایستگاه گاران در فصل بهار انجام گرفت و نمونه‌ها در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های خاک ریزوسفری دو گونهٔ برودار و وی‌ول به‌طور جداگانه با هم مخلوط شده و در آزمایش‌های بعدی به‌عنوان نمونهٔ خاک شاخص هر گونه استفاده شدند. جداسازی باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات از راه رقیق‌سازی نمونه‌های خاک و در محیط کشت حاوی تری‌فسفات کلسیم (Sperber, 1958) صورت گرفت. باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات با تشکیل هالهٔ شفاف در اطراف کانی شناخته می‌شوند. باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات در محیط کشت نوترینت آگار (MERCK) خالص‌سازی و با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های بیوشیمیایی (کاتالاز، اکسیداز، OF glucose، حرکت، MR-VP، سیترات، احیای نیترات و تولید ایندول شناسایی شدند (MacFadine, 1980).

تهیهٔ زادمایه و مایه‌زنی بذرها

از باکتری‌های جداشده، زادمایهٔ دارای ۳×۱۰^{۸} CFU/ml باکتری با استفاده از استاندارد شمارهٔ ۱ مک‌فارلند تهیه شد (MacFadiin, 1980). بذرهای سالم از رویشگاه گاران جمع‌آوری شدند و به آزمایشگاه انتقال یافتند و تا زمان کاشت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. بذرهای سالم استریل‌شده با زادمایهٔ آماده‌شده از باکتری‌های *Pseudomonas*، *Azotobacter*، *Bacillus* و *Actinobacillus* به‌مدت یک شب تیمار شدند. بذرهای شاهد با بافر فسفات نمکی استریل تیمار شدند بذرهای تیمارشده در اردیبهشت‌ماه به‌صورت

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در کرت‌هایی با ابعاد ۶×۶ متر و با تراکم کاشت ۲×۲ متر در ایستگاه تحقیقات گاران مریوان کاشته شده و علامت‌گذاری شدند. برای هر تیمار باکتریایی ۴۸ بذر در قالب سه تکرار شانزده‌تایی کاشته شدند.

اندازه‌گیری زنده‌مانی، رشد و درصد وزن خشک

در انتهای فصل رویش (آبان) نونهال‌های زنده‌مانده در کرت‌های آزمایشی شمارش و به‌صورت کامل از خاک خارج شدند و قطر یقهٔ آنها به‌وسیلهٔ کولیس دیجیتال تا دقت صدم میلی‌متر و طول ساقهٔ نهال‌ها از محل یقه به‌وسیلهٔ خط‌کش تا دقت میلی‌متر اندازه‌گیری شد. وزن تر اندام‌های ریشه، ساقه و برگ به‌وسیلهٔ ترازوی دیجیتال تا دقت هزارم گرم اندازه‌گیری شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد، وزن خشک اندام‌ها نیز اندازه‌گیری و درصد مادهٔ خشک نهال‌ها محاسبه شد (Emami, 1996).

روش تحلیل

پس از بررسی‌های اولیه و استخراج آماره‌های توصیفی، بازسازی یا حذف داده‌های پرت، همهٔ متغیرها براساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل گونهٔ بلوط (در دو سطح) و گونهٔ باکتری (در پنج سطح) از راه تجزیهٔ واریانس دوطرفه بررسی شدند و باقی‌مانده‌های مدل با آزمون اندرسون دارلینگ به‌منظور تبعیت از توزیع نرمال، و همگنی واریانس‌ها نیز با آزمون لون بررسی شد. مقایسهٔ میانگین‌ها به‌وسیلهٔ آزمون Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. همهٔ مراحل تجزیهٔ آماری با استفاده از نرم‌افزار Minitab 17.3 انجام گرفت و هیستوگرام‌ها با نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

نتایج

براساس آزمون‌های میکروبی (جدول ۱)، باکتری‌های محلول‌کنندهٔ فسفات به جنس های *Pseudomonas*، *Azotobacter*، *Bacillus* و *Actinobacillus* تعلق داشتند که سودوموناس و ازتوباکتر، گرم منفی و باسیلوس و اکتینوباسیلوس از نوع باکتری‌های میله‌ای گرم مثبت هستند.

در جدول ۲، نتایج تجزیهٔ واریانس زنده‌مانی، و رشد طولی و قطری نهال‌های دو گونهٔ برودار و وی‌ول آورده شده است.

جدول ۱- نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی برای شناسایی باکتری‌های جداشده (MacFadine, 1980)

آزمون	سودوموناس	ازتوباکتر	باسیلوس	اکتینوباسیلوس
واکنش گرم	گرم منفی	گرم منفی	گرم مثبت	گرم منفی
مورفولوژی	میله‌ای	چندشکلی	میله‌ای- رشته‌ای	چندشکلی
اکسیداز	مثبت	مثبت	منفی	مثبت
کاتالاز	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت
حرکت	متحرک	متحرک	متحرک	غیر متحرک
O-F glucose	اکسیداتیو	فرمانتاتیو	متغیر	فرمانتاتیو
متیل رد (MR)	منفی	منفی	-	منفی
ووژ پرسکوئر (VP)	منفی	منفی	-	مثبت
سیترات	مثبت	مثبت	مثبت	منفی
نیترات	منفی	مثبت	مثبت	مثبت
ایندول	منفی	مثبت	منفی	منفی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- نتایج آنالیز واریانس اثر گونه و باکتری بر زنده‌مانی، رشد طولی و قطری دانه رست‌های برودار و وی‌ول

منبع تغییرات	درجه آزادی	زنده‌مانی	رشد طولی	رشد قطری
گونه	۱	۰/۱۷ ns	۱۷/۷۴۱ **	۶۴/۴۷۲ **
باکتری	۴	۰/۸۱ ns	۵/۶۸۱ *	۱۷/۳ **
گونه × باکتری	۴	۰/۷۵ ns	۰/۹۶۷ ns	۳/۲۶۸ *
خطا	۲۰			

** و * به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ معنی‌داری در سطح ۹۹ و ۹۵ درصد اطمینان و ns نشان‌دهندهٔ معنی‌دار نبودن هستند.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، عوامل گونه، نوع باکتری و اثر متقابل آنها بر زنده‌مانی نهال‌ها اثر معنی‌دار نداشتند؛ اما اثر گونه و باکتری بر رشد طولی به‌ترتیب در سطوح خطای ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر پارامترهای گونه و باکتری در سطح خطای ۱ درصد و اثر متقابل آنها در سطح خطای ۵ درصد بر رشد قطری معنی‌دار بود. مقایسهٔ میانگین داده‌های مربوط به رشد طولی نشان داد که رشد طولی نونهال‌های وی‌ول بیش از نونهال‌های برودار، و اثر افزایشی باکتری سودوموناس و باسیلوس بر رشد طولی بیش از دیگر تیمارهای میکروبی و تیمار شاهد بود (جدول‌های ۳ و ۴). به‌علاوه، مقایسهٔ میانگین داده‌های مربوط به رشد قطری نشان داد که نونهال‌های وی‌ول، رشد قطری بیشتری از نونهال‌های برودار داشتند. مایه‌زنی با سودوموناس و باسیلوس سبب شد که رشد قطری بیش از دیگر تیمارهای میکروبی و شاهد باشد (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین تیمارهای ترکیبی گونه و باکتری نشان داد که گونه‌های وی‌ول و برودار پاسخ متفاوتی به باکتری‌های محرک رشد نشان دادند، به‌نحوی که در گونهٔ وی‌ول باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس موفق‌ترین تیمارها به‌لحاظ رویش قطری بودند (شکل ۱)، اما در گونهٔ برودار تیمار ازتوباکتر نیز عملکردی همتراز دو تیمار مذکور نشان داد. بیشترین رویش قطری در نهال‌های وی‌ول تیمارشده با باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس و کمترین رویش قطری در نهال‌های شاهد هر دو گونه مشاهده شد.

نتایج تجزیهٔ واریانس اثر گونهٔ بلوط و باکتری بر درصد مادهٔ خشک اندام‌های مختلف نونهال‌ها نشان داد که اثر گونه، باکتری و نیز اثر متقابل گونهٔ بلوط و نوع باکتری بر درصد مادهٔ خشک ریشه در سطح ۱ درصد خطا معنی‌دار است (جدول ۵). اثر گونه بر درصد مادهٔ خشک ساقه و برگ معنی‌دار نیست، اما نوع باکتری و اثر متقابل گونه و باکتری بر درصد مادهٔ خشک ساقه و برگ در سطح ۱ درصد خطا معنی‌دار است (جدول ۶).

مقایسهٔ میانگین تیمارهای گونهٔ بلوط برای متغیر درصد مادهٔ خشک اندام‌های مختلف نونهال‌ها نشان داد که درصد مادهٔ خشک ریشهٔ گونهٔ وی‌ول بیشتر از برودار بود (جدول ۶). همچنین مقایسهٔ میانگین‌های تیمارهای مختلف باکتری نشان داد که باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس اثر افزایشی بر درصد وزن خشک ریشه و ساقه داشتند، اما اثر باکتری سودوموناس بر وزن خشک برگ بیش از تیمارهای دیگر بود (جدول ۷).

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین‌های گونه‌های بلوط برای متغیرهای رشد طولی و رشد قطری نونهال‌ها*

گونهٔ بلوط	زنده‌مانی (اصله)	رشد طولی (سانتی‌متر)	رشد قطری (میلی‌متر)
برودار	۱۹/۷ ±۱/۲^{a}	۷/۴۸ ±۰/۸۶۳^{b}	۲/۷۵۶ ±۰/۱۵۶^{b}
وی‌ول	۲۰/۴ ±۱/۴^{a}	۸/۸۸ ±۰/۹۵۲^{a}	۴/۱۲۵ ±۰/۱۴۵^{a}

*: حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ قرار گرفتن در گروه‌های متفاوت است.

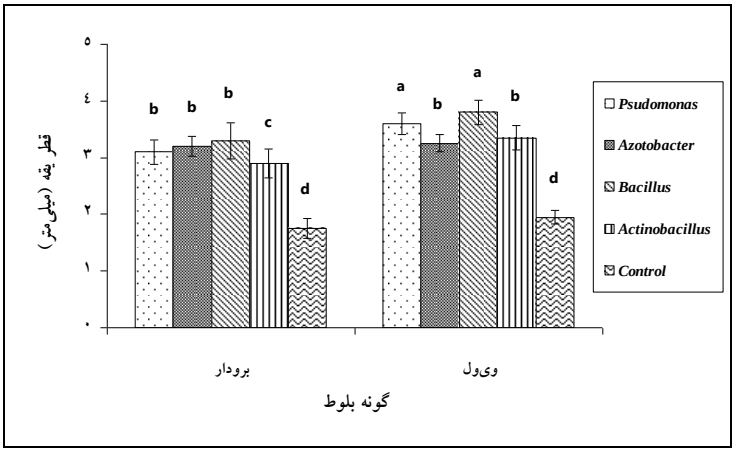
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- مقایسهٔ میانگین‌های تیمار باکتری برای متغیرهای رشد طولی و رشد قطری نونهال‌های بلوط*

تیمار باکتری	زنده‌مانی	رشد طولی (سانتی‌متر)	رشد قطری (میلی‌متر)
Pseudomonas sp.	۹/۴±۱/۱^{a}	۸/۸۵±۱/۹۴^{a}	۲/۵۵۶±۰/۶۸^{a}
Azotobacter sp.	۸/۹±۱/۳^{a}	۷/۶۵۴±۱/۷۸^{b}	۲/۷۹۱ ±۰/۴۱^{b}
Bacillus sp.	۹/۳±۰/۹^{a}	۸/۵۶۷±۲/۳ ^{a}	۲/۴۴۵ ±۰/۷۴^{a}
Actinobacillus sp.	۸/۹±۱/۲^{a}	۷/۵۴۹±۰/۶۸^{b}	۲/۸۴۵±۰/۶۸^{b}
شاهد	۸/۸±۱/۲^{a}	۶/۵۷۶±۱/۷۸^{c}	۲/۰۷۸±۰/۶۴^{c}

*: حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ قرار گرفتن در گروه‌های متفاوت است.



شکل ۱- مقایسهٔ میانگین اثر تیمارهای ترکیبی گونه و باکتری بر رشد قطری نونهال‌های بلوط

جدول ۵- نتایج آنالیز واریانس (مقادیر F) اثر گونه و باکتری بر درصد مادهٔ خشک نونهال‌های بلوط

منبع تغییرات	درجهٔ آزادی	درصد مادهٔ خشک		
		ریشه	ساقه	برگ
گونه	۱	۳۱۴۷/۰۲**	۰/۳۳ ^{ns}	۱/۷۱ ^{ns}
باکتری	۴	۴۵۲۴/۸۸**	۴۰۵۷/۰۱**	۴۳۲/۵۲**
گونه × باکتری	۴	۱۷۲/۹۶**	۳۶۲/۵۷**	۱۲۵/۷۵**
خطا	۲۰			

** و * به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ معنی‌داری در سطح ۹۹ و ۹۵ درصد اطمینان و ^{ns} نشان‌دهندهٔ معنی‌دار نبودن هستند.

جدول ۶- مقایسهٔ میانگین‌های گونه‌های بلوط برای متغیرهای درصد مادهٔ خشک ریشه، ساقه و برگ نونهال‌ها*

گونهٔ بلوط	درصد مادهٔ خشک		
	ریشه	ساقه	برگ
بروداز	۶۲/۵۳±۱۵/۱۹^{b}	۶۸/۵۰±۵/۵۸ ^{a}	۵۲/۸۴±۵/۱۹^{a}
وی‌ول	۷۵/۲۴±۹/۰۵^{a}	۶۸/۵۷±۱۰/۳۰ ^{a}	۵۲/۴۳±۹/۵۱^{a}

*: حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ قرار گرفتن در گروه‌های متفاوت است.

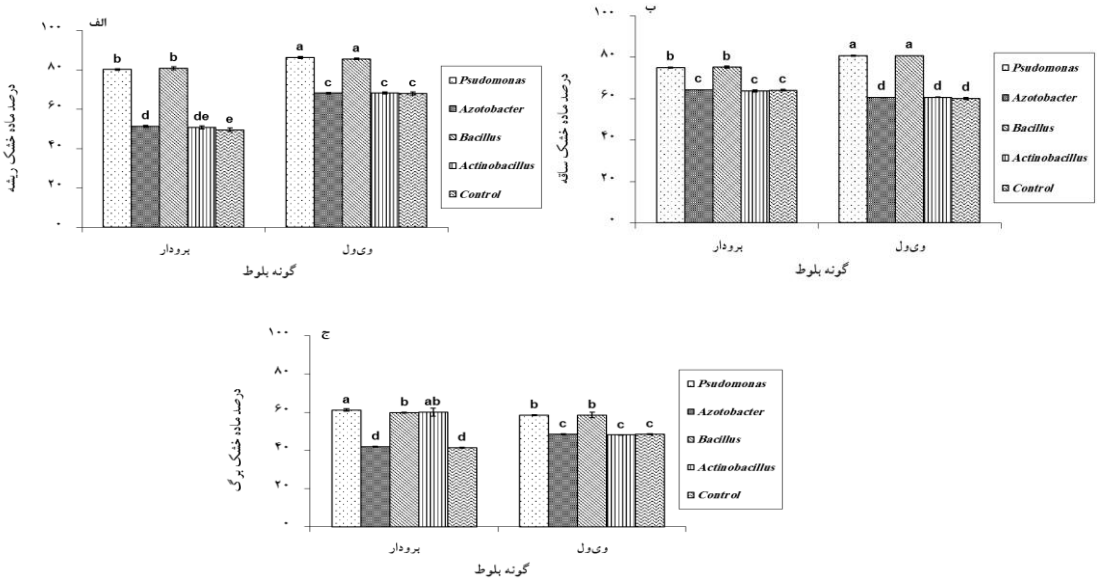
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷- مقایسهٔ میانگین‌های تیمار باکتری برای متغیرهای درصد مادهٔ خشک ریشه، ساقه و برگ نونهال‌های بلوط*

تیمار باکتری	درصد مادهٔ خشک		
	ریشه	ساقه	برگ
Pseudomonas sp.	۸۳/۲۳۶۷±۳/۴۱^{a}	۷۷/۸۸۱۷±۳/۱۷^{a}	۵۹/۸۴۵۰±۱/۵۴۰^{a}
Azotobacter sp.	۵۹/۷۵۱۷±۹/۱۹^{b}	۶۲/۴۷۳۳±۲/۰۴۱^{b}	۴۵/۲۱۸۳±۳/۶۴^{c}
Bacillus sp.	۸۳/۱۸۰۰±۲/۶۷^{a}	۷۷/۹۵۵۰±۳/۰۷^{a}	۵۹/۱۳۱۷±۱/۱۵۹^{b}
Actinobacillus sp.	۵۹/۴۷۸۳±۹/۵۲^{b}	۶۲/۲۶۳۳±۱/۷۸۸^{b}	۵۴/۰۳۰±۶/۶۶^{b}
شاهد	۵۸/۸۰۸۰±۱۰/۱۷^{b}	۶۲/۱۰۰۰±۲/۲۵۶^{b}	۴۴/۹۴۶۷±۳/۸۹^{c}

مقایسهٔ میانگین تیمارهای ترکیبی گونه و باکتری نشان داد که به‌رغم تفوق باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس به‌لحاظ افزایش مادهٔ خشک اندام‌های نهال‌های هر دو گونه، تفاوت‌هایی در پاسخ دو گونهٔ بلوط به تیمارهای باکتری مشاهده می‌شود، به‌نحوی که برای متغیر مادهٔ خشک ریشه در گونهٔ وی‌ول، تیمار شاهد همتراز با تیمارهای ازتوباکتر و اکتینوباسیلوس پس از تیمارهای سودوموناس و باسیلوس در ردهٔ دوم قرار گرفت، درحالی که در گونهٔ برودار، تیمار شاهد به‌لحاظ مادهٔ خشک ریشه در ردهٔ آخر قرار گرفت. برای متغیر مادهٔ خشک برگ نیز این تفاوت پاسخ در عملکرد خوب باکتری ازتوباکتر در گونهٔ برودار نمود یافت که این تیمار را همتراز تیمارهای سودوموناس و باسیلوس قرار داد، درحالی که در گونهٔ وی‌ول این تیمار عملکردی شبیه به تیمار شاهد داشت. برای درصد مادهٔ خشک ساقه به‌رغم تشابه رده‌بندی تیمارهای باکتریایی در هر دو گونه، در گونهٔ وی‌ول کاهش عملکرد نهال به‌لحاظ مادهٔ خشک ساقه از تیمارهای سودوموناس و باسیلوس به تیمارهای دیگر با شیب تندتری اتفاق افتاد که سبب شد تیمارهای ازتوباکتر، اکتینوباسیلوس و شاهد در آخرین ردهٔ تیمارهای ترکیبی گونه و باکتری قرار گیرند. بیشترین مادهٔ خشک ریشه و ساقه در نهال‌های وی‌ول تیمارشده با باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس و بیشترین مادهٔ خشک ریشه در نهال‌های برودار تیمارشده با باکتری سودوموناس مشاهده شد (شکل ۲).



شکل۲- مقایسه میانگین تیمارهای ترکیبی گونه و باکتری بر درصد ماده خشک
الف) ریشه، ب) ساقه و ج) برگ نونهال‌های بلوط

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در این تحقیق، اثر باکتری‌های محرک رشد (دارای توانایی انحلال فسفات) جداشده از ایستگاه گاران بر رشد و زنده‌مانی دو گونهٔ برودار و وی‌ول در ایستگاه گاران بررسی شد. نتایج بیانگر این موضوع است که باکتری‌های محرک رشد با خاصیت فسفات می‌توانند سبب بهبود رشد نونهال‌ها شوند و در نتیجه امکان استقرار آنها را افزایش دهند (Goteti et al., 2013). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اثر باکتری‌های مایه‌زنی‌شده به گونهٔ تحقیق و نیز نوع باکتری مایه‌زنی‌شده بستگی دارد. گزارش شده است که اثر باکتری‌های محرک رشد به سویهٔ باکتریایی و جمعیت آنها، ترکیب گیاه- باکتری، ژنوتیپ گیاه، نوع پارامترهای بررسی‌شده و شرایط محیطی بستگی دارد (Şahin et al., 2004; Çakmakçı et al., 2007). براساس مقایسهٔ میانگین پارامترهای رشد طولی، رشد قطری و وزن خشک ریشه به نظر می‌رسد پاسخ‌دهی گونهٔ وی‌ول به مایه‌زنی، بیش از گونهٔ برودار باشد که این موضوع ممکن است ناشی از تفاوت ساختار ریشه‌ای این دو گونه یا سرعت رشد بیشتر ذاتی در گونهٔ وی‌ول باشد. پژوهش Garcia et al. (2004) نشان‌دهندهٔ افزایش برخی از خصوصیات رشدی مانند وزن خشک در *Quercus ilex* و *Pinus pinea* بود که با یافته‌های ما دربارهٔ افزایش درصد مادهٔ خشک مطابقت دارد. نتایج یافته‌های آنها نشان‌دهندهٔ وجود رابطه‌ای اختصاصی بین باکتری‌ها و گونهٔ درختی است، به‌نحوی که تأثیرات مثبت ایزوله‌های Aur 6 و Cell 3 در هر دو گونهٔ درختی یکسان بود؛ اما ایزوله‌های B450 و Aur 9 به‌ترتیب در *Pinus pinea* و *Quercus ilex* آثار مثبت بیشتری نشان دادند. به‌علاوه آثار مثبت باکتری‌ها در دانهٔ رست‌های گونهٔ بلوط زودتر مشاهده شد که ناشی از رشد سریع‌تر آن در مقایسه با گونهٔ کاج در شرایط تحقیق است.

نتایج این بررسی در زمینهٔ نبود تأثیر معنی‌دار باکتری‌ها بر زنده‌مانی گونه‌های برودار و وی‌ول با یافته‌های دیگران مغایرت دارد. در بیشتر موارد گزارش شده است که مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد، سبب افزایش زنده‌مانی می‌شود، به‌ویژه اگر تلقیح در نهالستان صورت گیرد و سپس نونهال‌های دارای حجم زیاد ریشه به منطقهٔ مورد نظر منتقل شوند (Probanza et al., 2001). احتمال دارد شرایط آب‌وهوایی نامناسب در ایستگاه گاران سبب تأثیر بر زنده‌مانی نونهال‌ها شده باشد.

مایه‌زنی به‌ترتیب موجب ۳۴ و ۷۱ درصد افزایش در رشد طولی و قطری نونهال‌ها شد. محققان مختلف، افزایش ارتفاع و قطر یقه را در پی مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد در بسیاری از گونه‌ها توسط گزارش کرده‌اند (Mafia et al., 2009) که با یافته‌های ما در مورد افزایش ارتفاع و قطر مطابقت دارد؛ اگرچه مواردی نیز گزارش شده است که در پی مایه‌زنی با باکتری‌های محرک رشد، افزایشی در رشد طولی یا قطر یقه مشاهده نشد که به خصوصیات گونهٔ گیاهی و نیز سویهٔ باکتری استفاده‌شده بستگی دارد (Aslantas et al., 2007). افزایش رشد طولی و قطری گونهٔ اکالیپتوس نیز در پی مایه‌زنی سودوموناس و باسیلوس گزارش شده است (Mafia et al., 2009). به‌نظر می‌رسد که افزایش رشد طولی و قطری، به سازوکارهای مستقیم افزایش رشد توسط ریزوباکترها بستگی دارد که با تولید هورمون‌های گیاهی و جذب توسط ریشه، سبب افزایش رشد طولی یا قطری می‌شوند (Cook et al., 2001).

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به‌نظر می‌رسد باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس عملکرد بهتری در مقایسه با دو باکتری دیگر یعنی ازتوباکتر و اکتینوباسیلوس در افزایش رشد داشته‌اند. سودوموناس‌ها از جمله باکتری‌های شناخته شدهٔ مفید در خاک به‌شمار می‌روند که گزارش‌های مختلفی در زمینهٔ عملکرد مثبت آنها در افزایش رشد گونه‌های مختلف گیاهی وجود دارد (Wei et al., 2014). در تحقیقات مختلف از گونه‌های مختلف باسیلوس نیز برای افزایش رشد درختان جنگلی سرو و کاج (Asif et al., 2012; Karlicic et al., 2016) استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

شده است. تفاوت مشاهده‌شده در بین گونه‌ها و کارایی بیشتر سودموناس و باسیلوس ممکن است به‌دلیل تفاوت در مقدار تولید اسیدهای آلی باشد که به بهبود شرایط تغذیه‌ای نونهال‌ها و افزایش رشد منجر می‌شود (Chen et al., 2016). به‌علاوه ممکن است این باکتری‌ها توانایی‌هایی دیگری غیر از انحلال فسفات داشته باشند که به افزایش رشد کمک کند.

در مجموع به‌نظر می‌رسد دو ایزولهٔ سودوموناس و باسیلوس جداشده عملکرد قابل قبولی در افزایش پارامترهای رشدی گونه‌های برودار و وی‌ول دارند و می‌توانند در افزایش استقرار این دو گونه در برنامه‌های احیای جنگل‌های بلوط کاربرد داشته باشند. از طرف دیگر بهتر است با توجه به نبود اثر معنی‌دار باکتری‌ها بر زنده‌مانی، نهال‌ها ابتدا در شرایط نهالستان یا گلخانه در وضعیت کنترل‌شده تولید و سپس برای کاشت به منطقهٔ مورد نظر منتقل شوند.

References

Abedini, R., Pourtahmasi, K., Ghazanfari , H., & Karimi, A. N. (2010). Effect of severe lopping on radial growth of Lebanon Oak (*Quercus libani* Oliv.) trees in Baneh adjacent forests. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 18* (4), 559-568.

Asif, M., Zargar, M. Y., Lone, S., Lone, F. A., & Sheikh, F. A. (2012). Influence of microbial inoculants on nutrient uptake of Himalayan Cypress (*Cupressus torulosa* Don) seedlings under temperate nursery conditions. *International Journal of Recent Scientific Research, 3*, 1013-1018.

Aslantas, R., Cakmakc, R., & Sahin, F. (2007). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae, 111*, 371-377.

Çakmakçı, R., Erat, M., Erdoğan, Ü., & Dames, M. F. (2007). The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 170*, 288-295.

Chen, W., Yang, F., Zhang. L., & Wang, J. (2016). Organic Acid Secretion and Phosphate Solubilizing Efficiency of *Pseudomonas* sp. PSB12: Effects of Phosphorus Forms and Carbon Sources. *Geomicrobiology Journal, 33*(10), 870-877.

Cook, N. C., Bellstedt, D. U., & Jacobs, G. (2001). Endogenous cytokines distribution patterns at unburst in Granny Smith and Braeburn apple shoots in relation to bud growth. *Science Horticulture, 87*, 53-63.

Daghestani, M., Salehi, B., & cheragi, S. (2018). The effect of planting depth and seedbed type treatments on the growth and survival of oak (*Quercus brantii Lindl.*) saplings. *Iranian Journal of Forest, 10* (1), 101-109.

Dey, R., Pal, K. K., Bhatt D. M., & Chauhan, S. M., (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Research, 159*, 371-394.

Domínguez-Núñez, J. A., Muñóz, D., Cruz, A., & Saiz de Omeñaca, J. A. (2013). Effects of Pseudomonas fluorescens on the Water Parameters of Mycorrhizal and Non-Mycorrhizal Seedlings of Pinus halepensis. *Agronomy, 3*, 571-582.

Emami, A. (1996). *Plant analysis methods*. Soil and Water Institute Publication.

Garcia, J. A. L., Domenech, J., Santamaria C., Camacho, M., Daza, A., & Manero, F. J. G. (2004). Growth of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with rhizobacteria: Relationship with microbial community structure and biological activity of its rhizosphere. *Environmental and Experimental Botany, 52*, 239-251.

www.SID.ir

Archive of SID

Goteti, P. K., Emmanuel, L. D. A., Desai, S., & Shaik, M. H. A. (2013). Prospective Zinc Solubilizing Bacteria for Enhanced Nutrient Uptake and Growth Promotion in Maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Microbiology*, 7 pages (on line).

Hosseinzadeh, J., & Pourhashemi, M. (2015). An investigation on the relationship between crown indices and the severity of oak forests decline in Ilam. *Iranian Journal of Forest, 7*(1), 57-66.

Jangandi, S., Negalur, B., Narayan, C., & Lakshman, H. C. (2016). Effect of phosphate solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi with and without rock phosphate on four forest tree seedlings. *International Journal of Bioassays, 6*(1), 5204-5207.

Jezabel, D., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Lucas-García, J. A., Colón, J. J., & Gutiérrez-Mañero, F. J. (2004). *Bacillus* spp. and *Pisolithus tinctorius* effects on *Quercus ilex* ssp. *ballota*: a study on tree growth, rhizosphere community structure and mycorrhizal infection. *Forest Ecology and Management, 194*(1-3), 293-303.

Karlicic, V., Curguz, V. G., & Raicevic, V. (2016). The alleviation of reforestation challenges by beneficial soil microorganisms. *Reforesta, 1*, 238- 260

MacFadine J. F. (1980). *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Second edition. Warley Press, Inc.

Mafia, R. G., Alfenas, A. C., Ferreira, E. M., Binoti, D. H. B., Mafia, G. M. V., & Mounteer, A. H. (2009). Root colonization and interaction among growth promoting rhizobacteria isolates and eucalypts species. *Revista Árvore, 33*(1), 1-9.

Naderi Shahab, M.A. (2016). *Iranian oaks*. Agricultural Education and Extension.

Pourhashmi, M. (2016). Study and improvement of Coppice oak stands structure in Marivan forests Investigation an (first phase). Final report, Research Institute of Forests and Rangelands.

Probanza, A., Mateos, J.L., Lucas, J.A., Ramos, B., de Felipe, M.R., & Gutie´rrez Man˜ero, F.J. (2001). Effects of inoculation with PGPR Bacillus and *Pisolitus tinctorius* on *Pinus pinea* L. growth, bacterial rhizosphere colonization and mycorrhizal infection. *Microbal Ecology*, *41*:, 140–148.

Rezaee, K., Zolfaghari, R., and Naghiha, R. 2017. Isolation, characterization, and influence of native rhizobacteria on growth of Brant's Oak (*Quercus brantii* Lindl.) seedlings. *Iranian Journal of Forest, 9*(3), 399-409.

Şahin, F., Çakmakçı, R., & Kantar, F. (2004). Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N2-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil, 265*, 123-129.

Sperber, J. I. (1958). The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research, 9*, 778-781.

Wei, C. J., Quan, Y. Y., & Zheng, S. J. (2014). An underground tale: contribution of microbial activity to plant iron acquisition via ecological processes. *Annals Botany, 113*(1), 7-18.

Young, C. (1990). Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils .*Soil Science and Plant Nutrition*. 36 (2), 225-231

Zaady, E., Perevolotsky, A., & Okon, Y. (1993). Promotion of plant growth by inoculation with aggregated and single cell suspension of *Azospirillum brasilense*. *Soil Biology and Biochemistry, 25*, 819-823.

Zaady, E., & Perevolotsky, A., (1995). Enhancement of growth and establishment of oak seedlings (*Quercus ithaburensis* Decaisne) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Forest Ecology and Management, 72*(1), 81-83.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Forest
Vol. 10, No. 3, Autumn 2018
pp. 361-371

Studying the application of growth promoting rhizobacteria in rehabilitation of oak forests (Case study: Garan research station, Marivan)

M. Teimouri[1]*, M. Khoshnevis[1], M.H. Sadeghzadeh Hallaj[2], T. Alizadeh[2], M. Matinizadeh [3], and M. Pourhasehemi [3]

[1] M.Sc., Scientific board, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I. R. Iran
[2] M.Sc., Research expert, Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I. R. Iran
[3] Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I. R. Iran

(Received: 21 April 2018, Accepted: 11 September 2018)

Abstract

The area of oak forest in different vegetation zones has gradually decreased because of frequently possession and exploitation. The reclamation of the disturbed habitats is very crucial because of oak importance in Zagros areas. The success of reforestation programs depends on the quality of seedlings. The aim of this study was to determine the effect of phosphate solubilizing bacteria on *Quercus brantii* Lindl. and *Quercus libanii* Oliv. survival and growth parameters. For this purpose, phosphate-solubilizing bacteria were isolated by screening methods from rhizosphere and identified by microbiological methods. Collected seeds were sterilized and inoculated by bacteria and sowed in Garaan Research station, Marivan, Kurdistan. The experiment was conducted in a factorial based on randomized complete block design with two main factors including species (two levels) and bacteria (five levels). The results indicated that the effect of species and bacteria on seedling survival was not significant. Inoculated bacteria caused increase in height growth; collar diameter and root dry matter. According to mean comparison of height growth, collar diameter and root dry matter; it seems the response of *Q.libanii* was better than *Q.brantti* to inoculation. In addition, Pseudomonas sp. and *Bacillus sp*. caused more increase compared to other treatments and are suitable candidates in rehabilitation of Zagros forests

Keywords: Rehabilitation, Phosphate solubilizing bacteria, *Q. brantii*, Zagros, *Q. libanii*

∗Corresponding author Tel: +9821444757275 Email: mteimouri@rifr-ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir