

## اثر تلقیح باکتری های افزاینده رشد گیاه بر رشد و جذب عناصر غذایی ذرت دانه ای (هیبریدسینگل کراس ۷۰۴)

### Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth and Nutrient uptake of Maize (SC.704)

حمیدرضا دورودیان<sup>۱\*</sup>، حسین بشارتی کلایه<sup>۲</sup>

۱. استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده کشاورزی، لاهیجان، ایران، (نگارنده مسئول)
۲. استاد پژوهش، موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران،

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۹

#### چکیده

\*\*، اثر تلقیح باکتری های افزاینده رشد گیاه بر رشد و جذب عناصر غذایی ذرت دانه ای (هیبریدسینگل کراس ۷۰۴) نشریه پژوهش های کاربردی زراعی دوره ۳۱ - شماره ۳ - پاییز ۱۲۰ پانز ۹۷: ۶۲-۷۴

به منظور ارزیابی اثر ۸ جدایه برتر از گونه های سودوموناس، باسیلوس و ریزوبیوم ( $Pf_{29}$ ،  $Pf_{39}$ ،  $Pf_{12}$ ،  $Pf_{54}$ )،  $BV_1$ ،  $BV_2$ ،  $Rm_{42}$  و  $Rm_{43}$  بر عملکرد و جذب عناصر غذایی ذرت، آزمایشی با ۱۲ تیمار شامل ۸ جدایه و همچنین مخلوط جدایه های سودوموناس فلورسنت، ریزوبیوم و باسیلوس ( $T_0$ )، شاهد منفی بدون کود و تلقیح ( $T_{10}$ )، تیمار کم نهاده شیمیایی (۵۰ درصد توصیه کودی) ( $T_{11}$ ) و تیمار شیمیایی توصیه کودی کامل ( $T_{12}$ )، در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در شرایط گلخانه ای در شهر کرج انجام گردید. نتایج آزمایش نشان داد که گیاهان تیمارهای  $Pf_{12}$ ،  $BV_1$ ،  $Pf_{54}$  و  $T_0$  بیشترین ارتفاع بوته را داشتند. بیشترین جذب نیتروژن به ترتیب در تیمارهای  $Rm_{43}$  و تلفیق جدایه ها مشاهده شد. فسفر جذب شده گیاهان تیمار شده باکتری های باسیلوس سه و نیم برابر شاهد افزایش یافت. جذب فسفر گیاهان سطوح تیمار مخلوط باکتری ها و نیز کاربرد باکتری های ریزوبیوم بطور مجزا، دو و نیم برابر تیمار شاهد بود. تیمار  $Pf_{54}$  بیشترین غلظت آهن اندام هوایی ذرت را داشت. کاربرد باکتری های مورد استفاده در این آزمایش بطور معنی داری نیاز گیاه به عناصر نیتروژن، آهن، منگنز و روی را تامین کرد که باکتری های جنس باسیلوس موثرترین باکتری در این میان بودند.

واژه های کلیدی: باسیلوس، ذرت، ریزوبیوم، سودوموناس

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: Doroudian@liau.ac.ir

## مقدمه:

دستکاری در ریزوسفر با تلقیح PGPR<sup>2</sup> برای افزایش رشد و کنترل پاتوژن‌های گیاه نتایج قابل ملاحظه‌ای را ایجاد می‌کند (Nelson, 2004). میکروارگانیسم‌های مفید ریزوسفر اولین پل دفاعی ریشه علیه بیمارگرهای خاکزی هستند (Weller, 1983). ماهیت دینامیکی ریزوسفر باعث ایجاد روابط متقابلی شده که منجر به تحریک رشد گیاه و کنترل زیستی بیماری‌های گیاه می‌شود. روابط متقابل بیوشیمیایی و تبادل سیگنال‌های ملکولی میان گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک می‌تواند به شدت بر رشد گیاه و عملکرد محصول تأثیر داشته باشد. باکتری‌های PGPR می‌توانند با تحریک غیر مستقیم رشد گیاه، اثرات زیان‌آور یک یا تعدادی از بیمارگرهای گیاهی را تعدیل یا خنثی کنند (Schippers *etal*, 1987). باکتری‌های ریزوسفری با استفاده از ۴ مکانیسم اثر تغذیه‌ای، هورمون‌ها یا محرک‌های رشد گیاهی<sup>3</sup> محافظت‌کننده‌های زیستی<sup>4</sup> و زیست‌پالایی<sup>5</sup> به طور مستقیم یا غیر مستقیم باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شوند (Rai, 2006).

سودوموناس و باسیلوس از مهم‌ترین باکتری‌های PGPR هستند که با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین، جیبرلیک اسید و تولید آنزیم ACC-دآمیناز باعث افزایش سطوح ریشه گیاه از طریق افزایش وزن توده ریشه‌ها، افزایش شاخه‌زایی، تولید ریشه‌های نازک‌تر و افزایش تولید تارهای

ذرت (*Zea mays*) از گیاهان مهم زراعی است که نیاز غذایی بالایی دارد. باتوجه به گستردگی سیستم ریشه آن که سطح خاک را اشغال می‌نماید، روابط متقابل زیادی با میکروارگانیسم‌های خاک داشته و تأثیر زیادی از موجودات خاکزی می‌پذیرد.

ریزوسفر<sup>1</sup> به عنوان حجمی از خاک که ریشه‌های گیاهان را احاطه کرده با ریشه ارتباط متقابل دارد شناخته می‌شود. ریزوپلین شامل سطح‌ها و ذراتی از خاک است که شدیداً به ریشه‌ها چسبیده اند (Kennedy, 2005). ریشه‌های گیاه مقادیر قابل توجهی از ترکیبات حاوی کربن و نیتروژن را در خاک اطراف خود آزاد می‌کنند. میکروارگانیسم‌ها جذب این محیط غنی از مواد غذایی شده و از ترشح‌ها و تراوش‌ها گیاه برای رشد و تکثیر بر روی سطح ریشه و خاک ریزوسفری استفاده می‌کنند (Lynch, 1990). به دلیل نگرانی‌هایی که در مورد اثرات مواد شیمیایی کشاورزی وجود دارد، توجه فزاینده‌ای در مورد افزایش شناخت فعالیت‌های جمعیت‌های میکروبی و امکان استفاده از آنها در کشاورزی وجود دارد (Barea *etal*, 2005).

باکتری‌ها فراوان‌ترین میکروارگانیسم‌های موجود در ریزوسفر هستند (Kloepper and Antoun, 2001). باکتری‌های افزاینده رشد گیاه جوانه زنی‌بذر، توسعه‌ی ریشه، تغذیه‌ی معدنی و استفاده از آب، ظهور و تجمع ریشه‌ها شده و در نهایت رشد گیاه را تحریک می‌کنند.

1 Rhizosphere

2 Plant Growth promoting Rhizobacteria

3 Biostimulants

4 Bioprotectants

5 Bioremediation

مگنتر می شود (Gaind and Gaur, 1989). تلقیح گندم و ذرت با باکتری آزوسپریلیوم براسیلنس نیز تغییراتی در انتشار پروتون ریشه‌ها ایجاد کرد و موجب افزایش جذب یون‌های آهن و روی شد (Turan *etal*, 2006).

ذرت گیاهی است که ترشحات غنی از قندهای مختلف، آمینواسیدها و کربوهیدرات‌ها تولید می‌کند. این ترکیبات به آسانی برای میکروارگانیسم‌های مختلف قابل دسترس شده و ممکن است رشد آنها را افزایش دهد (Baudoin *etal*, 2002). مواد ترشح شده از ریشه‌های ذرت نیز در رشد مایه تلقیح‌های اضافه شده به بذر و خاک مؤثر هستند (Van Overbeek *etal*, 2002). ترشحات ریشه‌ی ذرت اثر تحریک‌کنندگی شدیدی روی جمعیت ریزوسفر، خصوصا باکتری‌های سودوموناس دارد (Pandey *etal*, 1998). قابلیت زنده ماندن و اثرات مایه تلقیح‌های باکتری اهمیت زیادی بر روی میکروفلورای بومی خاک دارد و پاسخ ذرت به تلقیح با باکتری‌های *B. megaterium*, *B. subtilis* و *P. corrugata* وابسته به زنده باقی ماندن مایه تلقیح‌ها در ریزوسفر دارد (Vandepitte *etal*, 1995).

کاربرد باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه و حل‌کننده فسفات مثل گونه‌های باسیلوس، افزایش عملکرد را در گیاهان برنج، گندم، کلزا و ذرت به دنبال داشته است (De Freitas, 2000). سویه‌های دارای آنزیم ACC-دآمیناز قادر به استفاده از ACC (۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید) به عنوان منبع نیتروژن هستند و می‌توانند از طریق کاهش غلظت اتیلن،

کشنده می‌شوند. این باکتری‌ها همچنین از طریق افزایش سطوح ریشه‌ای (به واسطه هورمون‌های تولیدی) و تولید سیگنال‌های ملکولی مربوطه باعث بهبود روابط همزیستی گیاه با قارچ‌های میکوریزی و سایر باکتری‌ها می‌شوند، لذا به این گروه از باکتری‌ها Helper Bacteria نیز می‌گویند (Rai, 2006).

تلقیح گیاهان با سودوموناس فلورسنت، از طریق تولید مواد محرک رشد مثل ایندول استیک اسید (IAA) و سیتوکینین‌ها رشد گیاهان را افزایش می‌دهد (Vikram *etal*, 2007). در بررسی‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای انجام شده توسط Pandey *etal* (1998) مایه تلقیح‌های باکتریایی موجب افزایش جمعیت‌های میکروبی بومی ریزوسفر شده و تأثیرات مثبتی در افزایش رشد ذرت داشتند. در خاک با حاصلخیزی کم Asquith، سویه‌های باکتری سودوموناس به طرز معنی‌داری رشد اولیه گیاه گندم را افزایش دادند (Defreitas and Germida, 1992). بر اساس نتایج Lazarovits and Norwak (1997) تلقیح گیاهان با باکتری‌های PGPR تنها در شرایط اقلیمی مطلوب منجر به افزایش عملکرد گیاهان باغی شد.

تلفیق باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم و تلقیح آن به بذرهای ذرت موجب افزایش غلظت آهن، روی و مگنتر اندام هوایی ذرت می‌شود (Dahado and Amara, 1997). افزایش جذب عناصر در ریزوسفر با تولید اسیدهای آلی توسط گیاهان و باکتری‌ها توأم بوده که موجب کاهش pH محلول خاک و در نتیجه افزایش دسترسی گیاه به عناصر فسفر، کلسیم، آهن و

(Alexander and Zuberer, 1991) با استفاده از محیط (CASB.A)، تولید آنزیم کیتیناز (Boller and Mauch, 1988)، توان حل کنندگی فسفات معدنی نامحلول (روش اسپربر (Sperber, 1985) با منبع فسفات تری کلسیم فسفات) و توان حل کنندگی فسفات آلی (روش اسپربر با منبع اینوزیتول هگزا فسفریک اسید (نمک کلسیم فیتیک اسید) انجام گردید.

پس از بررسی‌های مقدماتی، یک خاک زراعی آهکی فقیر از اطراف جاده بند (ارومیه) نمونه برداری و مقادیر فسفر قابل جذب با روش اولسن، نیتروژن کل با روش کلدال، پتاسیم قابل جذب (قابل استخراج با استات، هدایت الکتریکی، pH و رطوبت ظرفیت زراعی، کربن آلی روش والکلی بلاک، بافت خاک با روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1951) اندازه‌گیری شد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش حاصل از آزمون خاک در جدول ۱ آورده شد.

#### انتخاب سویه‌های برتر باکتری‌ها و خاک

##### برای کشت

پس از انجام آزمایشات فوق بر اساس نتایج آزمون‌های انجام شده، ۲ جدایه ریزوبیومی مؤثر ( $Rm_{33}$  و  $Rm_{34}$ )، دو جدایه باسیلوس ( $Bv_1$ ) و ( $Bv_2$ ) و چهار جدایه سودوموناس فلورسنت ( $pf_{12}$ ،  $pf_{29}$ ،  $pf_{39}$ ،  $pf_{54}$ ) برای تهیه مایه تلقیح

اثرات منفی آن را بر رشد ریشه کنترل کنند (Wang *et al*, 2004).

افزایش وزن تر بخش هوایی بوته، تعداد برگ و ارتفاع بوته ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های سودوموناس (Hernandez *et al*, 1995) و افزایش وزن خشک بوته (بیوماس) در اثر تلقیح بذر ذرت با *A. braziliense* و گزارش *A. chroococcum* (Tilak *et al*, 2006) شده است. بر اساس تحقیقات Baudoin *et al* (2002) تأثیر مایه تلقیح‌های باکتری بر روی گیاه ذرت بستگی به مرحله رشد گیاه داشته و با مسن تر شدن گیاه تعداد باکتری‌ها و ذخایر میکروبی خاک کاهش می‌یابد و این حالت نشان دهنده تأثیر قابل توجه زمان بر روی باکتری‌های تلقیح شده به گیاه است. هدف از اجرای این پژوهش بررسی اثر باکتری‌های PGPR در رشد و جذب عناصر غذایی در گیاه ذرت بود.

#### مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۵۱ جدایه باکتری جداسازی شده از ریزوسفر یونجه، ۸ جدایه برتر استفاده شد. انتخاب بر اساس توانایی تولید اکسین (با روش Glick and Pattern (1999))، تولید ACC- $\Delta$  (با استفاده از روش پیشنهادی آمیکو (Amico *et al*, 2005))، تولید سیانید هیدروژن (HCN) روش Donate-Corre *et al* (۲۰۰۴) (تولید سیدروفور (بر اساس روش اصلاح شده

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده پیش از کشت

Table 1. Some physical and chemical properties of soil prior to planting

عمق خاک Depth (cm)	رطوبت در ظرفیت زراعی % FC	بافت Texture	پتاسیم K (mg/kg)	فسفر خاک P (mg/kg)	مواد آلی OM %	کربن آلی OC %	شوری (dS/m) EC	اسیدیته pH
0-30	30	Clay sandy loam	201.6	8.2	0.7	0.42	0.5	7.2

۱۰ دقیقه در محلول ۲/۵ درصد هیپوکلرید سدیم استریل سطحی شده و سپس با مقادیر کافی از آب مقطر استریل شستشو شدند. بذر درون پلیت های حاوی کاغذ صافی های مرطوب به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. بذر جوانه دار ذرت درون ارلن های محتوی سوسپانسیون های باکتری ریخته شده و به مدت ۲ ساعت روی شیکر با چرخش ۶۰ دور در دقیقه تکان داده شدند، سپس در کشت گلخانه ای در گلدان ها کشت شدند.

در این آزمایش ۱۲ تیمار شامل ۸ جدایه انتخابی (Bv<sub>2</sub>, Bv<sub>1</sub>, Pf<sub>29</sub>, Pf<sub>39</sub>, Pf<sub>12</sub>, Pf<sub>54</sub>، Rm<sub>42</sub> و Rm<sub>43</sub>، مخلوط جدایه های سودوموناس فلورسنت، ریزوبیوم و باسیلوس (T<sub>9</sub>)، شاهد منفی بدون کود و تلقیح (T<sub>10</sub>)، تیمار کم نهاده شیمیایی (۵۰ درصد توصیه کودی) (T<sub>11</sub>) و

بذر ها و استفاده برای تلقیح بذر ذرت دانه ای هیبرید ۷۰۴ در کشت گلخانه ای انتخاب شدند و در محیط نوترنت آگار (Nutrient Agar) کشت داده شده و برای نگهداری های طولانی مدت در محیط نوترنت براس (Nutrient Broth) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد ذخیره و نگهداری شدند. تراکم باکتری ها در مایه تلقیح ۱۰<sup>۸</sup> سلول در هر میلی لیتر مایه تلقیح بود. لازم به توضیح است که باکتری های ریزوبیوم به جهت اثرات افزایش دگی رشد آن مورد توجه بودند و بدیهی است در ریزوسفر ذرت تثبیت نیتروژن نخواهند داشت ((Lynch, 1990. جدول ۲ ویژگی های اندازه گیری شده در باکتری های مورد استفاده را نشان می دهد.

بذر ذرت هیبرید ۷۰۴ تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر ابتدا به مدت

جدول ۲- فعالیت محرک رشدی و حل کنندگی فسفات های آلی و معدنی باکتری های مورد استفاده

Table 2. Activities of plant growth promoting and organic and mineral P solubilizing bacteria used in the study

Bacteria	IAA (µg/ml)	Siderophore*	ACC deAminase (µg/ml)	HCN**	غلظت فسفات محلول soluble P Concentration (µg/ml)	pH	قطر هاله قطر کلونی Halo to colony ratio	قطر هاله قطر کلونی Halo to colony ratio	غلظت فسفات محلول (µg/ml) soluble P Concentration	pH	حل کنندگی فسفات	
											معدنی	آلی
						حل کنندگی فسفات معدنی Mineral P solubilizing		حل کنندگی فسفات آلی Organic P solubilizing				
Bv1	4.15	-	-	2	82.22	4.33	1.9	144.2	4.15	2.97		
Bv2	4.04	-	0.64	2	85.72	4.36	2.01	127.1	4.30	2.71		
Rm42	4.04	1.8	0.16	4	96.41	4.67	1.2	-	-	-		
Rm43	4.74	2	0.23	2	84	5.86	1.5	-	-	-		
Pf12	2.09	6.02	1.01	3	52.5	4.82	3.86	68.24	4.92	2.23		
Pf54	3.09	4.96	0.25	3	63.21	4.91	3.63	70.12	4.79	2.71		
Pf29	4.61	4.33	-	3	64.12	4.36	2.73	90.43	4.21	2.36		
Pf39	2.84	4.46	0.67	2	32.01	5.65	1.5	43.39	6.13	2.43		
Average					69.54	5.21	1.56	58.96	5.15	1.77		

- عدم تولید \* : نسبت قطر هاله نارنجی به قطر کلونی در محیط CAS آگار

-: no production \* : halo to colony ratio in CAS agar medium.

\*\* : رنگ کاغذ صافی ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب زرد، کرمی، قهوه ای روشن و قهوه ای تیره بوده است.

The color of filter papers 1,2,3 and 4 was yellow, creamy, pale brown and dark brown, respectively.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده رشد گیاه ذرت

Table3. Results of variance analysis for the effects of different treatments on some growth characters of maize

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	ریشه خشک وزن Root weight	وزن خشک بوته Biological yield	ارتفاع بوته Plant height
میانگین مربعات Mean Squares				
تکرار Rep	2	0	0.01	43.6
تیمار Treatment	11	0.03	0.13**	94.1**
خطا Error	22	0.01	0.007	69.6
ضریب تغییرات C.V.		8.14	7.45	9.95

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	روی Zn	منگنز Mn	آهن Fe	فسفر P	نیترژن N
میانگین مربعات Mean Squares						
تکرار Rep	2	18.23	6.13	2.98	2.85	5.16
تیمار Treatment	11	20.29	9.59	7.29	144.1	56.54
خطا Error	22	12.8	1.02	0.71	1.44	5.21
ضریب تغییرات C.V.		10.3	6.33	7.04	9.68	10.16

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح ۵ درصد، معنی دار در سطح یک درصد و غیر معنی دار می باشند.

\* and \*\* are significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

هفته پس از سبز کردن، تعداد گیاهان هر گلدان به ۳ بوته تقلیل یافت. در طول مدت زمان کاشت تا برداشت از اتاقک فیتوترون با دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۷۰ درصد و تناوب ۱۲ ساعت نور ۶۰۰۰۰ لوکس (روز) و ۱۲ ساعت تاریکی استفاده شد. رطوبت خاک گلدان‌ها در طی مدت آزمایش ۸۰ درصد ظرفیت زراعی بود و پس از ۸۰ روز گیاهان به همراه خاک چسبیده به ریشه‌ها از گلدان‌ها خارج و به آزمایشگاه منتقل شدند. فاکتورهای

تیمار شیمیایی توصیه کودی کامل ( $T_{12}$ )، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار مورد آزمون قرار گرفتند.

به خاک گلدان‌ها (غیر از شاهد)، کل توصیه کودی فسفر (سوپر فسفات تریپل) و کل توصیه کودی پتاسیم (سولفات پتاسیم) و یک سوم نیترژن (اوره) قبل از کاشت گیاه و باقی اوره بصورت سرک همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها اضافه شدند. تعداد ۵ بذر در عمق حدود ۳ سانتی متری خاک کشت شد که یک

وزن خشک و معنی دار نبود (جدول ۳).

### تأثیر تیمارها بر وزن خشک بوته ذرت

اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک بوته ذرت در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). مؤثرترین تیمار تلفیق همه سویه باکتری‌ها ( $T_9$ ) بود و موجب افزایش ۸۳ درصدی وزن خشک بوته ذرت نسبت به شاهد شد (شکل ۲). افزایش ۱۸ درصدی وزن خشک بوته ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس گزارش شده است (Biari *et al*, 2008). تلقیح بذرهای ذرت با ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به ترتیب ۱۷ و ۲۱ درصد وزن خشک بوته را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش دادند (Zahir *et al*, 1998). اثر تیمارها بر وزن خشک ریشه در تحقیق مورد اشاره معنی دار نبود. باکتری‌های افزایش دهنده رشد مورد استفاده در این بررسی احتمالاً از طریق سازوکارهای تولید هورمون‌های افزایش دهنده رشد، کنترل بیماری‌های گیاهی و بهبود تغذیه گیاه، در افزایش وزن خشک بوته ذرت مؤثر واقع شده اند.

### تأثیر تیمارها بر غلظت نیتروژن بخش

#### هوایی ذرت

بیشترین غلظت نیتروژن به ترتیب در تیمارهای  $RM_{43}$  (۲۹/۹۰ میلی گرم در کیلوگرم) و تلفیق جدایه‌ها مشاهده شد. (شکل ۴). تیمار  $RM_{43}$  (ریزوبیوم) غلظت نیتروژن بخش هوایی ذرت را ۱۴۱ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. میانگین غلظت نیتروژن در باکتری‌های ریزوبیوم ( $RM_{43}$  و  $RM_{42}$ ) ۱۱۴/۰۳ درصد نسبت به شاهد، در مخلوط باکتری‌های ریزوبیوم، باسیلوس

مورد بررسی عبارت بودند از ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، وزن خشک ریشه، نسبت ریشه به ساقه، طول ریشه، غلظت نیتروژن، فسفر، آهن، منگنز، روی. داده‌ها با نرم افزار MSTATC تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد و به روش آزمون LSD انجام شد.

### نتایج و بحث

جدول ۳ تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های اندازه گیری شده در گیاه ذرت را نشان می دهد.

#### اثر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته ذرت

تیمارهای  $PF_{12}$ ،  $BV_1$ ،  $PF_{54}$  و  $T_9$  به ترتیب با ۹۰/۱، ۸۹/۹، ۸۹/۹، ۸۹/۲ سانتی‌متر، بیشترین ارتفاع بوته را داشتند (جدول ۳). میانگین ارتفاع بوته ذرت در تیمار تلقیح شده با سویه‌های سودوموناس ( $PF_{54}$ ،  $PF_{12}$ ،  $PF_{39}$  و  $PF_{29}$ ) ۱۵/۸۸ درصد، با سویه‌های باسیلوس ( $BV_1$  و  $BV_2$ ) ۲۰ درصد و با سویه‌های ریزوبیوم ( $RM_{42}$  و  $RM_{43}$ ) ۱۵/۵ درصد و مخلوط سویه‌ها ۲۶/۸ درصد ارتفاع بوته ذرت را نسبت به شاهد افزایش دادند. تلقیح بذرهای ذرت با باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس (Zahir *et al*, 1998) و آزوسپریلیوم (Hamidi and Malakouti, 2007) موجب افزایش ارتفاع بوته ذرت نسبت به شاهد شد. کاربرد تنها و تلفیقی باکتری‌های سه جنس سودوموناس، ریزوبیوم و باسیلوس، با سازوکارهایی از قبیل تولید هورمون‌های افزایش دهنده رشد مثل اکسین، جیبرلین و سیتوکینین باعث افزایش تقسیم سلول‌های ساقه و ارتفاع بوته ذرت شده اند. اثر تیمارهای آزمایشی بر

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر صفات مورد اندازه‌گیری ذرت

Table 4. Mean Comparison for the effects of different treatments on some growth characters of maize

	روی Zn	منگنز Mn	آهن Fe	فسفر P	نیترژن N	وزن خشک بوته Biological yield گرم در گلدان	ارتفاع بوته Plant height سانتیمتر
	گیاه میلی گرم در کیلوگرم mg/kg plant			میلی گرم در بوته mg/pot		g/pot	cm
Pf54	36.1	18.3	15.38	9.1	24.4	1.17	81.8
Pf12	37.5	17.75	12.8	9.5	25.2	1.42	89.9
Pf39	31.7	17.5	12.2	7.6	20.8	0.97	83.1
Pf29	35.1	15.5	12.1	8.1	21.5	1.21	75.1
Bv1	35.9	16.1	11.8	24.9	22.5	1.35	89.3
Bv2	34.7	15.4	11	19.9	21.1	1.0	83.2
Rm42	34.1	17.1	12.2	14.8	21.9	0.91	82
Rm43	38.8	17.5	12.5	20.5	29.6	1.05	90.1
Mixture of strains	33.8	14.75	12.4	17.5	26.1	1.55	89.9
Control	30.05	13.3	9.1	5.07	12.4	0.82	71.1
توصیه کودی کامل Full application of recommended fertilizer	32	13.9	10.7	5.3	18.6	1.06	80.2
۵۰ درصد توصیه کودی Application of 50% of recommended fertilizer	35.9	13.9	11	5.7	21.7	1.22	82.6
LSD (df=22, $\alpha < 0.05$ )	6.06	1.7	1.42	2.03	3.86	0.14	14.04

افزایش دادند.

و سودوموناس ( $T_9$ ) ۱۱۴/۰۹ نسبت به شاهد، در باکتری‌های سودوموناس ( $PF_{54}$ ،  $PF_{12}$ ،  $PF_{39}$  و  $PF_{29}$ ) ۸۹/۱۲ درصد نسبت به شاهد و در باکتری‌های باسیلوس ( $BV_1$  و  $BV_2$ ) ۸۰/۶ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت.

## اثر تیمارها بر جذب فسفر بخش هوایی

## ذرت

باکتری‌های سودوموناس ( $PF_{54}$ ،  $PF_{12}$ ،  $PF_{39}$  و  $PF_{29}$ ) موجب افزایش معنی دار غلظت فسفر در اندام هوایی ذرت نسبت به تیمار شاهد شدند ولی در مقایسه با سایر تیمارها کمتر موفق بودند (جدول ۳). میانگین جذب فسفر در باکتری‌های باسیلوس ( $BV_1$  و  $BV_2$ ) ۳۴۵ درصد نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. مخلوط باکتری‌های باسیلوس، ریزوبیوم و سودوموناس ( $T_9$ ) در مقایسه با شاهد ۲۴۹ درصد، باکتری‌های ریزوبیوم ( $RM42$  و  $RM43$ ) در مقایسه با شاهد

در تحقیقی مشابه، افزایش مقدار نیترژن جذب شده توسط گیاهان ذرت تلقیح شده با سویه‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در مقایسه با شاهد بدون تلقیح به ترتیب ۲۵ و ۲۲ درصد بود (Biari *etal*, 2008). باکتری‌های مورد استفاده توانایی‌های مختلفی در تثبیت نیترژن داشتند و باکتری‌های ریزوبیوم که از نظر تثبیت کنندگی نیترژن کاملاً شناخته شده اند، بیشتر از سایر سویه‌ها جذب نیترژن اندام هوایی ذرت را



را داشتند و افزایش معنی داری در غلظت آهن بخش هوایی ذرت در مقایسه با تیمار شاهد و توصیه کودی بدون تلقیح باکتریایی و سوبه های باسیلوس که توانایی تولید سیدروفور را نداشتند (جدول ۲) ایجاد کردند. سودوموناس ها (PF12 و PF54) برترین سوبه در تولید سیدروفور، کلاته کردن آهن و در نتیجه افزایش غلظت آهن در اندام هوایی بودند.

بیشترین و کمترین غلظت منگنز به ترتیب در تیمارهای PF54 (۱۸/۳۴ میلی گرم در کیلوگرم) و شاهد (۱۳/۳۸ میلی گرم در کیلوگرم) مشاهده شد. کاربرد کلیه باکتری ها به تنهایی غلظت منگنز اندام هوایی ذرت را بطور معنی دار نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۴). بیشترین و کمترین غلظت روی در اندام هوایی ذرت به ترتیب در تیمار RM43 (۳۸/۸۹ میلی گرم در کیلوگرم) و PF540 (۳۰ میلی گرم در کیلوگرم) مشاهده شد. بجز تیمار PF39، سایر تیمارها نسبت به شاهد غلظت روی اندام هوایی ذرت را بطور معنی دار افزایش دادند (جدول ۴).

باکتری ازتوباکتر تلقیح شده به ذرت تأثیری در افزایش غلظت منگنز اندام هوایی ندارد، ولی کاربرد تلفیقی از باکتری ازتوباکتر و آزوسپریلیوم موجب افزایش معنی دار (۳۱ درصد) غلظت منگنز در اندام هوایی ذرت در مقایسه با گیاه شاهد بدون تلقیح شد. تلقیح بذرهاى ذرت با باکتری ازتوباکتر باعث افزایش غلظت روی اندام هوایی شد، ولی تلقیح با آزوسپریلیوم کارایی بیشتری نسبت به ازتوباکتر در افزایش روی نشان داد (Biari et al, 2008). باکتری های افزاینده رشد گیاه با تغییر در

۲۴۳ درصد و باکتری های سودوموناس (PF54)، PF12، PF39 و PF29) در مقایسه با شاهد ۷۲ درصد، میانگین جذب فسفر اندام هوایی ذرت را افزایش دادند.

در تحقیقی، تلقیح بذرهاى ذرت با آزوسپریلیوم میزان فسفر اندام هوایی را ۲۳ درصد افزایش داد، در حالی که تلقیح مشترک بذرهاى ذرت با آزوسپریلیوم و ازتوباکتر موجب افزایش ۱۳۵ درصدی جذب فسفر شد (Biari et al, 2008). نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، با نتایج بررسی توان حل کنندگی فسفات باکتری های مورد استفاده مطابقت داشت و مقادیر مختلف فسفر اندازه گیری شده در اندام هوایی ذرت را می توان ناشی از توان حل کنندگی متفاوت سوبه های باکتری دانست، بطوری که این توانایی در باکتری های باسیلوس مورد استفاده بیشتر بود و اثر بیشتری در افزایش جذب فسفر داشت.

### اثر تیمارها بر غلظت آهن، منگنز و روی

#### بخش هوایی ذرت

تیمار PF<sub>54</sub> بیشترین (۱۵/۳۸ میلی گرم در کیلوگرم) و تیمار شاهد کمترین (۹/۰۶ میلی گرم در کیلوگرم) غلظت آهن اندام هوایی ذرت را داشتند (جدول ۴). نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان داد که کاربرد ازتوباکتر و آزوسپریلیوم غلظت آهن موجود در دانه ذرت را به ترتیب ۱۸ و ۲۷ درصد افزایش داد و کاربرد توأم آنها نیز تأثیر معنی داری در افزایش غلظت آهن داشت (Biari et al, 2008).

تمام سوبه های سودوموناس و ریزوبیوم مورد استفاده در تلقیح بذرها، توانایی تولید سیدروفور

توصیه کودی بدون تلقیح باکتریایی و سویه های باسیلوس که توانایی تولید سیدروفور را نداشتند تیمار PF<sub>54</sub> بیشترین و تیمار شاهد کمترین غلظت آهن اندام هوایی ذرت را داشتند. کاربرد ازتوباکتر و آزوسپریلیوم، غلظت آهن موجود در دانه ذرت را به ترتیب ۱۸ و ۲۷ درصد افزایش داد.

کاربرد کلیه باکتری‌ها به تنهایی غلظت منگنز اندام هوایی ذرت را بطور معنی‌دار نسبت به شاهد افزایش دادند. بیشترین و کمترین غلظت روی در اندام هوایی ذرت به ترتیب در تیمار RM43 و PF540 مشاهده شد.

تهیه مایه تلقیح از دو سویه باکتری باسیلوس، دو سویه باکتری ریزوبیوم و چهار سویه باکتری سودوموناس منتخب و تلقیح بذر جوانه دار ذرت قبل از کشت با این باکتری‌ها و استفاده از تنها یک سوم از توصیه کودی نیتروژن و فسفر در تیمارهای باکتری توان خوبی برای رقابت با کودهای شیمیایی داشت و شاخص‌های رشد و غلظت عناصر بخش هوایی گیاه را در مقایسه با مصرف کودهای شیمیایی بصورت معنی‌داری افزایش داد. نهایتاً نتیجه این تحقیق نشان داد که باکتریهای مورد استفاده با یکدیگر سازگاری داشته و تلفیق آنها شاخص‌های فیزیولوژیک و عملکرد گیاه ذرت را افزایش می‌دهد.

مرفولوژی ریشه و افزایش سطح جذب ریشه، موجب افزایش جذب عناصر معدنی در گیاهان می‌شوند (Bashan *etal*, 1990)؛ افزایش جذب عناصر غذایی کم مصرف در اثر تلقیح گیاه با باکتری‌های PGPR، به دلیل افزایش رشد ریشه و گسترش تارهای کشنده توسط هورمون‌ها و برخی ماکرومولکول‌های تولید شده توسط باکتری‌ها است (Starr *etal*, 1995). بنابراین افزایش غلظت منگنز و روی در اندام هوایی ذرت، شامل مکانیسم‌های مختلفی مثل ترشحات ریشه ای زیاد ذرت، تولید هورمون‌های گیاهی توسط باکتری‌های تلقیح شده به گیاه، افزایش وزن و طول ریشه و تولید سیدروفورهای باکتریایی است.

### نتیجه گیری

تیمارهای BV<sub>1</sub>، PF<sub>12</sub>، BV<sub>1</sub>، PF<sub>54</sub> و T<sub>9</sub> بیشترین ارتفاع بوته، تیمار تلفیق سویه‌ها بیشترین وزن خشک بوته و تیمارهای RM<sub>43</sub> و تلفیق سویه‌ها بیشترین غلظت نیتروژن اندام هوایی را دارا بودند. مخلوط سویه‌ها و نیز کاربرد باکتری‌های ریزوبیوم (RM42 و RM43) حدود ۲/۵ برابر میانگین جذب فسفر اندام هوایی ذرت را افزایش دادند. که اثر معنی‌دار هر دو سویه جنس ریزوبیوم بسیار جالب توجه بوده و باید در آزمایش‌های درون شیشه و مزرعه ای سازوکار حلالیت و افزایش جذب فسفر توسط این سویه‌ها بیشتر مورد مطالعه قرار گیرد.

تمام سویه‌های سودوموناس و ریزوبیوم مورد استفاده در تلقیح بذرها، توانایی تولید سیدروفور را داشتند و افزایش معنی‌داری در غلظت آهن بخش هوایی ذرت در مقایسه با تیمار شاهد و

**References:**

- Alexander, D. B., and D. A. Zuberer, 1991. Use of Chrome Azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*. 12: 39-45.
- Amara, M.A.T., and M.S.A. Dahdoh, 1997. Effect of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and uptake of nutrients by wheat grown on sandy soils. *Egyptian Journal of Soil Science*. 37: 467-484.
- Amico, E.D., L. Cavalca and V. Andreoni, 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Graminaceae from polluted water. *FEMS Microbiology Ecology*. 52: 153-162.
- Antoun, H., and J.W. Kloepper, 2001. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), in: *Encyclopedia of Genetics*, Brenner, S. and J.H., Miller, eds., Academic Press, N.Y., pp.1477-1480.
- Barea, J.M., Pozo, M.J., Azco'n, R., Azco'n-Aguilar, C., 2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 56, 1761-1778.
- Bashan, Y., Harison, S.K., and Whitmoyer, R.E. 1990. Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with *Azospirillum brasilense* is not necessarily due to general enhancement of mineral uptake. *Applied and Environmental Microbiology*. 56:769 -775.
- Baudoin, E., Benizri, E., and Guckert, A., 2002. Impact of growth stage on the bacterial community structure along maize roots, as determined by metabolic and genetic fingerprinting. *Applied Soil Ecology*. 19: 135-145.
- Biari A., A. Gholami and H.A. Rahmani, 2008. Growth Promotion and Enhanced Nutrient Uptake of Maize (*Zea mays*L.) by Application of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Arid Region of Iran. *Journal of Biological Science*. 8: 1015-1020.
- Boller, T. and Mauch, F., 1988. Colorimetric assay for chitinase. *Methodes in Enzymology*. 161:430-435.
- Bouyoucos, G.J., 1951. A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soil. *Agronomy Journal*. 43, 434-438.
- De Freitas, J.R. 2000. Yield and N assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum* L. var Norstar) inoculated with rhizobacteria. *Pedobiologia* 44: 97-104.
- Donate-Corre, J., Leon-Barrios, M. and Perez-Galdona, R. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proligerus*, a forage tree-shrub legume edemic to Canary Island. *Plant and Soil*. 266:261-272.
- Gaind, S., A.C. Gaur, 1989. Effects of pH on phosphate solubilization by microbes. *Current Science*. 58: 1208-1211.

- Hamidi A. and M. Malakouti, 2007, Effect of PGPRs on plant emerge and establishment on field and some trait in late mature corn hybrids. 2<sup>nd</sup> conference in ecological agriculture. Iran. Gorgan. 20 October. (In Persian with English Summary)
- Hernandez, A.N., Hernandez, A., and Heydrich, M. 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. *Cultivos Tropicales*. 6: 5-8.
- Kennedy, N. 2005. Soil bacterial and fungal community structure across a range of unimproved and semi-improved upland grasslands. *Microbiological Ecology*. 463-473.
- Lazarovits, G. and Norwak, J. 1997. Rhizobacteria for Improvement of Plant growth and Establishment. *Horticultural Science*. 32: 188-192.
- Lynch, J.M. 1990. Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In: *The Rhizosphere* J.M. Lynch, John Wiley & Sons, Chichester. pp. 1-10.
- Martin, P., and Glatzle, A. 1982. Mutual influences of *Azospirillum* spp. and grass seedlings. In *Azospirillum*. Genetics, physiology, ecology. Edited by W Klingmüller. Birkhäuser Verlag, Basel. pp. 108-120.
- Nelson, L.M. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. Online. *Crop Management*:10.1094/CM-2004-0301-05-RV.
- Pandey, A., Sharma, E., Palni, L.M.S. 1998. Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biology & Biochemistry*. 30: 379-384.
- Patten, C.L., and Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, aug, 3795-3801.
- Rai, M.K. 2006. Hand book of microbial biofertilizers. Food products press, an imprint of the Haworth press, Inc. p.p. 137-182.
- Schippers, B., Bakker, A.W., Bakker, P.A.H.M. 1987. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology*. 25: 339- 358.
- Sperber, J.I. 1985. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research*. 9:778-781.
- Starr, M.P., Stdp, H., Truper, H.G., Balows, A., and Schlegel, H.G. 1995. *The Prokaryotes*, Springer-Verlage.
- Tilak, K.V., Rangayanki, N., Manoharachari, C. 2006. Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and hizobiumon nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Euroupan Journal of Soil Science*. 57: 67-71.

- Turan, M., Ataoglu, N., Sahin, F. 2006. Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. *Journal of Sustainable Agriculture* 28: 99–108.
- Van Overbeek, L.S., Trigalet, A., Elsas, J.D. 2002. The viable but non-culturable state in *Ralstonia solanacearum*- is there a realistic threat to our strategic concepts? In: Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. APS Press, *The American Phytopathological society*. p.103-119.
- Vandepitte, J.1996 . *Guidelines for antimicrobial resistance surveillance*. Alexandria, WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean.
- Vikram, A., Hamzehzarghani, H., Al-Mughrabi, K.I., Krishnaraj, P.U., Jagadeesh, K.S. 2007. Interaction between *Pseudomonas fluorescens* FPD-15 and *Bradyrhizobium* spp. *peanut*. *Biotechnology*. 6: 292–298.
- Wang, K.L., H., Yoshida, C. Lurin, and J.R. Ecker, 2004. Regulation of ethylene gas biosynthesis by the Arabidopsis ETO1 protein, *Nature*. 428:945–950.
- Weller, D.M. 1983. Colonization of wheat roots by a *fluorescent pseudomonad* suppressive to take all. *Phytopathology* 73:1548-1553.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., and Wong, M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial, *Geoderma*. 125:155-166.
- Zahir, A.Z., Arshad, M., and Khalid, A. 1998. Improving maize yield by inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. *Pakistan Journal of Soil Science*. 15:7-11.