

بررسی و ارزیابی تاثیر فاصله کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفر با آبیاری بر جذب فسفر و عملکرد گندم

عاصفه الهوردی¹، سید علی محمد مدرس ثانوی^{1*}، حسین بشارتی کلایه² و حمیدرضا دورودیان³

¹گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

²گروه بیولوژی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج، ایران.

³گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران.

*نویسنده مسئول: modaresa@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: 1391/12/18

تاریخ پذیرش: 1393/10/10

الهوردی، ع.، ع. م. مدرس ثانوی، ح. بشارتی کلایه و ح. ر. دورودیان. 1393. بررسی و ارزیابی تاثیر فاصله کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفر با آبیاری بر جذب فسفر و عملکرد گندم. مجله کشاورزی بوم‌شناختی. 4 (2): 33-44.

چکیده

حل‌کننده‌های فسفات دسته مهمی از باکتریها در کودهای زیستی هستند که می‌توانند در خاکهای آهکی ایران که تثبیت فسفر بسیار بالا و کارایی کودهای شیمیایی پایین است، بسیار سودمند و مؤثر واقع شوند. در بسیاری از موارد، بین کاربرد باکتری‌ها و آبیاری در کشتزار فاصله می‌افتد (به‌ویژه در اراضی بزرگ و دیمزارها) که تاثیر این فاصله (بودن باکتری در خاک خشک) بر کارایی باکتریهای حل‌کننده فسفات تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. به منظور ارزیابی بقا و کارایی باکتری‌های حل‌کننده فسفر در ریشه‌گاه (ریزوسفر) گندم در فاصله‌های مختلف کاربرد باکتری تا آبیاری کشتزار، آزمایشی در سال 1386 در یک خاک لومی درگلدان در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس به صورت فاکتوریل، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. در این آزمایش دو عامل الف- نوع باکتری مورد استفاده در دو سطح 1- (*Bacillus subtilis*) - 2 (*Pseudomonas putida*) و ب- فاصله‌ی افزودن باکتری تا آبیاری در 5 سطح: 1- کاربرد باکتری یک هفته پیش از آبیاری 2- کاربرد باکتری دو روز پیش از آبیاری 3- کاربرد باکتری روز پیش از آبیاری 4- کاربرد باکتری بدون فاصله پیش از آبیاری 5- کاربرد باکتری در رطوبت کشتزار، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آزمایش نشان داد که، بالاترین عملکرد دانه در تیمار کاربرد باکتری در ظرفیت زراعی به‌دست آمد، ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین این تیمار و تیمارهای کاربرد باکتری بدون فاصله، یک و دو روز پیش از آبیاری وجود نداشت. استفاده هر دو باکتری یک هفته پیش از آبیاری (یا بارندگی) بر عملکرد دانه گندم به‌کلی بی‌تاثیر بود؛ از این‌رو می‌توان به کشاورز توصیه کرد که پس از استفاده از باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس مورد استفاده می‌تواند آبیاری را در نهایت دو روز به تعویق بیندازد. کل فسفر جذب شده در گیاه گندم در تیمار کاربرد باکتری در ظرفیت زراعی در بالاترین میزان بود.

واژه‌های کلیدی: باسیلوس، سودوموناس، حل‌کننده‌های فسفر، خشکی.

مقدمه

امروزه کودهای زیستی (بیولوژیک)، به عنوان یکی از اساسی‌ترین راه‌های تأمین عناصر غذایی و تعدیل ویژگی‌های خاک در نظام‌های کشاورزی پایدار و ارگانیک مطرح هستند. کودهای زیستی از لحاظ هزینه، مناسب، بسیار اقتصادی و نیز سازگار با طبیعت هستند. همچنین اثرگذاریهایی مثبتی بر سلامت خاک دارند و برای انسان و گیاه نیز ایمن هستند (Astarae and Kouchaki, 1996). تأمین عناصر غذایی متناسب با تغذیه‌ی طبیعی گیاهان، کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیت‌های زیستی، بهبود کیفیت و حفظ بهداشت محیط زیست و در مجموع حفظ و حمایت از سرمایه‌های ملی (خاک، آب و منابع انرژی غیر قابل تجدید)، از مهم‌ترین برتریهای کودهای زیستی به‌شمار می‌آیند.

حل‌کننده‌های فسفات و ترشح‌کننده‌های هورمون‌های گیاهی، از مهم‌ترین دسته کودهای زیستی هستند (Zaree, 2003). با توجه به بالا بودن PH خاک‌های ایران و کاهش حلالیت فسفر در این خاکها، به دلیل واکنش فسفر با ترکیبات کلسیم، کمبود فسفر یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در تغذیه‌ی گیاهان به‌شمار می‌رود. دراصل فسفر حساس‌ترین عنصر غذایی نسبت به تغییرات PH خاک است. به دلیل تثبیت سریع فسفات توسط رس‌ها و سطوح جامد کربنات کلسیم، کشاورزان مقادیر فراوانی از این کودها را به خاک اضافه می‌کنند (Fallah et al, 2007; Besharati, 2000). این چالش باعث می‌شود که سالانه نزدیک به 750 هزار تن کود فسفات به خاک‌های زراعی کشور اضافه می‌شود که این مصرف بی‌رویه، به‌رغم اینکه مشکلی از کمبود فسفر گیاه را حل نمی‌کند، چالش‌های بسیاری مانند کاهش جذب عناصر ریزمغذی به ویژه روی و آهن، آلودگی خاک‌ها و آب‌ها و محیط زیست را در پی دارد. معقول‌ترین راه حل برای بالا بردن میزان جذب فسفر در خاک، افزایش ریزموجودهایی است که بتوانند فسفر موجود در خاک را برای گیاه، قابل جذب و استفاده کند. غلظت فسفر کل در خاکهای ایران به طور میانگین بین 400 تا 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم است و کمبودی از نظر ذخیره در آن وجود ندارد، در حالی که میانگین فسفر محلول در بسیاری از خاکهای ایران کمتر از 8 میلی‌گرم در کیلوگرم است، که غالب گیاهان زراعی در این شرایط با کمبود فسفر روبه‌رو می‌شوند. به‌یقین با توجه به

وجود ذخیره‌ی کافی در خاک، می‌توان با استفاده از قارچ‌ها و باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات، فسفر مورد نیاز گیاه را تأمین کرد (Saleh Rastin, 2001).

به‌رغم تحقیقات انجام شده در زمینه‌ی تاثیر کودهای زیستی بر عملکرد گیاهان زراعی، چگونگی کاربرد این کودها و استفاده از آنها، از نقاط مبهم تحقیقات، در مورد کودهای زیستی به‌شمار می‌روند. چنانچه تناقض در نتایج بسیاری از محققان در این زمینه، ممکن است بر اثر تفاوت در زمان و روش استفاده از کودها باشد. میزان اختلاط کود زیستی با خاک و جلوگیری از تاثیر منفی خشکی و نور خورشید بر آنها، می‌تواند تاثیر بسیار مهمی بر کارایی آنها داشته باشد (Doroudian et al., 2008).

با توجه به تحقیقات پیشین، فاصله‌ی استاندارد بین استفاده از کود زیستی و آبیاری کشتزار دیده نشده است. در مورد کودهای ریزوبیوم که استفاده از آنها در زراعت بقولات معمول است، بسیاری از باکتری‌های مورد استفاده پیش از رشد گیاه، بر اثر خشکی در زمین از بین می‌روند و توان انجام فعالیت‌های سودمند را ندارند (Kouchaki et al., 2008; Zaree, 2003). در کشتزارهای بزرگ با توجه به وقت‌گیر بودن عملیات تهیه‌ی زمین، کاشت و آبیاری، رخداد چنین فاصله‌ای بین پخش کود زیستی و آبیاری زمین پرهیزناپذیر خواهد بود (Doroudian et al., 2008). باکتری‌های مختلف با توجه به ویژگیهای فیزیولوژیک می‌توانند مقاومت‌های متفاوتی در شرایط رخداد در خاک خشک از خود نشان دهند، چنانچه برخی از باکتری‌های جنس باسیلوس در شرایط نامساعد قادر به تشکیل هاگ (اسپور)هایی به نام درون هاگ (اندسپور) هستند که اینها می‌توانند به یاخته‌های رویشی باکتری تبدیل شوند. درون‌هاگ‌ها دارای دیواره ضخیم و بسیار مقاوم بوده و باکتری را در شرایط نامساعد و دمای زیاد محافظت می‌کنند. درون‌هاگ‌ها حالتی از استراحت باکتری به‌شمار می‌روند، که پس از گذراندن شرایط نامساعد جوانه زده و باکتری جدیدی به وجود می‌آورند (Doroudian et al., 2008).

این آزمایش با هدف تعیین تاثیر فاصله بین کاربرد دو گونه باکتری دارای درون‌هاگ (*Bacillus subtilis*) و بدون درون‌هاگ (*Pseudomonas putida*) با آبیاری کشتزار بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم انجام گرفت.

پتاسیم در هر گلدان همگی پیش از کاشت) به همهی کرت‌ها به طور یکسان داده شد. پس از اعمال تیمارها بذور گندم رقم پیش‌تاز به صورت دستی به میزان 50 بذر در هر گلدان در عمق 5 سانتی‌متری کشت شد. در هر گلدان پس از مرحله تنک کردن شمار گیاهان به 30 بوته در هر گلدان کاهش یافت. ارتفاع و قطر گلدانهای مورد استفاده به ترتیب 60 و 50 سانتی‌متر بود. بذره‌های مورد استفاده از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال تهیه شد. مراقبت‌های زراعی در طول آزمایش به طور کامل انجام گرفت. تجزیه داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم افزار Mstat-C صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی به صورت فاکتوریل در جدول 1 و تجزیه واریانس تیمارها به همراه شاهدها در جدول 2 آمده است. ارتفاع بوته گندم، وزن هزار دانه، فسفر خاک، غلظت و محتوای فسفر دانه و غلظت فسفر برگ و ساقه دیگر صفاتی بودند که مورد بررسی قرار گرفتند و تحت تاثیر هیچ یک از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند و اختلافی نیز بین شاهدها و تیمارهای آزمایشی در اندازه‌گیری آنها دیده نشد (داده‌ها نشان داده نشده است).

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آبان ماه سال 1386 در یک خاک لومی در گلدان در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار، انجام شد. دو عامل الف- نوع باکتری مورد استفاده در دو سطح 1- (*Bacillus subtilis*) 2- (*Pseudomonas putida*) (بدون کود شیمیایی) و ب- فاصله‌ی افزودن باکتری تا آبیاری در 5 سطح: 1- کاربرد باکتری یک هفته پیش از آبیاری 2- کاربرد باکتری دو روز پیش از آبیاری 3- کاربرد باکتری روز پیش از آبیاری 4- کاربرد باکتری بدون فاصله پیش از آبیاری 5- کاربرد باکتری در رطوبت کشتزار، مورد بررسی قرار گرفت. افزون بر دو تیمار شاهد بدون کود و با فسفر کامل از منبع سوپرفسفات تریپل (بر مبنای 150 کیلوگرم در هکتار با توجه به آزمون خاک)، اعمال شد. نتایج آزمون خاک در جدول 1 آمده است. در آغاز باکتری‌های مورد استفاده در محیط کشت مناسب اسپربر (Sperber) و محیط دارای مواد غذایی (Nutrient Broth) افزونش یافت و برحسب 20 گرم کود زیستی در هر گلدان مخلوط شدند. نیتروژن از منبع اوره و پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم، بر پایه آزمون خاک (15 گرم اوره در سه نوبت- پیش از کاشت، 4 و 8 برگی و 10 گرم سولفات

جدول 1- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک کشتزار محل اجرای آزمایش در سال 1386 پیش از کشت گیاه.

مقدار	روش اندازه‌گیری	واحد	ویژگی
7/75	عصاره 1:1 آب و خاک و pH متر		pH
0/9	عصاره 1:1 آب و خاک با هدایت سنج	(دسی زیمنس بر متر)	EC
لومی	هیدرومتری		بافت خاک
0/05	کجدال	(درصد)	نیتروژن
8/5	روش اولسن	(میلی‌گرم در گیلوگرم)	فسفر
256	استخراج با استات سدیم	(میلی‌گرم در گیلوگرم)	پتاسیم
5/86	استخراج با DTPA	(میلی‌گرم در گیلوگرم)	آهن
0/55	استخراج با DTPA	(میلی‌گرم در گیلوگرم)	روی
12	استخراج با DTPA	(میلی‌گرم در گیلوگرم)	منگنز
1/64	استخراج با DTPA	(میلی‌گرم در گیلوگرم)	مس
10	روش تیتراسیون با NaOH	(درصد)	مواد خنثی شونده
0/7	اکسایش تر	(درصد)	کربن آلی
5		(درصد)	کربنات کلسیم
8		(درصد)	کربنات کلسیم معادل
18	استات آمونیوم	(سانتی مول بار مثبت در کیلوگرم)	ظرفیت تبادل کاتیونی

جدول 2- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی به صورت فاکتوریل.

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	عملکرد زیستی	شمار دانه درسنبله	اسیدیته خاک	فسفر محلول خاک	غلظت فسفر برگ و ساقه	محتوای فسفر برگ و ساقه	میانگین مربعات	
									محتوای فسفر گیاه	محتوای فسفر گیاه
باکتری	1	4/23 ^{ns}	13/46 ^{ns}	12/10*	0/025 ^{ns}	15/74 ^{ns}	0/088 ^{ns}	23/06 ^{ns}	0/025 ^{ns}	
فاصله کاربرد باکتری تا آبیاری	4	6/66*	79/98**	14/31**	0/014 ^{ns}	8/96 ^{ns}	0/062 ^{ns}	287**	0/014 ^{ns}	
فاصله کاربرد باکتری تا آبیاری × باکتری	4	1/29 ^{ns}	38/24*	1/79 ^{ns}	0/027**	13/21 ^{ns}	0/034 ^{ns}	57/4 ^{ns}	0/027**	
خطا	30	1/69	17/00	2/90	0/007	5/41	0/028	40/62	0/007	
ضرب تغییرات		7/51	9/47	8/41	1/06	19/98	23/68	20/39	1/06	

جدول 3- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در مقایسه با شاهد.

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد دانه	عملکرد زیستی	شمار دانه درسنبله	اسیدیته خاک	فسفر محلول خاک	غلظت فسفر برگ و ساقه	محتوای فسفر برگ و ساقه	میانگین مربعات	
									محتوای فسفر گیاه	محتوای فسفر گیاه
تیمار	11	3/7*	49/44**	7/48**	0/020*	10/4 ^{ns}	0/044 ^{ns}	138/17*	227/3*	
خطا	36	1/7	15/49	2/58	0/006	5/76	0/025	54/49	107/23	
ضرب تغییرات		7/3	9/06	7/89	1/02	20/58	22/666	23/75	15/58	

** و * : معنی دار در سطح 1 و 5 درصد و ns غیر معنی دار

عملکرد دانه

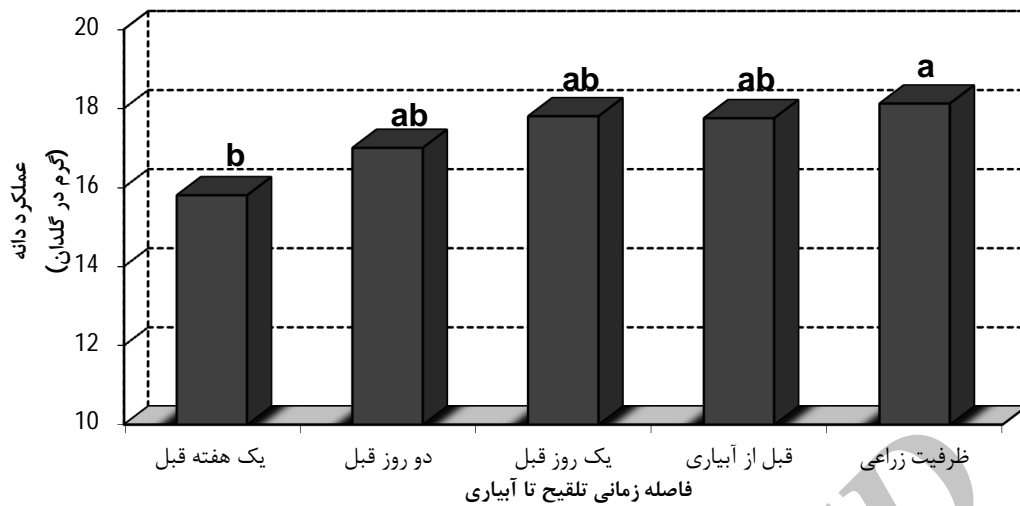
تحمل به خشکی آن نوع باکتری تعیین شود. احتمال دارد این امر به این دلیل باشد که باکتری سودوموناس یک باکتری بدون باسیل بوده و به‌داته تحمل کمتری به خشکی دارد (Fallah et al., 2007).

مقایسه تیمارهای حاوی باکتری حل‌کننده فسفات با تیمارهای شاهد نشان می‌دهد که اعمال هر دو باکتری یک هفته پیش از آبیاری، به طور معنی‌داری عملکرد دانه کمتری نسبت به شاهد با فسفر کامل و کاربرد باکتری سودوموناس در ظرفیت زراعی و بدون فاصله پیش از آبیاری و کاربرد باکتری باسیلوس در ظرفیت زراعی و یک روز پیش از آبیاری ایجاد کردند و اختلاف معنی‌داری با شاهد بدون فسفر نداشتند (شکل 2). این نکته نشان می‌دهد که کاربرد هر دو باکتری یک هفته پیش از آبیاری درعمل تأثیری در افزایش عملکرد گندم ندارد. اختلاف

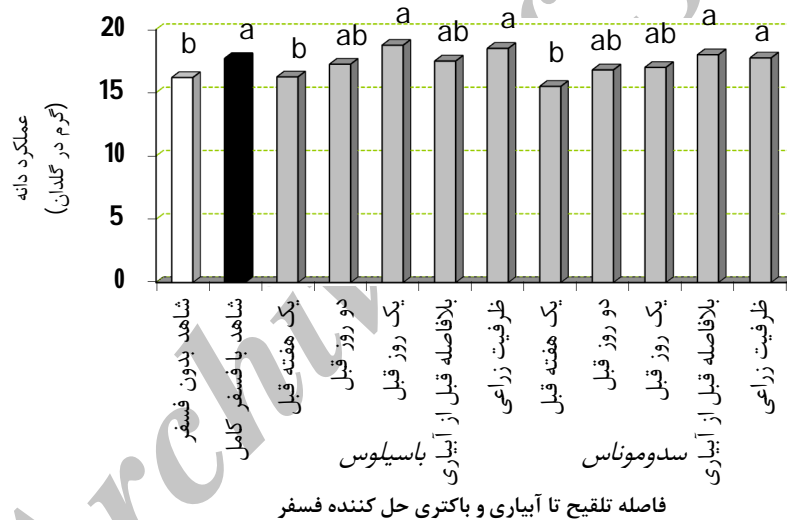
به‌یقین عملکرد دانه مهم‌ترین صفت مورد اندازه‌گیری در گندم است. این صفت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر زمان مصرف باکتری حل‌کننده فسفات قرار گرفت (جدول 1). نتایج آزمایش نشان داد که بهترین رطوبت برای کاربرد باکتری‌ها، ظرفیت زراعی خاک است (شکل 1). دیگر تیمارها عملکرد دانه کمتری (البته غیرمعنی‌دار) نسبت به کاربرد در ظرفیت زراعی تولید کردند که اختلاف تیمارهای ظرفیت زراعی و هفت روز پیش از آبیاری معنی‌دار بود. معنی‌دار بودن اثر متقابل نوع باکتری و زمان استفاده بر صفات عملکرد بیولوژیک (زیستی یا زیست توده)¹ و محتوای فسفر گیاه مشخص می‌سازد که زمان کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات و به‌احتمال دیگر کودهای زیستی باید با توجه به نیازهای رطوبتی و میزان

¹ Biomass

تیمارهای شاهد با فسفر کامل و بدون مصرف کود شیمیایی فسفر در سطح 5 درصد معنی دار بود.



شکل 1- تاثیر فاصله زمانی تلقیح تا آبیاری بر عملکرد دانه.



شکل 2- تاثیر تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد بر عملکرد دانه گندم (LSD=2/4).

بر اثر خشکی در زمین از بین می‌روند و توان انجام فعالیت‌های سودمند را ندارند. نتایج متناقضی در این مورد در گزارش‌های محققان در گذشته دیده می‌شود. برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد که افزایش رشد بر اثر کاربرد حل‌کننده‌های فسفات، قابل مقایسه با اثر SPT (سوپرفسفات تریپل) نیست (Wu et al., 2005). در حالی که گزارش‌های Yadav and Sing (1991) و برخی دیگر از محققان نشان می‌دهد که کودهای زیستی حل‌کننده فسفات می‌توانند

نکته مهمی که از این بررسی به دست می‌آید و در شکل 2 مشخص است، این است که در عمل اختلافی بین کاربرد هر دو باکتری یک هفته پیش از آبیاری و تیمار شاهد بدون فسفر وجود ندارد و استفاده هر دو باکتری یک هفته پیش از آبیاری (یا بارندگی) بر عملکرد دانه گندم به کلی بی‌تاثیر است. متأسفانه این مورد درباره حل‌کننده‌های فسفر در منابع پیشین مورد آزمایش و بحث قرار نگرفته است، ولی (Zaree 2003) در مورد کودهای ریزوبیوم که استفاده از آنها در زراعت بقولات معمول است گزارش کرد که بسیاری از باکتری‌های مورد استفاده پیش از رشد گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها همراه با شاهد نشان داد که اختلاف معنی‌داری در عملکرد زیستی گندم بین تیمارهای حاوی باکتری حل‌کننده فسفات و تیمارهای شاهد وجود دارد (شکل 4).

تیمار شاهد با فسفر کامل با تیمارهای همراه تلقیح خاک با باکتری باسیلوس بدون فاصله، یک و دو روز پیش از آبیاری و ظرفیت زراعی و افزودن باکتری سودوموناس بدون فاصله، یک و دو روز پیش از آبیاری و ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری نداشت و به همراه این تیمارها بالاترین عملکرد زیستی را تولید کردند. پایین‌ترین عملکرد زیستی در تیمارهای شاهد بدون فسفر و اعمال باکتری یک هفته پیش از اعمال هر دو باکتری و اعمال باکتری سودوموناس دو روز پیش از آبیاری دیده شد (شکل 4).

این نتایج تأیید می‌کند که کاربرد باکتری حل‌کننده فسفات یک هفته پیش از آبیاری تأثیر معنی‌داری بر عملکرد زیستی گندم ندارد. در مورد باکتری سودوموناس این مدت به دو روز کاهش می‌یابد و وجود این باکتری دو روز پیش از آبیاری تفاوت معنی‌داری با شاهد ایجاد نکرد.

با توجه به موارد یاد شده در منابع به نظر می‌رسید باکتری‌های باسیلوس به سبب داشتن پوشش‌های کمک‌کننده برای ماندگاری بیشتر، بتوانند بیش از باکتری سودوموناس، فاصله زمانی تا آبیاری را تحمل کنند (Fallah et al., 2006)، ولی نتایج این آزمایش نشان داد که حضور هر دو باکتری‌ها در خاک خشک به مدت هفت روز به‌طور معنی‌داری از اثر آنها بر عملکرد دانه و زیستی گندم می‌کاهد.

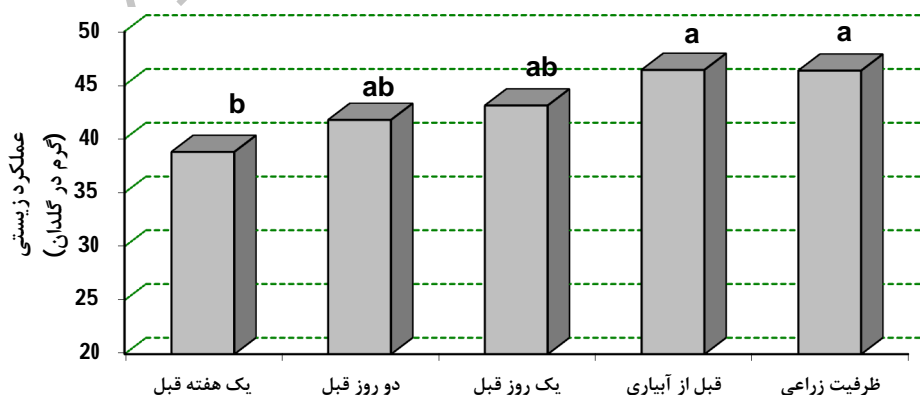
به‌طور کامل جایگزین کودهای زیستی شوند و می‌توانند تأثیری در برابر آنها داشته باشند.

نتایج Van Elsas et al. (2006) نیز نشان دادند که پس از افزودن باکتری باسیلوس سوبتیلیس به خاک بخش اعظمی از آنها به سرعت از بین می‌روند و این روند تا پایدار شدن جمعیت آنها تا حد معینی ادامه می‌یابد، در حالی که سرعت مرگ و میر باکتری‌های گونه سودوموناس فلورسنس کمتر از باکتری باسیلوس بود و ماندگاری خود را در مدت زمان بیشتری حفظ کردند. نتایج محققان اخیر نشان داد که ماندگاری باکتری‌ها در خاکهای بافت ریز (رسی) به دلیل توانایی بیشتر در حفظ رطوبت خاک زیادتر است.

افزایش عملکرد دانه گندم در پی کاربرد بهنگام باکتری‌های حل‌کننده فسفات در این آزمایش به‌طور کامل تأیید می‌شود. افزایش رشد و عملکرد گیاه گندم در پی کاربرد باکتری‌های (*Pseudo monassp*)، (*Pseudomonas putida*) و (*Bacillus megaterium*) دیده شده است (Marulanda et al., 2009).

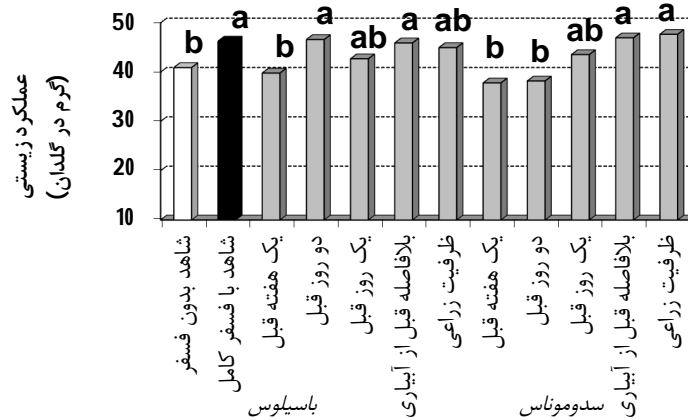
عملکرد زیستی

همان‌طور که شکل 3 نشان می‌دهد اعمال تنش خشکی بر باکتری‌های حل‌کننده فسفات اثر معنی‌داری بر عملکرد زیستی گندم داشته است. فاصله یک هفته تا آبیاری به‌طور معنی‌داری عملکرد زیستی را نسبت به افزودن باکتری‌ها در شرایط ظرفیت کشتزار و بدون فاصله پیش از آبیاری کاهش داد.



فاصله زمانی تلقیح تا آبیاری

شکل 3- تاثیر فاصله زمانی تلقیح تا آبیاری بر عملکرد زیستی.



فاصله تلقیح تا آبیاری و باکتری حل کننده فسفر

شکل 4- تاثیر تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد بر عملکرد زیستی گندم.

عملکرد زیستی گندم نیز به مانند عملکرد دانه در پی افزایش فاصله کاربرد باکتری حل کننده فسفات تا آبیاری نسبت به کاربرد باکتری در ظرفیت زراعی کاهش یافت. عملکرد زیستی گندم در تیمارهای کاربرد باکتری یک هفته پیش سودوموناس یک هفته و دو روز پیش از آبیاری و کاربرد باکتری باسیلوس یک هفته پیش از آبیاری در حد تیمار شاهد بدون فسفر بود (شکل 4). بدین معنی که کاربرد باکتری‌ها در شرایط یاد شده هیچ اثری بر افزایش رشد و عملکرد زیستی گیاه ندارد.

اسیدیته خاک

یکی از فرآیندهای موثر در حلالیت فسفر خاک به‌ویژه در خاک‌های آهکی کاهش واکنش خاک (PH) است. از این-رو تغییر واکنش خاک اهمیت بسزایی در توجیه تاثیر حل کننده‌های فسفر دارد. به سبب ماهیت لگاریتمی این صفت، تغییرات هرچند ناچیز آن به‌ویژه در خاک‌های آهکی با ویژگی تامپونی زیاد نشان از تغییر موثر در میزان زیادی از غلظت H^+ خاک دارد.

اثر متقابل نوع باکتری و فاصله کاربرد باکتری تا آبیاری نیز بر اسیدیته خاک معنی دار است (جدول 1). کاربرد باکتری باسیلوس یک هفته پیش از آبیاری تأثیری بر کاهش اسیدیته خاک ندارد و بالاترین واکنش خاک در این تیمار بود.

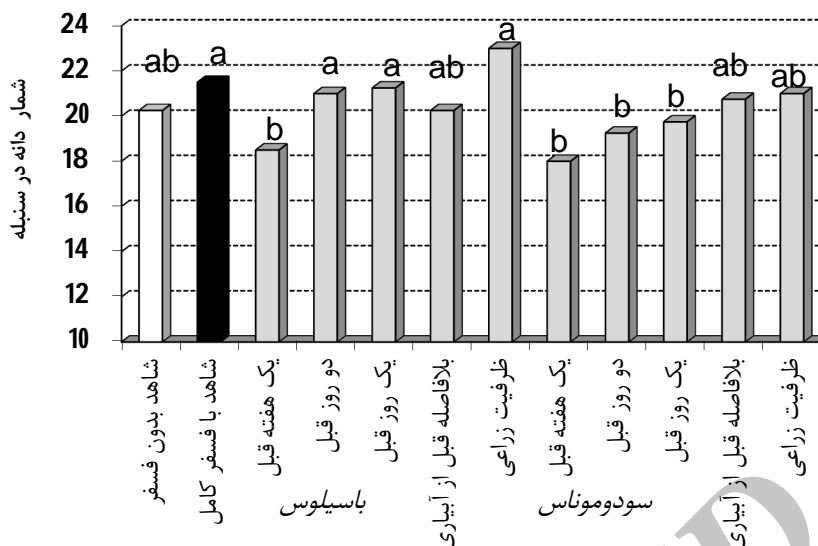
کاربرد باکتری سودوموناس در ظرفیت زراعی، دو روز و یک هفته پیش از آبیاری و کاربرد باکتری باسیلوس در ظرفیت زراعی، بدون فاصله و یک روز پیش از آبیاری کمترین واکنش خاک را در پی داشت. مقایسه تیمارهای آزمایشی با شاهد نیز نشان داد که به‌جز تیمار اعمال باکتری یک هفته پیش از آبیاری و شاهد با فسفر کامل، هیچ تیماری اختلاف معنی‌داری با شاهد بدون فسفر نداشت (شکل 6).

عملکرد زیستی گندم نیز به مانند عملکرد دانه در پی افزایش فاصله کاربرد باکتری حل کننده فسفات تا آبیاری نسبت به کاربرد باکتری در ظرفیت زراعی کاهش یافت. عملکرد زیستی گندم در تیمارهای کاربرد باکتری یک هفته پیش از آبیاری و دو روز پیش از آبیاری و کاربرد باکتری باسیلوس یک هفته پیش از آبیاری در حد تیمار شاهد بدون فسفر بود (شکل 4). بدین معنی که کاربرد باکتری‌ها در شرایط یاد شده هیچ اثری بر افزایش رشد و عملکرد زیستی گیاه ندارد.

شمار دانه در سنبله

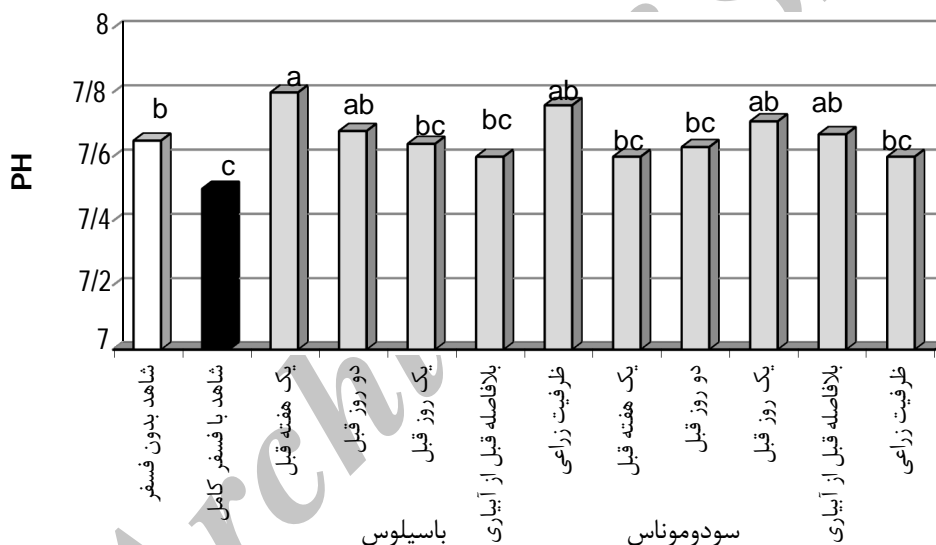
در پلات‌هایی که باکتری‌ها در شرایط ظرفیت زراعی به خاک اضافه شده بودند، بوته‌ها به‌طور معنی‌داری شمار دانه بیشتری در هر سنبله تولید کرد (شکل 5). تیمارهای کاربرد باکتری بدون فاصله، یک و دو روز پیش از آبیاری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات یک هفته پیش از آبیاری به‌طور معنی‌داری شمار دانه کمتری نسبت به دیگر تیمارها تولید کرد (شکل 5). کاربرد باکتری باسیلوس در ظرفیت زراعی باعث تولید بالاترین شمار دانه در سنبله در گندم شد (شکل 5). این تیمار اختلاف معنی‌داری با تیمارهای کاربرد همین باکتری و باکتری سودوموناس یک هفته پیش و کاربرد باکتری سودوموناس یک و دو روز پیش از آبیاری دارا بود. تیمار شاهد با فسفر کامل نیز همچون کاربرد باکتری باسیلوس در ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری با تیمارهای یاد شده داشت.

شمار دانه در سنبله از مهم‌ترین اجزای عملکرد گندم است که همبستگی بالایی با عملکرد دانه گندم دارد



فاصله تلقیح تا آبیاری و باکتری حل کننده فسفر

شکل 5- تاثیر تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد بر شمار دانه در سنبله.



فاصله زمانی تلقیح تا آبیاری

شکل 6- تاثیر تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد بر اسیدیته خاک.

فصل رشد در غلظت فسفر محلول خاک در بین تیمارهای آزمایشی دیده نشود.

فسفر محلول خاک

اگرچه در بسیاری از تحقیقات، فسفر محلول خاک در انتهای فصل رشد به عنوان معیاری برای کارایی و عملکرد مناسب قارچها و باکتریهای حل کننده فسفات عنوان می‌شود؛ ولی به دلایلی می‌توان گفت که بالاتر بودن فسفر محلول در پایان دوره نشانگر خوبی از حلالیت فسفر توسط ریزموجودهای مربوطه نیست. چراکه ممکن است در طی فصل رشد فسفر آزاد شده از میکروارگانیسمهای حل کننده

یکی از فرآیندهای موثر در حلالیت فسفر خاک به‌ویژه در خاک‌های آهکی، کاهش واکنش خاک است. از این‌رو تغییر واکنش خاک اهمیت بسزایی در توجیه تاثیر حل‌کننده‌های فسفر دارد. در این آزمایش کاربرد باکتری باسیلوس در ظرفیت زراعی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش اسیدیته خاک نسبت به تیمار شاهد و کاربرد باکتری یک هفته پیش از آبیاری بود. البته همبستگی مشخصی بین فسفر محلول خاک و اسیدیته دیده نشد. چرا که ممکن است بخش عمده‌ای از فسفر محلول شده در دوره رشد توسط گیاه جذب شده و اختلاف معنی‌داری در انتهای

محتوای فسفر موجود در برگ و ساقه تحت تأثیر تیمار فاصله اعمال باکتری تا آبیاری قرار گرفت (شکل 7). همان‌طور که در شکل مشخص است افزودن باکتری در ظرفیت زراعی و بدون فاصله پیش از آبیاری موجب بالاترین میزان فسفر موجود در برگ و ساقه گندم شد. اختلاف محتوای فسفر برگ و ساقه در تیمار کاربرد باکتری در ظرفیت زراعی و اعمال تیمارها یک، دو روز و یک هفته پیش از آبیاری در سطح 5 درصد معنی‌دار بود (شکل 7).

محتوای فسفر گیاه

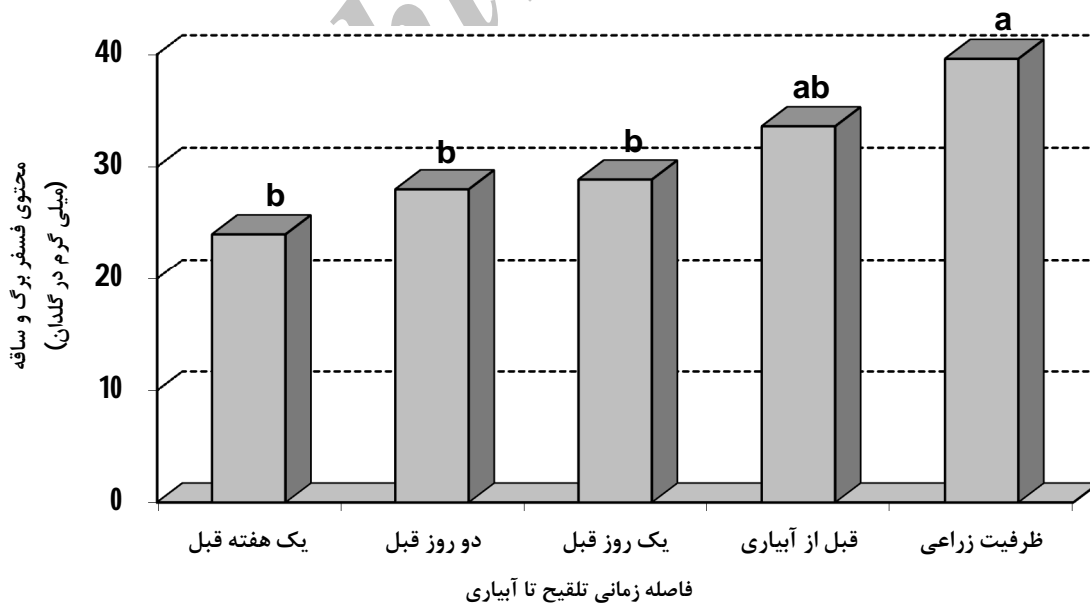
جمع کل فسفر موجود در برگ و ساقه و دانه، با کمی چشم پوشی از فسفر موجود در ریشه (به علت وزن کم ریشه) معادل فسفر جذب شده از خاک قلمداد می‌شود. اثر فاصله کاربرد باکتری تا آبیاری بر این صفت معنی‌دار بود. کاربرد تیمار افزودن باکتری در ظرفیت زراعی موجب ایجاد بالاترین محتوای فسفر اندام هوایی گیاه گندم شد (شکل 8).

کاربرد باکتری سودوموناس در ظرفیت زراعی به‌طور معنی‌داری فسفر جذب شده را نسبت به تیمارهای کاربرد این باکتری بدون فاصله و یک هفته پیش از آبیاری افزایش داد. دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل 8).

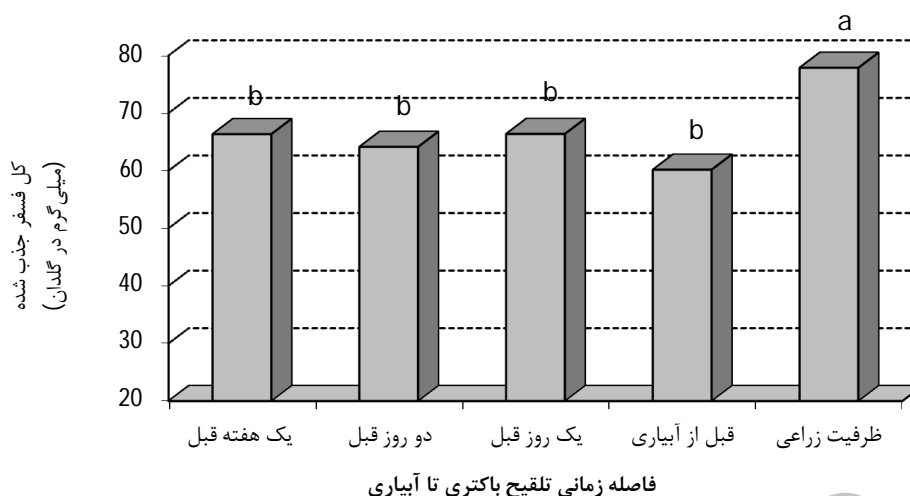
فسفات جذب گیاه یا دیگر ریزموجودهای خاک شده و در انتهای فصل میزان آن افزایش نیافته، ولی ریزموجودها کار خود را به خوبی انجام داده باشند. نتایج آزمایش نشان می‌دهد که اثر اصلی و متقابل تیمارهای آزمایشی بر فسفر خاک در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نبود (جدول 2). اختلاف تیمارهای آزمایشی در فسفر محلول خاک در انتهای دوره با شاهد‌ها نیز در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نبود.

غلظت و محتوای فسفر برگ و ساقه

اثر اصلی و متقابل هیچ یک از تیمارهای آزمایشی بر صفات غلظت فسفر دانه و محتوای فسفر دانه معنی‌دار نبود (داده‌ها نشان داده نشده است). تیمارهای آزمایشی نیز از این حیث اختلاف معنی‌داری با شاهد‌ها نداشتند. اثر هیچ یک از تیمارهای آزمایشی بر غلظت فسفر برگ و ساقه در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نبود. در تیمارهایی که باکتری‌ها با فاصله کمی با آبیاری به خاک وارد شده بودند، عملکرد زیستی بالاتر بود و در نتیجه فسفر بیشتر جذب شده، در توده گیاهی بیشتری توزیع شد و غلظت فسفر در برگ و ساقه افزایش نیافت. بالاتر بودن محتوای فسفر موجود در برگ و ساقه (شکل 7) در تیمار افزودن باکتری در ظرفیت زراعی موید این مطلب است.



شکل 7- تاثیر فاصله زمانی کاربرد باکتری حل کننده فسفات تا آبیاری بر محتوای فسفر برگ و ساقه.



شکل 8- تاثیر فاصله زمانی تلقیح باکتری حل کننده فسفات تا آبیاری بر کل فسفر جذب شده.

فسفات، می‌تواند آبیاری را در نهایت دو روز به تعویق بیندازد. همین‌طور تاثیر متفاوت خشکه‌کاری و هیرم‌کاری (استفاده از کودهای زیستی و بذر پس از آبیاری زمین) مشخص می‌کند که در صورتی که امکان آبیاری بدون فاصله پس از کاربرد باکتری مقدور باشد، تفاوت معنی‌داری بین هیرم‌کاری و خشکه‌کاری در عملکرد دانه وجود ندارد، ولی فسفر جذب شده در گیاه به‌طور معنی‌داری در تیمار کاربرد باکتری در ظرفیت زراعی بیش از دیگر تیمارها خواهد بود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقایان مهندس علیزاده و مصطفی لو کارشناسان آزمایشگاه و گلخانه گروه زراعت دانشگاه تربیت مدرس و خانم مهندس شمشیری پور کارشناس آزمایشگاه بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب که در انجام این تحقیق ما را یاری دادند سپاسگزاری می‌شود.

بنابر منابع چندی کل فسفر جذب شده در گیاه بیش از میزان فسفر موجود در خاک بیانگر کارایی و میزان فسفر آزاد شده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات است (Abdul Jaleel et al., 2007; Paul and Sundara Rao, 1971).

به دلیل کاهش شمار باکتری‌ها پس از تلقیح به خاک به علت ناکافی بودن ترشحات ریشه‌ای مغذی، مستقر نشدن باکتری در ریشه‌گاه (ریزوسفر) گندم، کاهش کارایی باکتری‌ها برای حل فسفات نامحلول و رقابت بین باکتری‌ها و گیاه برای جذب عناصر غذایی، ممکن است در شرایط خاص، باکتری‌های حل‌کننده فسفات کارایی لازم را نداشته باشند (Paul and Sundara Rao, 1971).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج آزمایش با تأکید بر عملکرد دانه می‌توان به کشاورز توصیه کرد که پس از استفاده از باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس به عنوان کود زیستی حل‌کننده

منابع

- AbdulJaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2007. *pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and surfaces. Bio Interfaces*. 60, 7-11.
- Besharati, H., 2000. Sulfur oxidation in soil. *Soil and Water Journal*. 12 (7), 14-19. (In Persian with English abstract).
- Emam, Y. and Niknejad, M., 2004. *Introduction to Physiology of Crop Yield*. Shiraz University Publiation, Shiraz, Iran. (In Persian).
- Fallah, A., Besharati, H. and Khosravi, H., 2006. *Soil Microbiology*. Aeezh Publication, Tehran, Iran.
- Fallah, S., Ghalavand, A. and Khajehpour, M.R., 2007. Effects of animal manure incorporation methods and its integration with chemical fertilizer on yield and yield components of maize (*Zea mays* L.) in

- Khorramabad, Lorestan. JWSS - Isfahan University of Technology. 11 (40), 233-243. (In Persian with English abstract).
- Kouchaki, A., Tabrizi, L. and Gorbani, R., 2008. Evaluation of biofertilizer on growth yield and yield components of *Hyssopus officinalis* (medicinal plant). Agronomic Research of Iran. 6(1), 127-137. (In Persian with English abstract).
- Marulanda, A., Boreal, J.M. and Azcón, R., 2009. Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from dry environments: Mechanisms related to bacterial effectiveness. Journal Plant Growth Regulation. 28, 115-124.
- Paul, N.B. and Sundara Rao, W.V.B., 1971. Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes. Plant and Soil. 35 (1-3), 127-132.
- Saleh Rastin, N., 2001. Biofertilizer and their impact toward sustainable agriculture. In: Khavazi K. and Malakouti, M. (Eds.), Necessity of Industrial Production of Biofertilizers. Publication of Agriculture Education, Tehran, Iran, pp. 235-288.
- Van Elsas, J.D., Dijkstra, A.F., Govaert, J.M. and van Veen, J.A., 2006. Survival of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* introduced into two soils of different texture in field microplots. Microbiology Letters. 38(3), 151-160.
- 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(1-2), 155-166.
- Yadav, K. and Singh, T., 1991. Phosphorus solubilization by microbial isolate from a calcifluent. Journal of the Indian Society of Soil Science. 39, 89-93.
- Zaree, M.N., Saleh Rastin, H., Alikhani, N. and Asgharzadeh, A., 2005. Effect of interaction between rhizobium and PSM on root colonization and nutrient uptake of lens culinaris. In Proceedings 9th Soil Congress of Iran, 28th-31th August, Tehran, Iran. pp. 88-92.

Archive of SID

Effect of phosphate solubilizing bacteria on yield and yield components of wheat at different times before first irrigation

Asefeh Allahverdi,¹ Seyed Ali Mohammad Modarres-Sanavy,^{1,*} Hosein Besharati Kalaie² and Hamidreza Doroudian³

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

²Department of Biology, Iranian Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran.

³Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan, Iran.

*Corresponding author: modaresa@modares.ac.ir

Abstract

Low solubility of phosphorus in the soils of Iran due to their alkalinity, and the reaction of phosphorus with Ca compounds are the most complicated problems in soil fertility in our country. Phosphate solubilizing microorganisms are among the most important bio-fertilizers that can help plant uptake of phosphorus. *Bacillus* and *pseudomonas* are the most genus of Phosphate Solubilizing Bacterias (PSBs). In contrast to chemical fertilizers, application of bio-fertilizers is difficult because their vitality is very sensitive and soil drought and solar radiation can effectively reduce the quality and quantity of the bacteria. Available phosphorus sources in soil could also affect the efficiency of PSBs. This experiment was conducted in order to evaluate the effect of water deficiency on two bacteria on the planting period of wheat in 2007-2008 in a greenhouse at Tarbiat Modares University (Iran) in a completely randomized design with two factors: bacteria genus with two levels: *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas putida* and drought stress on bacteria at 5 levels: application of bacteria one week before irrigation, application of bacteria two days before irrigation, application of bacteria one day before irrigation, application of bacteria just before irrigation, and application of bacteria in soil when the soil moisture content is at the field moisture capacity. Results of this experiment showed that plants with application of bacteria in the field moisture capacity produced the most grain yield, but there was no significant difference with the former treatment with application of bacteria one or two days before irrigation. Application of each of the bacteria one week before irrigation had no effect on plant grain yield. So it is recommended to farmers that they can use the *pseudomonas* and *bacillus* bacteria in soil at a maximum two days after irrigation. Total phosphorus uptake in wheat plants was high with application of bacteria at the field moisture capacity.

Keywords: *Bacillus subtilis*, PSMs, *Pseudomonas putida*, Water stress, Wheat.