



نشریه علمی پژوهشی زیست شناسی خاک



شاپا: ۲۵۳۶-۲۳۴۵

جلد ۱ شماره ۲ سال ۱۳۹۲

صفحه	فهرست	عنوان
۷۱	Mesorhizobium ciceri	بررسی تغییرات الگوی بیان پروتئین‌ها و آیزوزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز گرهک تحت شرایط تنش خشکی در همزیستی بین نخود با سه سویه مریم نصرافهانی
۸۳	(Ius-1)	بررسی پتانسیل کاربرد نانو ذره نانوپروسیل - (Ius-1) به عنوان حامل باکتری حل کننده فسفات در فرایند تولید زادمایه نانوبیولوژیک شایان شریعتی، حسینعلی علیخانی و احمدعلی پوربابائی
۹۳		تأثیر قارچ آربسکولار - میکوریز و تنش خشکی بر رشد ریشه، تجمع پرولین و جذب بعضی از عناصر غذایی توسط سه ژنوتیپ تره نسترن قاسم جوکار، حبیب اله نادیان، بیژن خلیل مقدم و مختار حیدری
۱۰۷	PGPR	تأثیر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های افزایش دهنده رشدی PGPR بر مقادیر سدیم و پتاسیم، هدایت روزنه‌ای و عملکرد گندم مینا حق بهاری و رنوف سید شریفی
۱۲۳	(Triticum aestivum L.)	بررسی تأثیر امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد گندم علی انصوری، حسن شهقلی، منوچهر قلی پور و علیرضا فلاح
۱۳۳	Pseudomonas putida	تأثیر Pseudomonas putida بر عملکرد و جذب فسفر سه رقم سورگوم علوفه‌ای سید محمدرضا احتشامی، محمدرضا عباسی و کاظم خاوازی
۱۴۵		تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد، شاخص‌های رشد و غلظت عناصر پر مصرف گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیوم اکبر نعمتی و احمد گلچین
۱۵۹		بررسی ریسک‌پذیری و سازگاری تلقیح کود بیولوژیک نیتروکسین در مزارع گندم و جو پرویز مهاجر میلاتی و محمد پسندیده

نشریه علمی پژوهشی زیست‌شناسی خاک

جلد 1 شماره (2)

1392

مدیر مسؤول: دکتر محمدرضا نیشابوری

سر دبیر: دکتر کاظم خاوازی

رئیس انجمن علوم خاک ایران و استاد دانشگاه تبریز

دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب

اعضاء هیأت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا):

دکتر هادی اسدی رحمانی

دکتر ناصر علی اصغر زاد

دکتر حسین بشارتی

دکتر عبدالحسین ضیائی‌ان

دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد

دکتر نجفعلی کریمیان

دکتر احمد گلچین

دکتر امیر لکزیان

دکتر حبیب اله نادیان قمشه

دکتر فرشید نوربخش

دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب

استاد دانشگاه تبریز

دانشیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب

دانشیار پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

استادیار مؤسسه تحقیقات خاک و آب

استاد دانشگاه شیراز

استاد دانشگاه زنجان

استاد دانشگاه فردوسی مشهد

دانشیار دانشگاه رامین اهواز

استاد دانشگاه صنعتی اصفهان

دکتر علیرضا فلاح نصرت آباد

کبری علی نژاد

دو شماره

مدیر داخلی

تایپ و صفحه آرایی

تعداد انتشار در سال

این نشریه در پایگاه‌های علمی زیر نمایه می‌شود:
پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC): www.isc.gov.ir
پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی: www.sid.ir
پایگاه اطلاعات نشر دانشگاهی: www.isj.iup.ir

پایگاه الکترونیکی نشریه زیست‌شناسی خاک: www.iranjsb.ir
پایگاه الکترونیکی انجمن علوم خاک ایران: www.soiliran.org
پایگاه الکترونیکی مؤسسه تحقیقات خاک و آب: www.swri.ir
آدرس الکترونیکی دفتر مجله: jsb.soilbiology@yahoo.com

آدرس: کرج - میدان استاندارد، جاده مشکین دشت، بعد از رزکان نو، بلوار امام خمینی - مؤسسه تحقیقات خاک و آب، کد پستی: 3177993545
تلفن و نمابر: (026) 36208796
آدرس پایگاه الکترونیکی مجله: www.iranjsb.ir



جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
سازمان پژوهش و فناوری

گواهی تعیین اعتبار علمی

براساس آیین نامه تعیین اعتبار علمی نشریات وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، نشریه با عنوان زیرست
شناسی خاک وابسته به انجمن علوم خاک ایران در جلد کیسون بررسی نشریات علمی مورخ ۹۱/۸/۲۴ مطرح و با
اعطای اعتبار علمی - پژوهشی موافقت شد. بدون شک تلاش دست اندرکاران نشریه سهم به سزایی در گسترش
مرزهای دانش و ارتقای کیفی و کمی جایگاه علمی کشور خواهد داشت.
عدم رجایت معاد آیین نامه مذکور موجب ابطال تاییدیه خواهد شد.

مهر و امضای
مدیرکل دفتر اسنادسازی و برنامه ریزی امور پژوهشی
دبیر کیسون نشریات علمی

- بررسی تغییرات الگوی بیان پروتئین‌ها و آیزوژیم‌های سوپراکسید دیسموتاز گرهک تحت شرایط تنش خشکی در همزیستی
 بین نخود با سه سویه *Mesorhizobium ciceri* 71
 مریم نصرافهانی
- بررسی پتانسیل کاربرد نانو ذره نانوپروسیل = (lus-1) به عنوان حامل باکتری حل کننده فسفات در فرایند تولید
 زادمایه نانوبیولوژیک 83
 شایان شریعتی، حسینعلی علیخانی و احمدعلی پوریابانی
- تأثیر قارچ آربسکولار - میکوریز و تنش خشکی بر رشد ریشه، تجمع پرولین و جذب بعضی از عناصر غذایی
 توسط سه ژنوتیپ تره 93
 نسترن قاسم جوکار، حبیب اله نادیان، بیژن خلیل مقدم و مختار حیدری
- تأثیر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های افزایش دهنده رشدی PGPR بر مقادیر سدیم و پتاسیم، هدایت روزنه‌ای
 و عملکرد گندم 107
 مینا حق بهاری و رئوف سید شریفی
- بررسی تأثیر امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد گندم (*Triticum aestivum* L.) 123
 علی انصوری، حسن شهقلی، منوچهر قلی پور و علیرضا فلاح
- تأثیر *Pseudomonas putida* بر عملکرد و جذب فسفر سه رقم سورگوم علوفه‌ای 133
 سید محمدرضا احتشامی، محمدرضا عباسی و کاظم خاوازی
- تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد، شاخص‌های رشد و غلظت عناصر پرمصرف گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیوم 145
 اکبر نعمتی و احمد گلچین
- بررسی ریسک‌پذیری و سازگاری تلقیح کود بیولوژیک نیتروکسین در مزارع گندم و جو 159
 پرویز مهاجر میلانی و محمد پسندیده

راهنمای تهیه مقاله مجله زیست شناسی خاک

مجله زیست شناسی خاک اولین نشریه تخصصی رشته علوم خاک در ایران می باشد که مقالات پژوهشی مرتبط با تحقیقات صورت گرفته در کلیه جنبه های زیست شناسی خاک را چاپ می نماید. هدف از انتشار این مجله ارتقاء دانش اساتید، محققان و دانشجویان علاقمند این گرایش و شناخت هر چه عمیق تر از زیست شناسی خاک برای حفظ و بهره برداری پایدار از خاک می باشد. از اهم زمینه های فعالیت این نشریه می توان به نقش موجودات زنده خاک در چرخه عناصر غذایی و فرآیندهای زیستی مرتبط با بهبود ویژگی های فیزیکی، شیمیایی و ارتقاء سطح حاصلخیزی خاک، تغذیه گیاه و افزایش عملکرد، مدل سازی مکانیسم ها و فرآیندهای زیستی مربوط به پویاسازی، معدنی شدن و آلی شدن عناصر غذایی، جایگاه موجودات زنده خاکری در ذخیره سازی و تغییر و تبدیلات مواد آلی خاک، تنوع زیستی و عملکردی بخش زنده خاک، آنزیم های خاک، روابط موجودات زنده خاک با یکدیگر و همچنین ریشه گیاهان و تبدلات مولکولی بین آنها، تشخیص، بیان و تبادل ژن در خاک، اثرات متقابل انواع آلودگی ها و بخش زنده خاک منجمله زیست پالایی خاک های آلوده، فرآیندهای زیستی خاک و نقش آنها در تولید و مصرف گازهای گلخانه ای، فناوری زیستی موجودات خاکری برای تولید انواع مایه تلقیح ها و کودهای زیستی، فعال کننده های تجزیه مواد آلی و پاک کننده های زیستی خاک های آلوده، استفاده از فناوری های مولکولی جدید برای شناسایی و همچنین ردیابی موجودات زنده در خاک و نقش آنها در پدیده های مختلف خاک اشاره کرد.

نکات مهم:

- 1- متن مقاله نباید در هیچ نشریه ای چاپ و یا همزمان به نشریه دیگری ارسال شده باشد.
 - 2- مسئولیت صحت و سقم کلیه مطالب مندرج در مقاله بر عهده نویسندگان می باشد.
 - 3- مسئولیت صحت و سقم ترتیب نام نویسندگان بر عهده شخصی است که مقاله را برای نشریه ارسال می کند.
 - 4- مقالات صرفاً می بایستی منتج از تحقیقات نویسنده یا نویسندگان و فقط در زمینه زیست شناسی خاک باشد.
- مقالات باید با استفاده از word 2007 و در محیط windows xp و با استفاده از قلم نازنین 14 تایپ شده باشند. نویسنده (گان) محترم می بایستی مقاله از طریق سایت نشریه www.iranjsb.ir ارسال نمایند. ذکر نام و نام خانوادگی نویسندگان، مرتبه علمی، آدرس پستی نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیک کلیه نویسندگان به صورت یک مقاله کامل در قسمت فایل های با نام و فایل بدون نام نویسندگان در فایل های بدون نام نویسنده، تکمیل و ارسال نسخه اصل تعهدنامه با امضاء خود نویسنده (گان) در فایل های پیشنهادی سایت الزامی است.

نحوه نگارش مقاله

- 1- مقاله حداکثر در 15 صفحه A4 با فاصله خطوط 1/5 و حاشیه های 3 سانتی متر از هر طرف و به صورت تک ستونی در نرم افزار Word 2007 تایپ شود.
- 2- نوع قلم فارسی و انگلیسی و اندازه آنها مطابق جدول زیر استفاده شود.
- 3- تمامی سطور در متن مقاله دارای شماره گذاری (Line numbering) باشد.
- 4- پیش از نقطه (.) و کاما (,) گذاشتن فاصله لازم نیست، لیکن پس از آنها، یک فاصله لازم است.
- 5- اصول نگارش زبان فارسی به طور کامل رعایت شده و حتی الامکان از به کار بردن اصطلاحات انگلیسی که معادل فارسی آنها در فرهنگستان زبان فارسی تعریف شده اند، پرهیز گردد.

- 6- برای ذکر جنس و گونه گیاه، جانور و یا میکروارگانیسم ها از حالت /ایتالیک استفاده شود.
- 7- در صورت استفاده از واژه (های) مخفف باید در اولین استفاده، واژه مذکور تعریف و پس از آن واژه مخفف در مقاله استفاده گردد.
- 8- استفاده از پاورقی برای ارائه اطلاعات تکمیلی در مقاله بلامانع است. در صورت استفاده از پاورقی، باید به ترتیب شماره گذاری انجام گیرد.

جدول 1- نوع و اندازه قلم برای تهیه بخش های مختلف مقاله

موقعیت استفاده	نام قلم	اندازه قلم
عنوان مقاله	BNazanin پر رنگ	14
متن مقاله	BNazanin	12
عناوین بخش های مقاله	BNazanin پر رنگ	12
نام مؤلفان	BNazanin پر رنگ	12
کلمات کلیدی (Keywords)	BNazanin پر رنگ	12
عناوین جداول و اشکال	BNazanin پر رنگ	11
متن جداول و شکل ها و منابع	BNazanin	10 و یا 11 بر حسب نیاز
متن انگلیسی	Times New Roman	یک واحد کمتر از اندازه فارسی در هر موقعیت

ساختار مقاله

هر مقاله باید شامل برگ مشخصات ، عنوان ، چکیده فارسی، واژه های کلیدی فارسی، مقدمه، مواد و روش - ها، نتایج، بحث، سپاسگزاری، منابع مورد استفاده، چکیده انگلیسی و واژه های کلیدی انگلیسی باشد.

برگ مشخصات مقاله: این قسمت در یک صفحه مجزا تهیه شده و شامل عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی، محل خدمت و آدرس پستی و پست الکترونیکی نویسنده (گان) و شماره تماس نویسنده مسئول می باشد.

عنوان مقاله: عنوان مقاله حداکثر در 20 کلمه و منعکس کننده محتوای مقاله باشد. در زیر عنوان نام و نام خانوادگی، مرتبه علمی، محل خدمت و آدرس پستی و پست الکترونیکی نویسنده (گان) ذکر گردد.

چکیده فارسی: چکیده مقاله در حداکثر 300 کلمه، بیانگر مسئله، هدف، روش و نتایج بدست آمده و نتیجه گیری کلی از پژوهش است. چکیده می بایستی ترجیحاً در یک پاراگراف تنظیم گردد. در زیر چکیده فارسی و در پاورقی آدرس پستی نویسنده مسئول ذکر گردد.

واژه های کلیدی:

واژه های کلیدی (Keywords) شامل حداقل 3 و حداکثر 6 کلمه مرتبط با پژوهش انجام شده باشد. این واژه ها می بایستی به گونه ای انتخاب گردد که در عنوان مقاله نبوده تا حداکثر استفاده از آنها برای تهیه فهرست موضوعی (index) امکان پذیر باشد. واژه های کلیدی بر اساس حروف الفبای فارسی مرتب شوند.

مقدمه

در این بخش بایستی موضوع پژوهش و فرضیه‌های موردنظر تعریف گردد. به مهم‌ترین تحقیقات صورت گرفته قبلی در داخل و خارج از ایران اشاره شود و سپس لزوم پژوهش موردنظر تشریح و با تأکید بر وجه تمایز این پژوهش با مطالعات قبلی مشخص شود.

مواد و روش‌ها

این قسمت شامل مواد مورد استفاده و شرح روش بکار رفته مانند جامعه آماری، روش‌های نمونه‌گیری، اندازه‌گیری‌ها و نحوه تجزیه و تحلیل آماری می‌باشد. برای روش‌های متداول و شناخته شده نیازی به ذکر جزئیات وجود نداشته و فقط به منبع مورد استفاده اشاره شود.

نتایج

در این بخش، نتایج بدست آمده از پژوهش به همراه جدول و شکل (اعم از تصویر یا نمودار) بیان می‌شود. از تکرار داده‌ها به صورت چندگانه (جدول، نمودار و غیره) پرهیز گردد. ارسال فایل Excel مربوط به نمودارها الزامی است. از کلماتی نظیر گراف، نقشه، تصویر و نظایر آن خودداری شده و تنها از واژه «شکل» استفاده شود. هر جدول از شماره، عنوان، سرستون‌ها و متن جدول تشکیل می‌شود. یک جدول باید با خطی افقی از شماره و عنوان جدول متمایز شود. همچنین سر جدول با یک خط افقی از متن جدول جدا و در زیر متن جدول نیز یک خط افقی رسم شود. عنوان جدول در بالای جدول درج و پس از کلمه جدول و شماره آن، خط تیره و سپس عنوان ذکر شود. در متن جدول تا جایی که ممکن است نباید از خطوط افقی و عمودی استفاده کرد. هر ستون جدول باید دارای عنوان و واحد مربوط به کمیت آن ستون باشد. اگر همه ارقام جدول دارای یک واحد مشترک باشند، آن واحد در عنوان اصلی جدول ذکر شود. توضیحات اضافی عنوان و متن جدول به صورت زیرنویس ارائه شوند.

در نمودارها از نشانه‌های $\blacktriangle$ $\blacksquare$ $\bullet$ $\triangle$ $\square$ $\circ$ به صورت توپر و توخالی استفاده شود. برای درج عنوان هر شکل، پس از کلمه شکل و شماره آن، نقطه و سپس عنوان ذکر شود. اختصارات موجود در شکلها و جداول باید در زیرنویس توضیح داده شوند. تمام اعداد متن و توضیحات جداول و شکلها باید به زبان فارسی ارائه گردد. از ارسال نمودارهای رنگی جداً اجتناب نموده و از رنگهای سفید، سیاه و هاشورهای کاملاً متفاوت استفاده شود. تمامی جداول و اشکال باید به ترتیب شماره در مقاله آورده شوند و شماره مذکور نیز باید به همان ترتیب در متن مقاله مورد اشاره قرار گیرد.

بحث

در این قسمت با استفاده از سایر منابع، یافته‌های پژوهش علت‌یابی شده و دلایل قبول و رد آنها مورد بحث قرار می‌گیرد. بنابراین قسمت عمده بررسی منابع در این قسمت مورد استناد قرار می‌گیرد. * در صورت لزوم می‌توان نتایج و بحث را توأماً تحت عنوان «نتایج و بحث» ارائه کرد.

نتیجه‌گیری

در این بخش نویسنده از پژوهش انجام یافته نتیجه‌گیری کرده و کاربرد عملی و یا تئوری حاصل از تحقیق را بیان می‌نماید. ارائه پیشنهادات در این بخش انتهائی نیز بلامانع است.

سپاسگزاری:

در این بخش نویسندگان از اشخاص و سازمان‌هایی که در اجرای تحقیق همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌نماید. این بخش در حداکثر 50 کلمه تنظیم گردد.

منابع مورد استفاده:

فهرست منابع باید شامل منابعی باشد که در متن ذکر شده و انتشار یافته‌اند و نیز شامل منابعی میشوند که برای چاپ پذیرفته شده‌اند. مکاتبات شخصی و یا تحقیقات چاپ نشده فقط در متن مقاله قابل ذکر می‌باشند. در مورد منابعی که بصورت آنلاین چاپ شده‌اند و فاقد شماره جلد و یا صفحه می‌باشند، ذکر شناسه دیجیتال (DOI) ضروری است.

شیوهٔ ارجاع به منابع علمی در تمام متن مقاله بایستی به صورتی باشد که منبع مورد ارجاع (چه فارسی و چه انگلیسی) در پایان جمله در داخل پرانتز به فارسی ارائه شود. برای منابع دارای دو نویسنده، نام هر دو نویسنده و منابعی که بیش از دو نویسنده دارند، نخست نام نفر اول و سپس "همکاران" و تاریخ بیان شود. مثال:

..... نتایج مشابهی توسط برخی پژوهشگران نیز گزارش شده است (کریمی و احمدی، 1389).

..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، 2010).

..... نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (آلوی و همکاران، 2010؛ کریمی و احمدی، 1389).

برای منابعی که لزوماً در داخل پرانتز ارائه نمی‌شود بدین صورت عمل شود.

بایوردی و همکاران (1382) گزارش کردند...

اسمیت (2002) گزارش کرد ...

اسمیت و جونز (2002) گزارش کردند...

اسمیت و همکاران (2002) گزارش کردند...

فهرست منابع مورد استفاده در پایان متن به صورت پیوسته و به ترتیب منابع فارسی و انگلیسی ارائه شوند. منابع مورد استفاده به ترتیب حروف الفبای نام خانوادگی نگارنده، (یا اولین نگارنده برای منابعی که بیش از یک نگارنده دارند) زیر هم آورده شوند. چنانچه از یک نگارنده چندین منبع ذکر شود، ترتیب درج آن‌ها بر حسب سال انتشار، از جدید به قدیم است. اگر از نگارنده‌ای چندین منبع همسال وجود داشته باشد، با گذاشتن حروف a، b و c پس از سال انتشار منابع از یکدیگر متمایز شوند. چنانچه مقالات منفرد و مشترک در یک سال از یک نگارنده ارائه شود، نخست مقالات منفرد و سپس مقاله‌های مشترک به ترتیب حروف الفبای نام نگارندگان بعدی مرتب شوند.

برای یک مقاله به ترتیب نام خانوادگی نگارنده، حرف اول اسم کوچک نگارنده، تاریخ انتشار، عنوان مقاله، عنوان کامل مجله، شماره جلد، و اولین و آخرین صفحه مقاله ارائه شود. برای یک کتاب به ترتیب نام خانوادگی و سپس حرف اول نام کوچک نگارنده، تاریخ انتشار، عنوان کامل کتاب، نام ناشر، محل انتشار ارائه شود. در مورد مقاله یا کتاب‌هایی که بیش از یک نویسنده دارند به ترتیب نام خانوادگی و حرف اول نام اولین نویسنده و سپس اول نام نویسندگان بعدی و پس از آن نام خانوادگی آن‌ها ذکر شود.

در مورد مرجعی که نویسنده آن مشخص نیست به جای نام نگارنده از "Anonymous" برای منابع انگلیسی و (بی نام) برای منابع فارسی استفاده شود.

چنانچه منبع ترجمه شده باشد، در فهرست منابع باید نخست نام نویسنده (گان) کتاب اصلی، عنوان مشخصات آن (به زبان انگلیسی) و سپس نام مترجم (مترجمان) ذکر شود.

مثال‌هایی برای تنظیم منابع

- 1- مقاله از مجله
Brennan, E.W. and Lindsay, W.L. 1998. Reduction and oxidation effect on the solubility and transformation of iron oxides. Soil Science Society of America Journal 62:930–937.
- 2- مقاله از کارگاه آموزشی یا علمی
Hanbury, A. 2002. The taming of the hue, saturation and brightness colour Space, 7th Computer Vision Winter Workshop, February 2002, Bad Aussee, Austria.
- 3- مطلب از کتاب
Lindsay, W.L. 1979. Chemical equilibrium in soils. John Wiley & Sons, New York.
- 4- مطلب نقل شده یک نویسنده در یک مجموعه مقالات
Logsdon, S.D. and Laird, D.A. 2003. Ranges of bound water properties associated with a smectite clay. p. 101–108. In: Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substance. Proc. of Conf., Rotorua, New Zealand. 23–26 Mar. 2003. Industrial Research, Auckland, New Zealand.
- 5- ذکر مطلب از نویسنده ای در یک کتاب که نام ویراستاران روی جلد آن است
Olsen, S.R. and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus. p. 403–427. In: Page, A.L. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. 2nd ed. Agron. Monogr. No. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
- 6- ذکر مطلب از اینترنت
Soil Survey Staff. 2004. NRCS soils [Online]. Available at <http://soils.usda.gov> [verified 23 Mar. 2005]. USDA-NRCS, Washington, DC.

چکیده انگلیسی

چکیده انگلیسی بایستی ترجمه دقیق چکیده فارسی باشد. واژه‌های کلیدی انگلیسی: باید ترجمه دقیق واژه‌های کلیدی فارسی باشد. واژه‌های کلیدی بر اساس حروف الفبای انگلیسی مرتب شوند و حرف اول کلمات به صورت بزرگ (کاپیتال) نوشته شود.

کلیه مقالات پس از دریافت توسط سردبیر بررسی و پس از تایید با راهنمای تهیه مقاله تطبیق و در صورت رعایت فرمت نشریه، مقاله برای داوری ارسال خواهد شد. پس از اتخاذ رأی داوران و تأیید گروه دبیران (هیأت تحریریه)، مقاله در نوبت چاپ قرار خواهد گرفت. چنانچه مقاله ارسالی با راهنمای تهیه مقاله تطبیق نداشته باشد به نویسنده مسئول عودت داده خواهد شد و مجدداً از زمان برگشت، تاریخ رسید مقاله منظور و برای داوری ارسال خواهد شد.

فرم تعهد نامه

مجله زیست شناسی خاک

اینجانب نویسنده مقاله زیر:

موارد زیر را به آگاهی می رسانم:

1. کلیه تهیه کنندگان مقاله از ارسال آن به دفتر مجله شما آگاهند
2. مقاله قبلاً در هیچ مجله داخلی و خارجی منتشر نشده است
3. مقاله تا زمان پایان بررسی در آن مجله به مجله دیگری ارسال نخواهد شد.

نام نام خانوادگی نویسنده اول:

امضاء نویسنده اول مقاله

نام نام خانوادگی نویسنده دوم:

امضاء نویسنده دوم مقاله

نام نام خانوادگی نویسنده سوم:

امضاء نویسنده سوم مقاله

نام نام خانوادگی نویسنده چهارم:

امضاء نویسنده چهارم مقاله

دکتر احمد اصغرزاده	3 مقاله
دکتر عبدالرضا آخگر	2 مقاله
دکتر هادی اسدی رحمانی	2 مقاله
دکتر محمود تورچی	1 مقاله
دکتر علیرضا توسلی	1 مقاله
دکتر هوشنگ خسروی	1 مقاله
دکتر حمیدرضا ذبیحی	1 مقاله
دکتر عبدالمجید رونقی	1 مقاله
دکتر فرهاد رجالی	1 مقاله
دکتر محمودرضا رمضانپور	2 مقاله
دکتر میرحسن رسولی صدقیانی	2 مقاله
دکتر محمدرضا ساریخانی	1 مقاله
دکتر مژگان سپهری	1 مقاله
دکتر سعید سعادت	1 مقاله
دکتر علی‌اشرف سلطانی	2 مقاله
دکتر کریم شهبازی	1 مقاله
دکتر ناصر علی‌اصغرزاد	3 مقاله
دکتر امیر لکزیان	5 مقاله

بررسی تغییرات الگوی بیان پروتئین‌ها و آیزوزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز گرهِک

تحت شرایط تنش خشکی در همزیستی بین نخود با سه سویه

Mesorhizobium ciceri

مریم نصرافهانی¹

استادیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه لرستان؛ Esfahani.m@lu.ac.ir

دریافت: 91/11/17 و پذیرش: 92/10/24

چکیده

در این تحقیق، نقش سویه ریزوبیوم روی پتانسیل عملکرد همزیستی‌شان با گیاهان نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت شرایط تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، سویه‌های *M. ciceri* (C-15، CP-31 و CP-36) به گیاهان نخود مایه‌زنی شده و به مدت چهار هفته در شرایط مطلوب رشد نگهداری شدند. تنش خشکی با توقف آبیاری برای 2 و 3 روز اعمال گردید. میزان تثبیت نیتروژن در شرایط تنش خشکی در سه سیستم همزیستی کاهش نشان داد. ولی میزان کاهش در گیاهان مایه‌زنی شده با سویه‌های CP-31 و CP-36 بالاتر بود. با آبیاری مجدد گیاهان تحت تنش خشکی، کاهش در میزان تثبیت نیتروژن در شرایط تنش خشکی در گیاهان مایه‌زنی شده با C-15 تا حدودی جبران شد ولی در گیاهان مایه‌زنی شده با سویه‌های CP-31 و CP-36 جبران نشد. تغییرات در الگوی بیان پروتئین‌های گرهِ در گیاهان مایه‌زنی شده با سه سویه مورد مطالعه تحت شرایط مطلوب رشد، 2 و 3 روز تنش خشکی و گیاهان آبیاری مجدد شده بعد از 3 روز تنش خشکی توسط روش SDS-PAGE مورد بررسی قرار گرفت. در گرهِ‌های مایه‌زنی شده با سویه C-15، الگوی پروتئینی در پاسخ به تنش خشکی در مقایسه با شاهد تفاوتی را نشان نداد در حالی که در گرهِ‌های مایه‌زنی شده با سویه‌های CP-31 و CP-36 برخی نوارهای پروتئینی شناسایی شد که بیان آنها تحت تنش خشکی کاهش پیدا کرده و بعد از آبیاری مجدد باز یافت نشدند. تجزیه و تحلیل الکتروفورزی آیزوزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز در گرهِ‌های حاصل از سه سویه مورد بررسی تفاوت معنی‌داری را تحت شرایط تنش در مقایسه با شاهد نشان ندادند. سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گرهِ‌های آلوده شده با سویه C-15 با اعمال تنش خشکی افزایش نشان داد در حالی که در گرهِ‌های مربوط به سویه‌های CP-31 و CP-36 کاهش پیدا کرد. به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که با انتخاب یک سویه مناسب ریزوبیوم می‌توان سطح تحمل جمعیت همزیستی را به شرایط تنش خشکی افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: همزیستی، نخود، *M. ciceri*، گرهِ، تثبیت نیتروژن، تنش خشکی، نیتروژناز

مقدمه

موجود در دانه‌ها و علوفه‌های مورد استفاده در تغذیه انسان و دام به شمار می‌آید. به علاوه، تثبیت زیستی نیتروژن توسط لگوم‌ها مهمترین منبع طبیعی برای ورود

تثبیت نیتروژن اتمسفری در اندام‌های غده مانند حاصل از همزیستی ریزوبیوم با ریشه لگوم‌ها (گرهِ²)، یک مسیر مهم برای تأمین بخش عمده‌ای از نیتروژن

¹ نویسنده مسئول، آدرس: خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

عمدتاً به دلیل کاهش در بیان و فعالیت آنزیم ساکاروز ستاز (ارس - ایگور و همکاران 1999) (2) تنظیم بر اساس سطح اکسیژن داخلی در درون گره‌ها (سراج و سینکلایر 1996) و (3) تنظیم بازپس خوردی¹ نیتروژن (کینگ و پرسل 2005) اشاره نمود.

یکی دیگر از نتایج تنش خشکی، افزایش سطح تولید گونه‌های فعال اکسیژن² است که به ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو منجر می‌شود (تجرا و همکاران 2004، اپل و هیرت 2004). تنش اکسیداتیو بازدارندگی فرآیند تثبیت نیتروژن اتمسفری را تحریک می‌کند (مارینو و همکاران 2006). پاسخ همزیستی به این تنش اکسیداتیو شامل تغییرات مورفولوژیکی مانند تغییر ساختمان کورتکس گره (ماتاموروس و همکاران 1999) و سازش‌های بیوشیمیایی نظیر افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در گره است (ماتاموروس و همکاران 2003، جامت و همکاران 2003، مدهبی و همکاران 2004) که خطر ناشی از آسیب اکسیداتیو را در گره‌ها کاهش می‌دهند. بدین ترتیب فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی نقش کلیدی در حفاظت از عملکرد گره و مکانیسم تثبیت کنندگی نیتروژن بازی می‌کنند (سانتوس و همکاران 2000).

بیان، سنتز و تجمع پروتئین‌های ویژه نظیر دهیدرین‌ها و LEA³ در اندام‌های مختلف گیاه تحت تنش خشکی تغییر می‌کند که این تغییرات یک بخش اساسی پاسخ گیاه به تنش خشکی محسوب می‌شود (عابدینی و همکاران 1391). نقش فیزیولوژیک پروتئین‌های القاء شده توسط تنش خشکی هنوز به طور واضح شناخته نشده است اما این عقیده وجود دارد که این پروتئین‌ها باعث ایجاد تعادل و توازن در ساختار و عملکرد بیوشیمیایی گیاه شده و مقاومت گیاه به شرایط تنش را افزایش می‌دهند (جیانگ و هوانگ 2002). بدین ترتیب، مطالعه تغییر در بیان این پروتئین‌ها روشی دیگر برای شناسایی مکانیسم‌هایی است که از طریق آنها گیاهان می‌توانند به تنش‌های محیطی نظیر خشکی پاسخ دهند. مطالعه پاسخ پروتئین‌ها به تنش خشکی در چندین گونه گیاهی مانند برنج (اکواریا - زومو و همکاران 2009، زایانگ و همکاران 2010)، ذرت (ریکاردی و همکاران 1998) و گیاه پنچ انگشت (*Vitex Agnus-castus* L.) (جان و همکاران 2011) تأیید کرده است که تنش خشکی تغییرات قابل توجهی (افزایش یا کاهش) را در الگوی بیان

نیتروژن به بیوسفر محسوب می‌شود به طوری که در کشت تناوبی غلات و سایر گیاهان زراعی با لگوم‌ها، بازده تولید محصول در این گیاهان به طور چشمگیر افزایش می‌یابد. بنابراین، فرآیند تثبیت زیستی نیتروژن از نظر کشاورزی، اقتصادی و زیست محیطی دارای اهمیت بوده (گرام و ونس 2003) و در بسیاری از کشورهای دارای خاک‌های فقیر از نظر نیتروژن بسیار مورد توجه است. پتانسیل تثبیت نیتروژن مولکولی تحت تأثیر سویه ریزوبیوم و رقم لگوم قرار می‌گیرد و در صورتی که این دو فاکتور مهم به گونه‌ای مناسب انتخاب شوند، سیستم همزیستی بالاترین کارایی را به لحاظ تثبیت نیتروژن دارا خواهد بود (مدهبی و همکاران 2008). در مطالعات متعددی نقش سویه ریزوبیوم و رقم لگوم در افزایش ظرفیت تثبیت کنندگی سیستم همزیستی گزارش شده است (رومدان و همکاران 2007، مدهبی و همکاران 2008).

میزان تولید محصول در لگوم‌ها تحت تأثیر عوامل متعددی نظیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی کاهش می‌یابد (دروون و همکاران 2001). خشکی یکی از تنش‌های مهم محیطی است که رشد و میزان تولید محصول را در گیاهان به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهد و تقریباً 70 درصد کاهش تولید محصول در سرتاسر جهان به تنش‌های غیرزیستی به ویژه خشکی نسبت داده شده است (چاوز و اولیوریا 2004). تأثیر بازدارنده تنش خشکی روی تثبیت زیستی نیتروژن به طور گسترده در لگوم‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است (آرس-ایگور و همکاران 2011). در چندین مطالعه تأیید شده که فرآیند تثبیت نیتروژن در مقایسه با سایر پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه نظیر فتوسنتز، تثبیت نیترات و تبادلات گازی برگ نسبت به تنش خشکی حساس‌تر است (دجکون و پلانچون 1991، گزالز و همکاران 1995) و به این ترتیب با شناسایی مکانیسم‌هایی که تثبیت زیستی نیتروژن را تحت شرایط تنش خشکی کاهش می‌دهند، می‌توان سطح تحمل لگوم‌ها به شرایط خشکی را از طریق بهبود سرعت تثبیت نیتروژن با روش‌های مهندسی ژنتیک افزایش داد (شولزه 2004). البته به دلیل تنوع در پاسخ لگوم‌ها به تنش خشکی و نیز پیچیدگی عملکرد ژنتیکی آنها، یافتن راهی برای کاهش اثرات زیان‌آور القاء شده توسط تنش خشکی مشکل می‌باشد. به علاوه، برهمکنش بین گیاه و میکروهمزیست آن، شناخت سازوکارهای تحمل تنش را در سیستم‌های همزیستی پیچیده کرده است. چندین فرضیه در ارتباط با تفسیر کاهش تثبیت نیتروژن در طی شرایط تنش پیشنهاد شده است که از جمله آنها می‌توان به: (1) تنظیم از طریق کنترل جریان کربن به درون گره‌ها

¹ Feedback

² Reactive Oxygen Species (ROS)

³ Late Embryogenesis abundant

پروتئین‌ها ایجاد می‌کند که این تغییرات با سازش‌های فیزیولوژیکی گیاه به تنش خشکی مرتبط می‌باشد. مطالعات در ارتباط با الگوی بیان پروتئین‌های گره‌ها تحت شرایط تنش خشکی و نقش آنها در بالا بردن سطح تحمل سیستم همزیستی لگوم - ریزوبیوم بسیار محدود می‌باشد (لارینزار و همکاران (2007).

گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) یکی از مهمترین لگوم‌های کشت شده در ایران است به طوری که تقریباً 64 درصد از سطح زیر کشت لگوم‌ها در ایران به کشت نخود اختصاص دارد. این لگوم به دلیل دارا بودن 7-24 درصد پروتئین و 41-50 درصد کربوهیدرات به لحاظ غذایی با ارزش است (زالی و همکاران (2011). با توجه به وجود باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن هوا در ریشه آنها، در حاصلخیزی خاک نیز نقش مؤثری ایفا می‌کنند و از این رو کشت توأم آنها با غلات مرسوم می‌باشد. این گیاهان همچنین به صورت کود سبز به منظور تقویت و بهبود وضع فیزیکی خاک استفاده می‌شود (صباغ‌پور و همکاران (1389). تنش خشکی با تأثیر بازدارنده روی فرآیند تثبیت زیستی نیتروژن باعث کاهش در عملکرد محصول در گیاه نخود می‌شود (صباغ‌پور و همکاران (2005 و 2006). در این تحقیق تغییرات میزان تثبیت نیتروژن در مراحل اولیه تنش خشکی در همزیستی بین رقم بیونج نخود و سه سویه *Mesorhizobium ciceri* و همچنین نقش سویه ریزوبیوم مایه زنی شده به گیاه نخود در بالا بردن سطح تحمل به شرایط تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه همچنین تغییرات در الگوی بیان پروتئین‌های گره و نیز فعالیت و بیان آیزویم‌های آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گره به منظور پیدا کردن ارتباط بین این پارامترها و کارایی همزیستی¹ تحت شرایط تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شرایط کشت گیاهان

بذرهای گیاه نخود رقم بیونج از مؤسسه دیم کشور تهیه گردید و بعد از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت 1% به مدت 5 دقیقه و چندین بار شستشو با آب مقطر (نصراصفهانی و مستاجران (2011)، در گلدان‌هایی از جنس پلی‌وینیل کلراید (PVC) با قطر 5 سانتی‌متر و حجم 0/5 لیتر حاوی مقدار یکسان شن برای نگهداشتن گیاه، کشت شدند. به منظور خنثی کردن پروتون ترشح شده از گره‌های تثبیت کننده نیتروژن و ریشه به ازای هر 6 کیلوگرم شن 0/8 گرم کربنات کلسیم به شن اضافه گردید

(احمد (2007). گیاهچه‌های نخود در طی دو مرحله در روز سوم و ششم بعد از ظهورشان با سه سویه *Mesorhizobium ciceri* (C-15، CP-31 و CP-36) مایه-زنی شدند. برای عمل مایه‌زنی گیاهچه‌ها، از سوسپانسیون باکتری‌های ریزوبیومی مورد استفاده با تراکم سلولی 10^9 در هر میلی‌لیتر استفاده گردید. گیاهان به مدت 4 هفته در اتاقک رشد با درجه حرارت 25°C روز / 18°C شب، سیکل نوری 16 ساعت روز / 8 ساعت تاریکی، 70 درصد رطوبت نسبی و تراکم نوری $360\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ نگهداری شده و هر روز با محلول غذایی فاقد نیتروژن (3.3 mM CaCl_2 , $2.05\text{ mM MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $1.25\text{ mM K}_2\text{SO}_4$, $0.35\text{ mM KH}_2\text{PO}_4$, $4\text{ }\mu\text{M H}_3\text{BO}_3$, $1.55\text{ }\mu\text{M ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $1.55\text{ }\mu\text{M CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $6.6\text{ }\mu\text{M MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $40\text{ }\mu\text{M Fe-EDTA}$ ($0.12\text{ }\mu\text{M}$) (وادز و همکاران (2000) آبیاری شده و محتوی رطوبتی‌شان تا نزدیک 80 درصد ظرفیت مزرعه حفظ گردید. بعد از گذشت حدوداً 28 روز، آبیاری گروهی از گیاهان به مدت 2 و 3 روز متوقف گردید و به عنوان گیاهان تحت تیمار خشکی در نظر گرفته شدند. همچنین در یک گروه از گیاهان، آبیاری برای 3 روز متوقف شده و سپس به مدت 3 روز آبیاری شدند و به عنوان تیمار بازیابی شده از تنش² مورد بررسی قرار گرفتند. همزمان با برداشت هر گروه از تیمارها، گیاهان شاهد نیز برداشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد.

اندازه‌گیری میزان تثبیت نیتروژن

اندازه‌گیری میزان تولید H_2 یک روش غیرمستقیم برای ارزیابی فعالیت تثبیت نیتروژن در گره-های لگوم است (هانت و لایزل (1993). میزان تولید H_2 توسط گره‌های ریشه از طریق روش تبادل گاز با جریان باز (Open-flow gas exchange measurement system) و توسط دستگاه آنالیز کننده H_2 (H₂ Analyzer) مدل Model S121, Qubit systems Inc, Kingston, ON, Canada) اندازه‌گیری شد. (شولزه و همکاران (2006). در این روش ریشه‌های دارای گره به یک سیستم تخمین تبادل گاز با جریان باز متصل گردید. در این سیستم، یک جریان N_2/O_2 (80/20 v/v) به میزان 200 میلی‌لیتر در دقیقه در اختیار ریشه‌های دارای گره قرار گرفت و سپس یک نمونه از جریان گاز خروجی به میزان 100 میلی‌لیتر در دقیقه بعد از عبور از ستون پرکلرات منیزیم به منظور گرفتن رطوبت توسط دستگاه H_2 analyser آنالیز گردید. داده‌ها توسط کامپیوتر متصل به دستگاه نمایش داده شد.

² Recovered plants

¹ Symbiotic efficiency

آماده‌سازی عصاره گرھ

به منظور تهیه عصاره گرھ، 0/5 گرم از گرھ‌های نگهداری شده در دمای -80°C را در هاون چینی با 1/5 میلی لیتر بافر استخراج (بافر فسفات پتاسیم (pH= 7.8)، DTT (4 میلی مولار)، PVPP (2%)، EDTA (1 میلی مولار) و گلیسرول (10%)) هموژنیزه گردید. مخلوط حاصل برای مدت 40 دقیقه در 13000 دور در دقیقه در دمای 4 درجه سانتیگراد سانتریفوژ و عصاره شفاف جداسازی شده از محلول در دمای -20°C نگهداری گردید. از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری اسپکتروفتومتری و الکتروفورزی فعالیت آنزیم SOD، تخمین غلظت پروتئین‌های محلول و بررسی الگوی پروتئین‌های از طریق الکتروفورز استفاده شد. سنجش کمی پروتئین‌های محلول بر اساس روش برادفورد (1976) انجام گردید.

بررسی میزان کمی پروتئین‌های محلول

اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول طبق روش برادفورد (1976) انجام گرفت. در این روش، برای تهیه محلول برادفورد از ماده‌ای به نام کوماسی برلیانت بلو G250 استفاده شد. محلول برادفورد با عصاره گرھ کمپلکس آبی رنگ تشکیل می‌دهد که در طول موج 595 جذب دارد. برای رسم منحنی استاندارد پروتئین از آلبومین سرم گاوی¹ استفاده گردید.

بررسی الگوی پروتئین‌های گرھ توسط الکتروفورز

الگوی بیان پروتئین‌ها با روش الکتروفورز عمودی و با استفاده از ژل پلی‌آکریلامید (SDS-PAGE) انجام گرفت (مصطفایی 1382). به منظور الکتروفورز پروتئین‌های محلول در گرھ، عصاره‌های حاصل از استخراج پروتئین‌ها همراه با بافر نمونه (0/92 گرم SDS، 1/8 میلی لیتر مرکاپتواتانل، 3/2 میلی لیتر گلیسرول، 0/3 گرم تریس، 2 میلی لیتر بروموفل بلو (0/1%)) و مقدار لازم آب مقطر مخلوط شده و پس از جوشاندن به مدت 3 الی 5 دقیقه در آب 100 درجه سانتی گراد در دمای -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. الکتروفورز به روش SDS-PAGE (سدیم دو دسیل سولفات) انجام گرفت. در این روش ژل تحتانی (ژل جدا کننده) با غلظت 15% (آکریل آمید 30% + بیس - آکریل آمید 0/8% + بافر ژل تحتانی + آمونیوم پرسولفات (APS) 1% + 5 تا 10 میکرولیتر TEMED + آب مقطر) و به دنبال آن ژل فوقانی (ژل متراکم کننده) با غلظت 3/75% تهیه و در بافر تانک در ولتاژ 80 الی 100 ولت پس از بارگذاری نمونه‌ها، الکتروفورز انجام گرفت. قبل از تزریق عصاره‌های

پروتئینی به درون چاهک‌ها، ابتدا مقدار پروتئین موجود در عصاره‌های مختلف به نحوی متوازن شد که از نظر مقدار پروتئین یکسان باشند. رنگ آمیزی ژل‌ها با استفاده از کوماسی بلوریلانت R250 انجام و پس از رنگ‌بری، نوارهای ظاهر شده در نمونه‌های آزمایشی با باند‌های حاصل از نشانگر پروتئین مربوط به شرکت Fermentase (SM0431) با ترکیب هفت نوع پروتئین با وزن‌های مولکولی 14، 18/6، 25، 35، 45، 66 و 116 کیلودالتون مقایسه گردید.

فعالیت آنزیم SOD (EC 1. 15. 1.1) از طریق تخمین توانایی آن برای جلوگیری از احیاء نوری نیتروبولوترازولیوم (NBT) طبق روش یو و رنگل (1999) ارزیابی گردید. به منظور بررسی آیزوزیم‌های SOD، نمونه‌ها روی ژل پلی‌آکریلامید غیرواسرشت 12/5% مطابق روش بیان شده توسط مارتینز و همکاران (2001) جداسازی شدند. سپس، برای آشکار شدن آیزوزیم‌ها، ژل به مدت 30 دقیقه در مخلوط واکنش شامل 100 میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات 50 میلی مولار (pH +7/8)، 1/13 میلی گرم ریوفلاوین، 325 میلی لیتر TEMED و 10 میلی گرم NBT در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شدند. پس از شستن، ژل به مدت 20 دقیقه تحت تابش نور سفید قرار داده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS 16.0 استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری 5 درصد ($P \leq 0.05$) و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

تنش خشکی یکی از عوامل اصلی کاهش دهنده محصول در این گیاه است (صباغ‌پور و همکاران 2005). یکی از روش‌های بهبود تولید محصول تحت شرایط کم آبی، انتخاب سویه‌های همزیست مقاوم به تنش است که قادرند در مقابل شرایط نامساعد محیطی ایستادگی و مقاومت کنند. حساسیت یا مقاومت در برابر تنش کم آبی، به توانایی همزیست‌ها از نظر ژنتیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای کاهش دادن آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو که معمولاً با تنش خشکی همراه می‌شود، مرتبط می‌باشد (مدهبی و همکاران 2004). در همزیستی بین لگوم و ریزوبیوم، سه فاکتور شامل سویه ریزوبیوم، رقم لگوم و برهمکنش بین سویه و رقم روی فرآیند همزیستی تحت شرایط تنش تأثیر دارد (مدهبی و همکاران 2008). در چندین مطالعه مشارکت بالای سویه ریزوبیوم روی شاخص‌های همزیستی (عمدتاً ظرفیت

¹ Bovine Serum Albumin (BSA)

تثبیت نیتروژن تحت شرایط مطلوب رشد می‌باشد. این نتایج با گزارشات ارائه شده مبنی بر مشارکت سویه ریزوبیوم در بالا بردن سطح تحمل سیستم‌های همزیستی به شرایط تنش مطابقت دارد (مدهبی و همکاران 2004 و 2009، مناسری و همکاران 2007) فرضیه‌های متعددی در ارتباط با مکانیسم‌های دخیل در کاهش میزان تثبیت نیتروژن در مراحل اولیه اعمال تنش خشکی وجود دارد که شناخت این مکانیسم‌ها می‌تواند به بهبود تثبیت نیتروژن در شرایط تنش کمک کند. این مکانیسم‌ها شامل کاهش قابلیت دسترسی باکتریوئید به سوبستراهای تنفسی (عمدتاً مالات)، کاهش نفوذپذیری اکسیژن به درون باکتریوئید و کاهش انتقال محصولات حاصل از تثبیت نیتروژن و تجمع آنها در درون گره که باعث بازدارندگی تثبیت نیتروژن به صورت بازپس‌خور می‌شوند (آرس-ایگور و همکاران 2011). بین سه مکانیسم پیشنهاد شده برای تفسیر دلیل کاهش میزان تثبیت نیتروژن تحت تنش خشکی و وضعیت آب گره وابستگی وجود دارد. برخلاف تعداد زیادی از بافت‌های گیاهی، انتقال آب و ترکیبات به درون گره از طریق فلوئم انجام می‌گیرد. به این ترتیب هر فاکتوری که باعث آهسته شدن جریان فلوئم شود، تأثیر قابل ملاحظه‌ای روی فیزیولوژی گره دارد. به دلیل این که جریان فلوئم حتی به تغییرات نسبتاً کم وضعیت آب برگ بسیار حساس است بنابراین جریان آب به درون گره‌ها نسبت به تغییر یافتن شرایط آب بسیار حساس است (سراج و همکاران 1999). اگرچه هر سه مکانیسم ذکر شده در بالا فاکتورهای مهم حساسیت تثبیت نیتروژن نسبت به تنش خشکی هستند ولی تأثیر بازپس-خوری نیتروژن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که با وضعیت آب گره مرتبط می‌باشد. در این مطالعه برای بررسی وضعیت آب گره، وزن تر گره مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که وزن تر گره در گیاه نخود مایه زنی شده با سویه‌های C-15، CP-31 و CP-36 در طی 2 و 3 روز توقف آبیاری به میزان معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد ولی در گیاهانی که بعد از سه روز توقف آبیاری مجدداً آبیاری شدند، وزن تر کاهش یافته گره‌ها در طی 3 روز تنش خشکی، بعد از آبیاری مجدد به میزان آن در گره‌های شاهد برگشت پیدا کرد (جدول 2). کاهش در وزن تر گره نشان دهنده کاهش جریان فلوئم به درون گره و محدودیت در وضعیت آب گره است که باعث می‌شود جریان محصولات حاصل از تثبیت نیتروژن به خارج از گره به طور آهسته انجام گیرد و بنابراین تجمع ترکیبات نیتروژنی در درون گره اتفاق

تثبیت کنندگی نیتروژن) تحت تنش‌های سخت محیطی پیشنهاد شده است. به این ترتیب، با انتخاب سویه‌های مناسب ریزوبیوم برای همزیستی با لگوم‌ها، می‌توان تولید محصول وابسته به تثبیت زیستی نیتروژن را تحت شرایط نامساعد محیطی افزایش داد.

پاسخ میزان تثبیت نیتروژن به تنش خشکی در گره‌های

حاصل از همزیستی نخود با سه سویه *M.ciceri*

اندازه‌گیری میزان تثبیت نیتروژن در گره‌های مایه‌زنی شده با سویه‌های C-15، CP-31 و CP-36 تحت شرایط مطلوب رشد نشان داد که میزان تثبیت نیتروژن بسته به نوع سویه ریزوبیوم مایه‌زنی شده متفاوت بود. در همزیستی بین رقم بیونج و سویه C-15 بیشترین میزان تثبیت نیتروژن در مقایسه با سویه‌های CP-31 و CP-36 مشاهده گردید (جدول 1). بدین ترتیب سویه‌های مختلف ریزوبیوم دارای ظرفیت متفاوت برای تثبیت نیتروژن هستند همان طور که در همزیستی بین نخود و ریزوبیوم (سوسی و همکاران 1999) و همچنین همزیستی بین ریزوبیوم و لوبیا (تجرا و همکاران 2004) نیز پیشنهاد شده بود. در مراحل اولیه اعمال تنش خشکی (بعد از توقف آبیاری برای 2 و 3 روز) میزان تثبیت نیتروژن در گره‌های حاصل از همزیستی نخود با سویه‌های C-15، CP-31 و CP-36 کاهش پیدا کرد که نشان دهنده حساسیت بالای فرآیند تثبیت نیتروژن به تنش خشکی است. مع‌هذا، سطح کاهش تثبیت نیتروژن تحت تنش خشکی در همزیستی بین رقم بیونج و سه سویه ریزوبیوم مایه‌زنی شده متفاوت بود. در همزیستی بین رقم بیونج و سویه C-15، میزان تثبیت نیتروژن بعد از 2 و 3 روز توقف آبیاری به ترتیب 39 و 51 درصد در مقایسه با میزان آن در گره شاهد کاهش نشان داد و با آبیاری مجدد گیاهان نخود که برای 3 روز تحت تنش خشکی قرار داشتند، سطح کاهش یافته تثبیت نیتروژن تا 87 درصد آن در گیاه شاهد افزایش پیدا کرد. در مقابل، توقف آبیاری برای 2 و 3 روز، تثبیت نیتروژن در همزیستی نخود با سویه CP-31 را به ترتیب 75 و 84 درصد و در همزیستی نخود با سویه CP-36 به ترتیب 69 و 78 درصد نسبت به شاهد کاهش داد و با آبیاری مجدد گیاهان تحت تنش خشکی، سطح کاهش یافته تثبیت نیتروژن در این دو جمعیت همزیستی جبران نشد (جدول 1). بر اساس این نتایج، همزیستی بین رقم بیونج با سویه C-15 که بالاترین ظرفیت تثبیت کنندگی نیتروژن را تحت شرایط مطلوب رشد نشان داد، نسبت به تنش خشکی مقاوم‌تر است. به این ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که سطح تحمل بالاتر فرآیند تثبیت نیتروژن به تنش خشکی در این همزیستی، نتیجه پتانسیل بالای میزان

می‌افتد که به طور بازپس‌خور باعث کاهش سرعت تثبیت نیتروژن می‌شود (کینگ و پرسل 2005).

تأثیر تنش خشکی روی الگوی بیان پروتئین‌های گرھ

الگوی بیان بسیاری از پروتئین‌ها در پاسخ به کاهش آب تغییر می‌کند که از جمله این پروتئین‌ها می‌توان به پروتئین‌های دخیل در مسیرهای سیگنالی تنش، پروتئین‌های مخصوص سم‌زدایی تنش اکسیداتیو و پروتئین‌هایی با اعمال غیر مستقیم مربوط به تنش اشاره نمود. به طور کلی، پاسخ‌های گیاه به تنش برای بقاء هوموستازی، سم‌زدایی مواد مضر و بازگشت رشد است (حاج حیدری و همکاران 2005). بدین ترتیب، گیاهان برای مقابله با کاهش آسیب‌های ناشی از تنش خشکی ممکن است الگوی بیان ژن‌ها و میزان پروتئین‌های درون سلولی بافت‌های‌شان را تغییر دهند (کانالایا و همکاران 2005). در چندین سال گذشته، علی‌رغم این که بررسی تغییرات در الگوی بیان پروتئین‌ها تحت شرایط تنش خشکی بسیار مورد توجه بوده ولی هنوز نقش اکثر پروتئین‌ها در ارتباط با تحمل تنش خشکی ناشناخته باقی مانده است (جیناگ و هوانگ 2002). در تحقیقات مختلف تعدادی از پروتئین‌های القاء شده توسط تنش خشکی شناسایی شده که این امر بازتابی از پیچیدگی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان در برابر تنش خشکی می‌باشد (کوتاپالی و همکاران 2009). زایانگ و همکاران (2010)، گزارشات در ارتباط با تغییر بیان پروتئین‌های گرھ تحت شرایط تنش خشکی بسیار محدود است. نتایج این تحقیق نشان داد که الگوی بیان پروتئین‌ها در گرھ‌های گیاه نخود مایه زنی شده با سویه‌های C-15، CP-31 و CP-36 تحت شرایط مطلوب رشد تفاوتی را با یکدیگر نشان ندادند (شکل 1). بررسی میزان پروتئین‌های محلول و الگوی بیان پروتئین‌ها در گرھ‌های حاصل از سویه‌های C-15، CP-31 و CP-36 تحت 2 و 3 روز اعمال تنش خشکی نشان داد که اگرچه الگوی بیان پروتئین‌ها در گرھ‌های سه سویه مورد بررسی در مقایسه با الگوی آنها در گرھ‌های شاهد تغییرات معنی‌داری را نشان داد (شکل 2) ولی در میزان کل پروتئین‌های محلول گرھ تفاوتی بین شاهد و گیاهان تحت تنش خشکی مشاهده نشد.

تغییرات الگوی پروتئین‌های گرھ در همزیستی بین نخود با سویه‌های C-15، CP-31 و CP-36 تحت شرایط تنش خشکی بسته به نوع سویه ریزوبیوم متفاوت بود. در همزیستی نخود با سویه C-15 الگوی بیان پروتئین‌های گرھ تحت 2 و 3 روز تنش خشکی تفاوت معنی‌داری را با گرھ‌های شاهد نشان نداد. الگوی پروتئینی

در گرھ‌های حاصل از مایه زنی نخود با سویه CP-31 یک کاهش در پروتئین‌های 45 و 33 کیلودالتون بعد توقف آبیاری برای 3 روز نشان دادند که این کاهش بعد از آبیاری مجدد جبران نشد. از طرف دیگر، اعمال تنش خشکی برای 2 و 3 روز باعث کاهش در تراکم پروتئین-هایی با وزن مولکولی تقریباً 13 کیلودالتون در مقایسه تراکم این پروتئین‌ها در گرھ‌های شاهد شد به نحوی که بعد از آبیاری مجدد گرھ‌های تحت تنش خشکی، کاهش در بیان این پروتئین‌ها ترمیم نشد. بررسی الگوی پروتئینی در گرھ‌های حاصل از همزیستی نخود با سویه CP-36 نشان داد که با توقف آبیاری برای 2 و 3 روز، تراکم در تعداد زیادتری از پروتئین‌ها با وزن مولکولی مختلف تغییر پیدا می‌کند به نحوی که شدت بیان پروتئین‌های با وزن مولکولی 32، 35، 43، 46، 13 و 14 کیلودالتون در مقایسه با بیان این پروتئین‌ها در گرھ شاهد کاهش نشان داد (شکل 2).

لارینزار و همکاران (2007) در یک مطالعه روی گرھ‌های حاصل از همزیستی *Medicago truncatula* و *Sinorhizobium meliloti* نشان دادند که میزان فعالیت ظاهری نیتروژناز تحت تنش خشکی به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا می‌کند که این کاهش با تغییرات در بیان برخی پروتئین‌های گرھ نظیر متیونین سنتاز، ساکاروز سنتاز، آسپاراژین سنتاز و لگ‌هموگلوبین در شرایط تنش خشکی همراه می‌باشد. این محققین پیشنهاد کردند که کاهش فعالیت نیتروژناز تحت تنش خشکی با کاهش فعالیت این پروتئین‌ها مرتبط می‌باشد. بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان پیشنهاد کرد که بازداشته شدن شدیدتر در میزان فرآیند تثبیت نیتروژن در گرھ‌های حاصل از مایه زنی گیاه نخود با سویه‌های CP-31 و CP-36 در مقایسه با سویه C-15 در طی 2 و 3 روز توقف آبیاری با کاهش در بیان برخی پروتئین‌ها در این سویه‌ها مرتبط می‌باشد. این پروتئین‌ها احتمالاً در مسیر متابولیسم کربن (مانند ساکاروز سنتاز)، متابولیسم نیتروژن (آسپاراژین سنتاز) و فراهم‌سازی اکسیژن برای گرھ (لگ‌هموگلوبین) نقش اساسی دارند.

تأثیر تنش خشکی روی فعالیت و آیزوزیم‌های

سوپراکسید دیسموتاز در گرھ‌های تحت تنش خشکی

تنش‌های محیطی مانند خشکی تولید مقادیر زیادی گونه‌های فعال اکسیژن را در سلول‌های گیاهی القاء می‌کند که به ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو منجر می‌گردد (اپل و هیرت 2004) و توسط تجمع پراکسیدهای لیپیدی، پروتئین‌های اکسید شده یا بازهای تغییر یافته DNA شناسایی می‌شوند. در چندین مطالعه بیان شده است که

کاهش میزان تثبیت نیتروژن در شرایط تنش خشکی به واسطه تنش اکسیداتیو می‌باشد (مارینو و همکاران 2006، بکانا و همکاران 2000). آسیب اکسیداتیو القاء شده توسط تنش خشکی، نتیجه به هم ریختن مکانیسم دفاع آنتی-اکسیدانت عمدتاً آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد طوری که کاهش فعالیت این آنزیم‌ها با آسیب به تمامیت ساختمانی غشاءها و تأثیر روی غلظت لگ‌هموگلوبین همراه می‌شود. بدین ترتیب در چندین مطالعه تنش اکسیداتیو به عنوان یکی از عوامل بازدارنده تثبیت زیستی نیتروژن در گره‌ها پیشنهاد شده است (مارینو و همکاران 2006 و 2007).

در این مطالعه فعالیت و الگوی بیان آیزوزیم-های آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) که نقش کلیدی در حفاظت از فرایند تثبیت نیتروژن در مقابل تنش اکسیداتیو بازی می‌کند (روبیو و همکاران 2002) مورد بررسی قرار گرفت (جدول 3). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم SOD در گره‌های حاصل از همزیستی رقم بیونج با سویه C-15 در طی 2 و 3 روز توقف آبیاری در مقایسه با میزان فعالیت آن در گره‌های شاهد به ترتیب 31 و 20 درصد افزایش نشان داد که این افزایش در سطح 5 درصد از نظر آماری معنی‌دار بود. با آبیاری مجدد گیاهان تحت 3 روز تنش خشکی، سطح افزایش یافته فعالیت این آنزیم به سطح فعالیت آن در گره شاهد برگشت پیدا کرد. در گیاه نخود مایه زنی شده با سویه CP-31، فعالیت آنزیم SOD گره بعد از 2 روز توقف آبیاری در مقایسه با شاهد 46 درصد افزایش نشان داد ولی با تشدید تنش خشکی (توقف آبیاری برای 3 روز) فعالیت SOD کاهش (تقریباً 22 درصد) نشان داد و با آبیاری مجدد گره‌های تحت تنش خشکی فعالیت SOD تا سطح فعالیت آن در گره شاهد افزایش پیدا کرد. فعالیت SOD در گره‌های تشکیل شده از همزیستی نخود با سویه CP-36 بعد از 2 و 3 روز تنش خشکی کاهش معنی‌دار را در مقایسه با فعالیت آن در گره شاهد نشان داد (به ترتیب 7 و 15 درصد) ولی بعد از

آبیاری مجدد گره‌های تحت تنش خشکی به سطح شاهد برگشت پیدا کرد. بر اساس این نتایج می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اگرچه کاهش در میزان فعالیت آنزیم SOD در همزیستی نخود با سویه‌های CP-31 و CP-36 و به دنبال آن تنش اکسیداتیو می‌تواند باعث کاهش میزان تثبیت نیتروژن در مراحل اولیه اعمال تنش خشکی شود ولی مشاهده شد که فعالیت آنزیم SOD در گره‌های آبیاری مجدد شده تا سطح شاهد افزایش پیدا کرد علی‌رغم این که، نتایج مربوط به اندازه‌گیری میزان تثبیت نیتروژن نشان داد که در این دو سیستم همزیستی کاهش میزان تثبیت نیتروژن در گره‌های تحت تنش خشکی با آبیاری مجدد شده جبران نشد و میزان تثبیت نیتروژن حتی بعد از برطرف کردن تنش همچنان در مقایسه با شاهد پایین‌تر بود (جدول 3). بدین ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که تنش اکسیداتیو تنها فاکتور دخیل در بازدارندگی سرعت تثبیت نیتروژن در مراحل اولیه تنش خشکی در سیستم‌های همزیستی مورد مطالعه نیست و عوامل متعددی در این بازدارندگی نقش دارند. آنزیم ساکاروز سنتاز یک آنزیم کلیدی دخیل در حفظ سرعت تثبیت نیتروژن است که توسط طیف گسترده‌ای از تنش‌ها مانند شوری، خشکی، نیترات و ریزش برگ تحت تأثیر قرار می‌گیرد (لارینزار و همکاران 2007). از طرف دیگر، با آشکار-سازی فعالیت SOD روی ژل الکتروفورز، سه آیزوزیم در همزیستی بین نخود با سه سویه مورد بررسی شناسایی شدند که تنش خشکی میزان بیان این آیزوزیم‌ها را تحت تأثیر قرار نداد (شکل 3).

بر اساس نتایج این مطالعه، پتانسیل عملکرد همزیستی به نوع سویه ریزوبیوم مایه‌زنی شده وابسته است و سیستم‌های همزیستی که دارای پتانسیل بالاتری برای تثبیت نیتروژن هستند ظرفیت بالاتری برای تحمل شرایط تنش نیز دارند. بدین ترتیب، سطح تحمل به تنش سیستم‌های همزیستی را می‌توان با انتخاب سویه‌های مناسب ریزوبیوم بالا برد.

جدول 1- تأثیر تنش خشکی روی میزان تثبیت نیتروژن (میکرومول نیتروژن تثبیت شده در ساعت در گیاه) در گره‌های حاصل از همزیستی نخود با سویه‌های ریزوبیوم C-15، CP-31 و CP-36.

تیمارها	سویه‌های <i>Mesorhizobium ciceri</i>		
	C-15	CP-31	CP-36
C2	1/34 ^a	0/58 ^{de}	0/54 ^e
D2	0/81 ^c	0/14 ^{hi}	0/207 ^{gh}
C3	1/37 ^a	0/63 ^{de}	0/55 ^e
D3	0/67 ^d	0/098 ⁱ	0/118 ^{hi}
CR	0/79 ^a	0/606 ^{de}	0/625 ^{de}
DR	0/85 ^b	0/276 ^{fg}	0/318 ^f

در هر ستون حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در سطح 5 درصد با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد. D2: توقف آبیاری برای 2 روز، C2: شاهد مربوط به تیمار D2، D3: توقف آبیاری برای 3 روز، C3: شاهد مربوط به تیمار D3، DR: آبیاری مجدد بعد از اعمال تنش خشکی برای 3 روز، CR: شاهد مربوط به تیمار DR.

جدول 2- تأثیر تنش خشکی روی وزن تر گره‌های حاصل از همزیستی نخود با سویه‌های ریزوبیوم C-15، CP-31 و CP-36.

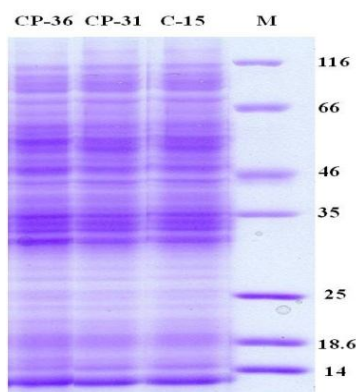
سویه ریزوبیوم	تیمار					
	C2	D2	C3	D3	CR	DR
C-15	0/687 ^g	0/577 ^h	0/70 ^{ef}	0/49 ⁱ	0/78 ^{bc}	0/76 ^{cd}
CP-31	0/93 ^a	0/69 ^g	0/93 ^a	0/56 ^h	0/80 ^b	0/78 ^{bc}
Cs P-36	0/77 ^c	0/44 ^j	0/76 ^{cd}	0/38 ^k	0/71 ^{de}	0/73 ^{ef}

در هر ستون حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در سطح 5 درصد با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد. D2: توقف آبیاری برای 2 روز، C2: شاهد مربوط به تیمار D2، D3: توقف آبیاری برای 3 روز، C3: شاهد مربوط به تیمار D3، DR: آبیاری مجدد بعد از اعمال تنش خشکی برای 3 روز، CR: شاهد مربوط به تیمار DR.

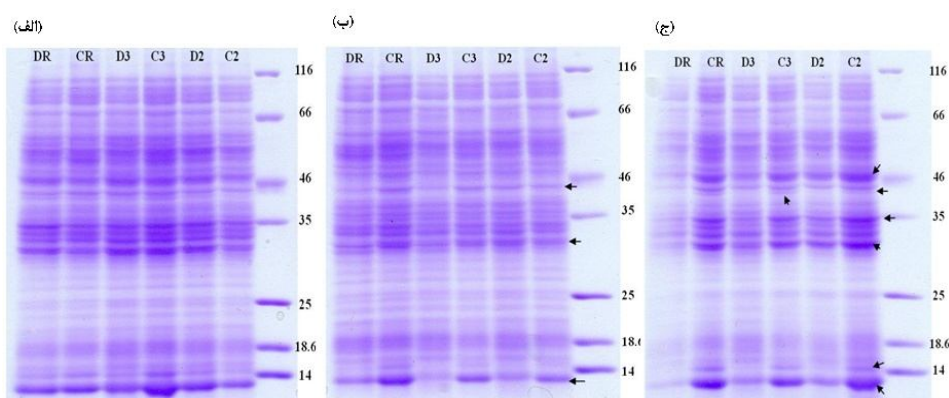
جدول 3- تأثیر تنش خشکی روی فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (واحد فعالیت آنزیم در هر گرم وزن تر گره) در گره‌های حاصل از همزیستی نخود (رقم بیونج) با سویه‌های C-15، CP-31 و CP-36.

سویه ریزوبیوم	تیمار					
	C2	D2	C3	D3	CR	DR
C-15	۴/۲۶ ^g	۵/۵۹ ^{de}	۴/۸ ^f	۵/۸ ^{cd}	۵/۲۵ ^e	۵/۴ ^{de}
CP-31	۴/۴۲ ^{fg}	۶/۴۷ ^b	۷/۰۲ ^a	۵/۴۳ ^{de}	۶/۹۲ ^a	۶/۴۷ ^b
CP-36	۴/۶۳ ^{fg}	۴/۳ ^g	۶/۳ ^b	۵/۳۷ ^e	۶/۱۵ ^{bc}	۶/۴۳ ^b

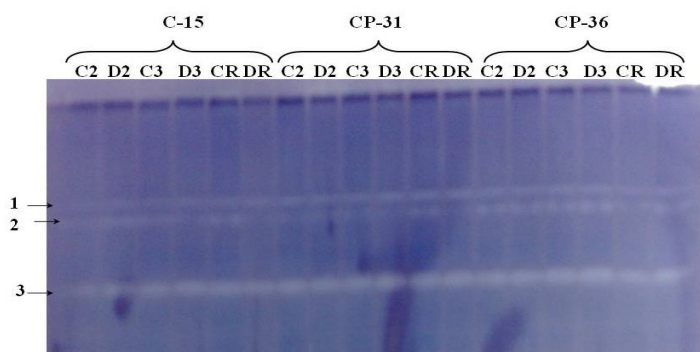
در هر ستون حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در سطح 5 درصد با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن می‌باشد. D2: توقف آبیاری برای 2 روز، C2: شاهد مربوط به تیمار D2، D3: توقف آبیاری برای 3 روز، C3: شاهد مربوط به تیمار D3، DR: آبیاری مجدد بعد از اعمال تنش خشکی برای 3 روز، CR: شاهد مربوط به تیمار DR.



شکل 1- بررسی الگوهای پروتئینی در گره‌های حاصل از مایه زنی نخود با سویه‌های *Mesorhizobium ciceri* (C-15، CP-31 و CP-36 در شرایط مطلوب رشد. M: مارکر



شکل 2- تأثیر تیمارهای مختلف تنش خشکی و آبیاری مجدد بعد از اعمال تنش خشکی بر باندهای الکتروفورزی پروتئین‌ها در گره‌های حاصل از مایه زنی نخود با سویه‌های *Mesorhizobium ciceri*: C-15 (الف)، CP-31 (ب) و CP-36 (ج). D2: توقف آبیاری برای 2 روز، C2: شاهد مربوط به تیمار D2، D3: توقف آبیاری برای 3 روز، C3: شاهد مربوط به تیمار D3، DR: آبیاری مجدد بعد از اعمال تنش خشکی برای 3 روز، CR: شاهد مربوط به تیمار DR



شکل 3- تأثیر تیمارهای مختلف تنش خشکی و آبیاری مجدد بعد از اعمال تنش خشکی بر آیزویم‌ها SOD در گره‌های حاصل از مایه زنی نخود با سویه‌های *Mesorhizobium ciceri*: C-15، CP-31 و CP-36. D2: توقف آبیاری برای 2 روز، C2: شاهد مربوط به تیمار D2، D3: توقف آبیاری برای 3 روز، C3: شاهد مربوط به تیمار D3، DR: آبیاری مجدد بعد از اعمال تنش خشکی برای 3 روز، CR: شاهد مربوط به تیمار DR. 1، 2 و 3 نشان دهنده آیزویم‌های مختلف آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد.

فهرست منابع:

1. صباغ‌پور، س. ح. صفی‌خانی، م. پزشکپور پ. جهانگیری، ع. سرپرست ر. کرمی، ا. پورسیاه بیدی، م. شهریار، د. محمودی، ف. کشاورز، ک. 1389. آزاد، رقم جدید نخود زراعی برای مناطق معتدل و نیمه گرمسیری در شرایط دیم. به-نژادی نهال و بذر. شماره 2، جلد 1-26، 393-395.
2. صباغ‌پور، س. ح. پزشکپور، پ. سرپرست، ر. سعید، آ. صفی‌خانی، م. جهانگیری، ع. کرمی، آ. پورسیاه بیدی، م. شهریار، د. محمودی، ف. کشاورز، ک. (1389) مطالعه پایداری عملکرد دانه در ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) در کشت پاییزه در شرایط دیم. مجله به‌نژادی نهال و بذر. شماره 2، جلد 1-26، 173-191.
3. عابدینی، ر. شهبازی، م. پیشکام‌راد، ر. ابراهیمی، آ. 1391. بررسی بیان خانواده ژنی دهیدرین‌ها در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل جو وحشی و زراعی در شرایط تنش خشکی. زیست گیاهی. 11: 39-46.
4. Ahmed, M.M. 2007. Nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) at various phosphorus supply levels. Goettingen, Georg-August-University Goettingen, PhD thesis
5. Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
6. Arrese-Igor C., E.M. Gonzalez, A.J. Gordon, F.R. Minchin, L. Galvez, M. Royuela, P.M. Cabrerizo, and P.M. Aparicio-Tejo. 1999. Sucrose synthase and nodule nitrogen fixation under drought and other environmental stresses. *Symbiosis.* 27: 189-212
7. Arrese-Igor, C., E.M. Gonzalez, D. Marino, R. Ladrera, E. Larrainzar, and E. Gil-Quintana. 2011. Physiological Responses of legume nodules to drought. *Plant Stress.* 5(1): 24-31
8. Becana, M., Dalton, D. A., Moran, J. F., Iturbe-Ormaetxe, I., Matamoros, M. A. and Rubio, M. C. 2000. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. *Physiol. Plant.* 109: 372-381
9. Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilising the principal of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254
10. Chaves, M.M. and Oliveira, M.M. 2004, Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J. Exp. Bot.* 55: 2365-2384
11. Djekoun, A., and C. Planchon. 1991. Water status effect on dinitrogen fixation and photosynthesis in soybean. *Agro. J.* 83:316-22.
12. Drevon, J.J., C. Abdelly, N. Amarger, M.E. Aouani, J. Aurag, H. Gherbi, M. Jebara, C. Lluch, H. Payre, Schump, O. Soussi, M. Sifi, and M. Trabelsi. 2001. An interdisciplinary research strategy to improve symbiotic nitrogen fixation and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in salinised areas of the Mediterranean basin. *J. Biotechnol.* 91:257-268
13. Echevarria-Zomeno, S., D. Ariza, I. Jorge, C. Lenz, A. Del Campo, J.V. Jorin, and R.M. Navarro. 2009. Changes in the protein profile of *Quercus ilex* leaves in response to drought stress and recovery. *J. Plant Physiol.* 166: 233-245.
14. Esfahani MN, Mostajeran A. 2011. Rhizobial strain involvement in symbiosis efficiency of chickpea-rhizobia under drought stress: plant growth, nitrogen fixation and antioxidant enzyme activities. *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 1075-1083
15. Jiang Y., and Huang, B. 2002. Protein alternations in tall fescue in response to drought stress and abscisic acid. *Crop Sci.* 42: 202-207
16. Gonzalez, E. M., Gordon, A. J., James, C. L. and Arrese-Igor, C. 1995. The role of sucrose synthase in the response of soybean nodules to drought. *J. Exp. Bot.* 46: 1515-1523

17. Grahamm, P.H., and C.P.Vance. 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131:872–877
18. Hajheidari, M., M. Abdollahian-Noghabi, H. Askari, M. Heidari, S.Y. Sadeghian, E.S. Ober, and G. Hosseini Salekdeh. 2005. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics* 5: 950-960
19. Hunt, S. and D. B. Layzell. 1993. Gas exchange of legume nodules and the regulation of nitrogenase activity. *Annu Rev Plant Physiol. Plant Mo1. Biol.* 44: 483-511
20. Jamet, A., S. Sigaud, G. van de Syde, A. Puppo, and D. Herouart. 2003. Expression of the bacterial catalase genes during *Sinorhizobium meliloti-Medicago sativa* symbiosis and their crucial role during the infection process. *Mol. Plant Microbe Interact.* 16: 217–225
21. Kanlaya, K.N., D. Sakda, W. Chaisiri, B. Sumontip, K. Manit, and T. Piyada. 2005. Protein profiles in response to salt stress in leaf sheaths of rice seedlings. *Science Asia* 31: 403-408.
22. King, C.A., and L.C. Purcell. 2005. Inhibition of N₂ fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. *Plant Physiol.* 137: 1389–1396
23. Kottapulli, K.R., R. Rakwal, J. Shibato, G. Burow, D. Tissue, J. Burke, N. Puppala and M. Payton. 2009. Physiology and proteomics of the water-deficit stress response in three contrasting peanut genotypes. *Plant Cell and Environmental*, 32: 380-407
24. Larrainzar, E., S. Wienkoop, R. Ladrera, W. Weckwerth, C. Arrese-Igor, and E.M. Gonzalez. 2007. *Medicago truncatula* root nodule proteome analysis reveals differential plant and bacteroid responses to drought stress. *Plant Physiol.* 144: 1495–1507
25. Marino, D., P. Frendo, R. Ladrera, A. Zabalza, A. Puppo, C. Arrese-Igor, and E.M. González. 2007. Nitrogen fixation control under drought stress. Localized or systemic? *Plant Physiol.* 143: 1968-1974
26. Marino D., E.M. Gonzalez, P. Frendo, A. Puppo, and C. Arrese-Igor. 2007. NADPH recycling systems in oxidative stressed pea nodules: key role for the NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase. *Planta.* 225: 413-421.
27. Martinez, C.A., M.E. Loureiro, M.A. Olive, and M. Maestri. 2001. Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant *Solanum curtilobum* and freezing sensitive *Solanum tuberosum* subjected to oxidative and water stress. *Plant Sci.* 160: 505-515.
28. Matamoros, M.A., L.M. Baird, P.R. Escuredo, D.A. Dalton, F.R. Minchin, I. Iturbe-Ormaetxe, M.C. Rubio, J.F. Moran, A.J. Gordon, and M. Becana. 1999. Stress-induced legume root nodule senescence. Physiological, biochemical, and structural alterations. *Plant Physiol.* 121: 97–111
29. Matamoros, M.A., D.A. Dalton, J. Ramos, M.R. Clemente, M.V.C. Rubio, and M. Becana. 2003. Biochemistry and molecular biology of antioxidant in the rhizobia-legume symbiosis. *Plant Physiol.* 133: 499-509
30. Mhadhbi, H., M. Jebara, F. Limam, and M.E. Aouani. 2004. Rhizobial strain involvement in plant growth, nodule protein composition and antioxidant enzyme activities of chickpea–rhizobia symbioses: modulation by salt stress. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 717–722
31. Mhadhbi, H., M. Jebara, A. Zitoun, F. Limam, and M.E. Aouani. 2008. Symbiotic effectiveness and response to mannitol mediated osmotic stress of various chickpea–rhizobia associations. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 1027–1035
32. Mnasri B., E. Aouani and R. Mhamdi. 2007. Nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under water deficiency. *Soil Biol. Biochem.* 39: 1744–1750
33. Riccardi, F., P. Gazeau, D. De Vienne, and M. Zivy. 1998. Protein changes in response to progressive water deficit in maize. *Plant Physiol.* 117: 1253-1263
34. Romdhame, S. B., Tajini, F., Trabelsi, M., Aouani, M. E. and Mhamdi, R. 2007. Competition for nodule formation between introduced strains of *Mesorhizobium ciceri* and

- the native populations of rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) in Tunisia. World J. Microbiol. Biotechnol. 23: 1195-1201
35. Rubio, M. C., Gonzalez, E. M., Minchin, F. R., Webb, K. J., Arrese-Igor, C., Ramos, J. and Becana, M. 2002. Effects of water stress on antioxidant enzymes of leaves and nodules of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutases. Physiol. Plant. 115: 531-540
 36. Sabaghpour, S.H., R.S. Malhotra, and T. Banai. 2005. Registration of 'Hashem' Kabuli Chickpea. Crop Sci. 45: 2651
 37. Sabaghpour, S.H., Mahmodi A.A., Saeed A., Kamel M., Malhotra R.S. (2006) Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. *Indian J. Crop Sci.* 1(1-2): 70-73.
 38. Santos R., Herouart D., Puppo A. and Touati D. 2000. Critical protective role of bacterial superoxide dismutase in Rhizobium-legume symbiosis. Mol Microbiol 38:750-759
 39. Schulze, J. 2004. How are nitrogen fixation rates regulated in legumes? J. Plant Nutr. Soil Sci. 167: 125-137
 40. Schulze, J., G. Temple, S.J. Temple, H. Beschow, and C.P. Vance. 2006. Nitrogen fixation by white lupin under phosphorus deficiency. Ann. Bot. 98: 731-740
 41. Serraj, R., and T.R. Sinclair. 1996. Processes contributing to N₂-fixation insensitivity to drought in the soybean cultivar Jackson. Crop Sci. 36: 961-968
 42. Serraj, R., T.R. Sinclair, and L.C. Purcell. 1999. Symbiotic N₂ fixation response to drought. J. Exp. Bot. 50: 143-155
 43. Soussi, M., C. Lluch, and A. Ocana. 1999. Comparative study of nitrogen fixation and carbon metabolism in two chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars under salt stress. J. Exp. Bot. 50: 1701-1708
 44. Tejera, N.A., R. Campos, J. Sanjuan, and C. Lluch. 2004. Nitrogenase and antioxidant enzyme activities in *Phaseolus vulgaris* nodules formed by *Rhizobium tropici* isogenic strains with varying tolerance to salt stress. J. Plant physiol. 161: 329-338
 45. Vadez, V., T.R. Sinclair, and R. Serraj. 2000. Asparagine and ureide accumulation in nodules and shoots as feedback inhibitors of N₂ fixation in soybean. Physiol. Plant. 110: 215-223
 46. Yu, Q. and Z. Rengel. 1999. Micronutrient deficiency influences plant growth and activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupins. Ann. Bot. 83: 175-182
 47. Xiong, J., B. Fu, H. Xu, and Y. Li. 2010. Proteomic analysis of PEG-simulated drought stress responsive proteins of rice leaves using a pyramiding rice line at the seedling stage. Botanical Studies, 51: 137-145
 48. Zali, H., Farahadfar E. and Sabaghpour S. H. 2011. Non-parametric analysis of phenotypic stability in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes in Iran. Crop Breeding Journal. 1(1): 89-101

بررسی پتانسیل کاربرد نانو ذره نانوپروسیل-1 (lus-1) به عنوان حامل باکتری حل کننده فسفات در فرایند تولید زادمایه نانوبیولوژیک

شایان شریعتی، حسینعلی علیخانی¹ و احمدعلی پوربابائی

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه تهران؛ shayan_shariati@ut.ac.ir

دانشیار دانشگاه تهران؛ halikhan@ut.ac.ir

استادیار دانشگاه تهران؛ pourbabaei@ut.ac.ir

دریافت: 91/11/23 و پذیرش 92/10/24

چکیده

هدف پژوهش حاضر بررسی توانایی ماندگاری باکتری *سودوموناس فلورسنس* به عنوان یکی از باکتری‌های حل کننده فسفات بر روی نانوپروسیل-1 (lus-1، نانوذرات سیلیسی) به عنوان حامل باکتری در تولید زادمایه نانوبیولوژیک بود. تیمارهای حامل مورد بررسی شامل: نانوپروسیل-1، ورمی کمپوست، بنتونیت، خاک فسفات، و فرمولاسیون‌های متفاوت از این مواد بود. بعد از تلقیح مواد حامل با باکتری *سودوموناس فلورسنس* زادمایه‌ها ابتدا به مدت 15 روز در انکوباسیون (دمای 28 درجه سانتیگراد) و سپس در دمای 4 درجه سانتیگراد به مدت 180 روز نگهداری شدند. جمعیت باکتری‌ها به روش کشت مستقیم در پلیت بر حسب CFU g^{-1} در زمان‌های 0، 15، 30، 60، 90، 120، 150 و 180 روز شمارش شد. نتایج پس از 15 روز انکوباسیون نشان دهنده کاهش تعداد باکتری به جزء تیمار حامل ورمی کمپوست بود. به طوری که کمترین جمعیت را تیمار نانوپروسیل-1 به تنهایی و تیمار ترکیبی (نانوپروسیل-1+ بنتونیت+ خاک فسفات) با جمعیت صفر و بیشترین جمعیت را تیمار ورمی کمپوست با جمعیت $7/77 \times 10^7$ دارا بودند. در پایان دوره نگهداری، جمعیت تیمارهای ترکیبی حاوی نانوذره lus-1 (نانوپروسیل-1+ ورمی کمپوست+ بنتونیت و نانوپروسیل-1+ ورمی کمپوست+ بنتونیت+ خاک فسفات) نسبت به ورمی کمپوست با جمعیت $(2/42 \times 10^7)$ نسبتاً فزونی یافته و به ترتیب با $6/45 \times 10^7$ و $4/19 \times 10^7$ بیشترین جمعیت را دارا بودند. نتایج این پژوهش نشان داد، استفاده از نانوپروسیل-1 به تنهایی احتمالاً بدلیل pH و قابلیت هدایت الکتریکی بالا و موارد ناشناخته دیگر برای کاربرد به عنوان حامل باکتری مناسب نیست. ولی استفاده از این حامل به صورت مخلوط با حامل‌های دیگر به دلیل اثر تعدیل کنندگی سایر مواد، به عنوان حامل باکتری می‌تواند پیشرفتی نو در تولید زادمایه‌های نانو بیولوژیک باشد.

واژه های کلیدی: بنتونیت، خاک فسفات، *سودوموناس فلورسنس*، نانوذره، ورمی کمپوست

مقدمه

کشاورزی، محیط زیست، صنعت و بهداشت شده است (لیو و همکاران، 2006). با توجه به گسترش روزافزون نیازهای جهانی به مواد غذایی و محدودیت‌های

مصرف زیاد کودهای شیمیایی بویژه کودهای نیتروژنه و فسفات، در سال‌های اخیر منابع آبی جهان را تحت تأثیر قرار داده و موجب بروز مشکلاتی در بخش

¹ نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران-دانشکده فناوری کشاورزی، گروه مهندسی علوم

بهره‌برداری از اراضی، به ناچار افزایش تولید در واحد سطح امری اجتناب ناپذیر خواهد بود. در این راه استفاده بیشتر از کودهای شیمیایی، از جمله ابزارهای دستیابی در این افزایش تولید است (علی میرزا و همکاران، 1386). مینارد و همکاران (2005) بیان کردند تا سال 2020 هنوز بیش از 70 درصد عملکرد محصولات در سراسر دنیا وابسته به مصرف کودهای شیمیایی خواهد بود. مصرف بهینه کودهای شیمیایی از جمله عوامل موفقیت برنامه‌های تولید محصول از لحاظ کمی و کیفی می‌باشد. با توجه به موارد ذکر شده، آشکار است که تنها راه کاهش عواقب زیست محیطی ناشی از مصرف این کودها، افزایش راندمان مصرف آنها می‌باشد. در این راستا، استفاده از نانوکودها می‌تواند یکی از ساده‌ترین شیوه‌ها به منظور کاهش هدر رفت عناصر غذایی و افزایش کارایی مصرف کودهای شیمیایی باشد (هابکینز و الزورت، 2005). در حقیقت با بهره‌گیری از فن آوری نانو در طراحی و ساخت نانوکودها، فرصت‌های جدیدی به منظور افزایش راندمان مصرف عناصر غذایی و به حداقل رساندن هزینه‌های حفاظت از محیط زیست ایجاد شده است (لیو و همکاران، 2006). بطور کلی مزایای استفاده از نانوکودهای شیمیایی در مقایسه با کودهای مرسوم عبارتند از: (1) افزایش راندمان به واسطه عدم اتلاف کودها توسط آبشویی و جذب کامل کود توسط گیاه به دلیل سرعت مطلوب رهاسازی عناصر غذایی کود (2) کاهش قابل توجه آلودگی خاک، ذخایر آبی و محصولات غذایی (3) افزایش عملکرد محصول به واسطه وضعیت تغذیه‌ای مطلوب گیاه (کیو و همکاران، 2006). این کودها عناصر غذایی و مواد در بردارنده خود را بصورت آهسته و پیوسته رها می‌کنند و لذا بکارگیری آنها در مقایسه با کودهای شیمیایی مرسوم که احتیاج به کاربرد چندباره در طول یک فصل رشد دارند، باعث صرفه جویی در هزینه‌های ناشی از کاربرد و پخش کود در سطح مزرعه می‌شود (شایو و همکاران، 2005). در تحقیقی که دی رزا و همکاران (2010) انجام دادند نشان داد، که نانوذرات سیلیکاتی جذب شده توسط ریشه گیاه، لایه‌ای را در دیواره‌های سلولی تشکیل می‌دهند که می‌تواند باعث افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های محیطی شده و در نتیجه عملکرد محصول را بهبود بخشد. در خصوص تأثیر نانو ذرات بر روی بقاء و رشد باکتری‌ها، بررسی‌هایی که جی و همکاران (2011) انجام دادند نشان داد که نانو ذرات روی و تیتانیوم باعث کاهش جمعیت باکتری‌ها می‌شود و اثر نانو ذرات روی بر این کاهش جمعیت از نانوذرات تیتانیوم بیشتر است. همچنین تحقیقات لی یونگ و همکاران (2009) نشان داد که استفاده از نانوذرات نقره

باعث کاهش جمعیت باکتری‌های *اشرشیا کولای* و *اوترادیس* در حدود صفر شد. موراتا و همکاران (2005) بیان کردند که نانو ذره نقره با تأثیر بر روی فعالیت آنزیم دهیدروژناز مانع رشد باکتری می‌شود. ناوارو و همکاران (2008) بیان کردند نانو ذره C_{60} از طریق جذب ویتامین‌ها و مواد مغذی معدنی موجود در خاک رشد باکتری را محدود می‌کند. سائز و همکاران (2005) بیان کردند نانو ذره C_{60} باعث اختلال در لیپیدهای غشایی و DNA می‌شود. در مقابل تونگ و همکاران (2007) بیان نمودند که نانوذره C_{60} Fullerenes تأثیری روی رشد باکتری‌ها ندارد. مطالعات کمی بر روی فعالیت‌های آنتی باکتریایی SiO_2 انجام شده است. لی یانگ و همکاران (2004) نشان دادند که نانو ذرات SiO_2 اثری در رشد باکتری‌ها ندارد ولی بررسی که لائورا و همکاران (2006) بر روی تأثیر نانو ذرات SiO_2 , TiO_2 و ZnO_2 بر روی باکتری‌های *E.coli* و *B.subtilis* انجام دادند نشان داد که نانو ذره TiO_2 بیشترین سمیت و نانو ذره SiO_2 کمترین سمیت را داشتند. البته سمیت نانوذره SiO_2 در غلظت‌های خیلی بالا در حد 5000 میلی‌گرم در لیتر رخ داد و اثر این سمیت بر روی باکتری گرم مثبت *B.subtilis* بیشتر بود. طی بررسی که هولاندا و همکاران (2011) انجام دادند مشاهده شده که نانوذره سیلیکاته SBA-15, SBA-16, SBA-15/p تأثیری منفی بر روی رشد باکتری *Neisseria meningitides* نداشت. طبق بررسی به عمل آمده تاکنون مطالب زیادی به عنوان نقش نانوذرات به عنوان حامل و نگهدارنده باکتری‌ها به چاپ رسیده است. بنابراین با توجه به گستردگی، سودمندی و پتانسیل بالای نانو مواد در بخش‌های مختلف و سمیت کم نانو ذرات سیلیسی بر روی باکتری‌ها، هدف از این پژوهش بررسی پتانسیل نانوذره نانوپروسیل-1 (lus-1) به طور مجزا و ترکیب با سایر مواد (ورمی کمپوست، خاک فسفات و بنتونیت) به عنوان حامل باکتری بود. نانوپروسیل-1 نوعی سیلیکات با آرایش هگزاگونال یک بعدی است که در آن استحکام بالاتری نسبت به سایر مزوپورهای سیلیکاتی مشاهده می‌شود.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد حامل

در این آزمایش از چهار ماده شامل: نانوپروسیل-1، ورمی کمپوست، خاک فسفات، بنتونیت و ترکیبی از آنها مطابق جدول 1 به عنوان حامل استفاده گردید. نانو ذره سیلیکاته متخلخل (lus-1) از گروه شیمی معدنی دانشگاه تهران تهیه گردید، که به صورت اختراع در سال 2001 در دانشگاه تهران و دانشگاه لاوال کانادا

ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای 28 درجه سانتیگراد و چرخش 100 دور در دقیقه گرماگذاری شد. با توجه به منحنی رشد باکتری، پس از رشد کافی و رسیدن به مرحله رشد ثابت (حدود 48 ساعت) به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Unico 1100 در طول موج 600 نانومتر میزان OD قرائت گردید و با استفاده از روش کدورت سنجی (Turbidimetry) و جدول استانداردهای مک فارلند (Mc Farland) جمعیت سوسپانسیون، 10^9 باکتری به ازای هر میلی‌لیتر تخمین زده شد (سوماسگاران و هوبن، 1994). سوسپانسیون کشت تازه باکتری با توجه به رطوبت FC مواد حامل (جدول شماره 1)، به هر بسته (50 گرمی) اضافه گردید و درب آنها دوخته شد. دلیل استفاده از رطوبت FC به لحاظ رطوبت مناسب، طبق بررسی‌های گریفیت و راگلی (1992) و نیز مشاهدی و همکاران (1383) بود که رطوبت مناسب برای نگهداری باکتری را 30- کیلوپاسکال بیان کردند. سپس برای توزیع یکنواخت باکتری بر روی مواد حامل هر بسته به خوبی بهم زده شد. آنگاه بسته‌های مواد حامل به منظور رشد باکتری‌ها به مدت 15 روز در انکوباتور و دمای 28 درجه نگهداری شدند، سپس تا پایان 180 روز در یخچال در دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری شدند (مشهدی و همکاران، 1383).

بررسی جمعیت باکتری در تیمارهای حامل

شمارش باکتری به روش $CFU g^{-1}$ در زمان‌های 0، 15، 30، 45، 60، 90، 120، 150 و 180 روز با سه تکرار انجام گرفت، بدین صورت که یک گرم از حامل-های داخل بسته‌ها در شرایط استریل برداشته شد و سری-های رقت تهیه گردید. سپس سوسپانسیون‌های حاصل روی محیط نوترینت آگار کشت شدند و بعد از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 28 درجه سانتیگراد پلیت-هایی که حاوی حدود 300-3 کلنی بودند شمارش شده و با مقایسه با پلیت شاهد منفی (بدون کشت) و پلیت شاهد مثبت (کشت خالص باکتری سودوموناس فلورسنس)، جمعیت باکتری در هر تیمار تعیین گردید (کالجیت و همکاران، 2011). آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با 3 تکرار اجرا گردید. نتایج حاصل از شمارش باکتری با نرم افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین تیمارها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد محاسبه شدند.

نتایج و بحث

هدف این تحقیق بررسی پتانسیل ماندگاری باکتری بر روی نانوذره سیلیسی نانوپروسیل-1 و تیمار

ثبت شده است (بنویت 2001). که فرم هیدروفیل آن مورد استفاده قرار گرفت. ورمی‌کمپوست از مزرعه تحقیقاتی پردیس و کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، خاک فسفات پودری از موسسه تحقیقات خاک و آب کرج و بنتونیت سدیمی نیز از شرکت آذرخش تهیه گردید.

اندازه‌گیری خصوصیات مواد حامل

مواد مذکور ابتدا پودر و از الک 60 مش عبور داده شدند و سپس در آون خشک گردیدند. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی این مواد مانند رطوبت EC، pH، FC، سدیم و پتاسیم محلول (اسپارکس، 1996)، فسفر قابل جذب به روش اولسن (کارتر و گرگوریچ، 2008)، ماده آلی به روش والکی و بلک (کارتر و گرگوریچ، 2008)، عناصر مس، آهن، روی و منگنز قابل جذب بوسیله دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu AA670 اندازه‌گیری شد (لینزی و نورول، 1987).

اندازه‌گیری سطح ویژه¹ (BET) و تخلخل مواد حامل

اندازه‌گیری سطح ویژه و تخلخل نانوپروسیل-1 ورمی-کمپوست، خاک فسفات و بنتونیت بوسیله دستگاه BEL sorp-mini در پژوهشگاه مواد و انرژی کرج اندازه‌گیری شد و سطح ویژه تیمارهای متفاوت این مواد نیز بطور تخمینی محاسبه گردید (پنل، 2002).

آماده‌سازی حامل‌ها و تکثیر باکتری

برای استریل کردن حامل‌ها مقدار 50 گرم از نانوپروسیل-1، بنتونیت و خاک فسفات خشک شده سپس به مدت نیم ساعت در اتوکلاو در دمای 121 درجه سانتیگراد و فشار 1/34 اتمسفر نگهداری شدند (پزنتی و همکاران، 1991). به منظور خشک کردن، مواد مذکور به مدت 3 ساعت در دمای 70 درجه سانتیگراد در داخل آون (از قبل استریل شده با دمای 200 درجه سانتیگراد) قرار داده شدند. همچنین سترون سازی ورمی‌کمپوست نیز به روش استریل کردن با بخار (steam sterilization) و به مدت یک ساعت (طی دو نوبت) انجام گردید (استریدوم و رزنبرگ، 1981). سپس در شرایط استریل، ترکیب‌های متفاوتی از این مواد مطابق جدول یک تهیه گردید. در مرحله بعد حامل‌ها به کیسه‌های پلی اتیلنی استریل شده اضافه گردید و درب آنها دوخته شد.

برای تهیه سوسپانسیون باکتری سودوموناس فلورسنس، ابتدا یک لیتر از کشت 16 ساعته از این باکتری در محیط کشت نوترینت براث (NA) تهیه گردید و سپس به میزان 5 درصد به محیط تازه نوترینت براث به منظور بدست آوردن جمعیت کافی تلقیح شد و به مدت 48

¹ Brunauer-Emmert-Teller

ترکیبی حاوی نانوذره مذکور در راستای تولید زادمایه نانو بیولوژیک بود و اینکه آیا این ماده با توجه به خصوصیتی که دارد به تهایی و یا به صورت ترکیب با سایر مواد، توان نگهداری باکتری را دارد، بررسی شد. همانطور که در جدول شماره دو ملاحظه می شود، خصوصیات متفاوت مواد حامل از لحاظ درصد کربن آلی، رطوبت FC و فسفر قابل جذب، باعث شد که فرمولاسیون متفاوتی از این مواد نیز به عنوان یک تیمار حامل مورد استفاده قرار گیرد.

جدول 5 نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف زمان و ماده حامل بر جمعیت باکتری ها در 7 حامل را نشان می دهد. اثر اصلی و اثر متقابل تیمارها بر جمعیت باکتری در سطح 1 درصد معنی دار تشخیص داده شد.

همانطور که در شکل 1- الف و 1- ب ملاحظه می شود بعد از 15 روز انکوباسیون جمعیت باکتری ها در حامل های شماره 1 و 5 به ترتیب نانوپروسیل-1، تیمار مخلوط (نانوپروسیل-1+ بتونیت+ خاک فسفات) به شدت کاهش یافته و رشد باکتری بر روی پلیت ها مشاهده نشد. این امر در حالی است که با توجه به شکل های 1- پ و 1- ت جمعیت باکتری ها در تیمارهای مخلوط 6 و 7 به ترتیب (نانوپروسیل-1+ بتونیت+ خاک فسفات+ ورمی کمپوست) و (نانوپروسیل-1+ بتونیت+ ورمی کمپوست) بیشتر از 10^7 باکتری به ازای هر گرم ماده حامل بود. دلیل افت شدید جمعیت در حامل های شماره 1 و 5 ممکن است به دلیل pH و EC بالا این نانوذره و فقدان ماده غذایی کافی در شرایط نگهداری باشد. دلیل دیگر کاهش جمعیت را شاید بتوان به دلیل هتروتروف بودن باکتری سودوموناس فلورسنس و کمبود مواد آلی در این مواد دانست، زیرا هنگامی که باکتری ها در شرایط رشد (15 روز انکوباسیون) قرار بگیرند در فاز رشد لگاریتمی افزایش نسبی یافته و البته احتمالاً پس از اتمام مواد غذایی (ماده آلی)، دچار کمبود شده و این امر باعث کاهش جمعیت باکتری شده است، و همچنین فرایند خشک شدن (desiccation) و تولید مواد سمی در این دما نیز می توانند از دلایل این کاهش باشند (سیگدم و مری، 2005). دیرمون و همکاران (1962) بیان کردند دمای 28 درجه سانتیگراد اگرچه باعث رشد و افزایش جمعیت باکتری ها می شود، ولی باعث تولید مواد زائد شده که این مواد زائد علاوه بر سمی بودن برای باکتری سبب تغییر pH شده و منجر به مرگ باکتری می شود. از سوی دیگر دلیل انتخاب دوره انکوباسیون طبق بررسی هایی بود که کالجیت و همکاران (2011) انجام دادند که در آن تعداد

باکتری در حامل پیت که یک حامل با ظرفیت نگهداری رطوبت مناسب و ماده آلی فراوان است، در دمای 28 درجه سانتیگراد بیشتر از 4 درجه سانتیگراد بود، همچنین مندز و ویدیرا (2005) بیان می کنند، 41 روز نگهداری باکتری ها در دمای 28 درجه سانتیگراد موجب افزایش تعداد سلول های زنده باکتری در همه حامل ها شده و به حدود 10^9 باکتری به ازای هر گرم از حامل رسید. در پایان 6 ماه نگهداری، حامل های شماره 7، 6 و 2 به ترتیب با لگاریتم جمعیت 7/809، 7/622 و 7/383 و حامل های شماره 4 و 3 به ترتیب با لگاریتم جمعیت 5/92 و 5/739 بیشترین و کمترین جمعیت را دارا بودند. همان طور که در شکل شماره 2 دیده می شود مقایسه میانگین بین حامل ها در سطح 5 درصد معنی دار شد و نشان داد که حامل های شماره 7 (نانوپروسیل-1+ ورمی کمپوست+ بتونیت) بهترین و حامل های شماره 1 و 5 ضعیف ترین بوده اند. همچنین تفاوت معنی داری بین حامل های شماره 6 (نانوپروسیل-1+ ورمی کمپوست+ بتونیت+ خاک فسفات) و حامل شماره 2 (ورمی کمپوست) مشاهده نشد. بررسی که برار و همکاران (2010) انجام دادند مشخص نمود که به دلیل جذب سطحی نانو ذرات بوسیله ماده آلی تحرک نانوذرات نانوپروسیل کاهش یافته و بنابراین تأثیر آنها روی فعالیت های میکروبی کاهش چشمگیری داشت. دمیزی و همکاران (2010) بیان کردند برهم کنش بین مواد نانو و مواد آلی می تواند تأثیر قابل توجهی روی هدر رفت، انتقال و درستی زیستی مواد نانو بگذارد. کیو و همکاران (2010) بیان کردند که هیومیک اسید روی سرعت تجمع C_{60} تأثیر می گذارد. شبه و همکاران (2010) نیز بیان کردند که غلظت بالای 30 میلی گرم در لیتر هیومیک اسید در محیط مایع می تواند باعث تجمع نانوذرات TiO_2 و ZnO شود و در واقع با استفاده از هیومیک اسید می توان سمیت این مواد را کاهش داد. همچنین طبق بررسی که لی و همکاران (2011) انجام دادند دریافتند نوع محیط کشت تأثیر بسیار زیادی بر روی اثر سمیت نانوذره روی باکتری دارد بطوری که وقتی از محیط های ایزوتون و یا همراه با مواد ترکیبی مناسب استفاده شود اثر سمیت نانوذره کاهش می یابد. لی دلیل این کاهش جمعیت را کم شدن ترکیبات Zn^{2+} که برای باکتری سمی است، در محیط های ایزوتون و مغذی می داند. بنابراین می توان به این گفته مهم اشاره شود که ترکیب نانو ذره نانوپروسیل-1 و ورمی کمپوست اثر نامطلوب ناشی از غلظت نانو ذره را کاهش می دهد.

کمپوست پائین بوده و با موارد قابل انتظار مطابقت ندارد. دلیل این امر را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که در تحقیقات خاکشناسی برای اندازه‌گیری تخلخل از نمونه دست نخورده و به روش غیر مستقیم استفاده می‌شود، در حالی که در مورد مواد حامل امکان استفاده از این روش وجود ندارد و اندازه‌گیری به روش دستگاهی صورت می‌گیرد. مراحل آماده سازی مواد حامل مانند کوبیدن و عبور دادن از الک (60 مش) موجب تغییر و تخریب ساختمان این مواد شده و همچنین هنگام اندازه‌گیری تخلخل بوسیله دستگاه BEL sorp-mini مواد مذکور با درجات متفاوت فشرده می‌شوند و از آنجائی که تخلخل جزء خصوصیات پویا (دینامیک) است لذا این تغییر در ساختمان و اندازه ذرات نتایج مطلوبی را در نتایج آنالیز فراهم نمی‌کند. بنابراین توصیه مطالعه حاضر بر این است که در تحقیقات بعدی از روش‌های هزینه بر ذکر شده استفاده نشده و یا راه‌کارهای دیگری برای آنالیز ارائه گردد.

نتیجه‌گیری

نتیجه این مطالعه نشان داد استفاده از این فرم نانو ذره نانوپروسیل-1 (lus-1) به تنهایی به عنوان حامل در تولید زادمایه نانوبیولوژیک مناسب نبوده ولی در ترکیب با سایر مواد ترکیبی (ورمی‌کمپوست) نتایج مطلوبی را داشته و توانست جمعیت باکتری را در حد استانداردهای جهانی نگه دارد. با توجه به نتایج بدست آمده توصیه می‌شود در مطالعات بعدی از مقادیر مختلفی از این ماده در ترکیب با مواد دیگر (ورمی‌کمپوست) در تولید ماده حامل استفاده شده و بهترین فرمولاسیون ماده حامل تعیین گردد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که در تولید زادمایه‌های نانو بیولوژیک رعایت نکاتی از جمله: نوع و فرمولاسیون ماده حامل، ماده آلی، تخلخل داخلی، دما و رطوبت حائز اهمیت فراوان است. استفاده از حامل‌های دارای ماده آلی فراوان مانند ورمی‌کمپوست به میزان مناسب می‌تواند بقای باکتری‌ها را افزایش داده و به بهبود کارایی زادمایه نانو بیولوژیک کمک کند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر بشارتی ریاست محترم موسسه خاک و آب که در فراهم نمودن امکانات لازم جهت پیشبرد امور نهایت همکاری را مبذول فرمودند سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از آقای دکتر علیرضا بدیعی به جهت همکاری در تهیه نانوذره نانوپروسیل-1 قدردانی می‌گردد.

این نتایج با سایر مطالعات نیز مطابقت دارد، بتونیت علاوه بر ماده آلی کم بعد از جذب آب، حالت چسبنده و خمیری پیدا کرده و شرایط تهویه‌ای نامناسبی برای باکتری‌های هوازی سودوموناس فلورسنس ایجاد می‌کند (بشارتی و همکاران، 1383؛ خاوازی و همکاران، 1379) خاک فسفات نیز به دلیل فقدان مواد آلی، عناصر غذایی و ظرفیت نگهداری رطوبت بسیار پائین در ابتدا هم مقدار کمتری باکتری دریافت کرد و نتوانست حامل مناسبی باشد و ضعیف‌ترین حامل بود. وجود ورمی‌کمپوست با ماده آلی و رطوبت مناسب در تیمارهای 2، 6 و 7 باعث نگهداری جمعیت بالایی از باکتری‌ها شد. در مورد برتری تیمارهای ترکیبی 6 و 7 که حاوی نانوذره نانوپروسیل-1 بودند می‌توان این‌گونه بیان کرد که خاصیت رهاسازی کند عناصر غذایی، سطح ویژه بالا، واکنش پذیری و قدرت جذب بالای نانو مواد در کنار ماده آلی و رطوبت مناسب ورمی‌کمپوست به عنوان ماده غذایی و چسبندگی حاصل از بتونیت سبب ایجاد یک فرمولاسیون مناسب و مطلوب برای باکتری می‌شود. همچنین بررسی سکار و همکاران (2010) نشان داد که ورمی‌کمپوست نسبت به لیگنیت توانایی بیشتری در نگهداری باکتری دارد و افزایش نسبت ورمی‌کمپوست به لیگنیت باعث افزایش جمعیت باکتری می‌شود. با توجه به نتایج بدست آمده و برتری تیمارهای ترکیبی نانوذره نانوپروسیل-1 و ورمی‌کمپوست نسبت به تیمار مجزای ورمی‌کمپوست می‌توان بیان کرد که استفاده از این ماده به عنوان ماده حامل و در مقادیر کمتر همراه با موادی با کربن آلی بالا می‌تواند منجر به تولید کودهای نانوبیولوژیک با توان نگهداری بالای باکتری شود.

یکی از خصوصیات مواد حامل که در تحقیقات به آن توجه کمتری شده، سطح ویژه مواد حامل و تأثیر این فاکتور فیزیکی بر روی توان نگهداری باکتری می‌باشد. ضریب همبستگی محاسبه شده (0/02-) بین سطح ویژه مواد حامل و جمعیت باکتری‌ها در پژوهش حاضر نشان داد، که سطح ویژه مواد حامل به تنهایی اثری در جمعیت حامل نداشته و لزوما داشتن سطح ویژه بالا به تنهایی نمی‌تواند فاکتور مؤثر، ضروری و مورد توجه در انتخاب حامل مناسب باکتری باشد.

لازم به ذکر است در مورد آنالیز تخلخل و اندازه حفرات حامل‌ها متأسفانه نتیجه صحیح و قابل قبولی حاصل نگردید. مواد مورد آزمایش در مقایسه با آنچه در منابع دیگر ذکر شده دارای تخلخل بسیار پائین-تری می‌باشند، به عنوان مثال در تحقیقات گذشته از ورمی‌کمپوست به عنوان ماده با تخلخل بالا یاد می‌شود، در حالی که نتایج آنالیز نشان می‌دهد تخلخل ورمی

جدول 1- انواع مواد حامل مورد مطالعه و مقدار سوسپانسیون باکتری اضافه شده		
شماره	ماده حامل	مقدار سوسپانسیون باکتری (ml) اضافه شده براساس رطوبت FC به 50 گرم ماده حامل
1	نانوپروسیل 1- (Lus-1)	48
2	ورمی کمپوست (V)	43
3	خاک فسفات (R)	7
4	بنتونیت (B)	35
5	نانوپروسیل 1- + بنتونیت + خاک فسفات (Lus-1 + B + R)	20
6	نانوپروسیل 1- + بنتونیت + خاک فسفات + ورمی کمپوست (Lus-1 + B + R + V)	30
7	نانوپروسیل 1- + بنتونیت + ورمی کمپوست (Lus-1 + B + V)	34

جدول شماره 2- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مواد حامل باکتری				
ماده حامل				ویژگی
نانوپروسیل-1	ورمی کمپوست	خاک فسفات	بنتونیت	
0	1375	0	0	فسفر قابل جذب (ppm)
0	7/4	0	0	نیتروژن (%)
1120	173/4	16/9	255/53	سدیم محلول (ppm)
48/7	378/83	1/03	3/98	پتاسیم محلول (ppm)
0	17/7	0	0	کربن آلی (%)
0/16	0/7	1/65	0/97	جرم مخصوص ظاهری (g/cm ³)
3/95	1/72	0/558	0/96	EC (dSm ⁻¹)
9/3	7/34	7/64	8/02	pH
1/9	90/91	7/96	13/21	منگنز قابل جذب (mgkg ⁻¹)
4/07	112/86	8/27	15/1	آهن قابل جذب (mgkg ⁻¹)
0/78	12/85	0/41	1/52	مس قابل جذب (mgkg ⁻¹)
0/72	53/1	3/38	0/51	روی قابل جذب (mgkg ⁻¹)

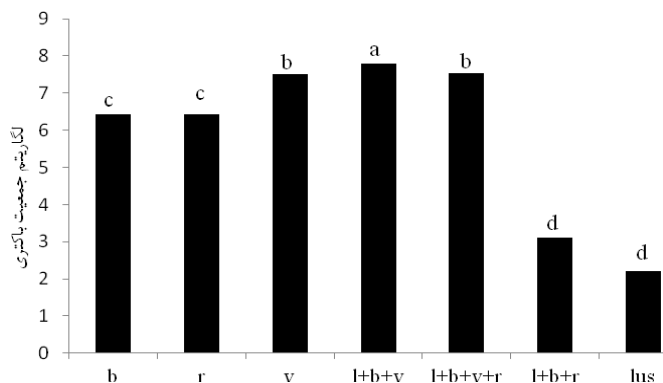
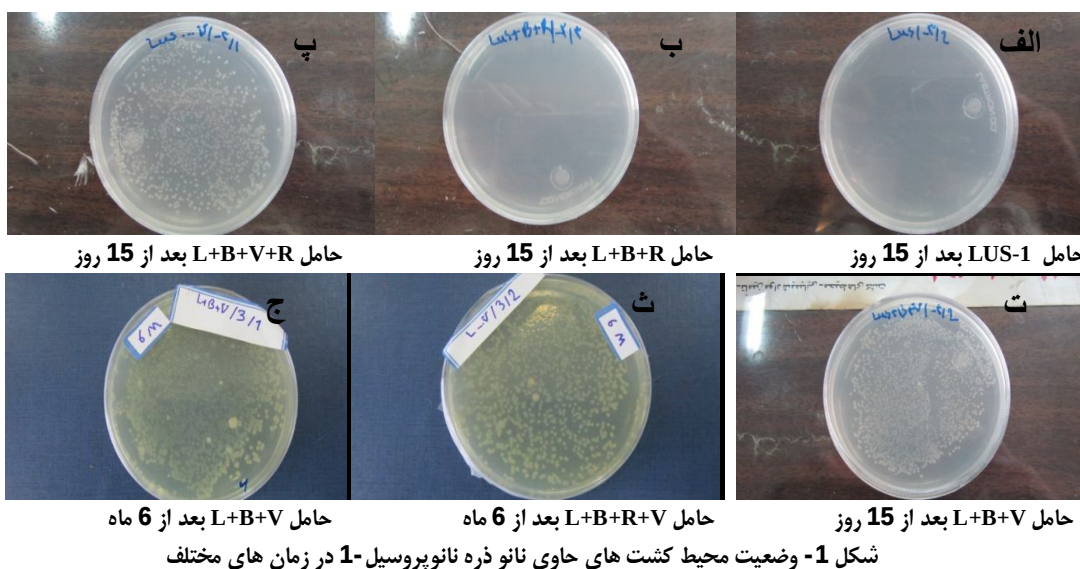
جدول 3- مقادیر سطح ویژه و تخلخل حامل ها				
نوع حامل	سطح ویژه (BET) m ² /g	تخلخل		میانگین قطر حفرات داخلی (nm)
		(cm ³ /g)	(%)	
نانوپروسیل 1-	15/671	5/976 × 10 ⁻²	0/95	15/255
ورمی کمپوست	4/69	2/346 × 10 ⁻²	1/642	20/015
خاک فسفات	0/2602	5/95 × 10 ⁻³	0/9	91/517
بنتونیت	20/462	5/98 × 10 ⁻²	5/8	11/692

جدول 4- مقادیر تخمینی سطح ویژه فرمولاسیون های مختلف حامل

حامل	سطح ویژه تخمینی m^2/g (BET)
نانوپروسیل 1- + بنتونیت + خاک فسفات	12/131
نانوپروسیل 1- + بنتونیت + خاک فسفات + ورمی کمپوست	10/27
نانوپروسیل 1- + بنتونیت + ورمی کمپوست	13/6

جدول 5- تجزیه واریانس اثر تیمارها و زمان بر جمعیت باکتری های سودوموناس فلورسنس (لگاریتم جمعیت باکتری)

میانگین مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
12/5236**	6	ماده حامل
236/9216**	7	زمان
3/54**	42	ماده حامل × زمان
6/5711	-	CV (%)



شکل 2- مقایسه میانگین بین توانایی نگهداری باکتری بوسیله حامل های مختلف

فهرست منابع:

1. Alimirza, M., Mirhosseini, H. and Moezardalaln, V. M. 2007. The survey on trend of nitrogen release from different nitrogen fertilizer sources in incubation studies. The proceedings of 10th soil Sciences Congress. Karaj. Iran 674-675.
2. Bonneviot, L., Morin, M. and Badie, A. 2003. US 0133868. (US Patent).
3. Besharati, H., Saleh rastin, N., Malakouti, M. and Alizade, A. 2004. The investigation on viability potential of *Thiobacillus* on several kinds of carriers. The journal of soil and water sciences 18 (2):170-181.
4. Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D. and R. Y. Surampalli. 2010. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge – Evidence and impacts. Waste Management 30:504-520.
5. Carter, M.R. and Gregorich, E.G. 2008. P.1224. In: Soil Sampling and Methods of Analysis. 2nd (ed). Canadian Society of Soil Science.
6. Cigdem, K., and Merih, K. 2005. Effect of formulation on the viability of biocontrol agent, *Trichoderma harzianum* conidia. African Journal of Biotechnology. 85: 483–486.
7. Cui, H., Sun, C., Liu, Q., Jiang, J. and Gu, W. 2006. p. 1-6. In: Applications of Nanotechnology in Agrochemical Formulation, Perspectives, Challenges and Strategies. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture. 2006 .Chinese Academy of Agricultural Sciences. Beijing. China.
8. Dearmon, I. A., Orlando, M.D., Rosenwald, A.J., Albert, F.K., Ralph, L.F. and Paul R.M. 1962. Viability and estimation of shelf-life of bacterial populations. Journal of Applied Microbiology 10: 422–427.
9. DeRosa, M.R., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R. and Sultan, Y. 2010. Nanotechnology in fertilizers. Nature Nanotechnol 5:91.
10. Ge, Y., Schimel, J. P. and Holden, P. A. 2011. Evidence for Negative Effects of TiO₂ and ZnO Nanoparticles on Soil Bacterial Communities. Environmental science technology 55:1659-1664.
11. Griffith, G. and Roughly, A. 1992. The effect of moisture potential on growth and survival of root nodule, bacteria in peat culture and on seed. Journal of Applied Bacteriology 73: 7-13.
12. Holland, L. M., Cury, G. C., Periera, R. F., Ferreira, G. A., Sousa, A., Souse, E. M. and Lancellotti, M. 2011. Effect of mesoporous silica under *Neisseria meningitidis* transformation process: Enviromental effects under meningococci transformation. Journal of nanobiotechnology 9: 28.
13. Hopkins, B.G. and Ellsworth, J.W. 2005. Trace metal toxicity from manure in Idaho: Emphasis on copper. P. In K. Copeland et al. (ed) Proc. Winter Commodity Schools. Univ Idaho Coop Ext Moscow 37:1-36.
14. Kaljet, S., Keyeo, F. and Amir, H.G. 2011. Influence of carrier materials and storage temperature on survivability of *rhizobium* inoculants. Asian journal of plant sciences 10 (6):331-337.
15. Khavazi, k. and Rejali, F. 1379. The use of some low-cost materials as carrier for *Bradyrhizobium japonicom*. Journal of soil and water 14(1): 36-45.
16. Laura, K., Lion, D.Y. and Alvarez, J. J. A. 2006. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspension. Water research 40: 3527-3532.
17. Li, M., Zhu, L. and Lin, L. 2011. Toxity of ZnO nanoparticles to *Escherchia coli*: Mechanism and the influence of medium component. Enviroment science and technology 45:1977-1983.

18. Liang, J., Wu, R., Huang, T.S. and Worley, S. D. 2004. Polymerization of a hydantionylsioxane on particles of silicon dioxide to produce a biocidalsand. J. Appl. Polym. Sci 97:1161-1166.
19. Liong, M., France, B., Bradley, K. A. and Zink, J. L. 2009. Antimicrobial activity of silver nanoparticle encapsulated in mesoporous silica nanoparticles. Advanced material 21:1684-1689.
20. Lindsay, W. L. and Norvell, W. A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Science Society of America Journal 42: 421-428.
21. Liu, X., Feng, Z., Zhang, S., Zhang, J., Xiao, Q. and Wang, Y. 2006. Preparation and testing of cementing nano-subnano composites of slower controlled release of fertilizers. Scientia Agricultura Sinica 39:1598-1604.
22. Mashhadi, S. H. and Asgharzadeh, A. N. 2004. The comparison on effectiveness of some carriers for bacteria *Sinorhizobium meliloti* in order to alfa alfa inoculants production, The journal of agriculture and natural resources sciences and technologies 8: 63-74.
23. Mendes, F. and Videira, I. 2005. Residues of the Cork Industry as Carriers for the Production of Legume Inoculants. Av. Silva Lusitana 13(2):159-167.
24. Maynard, A., Oberdörster, G., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D. and Yang, H. 2005. Nanoparticles – known and unknown health risks”. Journal of Nanobiotechnology 2:12.
25. Monreal, C.M. 2010. Nanofertilizers for Increased N and P Use Efficiencies by Crops. In summary of information currently provided to MRI concerning applications for Round 5 of the Ontario Research Fund-Research Excellence program 12-13.
26. Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N. B., Filser, J., Miao, A. J., Quigg, A., Santschi, P. H. and Sigg, L. 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. Ecotoxicology 17:372-386.
27. Pennell, K. D. 2002. P. 303-308. In J.H. Dane and G.C.Topp (Ed.). Methods of soil analysis. part 2. chemical and microbiological properties. Madison, Wisconsin. USA.
28. Pesenti, B.B., Ferdani, E., Mosti, M. and innocent, D. F. 1991. Survival of *Agrobacterium radiobacter* K84 on Various Carriers for Crown Gall Control. Applied and environmental microbiology 57(7): 2047-2051.
29. Qu, X., Hwang, Y.S. and Li, Q. 2010. Impact of sunlight and humic acid on the aggregation kinetics of nC₆₀. 240th ACS National Meeting. August 22-26.2010. Boston. MA.
30. Sahle-Demessie, E., Li, Z. and Sorial, G. 2010. Effects of natural organic matter on stability, transport and deposition of engineered nanoparticles in porous media. 240th ACS National Meeting. August 22-26. 2010. Boston. MA.
31. Sayes, C. M., Gobin, A. M., Ausman, K. D., Mendez, J., West, J. L. and Colvin, V. L. 2005. Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation. Biomaterials 26:7587-7595.
32. Sekar, R.K., and Karmegam, N. 2010. Earthworm casts as an alternate carrier material for biofertilizers: Assessment of endurance and viability of *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum*. Scientia Horticulturae 124: 286–289.
33. Shaviv, A. 2005. Controlled Release of Fertilizers. IFA International Workshop on Enhanced-Efficiency Fertilizers, 28-30, Frankfurt, Germany.
34. Shih, Y.S., Wu, S.C. and Tseng, U.M. 2011. Effect of humic acid on the stability of TiO₂ and ZnO nanoparticles in water. 240th ACS National Meeting. August 22-26. 2011. Boston. MA
35. Somasegaran, P. and Hoben H. J. 1994. Hand book for rhizobia: methods in legume *Rhizobium* technology. Springer-verlag. New York.

36. Sparks, D.L. 1996. Method of soil Analysis. Part3. Chemical Methods. American Society of Agronomy. 1390.
37. Strijdom, B.W. and. Rensburg, H. J. 1981. Effect of Steam Sterilization and Gamma Irradiation of Peat on Quality of *Rhizobium* Inoculants. Applied and environmental microbiology 41(6): 1344-1347.
38. Tong, Z. H., Bischoff, M., Nies, L., Applegate, B. and Turco, R. F. 2007. Impact of fullerene (C₆₀) on a soil microbial community. Environ. Sci. Technol 41:2985-2991

تأثیر قارچ آربسکولار- میکوریز و تنش خشکی بر رشد ریشه، تجمع پرولین و جذب بعضی از عناصر غذایی توسط سه ژنوتیپ تره

نسترن قاسم جوکار¹، حبیب اله نادیان، بیژن خلیل مقدم و مختار حیدری

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان؛ nastaran_ghasemjokar@yahoo.com

دانشیار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان؛ Nadian_habib@yahoo.com

استادیار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان؛ moghaddam623@yahoo.ie

استادیار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان؛ neshat236@yahoo.com

دریافت: 91/1/21 و پذیرش: 92/10/24

چکیده

قارچ‌های میکوریز آربسکولار از مهمترین قارچ‌های همزیست با ریشه گیاهان می‌باشند که با افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر و کاهش اثرات سوء تنش‌های محیطی باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه میزبان می‌شوند. در این تحقیق، اثرات قارچ‌های میکوریز آربسکولار و سطوح مختلف تنش خشکی بر روی رشد ریشه، تجمع پرولین و غلظت عناصر فسفر، پتاسیم، سدیم و روی در سه ژنوتیپ تره مطالعه گردید. این آزمایش با سه سطح رطوبتی خاک (آبیاری در زمانی که 40 و 60 و 80 درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک تخلیه گردید)، دو سطح قارچ میکوریز (وجود و عدم وجود قارچ گلوموس اینترارادیسس) و سه ژنوتیپ تره (شادگان، اصفهان و کارنتان 2) به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش وزن ماده خشک ریشه، طول ریشه کلونی‌شده و درصد کلونیزاسیون ریشه گردید. اما، کلونیزاسیون میکوریزی در تمام سطوح تنش خشکی باعث افزایش رشد ریشه گردید. درصد وابستگی میکوریزی در شرایط تنش خشکی افزایش یافت و این افزایش تحت تأثیر نوع ژنوتیپ تره و مشخصات مرفولوژیکی ریشه متفاوت بود. در بین ژنوتیپ‌ها، تره شادگان با سیستم ریشه‌ای ضعیف‌تر در تمام سطوح تنش خشکی دارای وابستگی میکوریزی بیشتر بود. تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار غلظت و محتوای فسفر (برگ) گردید در حالی که موجب افزایش تجمع پرولین در برگ و همچنین افزایش معنی‌دار غلظت عناصر پتاسیم، سدیم و روی در برگ‌های گیاه گردید. قارچ میکوریز باعث افزایش معنی‌دار جذب عناصر فسفر، پتاسیم و روی در برگ‌ها گردید. درحالی که، میزان پرولین و یون سدیم در گیاهان میکوریز کمتر بود. نتایج این مطالعه بیان می‌کند که کلونیزاسیون میکوریزی مقاومت به خشکی گیاه میزبان را از طریق افزایش جذب یون‌های فسفر، پتاسیم و روی بهبود بخشیده است.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تره، تنش خشکی، فسفر، قارچ میکوریز

مقدمه

بارندگی دنیا 860 میلیمتر در سال می باشد. علاوه بر این، همین مقدار بارندگی در کشور از یک توزیع مناسب مکانی و زمانی نیز برخوردار نیست (امیری و اسلامیان،

بیش از 82 درصد زمین‌های کشور ایران با متوسط بارندگی 250 میلی‌متر در سال در منطقه خشک و نیمه خشک واقع شده است. این در حالی است که متوسط

¹ نویسنده مسئول، آدرس: اهواز - ملاتانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، گروه مهندسی علوم خاک

باکتری‌های سینوریزوبیوم و قارچ‌های میکوریز (وازکوز و همکاران، 2001) کاهش دهند.

قارچ‌های آربسکولار- میکوریز از فراوانترین قارچ‌های میکوریز می‌باشند که با بیش از 90 درصد گونه‌های گیاهی ارتباط همزیستی برقرار می‌کنند. میسلیوم‌های درونی این قارچ‌ها پس از نفوذ به درون سلول‌های پوست ریشه گیاه میزبان، اندام‌هایی مانند آربسکول و وزیکول را به وجود می‌آورند. میسلیوم‌های خارجی این قارچ‌ها در خاک اطراف ریشه گیاه پراکنده شده و با داشتن سطح ویژه بالا، عناصر غذایی کم تحرک نظیر فسفر (P)، روی (Zn) و مس (Cu) را جذب کرده و به ریشه گیاه میزبان انتقال می‌دهند (اسمیت و رید، 2008). قارچ‌های میکوریزا از طریق ساز و کارهای مختلفی همچون افزایش حفظ و نگهداری آب در گیاه (بلندنظر و همکاران، 2007)، افزایش هدایت روزنه‌ای، تعرق و تبادل گاز CO_2 (رویزلوزانو و همکاران، 1995)، افزایش جذب آب در سطوح پایین رطوبت خاک از طریق میسلیوم‌های خارجی (فاگ‌بولا و همکاران، 2001)، بهبود رشد گیاه از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌ها مانند گلوتامین سینتاز و نیترات ردوکتاز (آزکن و توبار، 1998) و افزایش جذب عناصر غذایی نظیر فسفر (نلسون و سفیر، 1982) می‌توانند اثرات نامطلوب تنش رطوبتی بر گیاهان را کاهش دهند.

میزان وابستگی گیاه میزبان به قارچ‌های میکوریز به عوامل مختلف محیطی (مانند شدت نور، درجه حرارت، شرایط خاک) و نیز به مشخصات ریخت‌شناسی ریشه و فیزیولوژیکی گیاه بستگی دارد (اسمیت و رید، 2008). مشخصات ریخت‌شناسی ریشه گیاه میزبان از جمله عوامل مهم در برقراری همبستگی گیاه با قارچ میکوریز می‌باشد. معمولاً گیاهان با سیستم ریشه‌ای ضعیف و کم انشعاب، وابستگی میکوریزی بیشتری دارند تا گیاهان با سیستم ریشه‌ای انبوه و پر انشعاب (بیلیس، 1975). این در حالی است که فیتز (1989) در مطالعه بر روی جامعه گیاهان انگلیس ملاحظه نمود که عموماً گیاهان با سیستم ریشه‌ای ضعیف و همچنین گیاهان با سیستم ریشه‌ای انبوه و پرانشعاب از وابستگی میکوریزی مشابهی برخوردار می‌باشند. این نشان می‌دهد که علاوه بر مشخصات ساختاری ریشه گیاه میزبان خصوصیات دیگری نظیر مشخصات فیزیولوژیکی گیاه، کنترل‌های ژنتیکی و چگونگی ارسال پیام‌های شیمیایی بین دو همزیست می‌تواند بر روی میزان وابستگی گیاه به قارچ میکوریز نقش داشته باشد.

تره ایرانی یکی از سبزی‌های برگ‌ی پرمصرف در کشور ما است که تا کنون تحقیقات چندانی در زمینه تأثیر

(2010). گیاهان برای مقابله با تنش خشکی دو ساز و کار عمده را در درون خود به وجود آورده‌اند: اجتناب از تنش خشکی و یا تحمل به تنش خشکی. تنظیم اسمزی به عنوان جزئی مهم از ساز و کار تحمل به تنش خشکی در گیاهان در نظر گرفته می‌شود (جلیلی مرندي، 1389). این پدیده شامل: تجمع مولکول‌های آلی نظیر پرولین، بتائین و کربوهیدرات‌ها و یون‌های معدنی همچون پتاسیم، کلسیم و غیره می‌باشد. در شرایط کمبود آب، در نتیجه تجمع این مواد، پتانسیل اسمزی درون سلول کاهش یافته و آب به درون سلول کشیده می‌شود که به حفظ فشار آماس سلولی کمک می‌کند (مسعودی صادقیانی و همکاران، 2011). در بین این مواد، احتمالاً پرولین فراوان‌ترین تنظیم‌کننده اسمزی به شمار می‌آید. هر چند پرولین در طول تنش در قسمت‌های مختلف گیاه جمع می‌شود، اما بیشترین مقدار آن در برگ‌ها به وجود می‌آید (جلیلی مرندي، 1389). افزایش تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی در بسیاری از گیاهان مانند ریحان (سوها و همکاران، 2010)، کاهو (رویزلوزانو و همکاران، 1995)، گشنیز (علی‌آبادی فراهانی و همکاران، 2008) و سیب‌زمینی (مسعودی صادقیانی و همکاران، 2011) نیز گزارش گردیده است.

تحقیقات متعددی بر روی پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی اندام‌های هوایی گیاه در شرایط تنش خشکی انجام گردیده است. ریشه اولین اندامی است که نشانه‌های خشکی را دریافت می‌کند و نقش مهمی را در تحمل تنش خشکی و بازیابی از آن ایفا می‌کند (پورسل و رویزلوزانو، 2004). پنهان بودن ریشه‌ها در خاک و همچنین امکان‌پذیر نبودن کنترل کامل شرایط در وضعیتی که ریشه‌ها رشد می‌کنند (ویتمور و والی، 2009)، باعث شده مطالعات کمی بر روی وضعیت سیستم‌های ریشه‌ای به خصوص تحت تنش خشکی انجام گردد. خصوصیات ریشه نظیر طول ریشه، قطر ریشه و میزان انشعاب ریشه فاکتورهای مهمی در تعیین کارایی عملکرد به ویژه در شرایط کمبود آب قابل دسترس گیاه در خاک می‌باشند. (پورسل و رویزلوزانو، 2004). ریشه‌ها در دریافت و انتقال پیام تنش خشکی فعال هستند. تأثیر خشکی بر گیاه از طریق تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (اسید آبسزیک¹ و اتیلن) به تمام گیاه انتقال می‌یابد و گیاه را وادار به بستن روزنه‌های خود می‌کند (دیوبوس و پلومیون، 2003). محققین سعی کرده‌اند تأثیر سوء تنش خشکی را از طریق همزیستی با ریز جاندارانی مانند

¹ Absciscic acid

یک آزمایش اولیه، بذور ژنوتیپ‌های مختلف تره ایرانی و فرنگی به منظور مطالعه و مقایسه رشد ریشه‌ها و ریخت‌شناسی ریشه‌ها کشت گردیدند. در این مطالعه اولیه ملاحظه گردید که تره اصفهان دارای ریشه‌های منشعب و بلند و تره شادگان دارای ریشه‌های کم انشعاب، کوتاه و نازک و تره فرنگی (کارنتان 2) دارای ریشه‌های کم انشعاب و ضخیم می‌باشند.

در تیمارهای میکوریزایی، از زاد مایه قارچ گلوموس *ایترارادیسس*¹ حاوی اسپور، میسلیم‌های خارجی قارچ و ریشه گیاه شبدر کلونی‌شده با قارچ گلوموس *ایترارادیسس* حاصل از کشت گلدانی² استفاده شد. در هر گرم زاد مایه به طور متوسط تعداد 12 اسپور وجود داشت. زاد مایه از مجموعه آزمایشگاه‌های تحقیقاتی پروفیسور اسمیت در دانشگاه آدلاید استرالیا بر اساس ارتباطات شخصی و حضوری تهیه شد. برای تکثیر و تهیه زاد مایه فوق‌الذکر در حد کافی، شبدر برسیم در گلدان‌هایی که محتوی مخلوط ماسه و شن استریل شده (به نسبت 9 قسمت ماسه و 1 قسمت خاک) بود کشت گردید و ریشه‌های آن توسط گونه قارچ گلوموس *ایترارادیسس* مایه کوبی گردیدند (نادیان و همکاران، 1998). دو ماه پس از کشت گیاه شبدر، قسمت هوایی گیاه قطع و دور انداخته شد. از خاک این گلدان‌ها که محتوی اسپور، هیف‌های خارجی قارچ و ریشه شبدر کلونی‌شده با میکوریزا بود به عنوان زاد مایه استفاده گردید. در تیمار میکوریزایی، قبل از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان زاد مایه فوق‌الذکر به میزان حدود 200 گرم به صورت یک لایه نازک در زیر سطح خاک قرار داده شد تا ریشه‌ها روی آن قرار گیرند.

گلدان‌ها به گلخانه منتقل و تحت شرایط کنترل نسبی رشد یافتند. کلیه گلدان‌ها تا چهار هفته پس از استقرار گیاه به طور یکسان آبیاری گردیدند. در شروع هفته پنجم سطوح تنش خشکی اعمال گردید. افزایش آب مقطر به گلدان‌ها زمانی بود که 40، 60 و 80 درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک تخلیه شده بود. درصد رطوبت خاک در دو سطح مکش 0/33 اتمسفر (نقطه ظرفیت مزرعه) و 15 اتمسفر (نقطه پژمردگی دائم) توسط دستگاه صفحه فشار تعیین گردید. افزایش آب مقطر به گلدان‌ها از طریق توزین گلدان‌ها و جبران آب کاهش یافته در هر یک از سطوح رطوبتی فوق انجام شد. وزن خاک در تمام گلدان‌ها دقیقاً مساوی و به همراه گلدان برابر با 2940 گرم بود. هر

تنش‌های محیطی بر آن صورت نگرفته است. سیستم ریشه‌ای ژنوتیپ‌های مختلف تره متفاوت است. تره اصفهان دارای ریشه‌های منشعب و بلند و تره شادگان دارای ریشه‌های کم انشعاب، کوتاه و نازک و تره فرنگی (کارنتان 2) دارای ریشه‌های کم انشعاب و ضخیم می‌باشند. تاکنون نقش مورفولوژی ریشه‌ی ژنوتیپ‌های مختلف تره ایرانی و تره فرنگی در مقابله با تنش خشکی و نیز پاسخ رشد میکوریزی آنها بررسی نگردیده است. لذا با توجه به این مطالب یک مطالعه با هدف بررسی تأثیر قارچ آریسکولار- میکوریز بر رشد ریشه و میزان پرولین برگ در سه ژنوتیپ تره با ساختار ریشه‌ای متفاوت در شرایط تنش خشکی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در گلخانه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین اهواز اجرا گردید. تیمارها شامل دو ژنوتیپ تره ایرانی (تره شادگان و تره اصفهان) و تره فرنگی (کارنتان 2)، دو سطح میکوریزا (NM: بدون حضور قارچ میکوریز و M: با حضور قارچ میکوریز) و تنش خشکی در سه سطح (T_1 ، T_2 و T_3 به ترتیب شامل آبیاری پس از تخلیه 40، 60 و 80 درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک) بود. درصد رطوبت خاک با توجه به جدول 1 برای سطوح تخلیه رطوبتی فوق به ترتیب برابر به 10/2، 8/8 و 7/6 بود. برای نیل به اهداف این مطالعه یک خاک با غلظت فسفر قابل جذب کم (روش اولسن) و بافت لوم شنی انتخاب گردید. برخی از مهمترین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در جدول 1 ارائه گردیده است. سپس برای حذف عوامل پاتوژن و قارچ‌های بومی خاک، خاک مورد آزمایش با استفاده از دستگاه اتوکلاو و در دمای 121 درجه سانتی‌گراد و در فشار 1 اتمسفر به مدت 1 ساعت استریل گردید (اسمیت، 1982؛ نادیان و همکاران، 1998). پس از استریل نمودن، خاک‌ها در کیسه‌های پلاستیکی کاملاً در بسته تا زمان استفاده نگه‌داری گردیدند.

کشت گیاه و تهیه زاد مایه

بذر ژنوتیپ‌های مختلف تره ایرانی (*Allium L.*) *ampeloprasum ssp. persicum* و تره فرنگی (*Allium porrum L.*) توسط محلول هیپوکلریت سدیم 10 درصد ضدعفونی شد و سپس با آب مقطر شسته و در دستگاه جوانه‌زنی بذر، تمام بذور جوانه زدند (نادیان، 1390). پس از اینکه طول ریشه گیاهچه‌ها به حدود 1-1/5 سانتی‌متر رسید، انتقال گیاهچه‌ها به گلدان صورت گرفت. به هر گلدان 6 گیاهچه 3 روزه منتقل گردید. توضیح اینکه در

¹ *Glomus intraradices*

² Pot culture

هفته مقدار 10 میلی‌لیتر محلول غذایی بدون فسفر (اسمیت، 1982) به گلدان‌ها اضافه گردید.

برداشت گیاه

گیاهان پس از پایان هفته دوازدهم برداشت گردیدند. ابتدا برگ‌ها از سطح خاک قطع گردیده و سپس به قطعات کوچک‌تر خرد شده و در دمای 75 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت درون آون خشک گردیدند. بعد از خشک کردن نمونه‌های گیاهی، جهت اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی از روش خشک سوزانی استفاده شد. البته برای جلوگیری از خارج شدن فسفر نمونه در کوره به هر نمونه پنج میلی‌لیتر محلول نیترات منیزیم 0/5 نرمال اضافه شد. پس از عصاره‌گیری نمونه‌های خشک شده، اندازه‌گیری فسفر به روش کالریمتری (رنگ‌سنجی) و قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتر (اسمیت، 1982) صورت گرفت. مقادیر محتوای فسفر از حاصلضرب غلظت فسفر (برگ) در وزن ماده خشک برگ به دست آمده‌اند. غلظت عناصر سدیم و پتاسیم با استفاده از روش نشر شعله‌ای و به کمک دستگاه فلم فتومتر و عنصر روی با استفاده از دستگاه جذب اتمی (لیندی و نورول، 1978) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری طول ریشه کلونی‌شده و درصد کلونیزاسیون ریشه

رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با روش فیلیپس و هیمن (1970) و با استفاده از ماده رنگی ترین‌بلو¹ انجام گردید. برای این کار، تمامی ریشه‌های گیاه در هر گلدان با دقت از خاک جدا شدند و در یک الک بسیار ریز با آب مقطر شسته شدند تا کاملاً عاری از خاک گردند. سپس آب سطح ریشه‌های خیس توسط کاغذ صافی گرفته شد. ریشه‌ها به قطعات حدود 1 سانتی‌متری تقسیم و به خوبی مخلوط گردیدند و یک زیر نمونه² ریشه تازه از هر گلدان (از ریشه‌های خرد و مخلوط شده) برداشته شد. سپس ریشه‌ها در محلول هیدروکسید پتاسیم 10 درصد به مدت 30 دقیقه در آون در دمای 90 درجه قرار داده شدند. ریشه‌ها از محلول هیدروکسید پتاسیم خارج شده پس از خنثی سازی توسط اسید کلریدریک 1 نرمال و شستشو توسط آب، ریشه‌ها به مدت 15 دقیقه در محلول ترین‌بلو و در دمای 90 درجه در آون رنگ‌آمیزی شدند. بعد از رنگ‌آمیزی ریشه‌ها، مجموع طول ریشه و طول ریشه کلونی‌شده با استفاده از بینی کولر و روش خطوط متقاطع طبق روش تاننت (1975) تعیین گردید:

$$RL = \frac{11}{14} \cdot n \cdot d$$

RL = طول کل ریشه

n = تعداد برخورد ریشه با خطوط افقی و عمودی

d = طول ضلع هر شبکه مربع

در ضمن برای محاسبه طول ریشه کلونی شده، تعداد برخورد طول ریشه کلونی‌شده با خطوط افقی و عمودی شبکه در نظر گرفته شد.

درصد وابستگی میکوریزایی ژنوتیپ‌های تره که بیانی از پاسخ رشد میکوریزی آنها می‌باشد بر اساس فرمول بایون و همکاران (1994) از خارج قسمت تفاضل وزن ماده خشک گیاه میکوریزی و غیرمیکوریزی بر وزن ماده خشک گیاه غیرمیکوریزی تعیین شد.

100 × (NM) وزن خشک گیاه

میکوریزی (M) - وزن خشک گیاه

غیرمیکوریزی شده

درصد وابستگی میکوریزی = $\frac{\text{وزن ماده خشک گیاه غیر میکوریزی}}{\text{وزن ماده خشک گیاه میکوریزی (NM)}}$

استخراج و اندازه‌گیری غلظت پرولین

استخراج و سنجش پرولین بر اساس روش بیتس و همکاران (1973) انجام گردید. به این منظور 100 میلی‌گرم بافت برگ تازه در 10 میلی‌لیتر اتانول 40 درصد کاملاً ساییده شد و درون لوله فالكون ریخته شد و به مدت 20 دقیقه در 4000 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس از محلول بالایی سانتریفیوژ شده برای سنجش پرولین استفاده گردید. دو میلی‌لیتر از محلول بالایی با دو میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک خالص در یک لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب 100 درجه قرار گرفتند. پس از گذشت یک ساعت نمونه‌ها به ظرف یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد. سپس به محتویات لوله چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و به مدت 30 ثانیه به شدت به هم زده شدند. این عمل موجب تشکیل دو فاز در محتویات لوله شد. پس از مدت 20 دقیقه، جذب نوری محلول در طول موج 520 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از تولوئن به عنوان شاهد قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در واحد وزن تازه برگ نمونه گیاهی محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام گردید.

1. Trypen blue

2. Subsample

نتایج و بحث

در جدول 2 و 3 میانگین مربعات مولفه‌های رشدی گیاه، کلونیزاسیون ریشه، غلظت پرولین و غلظت عناصر فسفر، پتاسیم، سدیم و روی ارائه گردیده است.

رشد ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که هر سه عامل تنش خشکی، قارچ میکوریز و ژنوتیپ گیاه بر رشد ریشه شامل: وزن ماده خشک ریشه و مجموع طول ریشه کلونی‌شده هر سه ژنوتیپ اثر معنی‌دار داشته‌اند (جدول 2). در مطالعه اثرات سه گانه‌ی قارچ، خشکی و ژنوتیپ گیاه، نتایج مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد نشان داد که بیشترین مقدار صفات اندازه‌گیری شده در تیمار شاهد (آبیاری پس از تخلیه 40 درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک) بدست آمد (جدول 4). در تیمار شاهد، وزن ماده خشک ریشه تره غیرمیکوریزی اصفهان (0/169 گرم در گلدان) بیشترین و تره غیرمیکوریزی کارنتان 2 (0/135 گرم در گلدان) کمترین وزن ماده خشک را داشتند. این افزایش به دلیل سیستم ریشه‌ای انبوه‌تر تره اصفهان است. با افزایش تنش خشکی وزن ماده خشک ریشه هر سه ژنوتیپ تره کاهش معنی‌دار پیدا نمود (جدول 4). یک روند مشابه در کاهش مجموع طول ریشه با افزایش تنش خشکی در هر سه ژنوتیپ تره نیز ملاحظه گردید (نتایج نشان داده نشد). کاهش رشد ریشه (وزن ماده خشک ریشه و یا مجموع طول ریشه) تحت تأثیر تنش خشکی می‌تواند به دلیل افزایش مقاومت مکانیکی خاک باشد (ویتمور و والی، 2009). بین درصد رطوبت خاک و مقاومت مکانیکی خاکی یک رابطه معکوس وجود دارد (بنگو و همکاران، 2006). نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که فشار ریشه‌ای گیاهان زراعی بین 0/24 و 1/45 مگاپاسکال است (میسرا و همکاران، 1986). چنانچه فشار ریشه‌ای گیاه کمتر از مقاومت مکانیکی خاک باشد، رشد ریشه کاهش می‌یابد (ویتمور و والی، 2009).

در تمام سطوح تنش خشکی، وزن ماده خشک ریشه میکوریزی از وزن ماده خشک ریشه غیرمیکوریزی در هر سه ژنوتیپ بیشتر بود (جدول 4). چنین افزایشی برای مجموع طول ریشه میکوریزایی نسبت به وزن ماده خشک شاهد (غیرمیکوریزی) نیز ملاحظه گردید. با این وجود، با افزایش تنش خشکی از رشد ریشه‌های میکوریزی (وزن ماده خشک ریشه) به طور معنی‌دار کاسته شد (جدول 4). بیشترین مقدار ماده خشک ریشه مربوط به تیمار میکوریزایی تره شادگان در تیمار بدون تنش خشکی اول (0/664 گرم در گلدان) بود و کمترین مقدار ماده خشک

ریشه مربوط به نمونه غیرمیکوریزی تره کارنتان 2 در سطح سوم تنش خشکی (0/055 گرم در گلدان) بود. در این مطالعه ملاحظه می‌شود در تیمار T₁، ریشه‌های تره شادگان با کمترین وزن ماده خشک با حضور قارچ میکوریز دارای بیشترین وزن ماده خشک ریشه در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر تره می‌باشد. این نتیجه، بالاتر بودن وابستگی میکوریزایی تره شادگان نسبت به دو ژنوتیپ دیگر را کاملاً توجیه می‌کند. در واقع، تره شادگان با دارا بودن سیستم ریشه‌ای ضعیف‌تر وابستگی بیشتری را در برقراری با قارچ میکوریز نسبت به دو ژنوتیپ دیگر داشته است. اولین بار بیلینس (1975) اعلام نمود که گیاهان با سیستم ریشه‌ای ضعیف‌تر نسبت به گیاهان با سیستم ریشه‌ای انبوه‌تر وابستگی میکوریزایی بیشتری دارند. نتایج مطالعه حاضر با نظرات بیلینس و نتایج بایون و همکاران (1994) کاملاً مطابقت دارد. وابستگی میکوریزی بیشتر تره شادگان نسبت به دو ژنوتیپ دیگر تره در تمام سطوح تنش خشکی ملاحظه گردید (جدول 4). این نشان می‌دهد که فرضیه بیلینس تحت تنش خشکی برای ژنوتیپ‌های تره نیز صادق است.

شاخص‌های کلونیزاسیون

میزان کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریز می‌تواند بر حسب درصد کلونیزاسیون ریشه و یا مجموع طول ریشه کلونی‌شده گیاه میزان تعیین شود (اسمیت و رید، 2008). شکل 1 نشان می‌دهد که تنش خشکی تأثیر محسوسی بر درصد کلونیزاسیون ریشه داشته است. اگرچه با افزایش شدت تنش خشکی، درصد کلونیزاسیون ریشه هر سه ژنوتیپ تره کاهش یافته است. نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که تنش خشکی بطور متفاوت درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گنویکو چه آ و همکاران (1996) ملاحظه نمودند که با افزایش تنش خشکی درصد کلونیزاسیون ریشه یونجه کاهش یافت. حال آنکه چنین کاهشی بر درصد کلونیزاسیون ریشه سویا ملاحظه نگردید (پورسل و روئیزلوزانو، 2004). در یک مطالعه دیگر یک افزایش 20 درصدی در کلونیزاسیون ریشه با افزایش تنش خشکی گزارش شده است. (آروکا و همکاران، 2008). چنین پاسخ‌های متفاوت گیاه میکوریزی نسبت به تنش خشکی می‌تواند علاوه بر شرایط خاک و شدت تنش خشکی به مؤلفه‌های فیزیولوژیکی گیاه نظیر پتانسیل آب برگ (پریمچندرا و همکاران، 1995) و نیز میزان انباشت تنظیم‌کننده‌های اسمزی نظیر پرولین (پورسل و روئیزلوزانو، 2004) مربوط باشد.

یک تنظیم‌کننده اسمزی نیاز دارند، در نتیجه مقادیر بیشتری از پرولین را نسبت به گیاهان میکوریزی سنتز می‌کنند (بهوسال و شیند، 2011). البته مقادیر متفاوت انباشت پرولین در ژنوتیپ‌های مختلف تره در تلقیح با قارچ آربسکولار- میکوریزا نشان می‌دهد که این قارچ‌ها قادر به ایجاد درجات متفاوتی از تنظیم اسمزی در ژنوتیپ‌های تره می‌باشند. در کلیه سطوح تنش خشکی، بیشترین تأثیر قارچ میکوریز در کاهش غلظت پرولین در تره شادگان بود. حتی در سطح سوم تنش خشکی، غلظت پرولین در تیمار میکوریزی تره شادگان نسبت به نمونه غیرمیکوریزی 50/4 درصد کاهش یافت. به نظر می‌رسد که تره‌های میکوریزی شادگان از اثرات زیانبار تنش خشکی رنج کمتری می‌برند چون در شرایط کمبود آب به طور نسبی رشد بهتر، وزن خشک برگ و ریشه بیشتری داشته‌اند. در واقع تره‌های میکوریزی شادگان با تنش خشکی بهتر سازگار شده‌اند.

غلظت عناصر غذایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که هر سه تیمار تنش خشکی، قارچ میکوریزا و ژنوتیپ گیاه اثر معنی‌داری بر غلظت عناصر فسفر، پتاسیم، روی و سدیم داشته‌اند (جدول 2). تنش خشکی غلظت و محتوای فسفر را در تمام ژنوتیپ‌های میکوریزی و غیرمیکوریزی کاهش داد. با وجود این، کلونیزاسیون میکوریزی در تمام سطوح تنش خشکی غلظت و محتوای فسفر را در ژنوتیپ‌های تره افزایش داد. غلظت و محتوای فسفر در کلیه سطوح تنش خشکی بیشترین تأثیر مثبت قارچ میکوریز در افزایش غلظت فسفر (برگ) بر تره شادگان بود (جدول 5). حتی در سطح سوم تنش خشکی (شدیدترین سطح خشکی)، غلظت فسفر در تیمار میکوریزی تره شادگان نسبت به نمونه غیرمیکوریزی 35 درصد افزایش یافت. روند تغییرات محتوای فسفر نیز مشابه تغییرات غلظت فسفر می‌باشد (جدول 5).

فسفر به عنوان یکی از عناصر مهم غذایی در بسیاری از فعالیت‌های حیاتی نظیر ذخیره و انتقال انرژی، فتوسنتز، تنظیم فعالیت آنزیم‌ها و انتقال کربوهیدرات‌ها ضروری است (هیو و اسمیدهالتر، 2005). با وجود چنین نقش‌های مهمی در گیاه، غلظت فسفر در گیاه می‌تواند تعادل آبی گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. قارچ‌های میکوریز با افزایش سرعت جذب فسفر، مقدار فسفر جذب شده در واحد طول ریشه و واحد زمان (تینکر و همکاران، 1992)، ترشح آنزیم‌های فسفاتاز (نرلینگ و همکاران، 1996، ترفدار و مارشنر، 1994)، برقراری ارتباط تشدید بین

علی‌رغم کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه با افزایش تنش خشکی پاسخ رشد میکوریزی که در واقع بیانی است از وابستگی میکوریزی، افزایش یافت. در بالاترین سطح تنش خشکی، درصد وابستگی میکوریزی تره شادگان 356/15 درصد، تره اصفهان 285/54 درصد و تره کارنتان 257/14 درصد بود (جدول 4). این نتایج نشان می‌دهد که فرضیه بلیس تحت تنش خشکی نیز صدق می‌کند. در واقع، گیاه میزبان با افزایش تنش خشکی به منظور جلوگیری از کاهش بیشتر زیست توده وابستگی خود را به قارچ میکوریز افزایش داده است. بعضی از مطالعات نشان می‌دهد زمانی که گیاه میزبان تحت تنش‌های مختلف نظیر شوری (فرچیل و همکاران، 2001)، خشکی (نادیان، 1390) و تراکم خاک (کوتاری و همکاران، 1996) قرار می‌گیرند به منظور کاهش اثرات سوء تنش اقدام به افزایش بیشتر وابستگی خود به قارچ همزیست می‌نمایند.

غلظت پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که هر سه تیمار تنش خشکی، قارچ میکوریز و ژنوتیپ گیاه اثر معنی‌داری بر میزان پرولین برگ‌ها داشتند (در سطح احتمال یک درصد، جدول 2). در تیمارهای غیرمیکوریزی با افزایش شدت تنش خشکی، تجمع پرولین در برگ‌ها افزایش یافت، اما حضور قارچ میکوریز باعث کاهش غلظت پرولین در کلیه سطوح تنش خشکی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی گردید (جدول 5). پرولین یک اسید آمینه مهم در گیاه است که در شرایط تنش خشکی از اکسیداسیون درون سلولی و تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند و همچنین فشار اسمزی گیاه را برای جذب آب تنظیم می‌کند (جلیلی مرندي، 1389). وندراسکول و همکاران (2007) اظهار داشتند که پرولین به دلیل داشتن توانایی در مقابله با تنش اکسایشی، نقش مهمی در ساز و کارهای مقاومت علیه تنش خشکی ایفا می‌کند و این از مهمترین ساز و کارهای گیاهان در غلبه بر اثرات تنش خشکی می‌باشد.

در شرایط تنش خشکی، مقدار پرولین در تره‌های میکوریزی کمتر از تره‌های غیرمیکوریزی بود و نشان می‌دهد که تغییرات سنتز این اسید آمینه با تلقیح میکروبی و تحمل خشکی مرتبط است. از آنجایی که قارچ‌های آربسکولار- میکوریز به بهبود رشد گیاه میزبان در شرایط تنش خشکی کمک می‌کنند، گیاهان میکوریزایی مقادیر کمتری از پرولین را نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی سنتز می‌کنند. در حالی که گیاهان غیرمیکوریزایی برای حفظ بقاء خود به پرولین به عنوان

جانشین پتاسیم شود اما از آنجایی که کاهش پتانسیل آب در اندام هوایی گیاه بیشتر از ریشه است، وجود یون پتاسیم برای تنظیم فشار اسمزی به خصوص در اندام هوایی ضروری می‌باشد. به همین دلیل غلظت یون پتاسیم در تمامی سطوح تنش به میزان تقریباً ثابتی بیشتر از یون سدیم بوده است. البته، اگرچه سدیم می‌تواند موجب حفظ تورژسانس سلول گردد، اما جانشین مناسب برای پتاسیم نمی‌باشد. زیرا پتاسیم به طور اختصاصی در فعالیت آنزیم‌ها ضروری است که سدیم قادر به انجام این پدیده نمی‌باشد. همچنین آنزیم‌های سیتوپلاسم به سدیم حساس هستند و حفظ نسبت بالای پتاسیم امر ضروری می‌باشد (جلیلی مرندي، 1389).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که حضور قارچ گلواموس/پتیرا/ادیسس توانست اثرهای تنش خشکی را در هر سه ژنوتیپ گیاه با افزایش جذب بیشتر فسفر، پتاسیم و روی که منجر به افزایش مؤلفه‌های رشدی گیاه گردید، تعدیل نماید. پاسخ سه ژنوتیپ تره به همزیستی میکوریزی تحت تنش خشکی به ریخت‌شناسی ریشه بستگی داشت. نتایج این مطالعه به روشنی نشان می‌دهد که تره شادگان با ریشه‌های کم انشعاب، کوتاه و نازک در تمام سطوح تنش خشکی دارای وابستگی میکوریزی بیشتر است و این تأییدی است بر فرضیه بیلنس حتی در شرایط تنش خشکی. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که کلونیزاسیون میکوریزایی مقاومت به خشکی گیاه میزبان را، نه از طریق تجمع پرولین، بلکه از طریق جذب بیشتر فسفر، پتاسیم و روی افزایش داده است.

قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های حل‌کننده فسفات (ایساک، 1992) به بهبود تغذیه گیاه میزبان کمک می‌کنند. تنش خشکی غلظت پتاسیم و روی را در تمام ژنوتیپ‌های میکوریزی و غیرمیکوریزی افزایش داد (جدول 6). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پتاسیم و روی مربوط به تیمار میکوریزی تره شادگان در سطح سوم تنش خشکی (80 درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک) به ترتیب با میانگین 38/9 (گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه) و 228/3 (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه) بود و کمترین غلظت پتاسیم مربوط به تره غیرمیکوریزی شادگان در تیمار شاهد (40 درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک) با میانگین 16/9 (گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه) و کمترین غلظت روی مربوط به تره غیرمیکوریزی کارنتان 2 در تیمار شاهد با میانگین 72/2 (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه) بود.

افزایش غلظت پتاسیم و روی در شرایط تنش خشکی به دلیل نقش این عناصر در تنظیم فشار اسمزی نسبت داده شده است (علی‌اصغر زاد و همکاران، 2009). علاوه بر این در شرایط تنش خشکی، تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن¹ در اثر انتقال الکترون فتوسنتزی و یا در اثر فعالیت آنزیم NADPH اکسیداز، موجب آسیب سلولی و در نتیجه کاهش رشد گیاهان می‌شود. از بین عناصر غذایی، عناصر پتاسیم و روی از فعالیت آنزیم NADPH اکسیداز جلوگیری می‌کنند و بنابراین از گیاه در برابر آسیب ایجاد شده در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش حفاظت می‌کنند (کاک‌ماک، 2006). علاوه بر موارد فوق در کاهش تنش خشکی توسط قارچ‌های میکوریزا، وجود شبکه گسترده میسلیم‌های قارچ به عنوان ادامه سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان امکان جذب آب را از مناطق دور از دسترس گیاه فراهم می‌سازد (اسمیت و رید، 2008؛ نلسون و سفیر، 1982).

با افزایش شدت تنش خشکی، غلظت سدیم در اندام هوایی گیاه افزایش یافت. کلونیزاسیون میکوریزی غلظت سدیم را در تمام گیاهان و در تمام سطوح تنش خشکی بطور معنی‌داری کاهش داد (جدول 6). بیشترین غلظت یون سدیم مربوط به تره غیرمیکوریزی شادگان تحت سطح سوم تنش خشکی با میانگین 18/49 گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه بود و کمترین مقدار این یون مربوط به تیمار میکوریزی تره شادگان در تیمار شاهد با میانگین 4/69 گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه بود (جدول 6). سدیم می‌تواند در برخی از فرآیندهای سلولی

¹ Reactive Oxygen Species

جدول 1- برخی از مهم ترین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

پارامتر	مقدار
پهش خاک	7/6
هدایت الکتریکی ^A (دسی زیمنس بر متر)	2/2
فسفر قابل جذب ^B (میلی گرم بر کیلوگرم)	3/2
رطوبت در حد ظرفیت مزرعه (درصد وزنی)	13
رطوبت در نقطه پژمردگی دائم (درصد وزنی)	6
ترکیب مکانیکی ذرات خاک	
شن (درصد)	65/5
سیلت (درصد)	15/4
رس (درصد)	19/1

A: هدایت الکتریکی در عصاره اشباع

B: استخراج با بی کرینات سدیم (اولسن و سامرس، 1982)

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) داده های مربوط به وابستگی میکوریزی، کلنی شدن ریشه و وزن خشک ریشه تحت تأثیر تنش خشکی، قارچ میکوریز و ژنوتیپ های تره

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
پرولین	وابستگی میکوریزی	کلونیزاسیون ریشه	طول ریشه کلونی شده	وزن ماده خشک ریشه		
0/164**	30/947*	1/051**	2/49**	256/24**	3	بلوک
194/16**	31205/989**	874/710**	1627/26**	267125/1**	2	تنش
0/916**	18679/955**	114/679**	237/13**	27729/5**	2	ژنوتیپ
195/66**	913796/527**	28278/780**	17177/6**	1976734/7**	1	قارچ
0/902**	1441/094**	0/469ns	19/84**	143/2**	4	تنش X ژنوتیپ
19/25**	31205/989**	874/710**	1627/26**	94680/9**	2	تنش X قارچ
8/94**	18679/955**	114/679**	237/13**	25328/09**	2	ژنوتیپ X قارچ
0/884**	1441/094**	0/469ns	19/84**	1209/2**	4	تنش X ژنوتیپ X قارچ
0/017	7/997	0/241	0/530	19/045	51	خطا
1/93	2/51	2/48	4/71	1/59		ضریب تغییرات %

**= معنی دار در سطح احتمال 1 درصد * = معنی دار در سطح احتمال 5 درصد ns = غیر معنی دار

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) داده های مربوط به غلظت فسفر، سدیم، پتاسیم و روی در برگ سه ژنوتیپ تره تحت تاثیر تنش خشکی و قارچ میکوریز

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		غلظت سدیم برگ	غلظت پتاسیم برگ	مقدار فسفر برگ	غلظت فسفر برگ
بلوک	3	0/050ns	0/605 *	369/934 **	929/566**
تنش	2	187/85**	735/026**	714817/07**	1394754/2**
ژنوتیپ	2	5/228**	11/805**	2441/24**	1632/063**
قارچ	1	616/356**	1145/689**	3368349/04**	8044801/73**
تنش X ژنوتیپ	4	1/259**	2/126**	569/786**	1026/115**
تنش X قارچ	2	8/738**	0/539*	157552/96**	4104/70**
ژنوتیپ X قارچ	2	34/333**	43/509**	20950/87**	27638/079**
تنش X ژنوتیپ X قارچ	4	0/662**	2/270**	782/86**	1087/910**
خطا	51	0/029	0/161	61/70	192/762
ضریب تغییرات %		1/56	1/47	2/19	0/7

**= معنی دار در سطح احتمال 1 درصد *= معنی دار در سطح احتمال 5 درصد ns= غیر معنی دار

جدول 4- وزن ماده خشک ریشه، مجموع طول ریشه کلونی شده و وابستگی میکوریزی سه ژنوتیپ تره میکوریزی (M) و غیرمیکوریزی (NM) تحت تنش خشکی

ژنوتیپ گیاه	تنش خشکی	وزن ماده خشک ریشه (گرم در گلدان)		مجموع طول ریشه کلونی شده (سانتی متر در گلدان)	وابستگی میکوریزی (درصد)
		NM	M	M	M
شادگان	T ₁	0/135 k	0/664 a	50/04 b	187/48 f
	T ₂	0/097 n	0/497 d	28/92 e	309/06 b
	T ₃	0/065 p	0/295 g	16/50 h	356/15 a
اصفهان	T ₁	0/169 i	0/628 b	57/84 a	158/21 g
	T ₂	0/117 l	0/486 e	32/05 d	211/54 e
	T ₃	0/081 o	0/300 g	20/10 g	285/54 c
کارتان 2	T ₁	0/155j	0/522 c	38/29 c	121/1 i
	T ₂	0/109 m	0/364 f	22/12 f	141/60 h
	T ₃	0/055 q	0/210 h	12/17 i	257/14 d

T₁ و T₂ به ترتیب شامل: آبیاری پس از تخلیه 40 ، 60 و 80 درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک
اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار هستند (آزمون دانکن در سطح 5 درصد)

جدول 5- غلظت و محتوای فسفر و غلظت پرولین در برگ سه ژنوتیپ تره میکوریزی (M) و غیرمیکوریزی (NM) تحت تنش خشکی

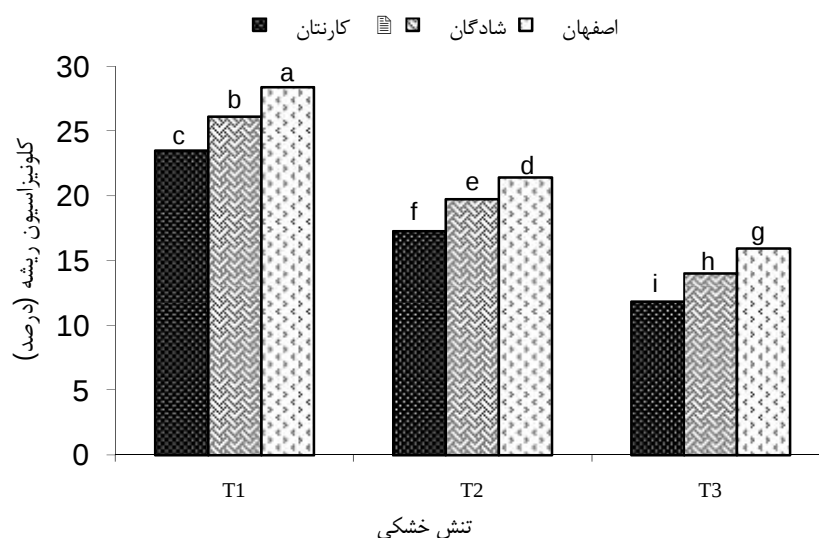
ژنوتیپ گیاه	تنش خشکی	غلظت فسفر		مقدار فسفر		غلظت پرولین	
		(میکروگرم در گرم ماده خشک گیاه)		(میلی گرم در گلدان)		(میکرومول در گرم وزن تر برگ)	
		NM	M	NM	M	NM	M
شادگان	T ₁	1819/8 k	2576/2 a	213/8 k	870/7 a	5/26 k	2/78 q
	T ₂	1609/8 n	2354/2 d	103/03 n	616/2 d	9/33 d	4/57 m
	T ₃	1354/5q	2082/9 f	49/4 p	346/3 g	13/27a	6/58 i
اصفهان	T ₁	1866/2j	2547/2b	235/2j	828/5b	4/81 l	3/16 p
	T ₂	1651/9m	2336/2d	130/5 m	574/7 e	8/23 e	5/23 k
	T ₃	1444/7 o	2036/2 g	62/1 o	337/5 g	11/14 c	6/88 h
کارتان 2	T ₁	1888/6i	2509/3 c	267/3i	783/6 c	4/22 n	3/39 o
	T ₂	1689/8 l	2304/4 e	162/7 l	536/1 f	7/20 g	5/88 j
	T ₃	1404/2 p	1999/6 h	54/8 op	278/5h	12/27 b	7/60f

T₁ و T₂ و T₃ به ترتیب شامل: آبیاری پس از تخلیه 40، 60 و 80 درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار هستند (آزمون دانکن در سطح 5 درصد)

جدول 6- غلظت عناصر پتاسیم، روی و سدیم در برگ سه ژنوتیپ تره میکوریزی (M) و غیرمیکوریزی (NM) تحت تنش خشکی

ژنوتیپ گیاه	تنش خشکی	غلظت پتاسیم		غلظت روی		غلظت سدیم	
		(گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه)		(میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه)		(گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه)	
		NM	M	NM	M	NM	M
شادگان	T ₁	16/92 n	27/9 g	89/17 k	137/76 f	11/59 g	4/69 o
	T ₂	22/05 k	33/13 d	115/52 i	188/11 d	14/51 d	6/64 m
	T ₃	28/21 fg	38/98 a	133/94 g	228/30 a	18/50 a	8/50 k
اصفهان	T ₁	17/99 m	26/01 h	89/25 k	126/47 h	10/73 h	5/73 n
	T ₂	23/44 j	30/53 e	114/96 i	175/72 e	13/52 e	7/44 l
	T ₃	30/52 e	37/34 b	134/75 g	219/78 b	16/47 c	10/03 i
کارتان 2	T ₁	19/46 l	24/13 i	72/21 l	116/00 i	9/88 i	7/38 l
	T ₂	23/55 j	28/59 f	89/14 k	174/70e	12/33f	9/51 j
	T ₃	28/13 fg	35/46 c	109/70 j	198/02c	17/49 b	12/42 f

T₁ و T₂ و T₃ به ترتیب شامل: آبیاری پس از تخلیه 40، 60 و 80 درصد آب قابل استفاده گیاه در خاک اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی دار هستند (آزمون دانکن در سطح 5 درصد)



شکل 1- درصد کلونیزاسیون ریشه سه ژنوتیپ تره (کارتان 2، شادگان و اصفهان) تحت سطوح تنش خشکی (T_1 ، T_2 ، T_3) به ترتیب 40، 60 و 80 درصد تخلیه آب قابل استفاده گیاه در خاک

فهرست منابع:

1. جلیلی مرندی، ر. 1389. فیزیولوژی تنش‌های محیطی و مکانیسم‌های مقاومت در گیاهان باغی (درختان میوه، سبزی‌ها، گیاهان زینتی و گیاهان دارویی). جلد اول. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد ارومیه. 636.
2. نادیان، ح. 1390. اثر تنش خشکی و همزیستی میکوریزا بر رشد و جذب فسفر توسط دو رقم سورگوم متفاوت در ریخت‌شناسی ریشه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی (علوم آب و خاک)، 57: 25-37.
3. Aliabadi Farahani, M.H., Lebaschi, H., Shiranirad, A.M., Valadabadi, A.R., and Daneshian, J. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, different levels of phosphorus and drought stress on water use efficiency, relative water content and proline accumulation rate of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Journal of Medicinal Plants Research, 2(6): 125-131.
4. Aliasgharzad, N., Bolandnazar, S. A., Neyeshabouri, M. R. and Chaparzadeh, N. 2009. Impact of soil sterilization and irrigation intervals on P and K acquisition by mycorrhizal onion (*Allium cepa* L.). Biologicals (London). 64(3): 512-515.
5. Amiri, M. J. and Eslamian, S. S. 2010. Investigation of climate change in Iran. Journal of Environmental Science and Technology, 3: 208-216.
6. Aroca, R., Vernieri, P. and Ruiz-Lozano, J. M. 2008. Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Lactuca sativa* plants exhibit contrasting responses to exogenous ABA during drought stress and recovery. Journal of Experimental Botany. 59: 2029-2041.
7. Azco'n, R. and Tobar, R. M. 1998. Activity of nitrate reductase and glutamine synthetase in shoot and root of mycorrhizal *Allium cepa* Effect of drought stress. Plant Science, 133 : 1-8.
8. Balys, G. 1975. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: Endomycorrhiza (Eds Sanders, F. E., Moss, B. and Tinker, P. B.). Academic Press London, 373- 389.

9. Baon, J.B., Smith, S.E., and Alston, A.M. 1994. Growth and phosphorus uptake of rye with long and short root hairs: interaction with mycorrhizal infection. *Plant and Soil*, 167: 247-254.
10. Bates, L.S., Waldran, R.P., and Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and soil*, 39: 205-208.
11. Bengough, A.G., Bransby, M.F., Hans, J., McKenna, S.J., Roberts, T.J., and Valentine, T. A. 2006. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. *Journal of Experimental Botany*, 57: 437-447.
12. Bhosale, K.S., and Shinde, B.P. 2011. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on proline and chlorophyll content in *Zingiber officinale rosc* grown under water stress. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 1(3): 172-176.
13. Bolandnazar, S., Aliasgarzad, N., Neishabury, M. R. and Chaparzadeh, N. 2007. Mycorrhizal colonization improves onion (*Allium cepa* L.) yield and water use efficiency under water deficit condition. *Scientia Horticulturae*, 114 : 11-15.
14. Cakmak, I. 2006. Role of mineral nutrients in tolerance of crop plants to environmental stress factors. *Faculty of Engineering and Natural Sciences*, 35-48.
15. Dubos, C. and Plomion, C. 2003. Identification of water-deficit responsive genes in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) roots. *Plant Molecular Biology*, 51: 249-262.
16. Fagbola, O., Osonubi, O., Mulongox, K., Odunfa, S.A., 2001. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhiza on the growth of *Gliricidia sepium* (Jacq). Walp, *Leucaenal leucocephala* (Lam). De wit. In simulated eroded soil conditions. *Mycorrhiza*, 11: 215-223.
17. Fitter, A. H. 1989. An ecological flora. *Bulletin of British Ecological Society*, 20: 199-200.
18. Frechill, S., Lasa, B., Ibarretxe, L., Lamsfus, C. and Aparicio-Trejo, P. 2001. Pea response to saline stress is affected by the source of nitrogen nutrition (ammonium or nitrate). *Plant Growth Regulators*, 35(2): 171-179.
19. Goicoechea, N., Antolín, M. C., Strnad, M. And Sánchez-Díaz, M. 1996. Root cytokinins, acid phosphatase and nodule activity in drought-stressed mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa plants. *Journal of Experimental Botany*. 47(298): 683-686.
20. Hu, Y. and Schmidhalter, U. 2005. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition*. 168: 541-549.
21. Isaac, S., 1992. Fungal-plant interactions. Chapman and Hall publisher Jakobsen. I. 1995. Transport of phosphorus and carbon in VA Mycorrhizas in. *Mycorrhizas, structure, function, Molecular Biology and Biotechnology*. A VArman and B. Hock(eds). Springer-verlage. Berlin, 297-324.
22. Kothari, S.K. and Sing, U.B. 1996. Response of citronella Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) to VA mycorrhizal fungi and soil compaction in relation to P supply. *Plant and Soil*, 178: 231-237.
23. Lindsay, W. L. and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42: 421-428.
24. Masoudi-Sadaghiani, F., Abdollahi- Mandoulakani, B., Zardoshti -Mohammad, R., Rasouli-Sadaghiani, M.H., and Tavakoli, A. 2011. Response of proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.) to different irrigation regimes in greenhouse condition. *Australian Journal of Crop Science*, 5(1): 55-60.
25. Misra, R.K., Dexter, A.R., and Alston, A.M. 1986. Maximum axial and radial growth pressures of plant roots. *Plant and Soil*, 95: 315-326.

26. Nadian, H., Smith, S.E., Alston, A.M., Murray, R. S. and Siebert, B. D. 1998. Effects of soil compaction on phosphorus uptake and growth of P *Trifolium subterraneum* colonized by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 139: 155-165.
27. Nelson, C.E., and Safir, G.R. 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. *Planta*, 154: 407-413.
28. Nurlaeng, N., H. Marschner and E. George, 1996. Effects of Liminig and Mycorrhizal Goloization on soil phosphate depletion and phosphate uptake by maize and soybean. Grown in two tropical acid soil. *Plant and Soil*, 181: 275- 285.
29. Olsen, S. R., and Sommers, L. E. 1982. Phosphorus. In *Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties*, 2nd ed.; ed. A. L. Page, R. H. Miller, and D. R. Keeney, 403–430. Madison, Wisc: American Society of Agronomy.
30. Parry, M. A. J., Andralojc, P. J., Khan, S., Lea, P. J. and Keyes. A. J. 2002. Rubisco activity: drought stress. *Annals of Botany*. 89: 833-839.
31. Philips, J.M., and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55:158-161.
32. Porcel, R., and Ruiz-Lozano, J. M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 55(403): 1743-1750.
33. Premachandra, G. S., Hahn, D. T., Rhodes, D. and Joly, R. J. 1995. Leaf water relations and solute accumulation in two grain sorghum lines exhibiting contrasting drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 46(12):1833-1841.
34. Ruiz-Lozano, J. M., Azcon, R., and Gomez, M. 1995. Effects of Arbuscular-Mycorrhizal *Glomus* Species on Drought Tolerance: Physiological and Nutritional Plant Responses. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(2): 456–460.
35. Smith, S. E. 1982. Inflow of phosphate into mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of *Trifolium subterraneum* at different levels of soil phosphate. *New Phytologist*, 90: 293-303.
36. Smith, S.E., and Read, D. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. Academic Press. San Diego. California, USA, 769.
37. Soha, E. Khalil., Abdel-Aziz Nahed., G., and Abou Leil. Bedour., H. 2010. Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. *Journal of American Science*, 6(12): 33-44.
38. Tarafdar, J.C. and Marschner, H. 1994. Efficiency of VAM hyphae in utilization of organic phosphorus by wheat plants. *Soils Science and Plant Nutrition*, 40: 593-600.
39. Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. *Journal of Ecology*, 63(3): 995-1001.
40. Tinker, P.B., M.D. Johns and D.M. Durall, 1992. A functional comparison of Ecto and Endo- Mycorrhizas. *CAB Int wellingford UK*, 303-310.
41. Va'zquez, M. M., Azco'n, R. and Barea, J. M. 2001. Compatibility of a wild type and its genetically modified *Sinorhizobium* strain with two mycorrhizal fungi on *Medicago* species as affected by drought stress. *Plant Science*, 161 : 347–358.
42. Vendruscolo, A.C.G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J. and Vieira, L.G.C. 2007. Stress-induced synthesis of Proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology*, 164: 1367–1376.
43. Whitmore, A.P., and Whalley, W.R. 2009. Physical effects of soil drying on roots and crop growth. *Journal of Experimental Botany*, 60: 2845-2857.

تأثیر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های افزایش‌دهنده رشدی PGPR بر مقادیر سدیم و پتاسیم، هدایت روزنه‌ای و عملکرد گندم

مینا حق‌بهاری و رؤف سید شریفی¹

دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه محقق اردبیلی؛ m_bahari_agri@yahoo.com

دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی؛ raouf_ssharifi@yahoo.co

دریافت: 91/10/2 پذیرش: 92/10/24

چکیده

به منظور بررسی تأثیر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های PGPR بر سدیم و پتاسیم، هدایت روزنه‌ای و عملکرد گندم، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال تحت شرایط گلخانه 1390 اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل چهار سطح شوری خاک (صفر، 15، 30 و 60 میلی مولار از نمک NaCl) و چهار سطح تلقیح بذر با PGPR (عدم تلقیح بذر، تلقیح بذر با ازتوباکترکروکوکوم استرین 5 آزوسپیریلوم لیپوفروم استرین OF، سودوموناس پوتیدا استرین 186) بودند. نتایج نشان داد که عملکرد کمی و کیفی، هدایت روزنه‌ای و مقادیر سدیم و پتاسیم در ریشه و اندام‌های هوایی به طور معنی‌داری تحت تأثیر شوری خاک و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط شوری خاک، عملکرد دانه تک بوته، تعداد دانه در سنبله، وزن صد دانه، طول سنبله، وزن ریشه بواسطه تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت. با افزایش شوری خاک، نسبت پتاسیم به سدیم در ریشه و اندام‌های هوایی کاهش نشان داد. روند عکسی در حالت تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشدی مشاهده شد. حداکثر نسبت سدیم به پتاسیم در بالاترین سطح شوری و بدون تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد و کمترین آن در پایین‌ترین سطح شوری و تلقیح بذر با ازوسپیریلوم بدست آمد. بنابراین می‌توان پیشنهاد نمود که به منظور افزایش عملکرد کمی و کیفی، هدایت روزنه‌ای و کاهش نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و اندام‌های هوایی، تلقیح بذر گندم با ازوسپیریلوم انجام شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد، شوری، گندم، عملکرد

مقدمه

در قسمت‌های زیادی از جهان است (ترمات و مانوس، 2002). تقریباً 40% از مساحت مناطق تحت کشت جهان، از مشکلات بالقوه شوری برخوردار هستند (زهران، 1999). افزایش شوری خاک موجب کاهش محصول در بسیاری از گیاهان زراعی و در نتیجه تغییر در الگوی رشد گیاهان می‌شود (زهران، 1999). وظایف پتاسیم در

گندم گیاهی است که در سطح وسیع کشت می‌گردد و اهمیت اقتصادی آن بیش از سایر گیاهان زراعی است. حتی در مناطقی که به علت شرایط اقلیمی نامناسب، امکان تولید دیگر گیاهان زراعی مقدور نباشد، می‌توان کشت نمود (حدابنده، 1382). در میان تنش‌ها شوری عمده‌ترین عامل تهدید کننده برای تولید گیاهان

¹ نویسنده مسئول، آدرس: اردبیل، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی - گروه زراعت و اصلاح نباتات

گیاه شامل اثر کلونیدی، افزایش هیدراتاسیون، فعال کردن آنزیم‌های فتوسنتزی، تنظیم اسمزی و نقش آن در باز و بسته شدن روزنه هاست (کوچکی و نصیری محلاتی، 1373). در مقادیر بالای شوری، یون‌های پتاسیم کاهش و توسط یون سدیم جایگزین می‌شود که این عمل علاوه بر به هم زدن تعادل یونی موجب تغییر تورژسانس سلول‌های محافظ، اختلال در متابولیسم سلولی، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه و در نهایت به کاهش عملکرد منجر می‌شود (کوچکی و نصیری محلاتی، 1373).

بارسا و بارسا (1997) گزارش کردند که در شرایط شوری، افزایش مقاومت روزنه‌ای یک راهکار مناسب دفاعی برای بقای گیاه است. بروگنلی و بورکمن (1992) اظهار داشتند که در شرایط شوری به علت کاهش هدایت روزنه‌ای و محدودیت دسترسی به CO_2 برای واکنش‌های کربوکسیلاسیون (عباسی و خاوری نژاد، 1381)، میزان فتوسنتز کاهش می‌یابد. مشعوف و همکاران (1382)، ثابت تیموری و همکاران (1386) نیز کاهش هدایت روزنه‌ای را با افزایش شوری گزارش کردند. علاوه بر عوامل روزنه‌ای، عوامل غیر روزنه‌ای نیز موجب بازدارندگی فتوسنتز تحت تنش شوری می‌شود. این عوامل غیر روزنه‌ای به علت افزایش مقاومت نفوذ CO_2 در فاز مایع از دیواره مزوفیل به محل احیای CO_2 در کلروپلاست است و کارایی ریبولوز بی فسفات کربوکسیلاز - اکسیژناز را کاهش می‌دهد (دسنیق و کاناگراج، 2007).

یکی از استراتژی‌های مقابله با شوری، پیش تیمار بذر با انواع مختلفی از باکتری‌های مفید خاک زی است. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه یا PGPR² گروهی از باکتری‌ها هستند که می‌توانند به طور مستقیم (تثبیت نیتروژن، تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه و افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه، و یا به طور غیر مستقیم (تولید آنتی بیوتیک، رقابت با گونه‌های مضر برای اشغال ریشه، ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه و...) موجب افزایش رشد گیاه شوند. تپینگاند و زالسکا (1987)؛ عباس پور و همکاران (2009) در بررسی اثر شوری و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد دو رقم گندم ملاحظه کردند که پیش تیمار با باکتری‌های *Pseudomonas putida* 153,169 و *Pseudomonas fluorescens* 108,4 تأثیر قابل توجهی بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد داشت. آنان

اظهار داشتند که در شرایط غیر شوری و پیش تیمار بذر با باکتری عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، تعداد دانه در هر سنبله، وزن هزار دانه و تعداد پنجه به ترتیب تا حد 26، 23، 12، 28/2 و 23/9 درصد در مقایسه با عدم پیش تیمار افزایش یافت. عمر و همکاران (2009) در مطالعه تأثیر باکتری آزوسپریلیوم بر رشد و عملکرد دو رقم جو اظهار داشتند شوری رشد و عملکرد، رنگدانه‌های فتوسنتزی، ظرفیت فتوسنتزی و هدایت روزنه‌ای را کاهش داد و پیش تیمار با آزوسپریلیوم برازیلینس به طور معنی‌داری برخلاف شوری بر رشد و عملکرد اثر مثبت داشت. حسینیان و صبری (2005) گزارش کردند که تلقیح گندم با باکتری محرک رشد (*Pseudomonas sp.*) تحت شرایط تنش، از طریق کاهش جذب یون‌های سمی و افزایش تولید هورمون اکسین موجب تحریک رشد گیاه شد. بلیمو و همکاران (2002) اظهار داشتند که عملکرد دانه و رشد ریشه گیاهان تلقیح یافته با باکتری‌های محرک رشد به دلیل افزایش فعالیت ACC دآمیناز بهبود یافت و تلقیح کلزا با *Pseudomonas Putida* دارای توان تولید آنزیم ACC دی آمیناز در شرایط تنش دما (سردی هوا) و شوری، طولی شدن ریشه‌ها و افزایش رشد را به همراه داشت. رمضانین (1384) گزارش کرد که گندم تلقیح شده با سویه‌های ریزوبیومی مولد ACC دآمیناز از طول و وزن خشک ریشه و ساقه بیش‌تری نسبت به شاهد برخوردار بود. حاجیلو و همکاران (1389) اظهار داشتند که تغییرات ایجاد شده در مورفولوژی و افزایش سطح جذب ریشه در نتیجه تلقیح با باکتری، به دلیل افزایش جذب عناصر معدنی منجر به بهبود رشد در گیاهان می‌گردد. ندیم و همکاران (2007) گزارش دادند که گیاهان ذرت تلقیح شده با باکتری‌های تولید کننده ACC دآمیناز در شرایط شور، از رشد بیش‌تر و نسبت K^+/Na^+ و کلروفیل بالاتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده برخوردار بودند. ساراوانا کومار و سمپایون (2007) در بررسی اثر چهار سویه از باکتری‌های محرک رشدی گیاه اعلام نمودند که سویه *Pseudomonas fluorescences* بیشترین اثر را بر عملکرد گیاه بادام زمینی در کاهش اثر شوری داشت. آنها علت این امر را به وجود آنزیم ACC دآمیناز نسبت دادند. ساریچ و همکاران (1998) گزارش کردند که گیاهان سورگوم تلقیح یافته با آزوسپریلیوم، تنش خشکی و شوری را بهتر تحمل نموده و در شرایط کمبود رطوبت، پتانسیل آب برگ و هدایت روزنه‌ای بالاتری دارند. رالی (1991) نشان داد که مجاورت گیاه ارزن با آزوسپریلیوم در خاک‌های شور قلیایی موجب می‌شود تا بیوماس تولیدی و محتوای نیتروژن گیاهان تلقیح شده در مقایسه با نمونه‌های شاهد

¹ Plant Growth Promoting Rhizobacteria

هرگلدان برای اعمال تراکم 400 بذر در متر مربع که تراکم مطلوب و توصیه شده برای رقم شیرودی است، 40 عدد بذر به صورت ردیفی کشت شد. اولین آبیاری بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی بسته به شرایط محیطی و نیاز گیاه زراعی انجام شد. در طول دوره رشد، کنترل علف-های هرز به طریق دستی انجام شد. اعمال شوری در خاک با استفاده از نرم افزار Salt Calc انجام گردید. در این نرم افزار به اندازه‌گیری هدایت الکتریکی خاک و درصد عصاره اشباع نیاز است که با وارد نمودن داده‌های حاصل از اندازه‌گیری این دو پارامتر، مقدار گرم نمک لازم بر حسب میلی‌گرم در هر گرم خاک محاسبه می‌شود. در ضمن برای حفظ شوری در طول دوره رشد در زیر هر گلدان زیر گلدانی قرار داده شده بود تا بعد از سه تا چهار نوبت آبیاری مجدداً نمک‌های احتمالی وارد شده به زیر گلدانی دوباره در آب حل شده و به داخل هر گلدان برگشت داده شود. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای در دمای 20 تا 30 درجه سانتی‌گراد با طول دوره روشنایی 15-16 ساعت (با استفاده از ترکیبی از لامپ‌های معمولی و مهتابی) نگهداری شدند. مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در جدول 1 آورده شده است.

عمل استریل خاک مورد آزمایش با استفاده از اتوکلاو در دمای 120 درجه سانتی‌گراد و فشار بخار 1/2 اتمسفر به مدت 20 دقیقه انجام گرفت. هدایت روزنه‌ای در توسعه یافته‌ترین برگ هر بوته در مرحله ظهور برگ پرچم به وسیله دستگاه پورومتر (porometer، دیکاگن آمریکا) اندازه‌گیری شد. پس از خارج سازی ریشه‌ها از خاک، ریشه‌ها برای خشک شدن در آون با دمای 75 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت یا بیشتر (تا زمان تثبیت وزن خشک نهایی) قرار داده شد و سپس وزن خشک ریشه با ترازوی دیجیتالی با دقت 0/001 گرم توزین شد. حجم ریشه با استفاده از حجم مشخصی از آب در استوانه مدرج اندازه‌گیری شد به طوری که اختلاف حجم ایجاد شده پس از ورود ریشه‌ها در آب استوانه مدرج به عنوان حجم ریشه منظور گردید. از دستگاه طیف سنج اشعه‌ای (فلیم فتومتر) برای اندازه‌گیری غلظت عناصر سدیم و پتاسیم ریشه و اندام‌های هوایی استفاده شد (درویشی و همکاران، 1388). برای تعیین پروتئین دانه، میزان نیتروژن موجود در دانه با استفاده از روش کجلدال برآورد شده و با ضرب در عدد 6/25 درصد پروتئین دانه محاسبه گردید. در زمان رسیدگی تعداد 8 بوته به ظاهر یکنواخت و مشابه

افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کند. الورز و همکاران (1996) اظهار داشتند که تلقیح با *ازوسپیریلوم* موجب بهبود رشد و استقرار بهتر گیاهچه‌های گندم رشد یافته تحت شرایط تنش اسمزی می‌شود و گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، محتوای نسبی آب پروتوپلاستی بالاتری دارند که این امر احتمالاً به دلیل توسعه ریشه و جذب بهینه آب در ریشه گیاهان تلقیح شده در شرایط تنش اسمزی بوده است. واگار و همکاران (2004) در بررسی اثر تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر رشد و عملکرد گندم دریافتند که باکتری‌های دارای ACC - آمیناز از عملکرد دانه، وزن ریشه، طول ریشه و جذب نیتروژن بیشتری در کاه و دانه نسبت به شاهد برخوردار بودند. آنها تمامی این اثرات را به کاهش سطح اتیلن در گیاه در اثر تلقیح با باکتری واجد ACC دآمیناز نسبت دادند. به دلیل اهمیت شوری خاک در تعیین سطح زیر کشت گندم و نقش باکتری‌های محرک رشد در تعدیل یا کاهش اثر شوری و کمی بررسی‌های انجام یافته، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر پیش تیمار چند جنس از این باکتری‌ها در شرایط شوری بر عملکرد کمی و کیفی، هدایت روزنه‌ای و تجمع سدیم و پتاسیم گندم اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سه جنس از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر عملکرد گندم در شرایط شوری خاک، آزمایشی در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عامل اول شامل پیش تیماربذر با باکتری در چهار سطح شامل ازتوباکتر کروکوکوم استرین 5، *ازوسپیریلوم* لیپوفروم استرین OF و سودوموناس پوتیدا استرین 186 و بدون پیش تیمار با باکتری به عنوان شاهد و عامل دوم چهار سطح شوری شامل (استفاده از خاک معمولی به عنوان شاهد، اعمال شوری‌های 15، 30 و 60 میلی مولار از نمک NaCl) بود. باکتری‌های فوق از موسسه تحقیقات آب و خاک تهیه شدند. تراکم جمعیت باکتری در مایه تلقیح 10^7 سلول به ازای هر گرم مایه تلقیح بود و برای تلقیح بذرها میزان هفت گرم مایه تلقیح که هر گرم آن دارای 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بود، استفاده گردید. پس از سه بار شستشو با آب مقطر تلقیح بذر با باکتری‌ها انجام شد. از صمغ عربی برای ایجاد چسبندگی بهتر بذر با باکتری استفاده شد. رقم گندم مورد استفاده شیرودی بود که از شرکت کشت و صنعت مغان تهیه شد. این رقم پاییزه بوده که بعد از ورنالیزاسیون اقدام به کشت شد. در

برداشت گردید سپس صفات مختلف مانند طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن صد دانه و عملکرد تک بوته در 8 بوته که به طور تصادفی در هر گلدان مشخص شده بود اندازه‌گیری و میانگین داده‌های حاصل به عنوان ارزش آن صفت در تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر شوری، پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد و اثر ترکیب تیماری این دو عامل بر میزان سدیم ریشه و اندام هوایی، میزان پتاسیم ریشه و اندام هوایی، نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و اندام هوایی، نسبت سدیم پتاسیم ریشه به سدیم پتاسیم اندام هوایی در جدول 2 آورده شده است

میزان سدیم ریشه و اندام هوایی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین میزان سدیم ریشه و اندام هوایی (به ترتیب 33/723 و 34/153 میلی-گرم در گرم وزن خشک) در ترکیب تیماری عدم پیش تیمار بذر با باکتری در بالاترین سطح شوری و کمترین آنها (به ترتیب 15/597 و 14/741 میلی-گرم در گرم وزن خشک) در پیش تیمار بذر با آزوسپریلوم و عدم اعمال شوری حاصل شد (جدول 4). ندیم و همکاران (2007) گزارش دادند که گیاهان ذرت تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد تولید کننده ACC دآمیناز در شرایط شور، از رشد بیش‌تر نسبت K^+/Na^+ بالاتری برخوردار بودند. تری پتی و همکاران (1998) اظهار داشتند که آزوسپریلوم توانایی بیشتری به سنتز گلیسین بتائین نسبت به دیگر سویه‌ها دارد و در شرایط شور با تجمع مواد تنظیم کننده اسمزی می‌تواند در ایجاد شرایط مناسب برای افزایش تحمل به شوری کمک نماید. نتایج تحقیقات دیگر محققین نیز نشان می‌دهد که در اثر تلقیح با آزوسپریلوم میزان مقاومت به شوری افزایش می‌یابد. ساریچ و همکاران (1998) گزارش کردند که گیاهان سورگوم تلقیح یافته با آزوسپریلوم تنش خشکی و شوری را بهتر تحمل نموده و در شرایط کمبود رطوبت، پتانسیل آب برگ و هدایت روزنه‌ای بالاتری دارند. رای (1991) نشان داد که مجاورت گیاه ارزن با آزوسپریلوم در خاک‌های شور قلیایی موجب می‌شود تا بیوماس تولیدی و محتوای نیتروژن گیاهان تلقیح شده در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کند. الوارز و همکاران (1996) اظهار داشتند که تلقیح با آزوسپریلوم موجب بهبود رشد و استقرار بهتر گیاهچه‌های گندم رشد یافته تحت شرایط تنش اسمزی می‌شود و گیاهان تلقیح شده

در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، محتوای نسبی آب پروتوپلاستی بالاتری دارند که این امر احتمالاً به دلیل توسعه ریشه و جذب بهینه آب در ریشه گیاهان تلقیح شده در شرایط تنش اسمزی بوده است. واگار و همکاران (2004) در بررسی اثر تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر رشد و عملکرد گندم دریافتند که باکتری‌های دارای ACC - آمیناز از عملکرد دانه، وزن ریشه، طول ریشه و جذب نیتروژن بیشتری در کاه و دانه نسبت به شاهد برخوردار بودند. آنها تمامی این اثرات را به کاهش سطح اتیلن در گیاه در اثر تلقیح با باکتری واجد ACC دآمیناز نسبت دادند. اشرف (2004) اظهار داشت که در شرایط شور به دلیل وجود بیش از اندازه سدیم قابل تبادل، نسبت‌های بالایی از سدیم به پتاسیم در خاک ایجاد می‌شود. گیاهان در چنین محیط‌هایی مقدار زیادی سدیم جذب کنند، در حالی که جذب پتاسیم به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. چن و همکاران (2005) گزارش کردند شوری موجب افزایش مقدار سدیم در ریشه و اندام‌های هوایی شده و نسبت سدیم به پتاسیم را در این اندام‌ها کاهش داد. به دلیل افزایش ورود سدیم از طریق آوند آبکشی و یا ناکافی بودن ورود سدیم به واکوئل‌های سلول‌های برگ ممکن است مقدار سدیم در آپوپلاست افزایش یابد، سدیم زیاد ممکن است از ورود پتاسیم ممانعت کند و به این وسیله به طور غیر مستقیم مانع از بارگیری آوندهای آبکش گردد. الامجیر و همکاران (1997) در بررسی اثر شوری بر رشد گیاهچه‌های گندم بیان داشتند که شوری میزان سدیم را در ریشه و ساقه افزایش داد در حالی که محتوای پتاسیم با افزایش شوری کاهش یافت. واگار و همکاران (2004) افزایش معنی‌دار و قابل توجهی را در وزن و طول ریشه، جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم در کاه و دانه گندم نسبت به تیمار شاهد در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش نمودند. آنها تمامی این اثرات را به کاهش سطح اتیلن در گیاه در اثر تلقیح با باکتری واجد ACC دآمیناز نسبت داده و اعلام نمودند که این فعالیت در سویه‌های مختلف متفاوت می‌باشد و باکتری‌های با توان بالای تولید ACC دآمیناز، از کارایی بالاتری در جذب عناصری مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم برخوردار هستند و جذب بالای پتاسیم در چنین وضعیتی از تجمع سدیم ممانعت می‌کند. همدیا و الکومی (1997) نشان دادند که پیش تیمار ذرت با *Azospirillum sp* در شوری‌های بالای حاصل از نمک NaCl، منجر به افزایش جذب پتاسیم و کلسیم نسبت به شاهد (پیش تیمار نشده) گردید. ندیم و همکاران (2006) در پیش تیمار با PGPR تحت تنش شوری مشاهده کردند که پیش تیمار با PGPR جذب یون‌های سدیم و کلر را

ریشه در واکوئل نگهداشته شده و جهت تنظیم اسمزی از آن استفاده می‌شود (بارسا و بارسا، 1997). راثو و وارا (1985) معتقدند که سویه‌های مقاوم به شوری با استفاده از محافظ‌های اسمزی مناسب نظیر پرولین و گلیسین و کاهش نسبت K^+/Na^+ مقاومت گیاه را نسبت به شرایط شور افزایش می‌دهند. سینکتون و بهلول (1984) پیشنهاد کردند که حفظ نسبت پتاسیم به سدیم بالای بافت به عنوان معیاری برای تحمل به شوری است. اسکاچمن و همکاران (1991) اظهار داشتند که بین غلظت سدیم در برگ‌های گندم و بیوماس همبستگی منفی وجود داشت. باسیلیو و همکاران (2004) در تفسیر پدیده تعدیل تنش شوری کلرید سدیم توسط باکتری‌های محرک رشد در گندم اظهار کردند که این باکتری‌ها ممکن است بواسطه توان جذب بالای پتاسیم در مقایسه با سدیم، بهبود جذب آب و در نتیجه افزایش فشار تورمی در پتانسیل کم آب در بذرها پیش‌تیمار شده، منجر به بروز چنین واکنشی شده باشد.

نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و اندام هوایی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین نسبت سدیم به پتاسیم ریشه (2/883) و اندام هوایی (2/71) در ترکیب تیماری عدم پیش‌تیمار بذر با باکتری در بالاترین سطح شوری و کمترین مقادیر آنها (0/97 و 0/87) در عدم اعمال شوری و پیش‌تیمار بذر با آزوسپریلوم حاصل شد (جدول 4).

نسبت سدیم پتاسیم ریشه به سدیم پتاسیم اندام هوایی

بیشترین این نسبت در پیش‌تیمار با آزوسپریلوم (1/099) و کمترین آن در عدم پیش‌تیمار (1/058) به دست آمد. این بدین معنی است که در پیش‌تیمار با آزوسپریلوم میزان انتقال سدیم از ریشه به اندام هوایی کاهش می‌یابد و به نظر می‌رسد همین امر عامل مؤثری در کاهش یا تعدیل اثر شوری به واسطه پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد باشد. ندیم و همکاران (2007) گزارش دادند که گیاهان ذرت تلقیح شده با باکتری‌های تولید کننده ACC دآمیناز در شرایط شور، از رشد بیش‌ترو نسبت K^+/Na^+ بالاتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده برخوردار بودند. تری پتی و همکاران (1998) اظهار داشتند که آزوسپریلوم توانایی بیشتری به سنتر گلیسین بتائین نسبت به دیگر سویه‌ها دارد و در شرایط شور با تجمع مواد تنظیم کننده اسمتیک احتمالاً در ایجاد شرایط مناسب برای تحمل به شوری کمک می‌کند. تاج بخش و همکاران (2006) در ارزیابی ارقام مقاوم به شوری جو در

محدود و تجمع نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در اندام‌های هوایی در مقایسه با شاهد افزایش داد. راثو و وارا (1985) معتقدند که سویه‌های مقاوم به شوری با استفاده از محافظ‌های اسمزی مناسب نظیر پرولین و گلیسین بتائین مقاومت خود را نسبت به شرایط شور افزایش می‌دهند.

میزان پتاسیم ریشه و اندام هوایی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین میزان پتاسیم ریشه و اندام هوایی (به ترتیب 15/45 و 16/35 میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در پیش‌تیمار بذر با آزوسپریلوم و کمترین آنها (به ترتیب 12/67 و 13/56 میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در حالت عدم پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد حاصل شد (جدول 3). در سطوح مختلف شوری نیز بیشترین و کمترین میزان پتاسیم ریشه (به ترتیب 14/92 و 13/56 میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در عدم اعمال شوری و شوری 60 میلی‌مولار حاصل شد. در مورد اندام هوایی نیز بیشترین و کمترین میزان پتاسیم اندام هوایی (به ترتیب 16/35 و 13/56 میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در پیش‌تیمار بذر با آزوسپریلوم و عدم پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد حاصل شد. در سطوح مختلف شوری نیز بیشترین و کمترین میزان پتاسیم اندام هوایی (به ترتیب 15/81 و 14/46 میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در بالا ترین سطح شوری و عدم اعمال شوری حاصل شد (جدول 3). به عبارتی یکی از روش‌های تحمل به شوری در گیاهان کاهش جذب یون سدیم و یا به عبارت دیگر کاهش نسبت سدیم به پتاسیم در تیمارهای شوری نسبت به شاهد می‌باشد. به نظر می‌رسد پیش‌تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد توانسته‌اند تا حد زیادی موجب کاهش نسبت سدیم به پتاسیم در تیمارهای تحت تنش شوری شوند. به طوری که در نتایج حاصل از مقایسه میانگین میزان سدیم و پتاسیم ریشه و اندام‌های هوایی (جدول 3 و 4) چنین امری به وضوح مشاهده گردید. به عبارت دیگر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد توانسته‌اند تحمل گیاه را نسبت به شرایط شوری خاک افزایش دهند و همین امر موجب شده است کاهش عملکرد کمتری در شرایط تلقیح بذر با باکتری در مقایسه با عدم تلقیح مشاهده گردد. در بسیاری از گیاهان متحمل به شوری، این نسبت در شرایط شور نسبت به گیاهان حساس کمتر است و یا این‌که سدیم جذب شده در

مولار^x عدم پیش تیمار بذر با باکتری به دست آمد (شکل 1-د).

در تمام سطوح شوری پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد هدایت روزه‌ای را افزایش داد. ساریچ و همکاران (1998) گزارش کردند که گیاهان سورگوم تلقیح یافته با آزوسپیریوم تنش شوری را بهتر تحمل نموده و در شرایط کمبود رطوبت، پتانسیل آب برگ و هدایت روزه‌ای بالاتری دارند. به نظر می‌رسد پیش تیمار با باکتری موجب گسترش ریشه (جدول 5) و دسترسی بهتر به منابع آبی شده و از این طریق باعث کاهش آبسزیک اسید و افزایش هدایت روزه‌ای شده است. حسینیان و صبری (2005) گزارش کردند که تلقیح گندم با باکتری محرک رشد (*Pseudomonas sp.*) تحت شرایط تنش، از طریق کاهش جذب یون‌های سمی و افزایش تولید هورمون اکسین موجب تحریک رشد گیاه و باز شدن روزه‌ها می‌شود. ندیم و همکاران (2007) گزارش دادند که گیاهان ذرت تلقیح شده با باکتری‌های تولید کننده ACC دامیناز در شرایط شور، رشد بیش‌تری نسبت به گیاهان تلقیح نشده داشتند. در مقادیر بالای شوری مقدار یون‌های پتاسیم کاهش یافته و توسط یون سدیم جایگزین می‌شود. وظایف پتاسیم در گیاه شامل اثر کلوئیدی، افزایش هیدراتاسیون، فعال کردن آنزیم‌های فتوسنتزی، تنظیم اسمزی و نقش آن در باز و بسته شدن روزه هاست (کوچکی و نصیری محلاتی، 1373). با خارج شدن پتاسیم از روزه به دلیل کاهش هدایت و افزایش مقاومت روزه‌ای، روزه‌ها بسته می‌شوند. این نقش پتاسیم به علت تغییر تورژسانس سلول‌های محافظ، ناشی از تغییر پتانسیل اسمزی در این سلول‌ها می‌باشد (کوچکی و نصیری محلاتی، 1373). به نظر می‌رسد که باکتری‌های محرک رشد با افزایش جذب پتاسیم منجر به بهبود هدایت روزه‌ای می‌شوند به طوری که هم‌دیا و الکومی (1997) نشان دادند که پیش تیمار ذرت با *Azospirillum sp* در شوری‌های بالای حاصل از نمک NaCl به افزایش جذب مقادیر پتاسیم و کلسیم نسبت به شاهد منجر گردید. تنش‌های محیطی از جمله شوری، منجر به تغییر در باز و بسته شدن روزه‌ها می‌شود و با ادامه تنش و کاهش باز شدن روزه‌ها، تغییر در میزان غلظت دی اکسید کربن در محل‌های کربوکسیلاسیون، تحت تأثیر قرار گرفتن چرخه تثبیت کربن و پمپ پروتون را به دنبال دارد (نلسون و همکاران، 1998). به‌طور کلی با افزایش شوری، هدایت روزه‌ای کاهش و مقاومت آن افزایش می‌یابد و این امر در نهایت، به ممانعت از رشد گیاه که ناشی از تنش آبی است منجر می‌شود (چاترات و

مرحله گیاهچه‌ای اظهار داشتند که در ارقام مقاوم غلظت پتاسیم به طور معنی‌داری بالا بود و همین امر موجب گردید مقدار سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم کاهش یابد. ثابت شده است که ژنوتی‌های متحمل به شوری در گندم در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس جابجایی کندتری از سدیم را از ریشه به اندام‌های هوایی انجام می‌دهند (اسکاچمن و همکاران 1991). گیاهانی که تحمل شوری متوسطی دارند، توانایی بیشتری در دفع سدیم از ساقه و یا حداقل از پهنک برگ دارند و این وضعیت با نگهداری سطوح بالای پتاسیم مطابقت دارد، این همبستگی در گرامینه‌ها به خصوص گندم توسط گارسیا و همکاران (1997) گزارش شده است. در محیط‌های شور که غلظت سدیم زیاد است گیاهان مقادیر زیادی یون سدیم را به جای یون پتاسیم و کلسیم جذب می‌کنند که این امر با افزایش یون سدیم در محیط ریشه (بن لوچ و همکاران، 1994) و کمبود عناصر پتاسیم و کلسیم در گیاه (یاسن و جورگس، 1998) همراه خواهد بود و به دلیل اینکه یون نترات توسط آوندهای چوبی از ریشه به برگ‌ها حرکت می‌کند و پتاسیم موجب تحریک این فرآیند می‌شود، هرگاه یون‌های سدیم و کلر به مقدار زیاد وارد سیستم آوندی شوند یون سدیم از جذب یون پتاسیم ممانعت می‌نماید، کاهش میزان پتاسیم موجب کاهش انتقال نترات می‌شود در نتیجه به جای نترات، آنیون کلر و سدیم به برگ‌ها منتقل شده و در آنها تجمع می‌یابد (مس، 1986؛ سیلی برابوش و بن آشر، 1987). به نظر می‌رسد پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد منجر به تعدیل اثر شوری و یا کاهش محدودیت در جذب سدیم در مقایسه با پتاسیم می‌شود. در این راستا هم‌دیا و الکومی (1997) نشان دادند که پیش تیمار ذرت با *Azospirillum sp* در شوری‌های بالای حاصل از نمک NaCl، منجر به افزایش معنی‌دار جذب پتاسیم و کلسیم نسبت به شاهد گردید. ندیم و همکاران (2006) در پیش تیمار با PGPR تحت تنش شوری مشاهده کردند که پیش تیمار با PGPR جذب یون‌های سدیم و کلر را محدود کرد ولی تجمع نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در اندام‌های هوایی در مقایسه با شاهد افزایش داد.

هدایت روزه‌ای

نتایج نشان داد که بیشترین میزان هدایت روزه‌ای (97/43 میلی مول بر مترمربع در ثانیه) در ترکیب تیماری عدم اعمال شوری^x پیش تیمار با آزوسپیریوم (شکل 1-الف) و کمترین آن (6/58 میلی میلی مول بر مترمربع در ثانیه) در شوری 60 میلی

آزوسپیریوم اغلب به صورت افزایش درصد جوانه زنی، تعداد پنجه‌های تولیدی و وزن صد دانه در بررسی‌های مختلفی گزارش شده است (عموآقایی و همکاران 1381؛ باشان و همکاران 1990) افزایش وزن صد دانه در گیاه در اثر تلقیح با باکتری را می‌توان به نقش مثبت باکتری‌های محرک رشد در گسترش ریشه اعم از وزن و حجم (جدول 6) که به جذب آب و عناصر غذایی و انتقال آن به گیاه کمک می‌نماید نسبت داد که در نهایت به بهبود رشد و افزایش فتوسنتز گیاه منجر می‌شود.

درصد پروتئین دانه

با افزایش سطوح شوری، درصد پروتئین دانه کاهش یافت. بیشترین درصد پروتئین دانه (12/96) در ترکیب تیماری عدم اعمال شوری در تلقیح بذر با آزوسپیریوم و کمترین آن (9/54) در بالاترین سطح شوری (60 میلی مولار) و عدم تلقیح بذر با باکتری به دست آمد (جدول 3). افزایش محتوای نیتروژن دانه یا پروتئین خام دانه در اثر تلقیح با آزوسپیریوم توسط محققین مختلفی گزارش شده است (عموآقایی و همکاران 1381؛ رائو و وارلا 1985). بهارتای و هس (1993) اظهار داشتند که برخی از سویه‌های آزوسپیریوم تا 39/5 درصد پروتئین خام برخی از ارقام گندم را افزایش داده‌اند. به نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد توانسته‌اند با کمک به تثبیت نیتروژن باعث افزایش تولید پروتئین در شرایط تنش شوری شده و تا حدی آثار نامطلوب شوری را تخفیف دهند. در بررسی مکانیسم‌های تحمل به شوری و اثر متقابل تلقیح بذر با *Azospirillum brasilense* در ارقام ذرت رشد کرده در شرایط تنش شوری، حمدی و همکاران (2004) گزارش کردند که تحمل به شوری در ارقام تلقیح شده افزایش یافت و به افزایش پروتئین محلول در بخش هوایی و پروتئین کل ریشه در تیمارهای تحت تنش شوری منجر گردید. که با نتایج گزارش شده توسط گرامر و همکاران (1994)، همچنین سینگ و سینگ (1994)؛ اوکان و لاباندرا گونزالز (1994) مطابقت داشت.

وزن و حجم ریشه

بر اساس نتایج حاصله معلوم گردید که وزن ریشه با افزایش شوری خاک در تمامی ترکیبات تیماری کاهش یافت در بین ترکیبات تیماری پیش تیمار بذر با باکتری آزوسپیریوم در سطح شوری شاهد بیشترین وزن ریشه را به خود

همکاران، 2009). هم چنین گیاهان جهت کنترل وضعیت آبی خود دو مکانیسم هورمونی دارند که یکی از آنها تغییر در گشودگی منافذ روزنه است (لونا و همکاران، 2009). کاهش هدایت روزنه‌ای، بیان‌کننده تغییر در موقعیت اسمزی ریشه است که به سرعت روابط آبی را در اندام‌های هوایی تحت تأثیر قرار می‌دهد (رودریگوز و فراگا، 2009). شوری موجب تولید آبسزیک اسید در ریشه‌ها می‌شود که با انتقال به اندام هوایی، بسته شدن روزنه‌ها را به دنبال دارد و سرانجام رشد سلولی را محدود می‌کند. بسته شدن روزنه‌ها با ایجاد اختلال در تبادل گازی به تولید گونه‌های فعال اکسیژن منتهی می‌شود (اوزما و اصغری، 2006). کاهش هدایت روزنه‌ای، اولین واکنش دفاعی گیاه در برابر از دست دادن آب و عامل مهم در کنترل تثبیت کربن است (لونا و همکاران، 2009).

عملکرد کمی و کیفی و برخی دیگر از صفات

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر شوری، باکتری‌های محرک رشد و اثر ترکیب تیماری این دو عامل بر طول سنبله، دانه در سنبله، وزن صد دانه، وزن و حجم ریشه، درصد پروتئین دانه و عملکرد تک بوته معنی‌دار گردید (جدول 5).

طول سنبله و تعداد دانه در سنبله

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در سطوح مختلف شوری حاکی از آن است که بیشترین طول سنبله (8/960 سانتیمتر) در ترکیب تیماری عدم اعمال شوری و تلقیح با آزوسپیریوم و کمترین آن (6/556 سانتیمتر) در بالاترین سطح از شوری و عدم تلقیح بذر با باکتری به دست آمد (جدول 6) با افزایش سطوح شوری تعداد دانه در سنبله کاهش یافت. روند مشابهی نیز در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با تلقیح بذر با باکتری‌ها مشاهده گردید (جدول 7). ذبیحی و همکاران (1388)؛ خرم دل و همکاران (1387)؛ کافی و استوارت (1998) نشان دادند که با افزایش شوری، عملکرد و اجزای عملکرد نظیر دانه در سنبله، وزن دانه و طول سنبله کاهش و در حالت تلقیح با باکتری افزایش پیدا کرد.

وزن صد دانه

بیشترین وزن صد دانه (4/67 گرم) در ترکیب تیماری عدم اعمال شوری و تلقیح بذر با آزوسپیریوم و کمترین آن (3/26 گرم) در ترکیب تیماری عدم تلقیح بذر با باکتری و شوری 60 میلی مولار به دست آمد. پاسخ گیاهان به تلقیح با

حجم ریشه را در شرایط تلقیح بذر با باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد به افزایش هورمون‌های محرک رشد نسبت دادند.

عملکرد دانه

با افزایش سطوح شوری عملکرد دانه کاهش و با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری تلقیح بذر با باکتری-های محرک رشد در سطوح مختلف شوری حاکی از آن است که بیشترین عملکرد دانه ($1/02$ گرم در بوته) در تلقیح بذر با آزوسپیریوم $\times$ عدم اعمال شوری و کمترین آن ($0/48$ میلی‌گرم در بوته) در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری در بالاترین سطح از شوری (60 میلی‌مولار) برآورد گردید (جدول 6). به نظر می‌رسد در این آزمایش تلقیح بذر گندم با باکتری به دلیل کمک به گسترش و توسعه سیستم ریشه‌ای بهتر، موجب شده است گیاه مواد غذایی بیشتری جذب کرده و عملکرد را افزایش دهد. به طوری که در مقایسه میانگین صفات مربوط به ریشه (جدول 6) نیز مشاهده گردید که تلقیح بذر با باکتری باعث افزایش وزن و حجم ریشه شده است و همین امر می‌تواند با کمک به افزایش جذب مواد غذایی، دلیل دیگر افزایش عملکرد تک بوته تحت چنین شرایطی باشد. گلیک و همکاران (2001) نشان دادند که باکتری *putida* *Pseudomonas* GR12-2 که از باکتری‌های محرک رشد بوده و دارای توان تولید آنزیم ACC دامیناز است باعث افزایش وزن خشک ریشه و رشد گیاهچه‌های کلزا در حضور غلظت بالای نمک NaCl شد.

جمع‌بندی کلی

با افزایش سطوح شوری عملکرد و اجزای عملکرد دانه کاهش و در تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت. پرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد نسبت عدم تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد، در بهبود عملکرد کمی و کیفی تأثیر داشته است. طوری که بیشترین عملکرد دانه در پرایمینگ بذر با آزوسپیریوم $\times$ عدم اعمال شوری و کمترین آن در حالت عدم تلقیح بذر با باکتری در بالاترین سطح از شوری برآورد گردید. به نظر می‌رسد تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند با کاهش یا تعدیل اثر شوری در بهبود عملکرد کمی و کیفی حتی در شرایط تنش شوری مؤثر واقع شود.

اختصاص داد و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به عدم پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد در سطح شوری 60 میلی‌مولار بود (جدول 6). پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد اختلاف معنی‌داری از نظر وزن ریشه با شاهد ایجاد کرد. بیشترین وزن ریشه در سطح شوری شاهد مربوط به پیش تیمار بذر با باکتری آزوسپیریوم و کم‌ترین آن مربوط به عدم پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بود به نظر می‌رسد کاربرد باکتری‌های محرک رشد سبب تعدیل اثر مخرب شوری با افزایش سطح فعال ریشه از طریق رشد بیشتر ریشه شده است. همچنین با افزایش شدت شوری، وزن ریشه در تمامی ترکیبات تیماری کاهش یافت (جدول 6). به نظر می‌رسد علت آن با به هم خوردن توازن یونی در ریزوسفر و همچنین درون ریشه مرتبط باشد که موجب می‌شود فرایند جذب آب، بزرگ شدن سلول و در نتیجه رشد سلول‌ها کند شود. واگار و همکاران (2004) در بررسی اثر تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر رشد و عملکرد گندم دریافتند که باکتری‌های دارای ACC-آمیناز از وزن و طول ریشه بیشتری نسبت به شاهد برخوردار بودند. آنها تمامی این اثرات را به کاهش سطح اتیلن در گیاه در اثر تلقیح با باکتری واجد ACC دامیناز نسبت دادند.

با افزایش سطوح شوری، حجم ریشه کاهش و با پیش تیمار افزایش یافت. بیشترین حجم ریشه (6/66 سانتی‌متر مکعب) در عدم اعمال شوری و پیش تیمار با آزوسپیریوم و کمترین آن (2/46 سانتی‌متر مکعب) در سطح شوری 60 میلی‌مولار و عدم پیش تیمار با باکتری برآورد گردید (جدول 6). هامایی و همکاران (2001) دریافتند که در شرایط شور، آزوسپیریوم تعداد گره‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و رشد ریشه نخود را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. آنان دلیل این امر را به توانایی باکتری‌های محرک رشد در تولید هورمون‌های رشد گیاهی نسبت دادند. برزوئی و همکاران (1390) گزارش کردند که حجم ریشه با افزایش شوری، کاهش می‌یابد. در بسیاری از تحقیقات نشان داده شده است که پیش تیمار غلات با آزوسپیریوم سبب افزایش حجم و تعداد ریشه شده است (باشان و همکاران؛ 1989). مستاجران و همکاران (1384) این توسعه یا گسترش

جدول 1- مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده

مشخصه	pH	درصد اشباع	آهک	رس	سیلت	شن	بافت	کربن آلی	نیترژن	فسفر PPM	پتاسیم PPM
میزان	7/8	47	15	23	42	35	سیلتی لومی	0/62	0/062	290/82	212

جدول 2- تجزیه واریانس تأثیر شوری و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان جذب سدیم و پتاسیم ریشه و اندام هوایی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین						مربعات	
		میزان سدیم ریشه	میزان پتاسیم ریشه	نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	میزان سدیم اندام هوایی	میزان پتاسیم اندام هوایی	نسبت سدیم به پتاسیم در اندام هوایی	نسبت سدیم	نسبت پتاسیم
تکرار	2	0/393 ^{ns}	0/787	0/002 ^{ns}	0/154 ^{ns}	0/790 ^{ns}	0/0000395 ^{ns}	0/0010 ^{ns}	0/0000395 ^{ns}
باکتری	3	165/722 ^{**}	18/989 ^{**}	2/156 ^{**}	206/793 ^{**}	19/056 ^{**}	2/09691 ^{**}	0/0041 ^{**}	2/09691 ^{**}
شوری	3	143/502 ^{**}	5/259 ^{**}	1/316 ^{**}	153/535 ^{**}	5/251 ^{**}	1/1719 ^{**}	0/00073 ^{ns}	1/1719 ^{**}
شوری* باکتری	9	68/132 ^{**}	0/138 ^{ns}	0/754 ^{**}	79/677 ^{**}	0/138 ^{ns}	0/711 ^{**}	0/000121 ^{ns}	0/711 ^{**}
خطا	30	1/613	0/551	0/0291	1/344	0/550	0/0202	0/000782	0/0202
ضریب تغییرات	-	5/66	5/189	3/601	5/261	4/879	9/554	2/575	9/554

ns و * و ** به ترتیب به معنای غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

جدول 3- مقایسه میانگین اثر تنش شوری و پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان جذب سدیم و پتاسیم

تیمار	میزان پتاسیم ریشه	میزان پتاسیم اندام هوایی	نسبت سدیم پتاسیم ریشه به اندام هوایی
عدم پیش تیمار	12/67 ^c	13/56 ^c	1/058 ^b
پیش تیمار با ازتو باکتر	14/014 ^b	14/91 ^b	1/094 ^a
پیش تیمار با آزوسپریلوم	15/45 ^a	16/35 ^a	1/099 ^a
پیش تیمار با سودوموناس	15/12 ^a	16/019 ^a	1/091 ^a
عدم اعمال شوری	14/92 ^a	15/81 ^a	—
شوری 15 میلی مولار	14/81 ^a	15/71 ^a	—
شوری 30 میلی مولار	13/95 ^b	14/84 ^b	—
شوری 60 میلی مولار	13/56 ^b	14/46 ^b	—

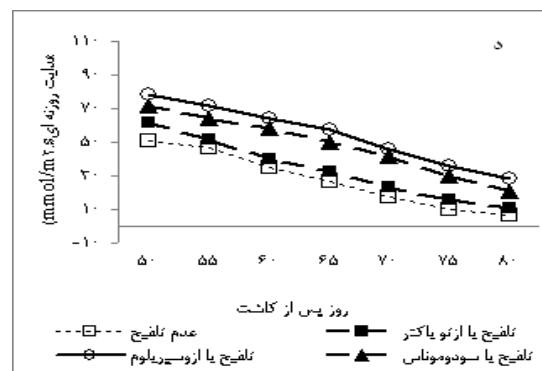
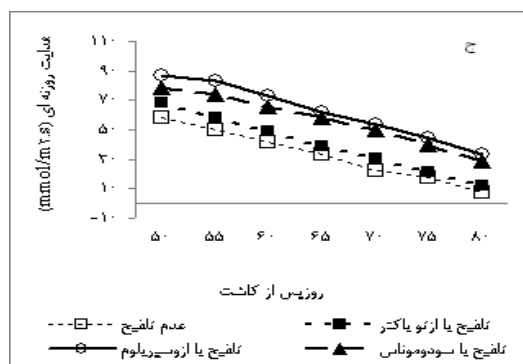
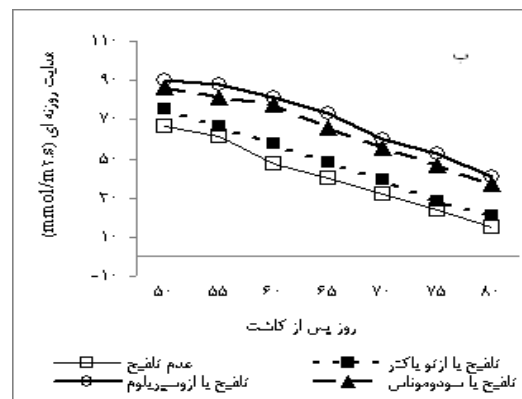
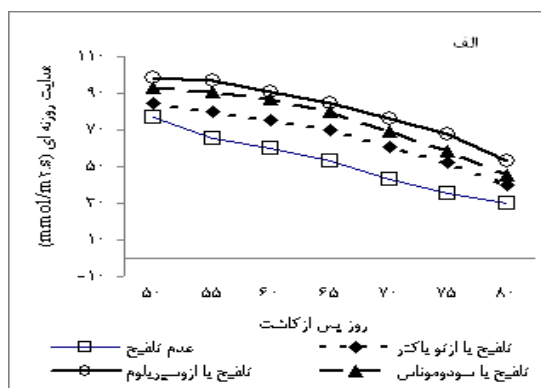
میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند

جدول 4- مقایسه میانگین تأثیر تنش شوری × پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر میزان جذب سدیم و پتاسیم ریشه و اندام هوایی

ترکیب تیماری	سدیم ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	سدیم اندام هوایی (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	سدیم به پتاسیم در ریشه (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	سدیم به پتاسیم در اندام (میلی گرم بر گرم وزن خشک)
عدم اعمال شوری × عدم پیش تیمار بذر	20/05 gfh	19/553 hig	1/55 ef	1/416 ef
عدم اعمال شوری × پیش تیمار با ازتوباکتر	18/44 hi	17/946 ij	1/263 hgi	1/156gh
عدم اعمال شوری × پیش تیمار با آزوسپریلوم	15/59 j	14/741 k	0/970 j	0/870 i
عدم اعمال شوری × پیش تیمار با سودوموناس	19/24 hgi	18/75 hi	1/2 hij	1/106 hgi

1/82 c	1/88 cd	26/113	25/247 cd	شوری 15 میلی مولار × عدم پیش تیمار بذر
1/4 ef	1/54 efg	21/533 ef	22/28 e	شوری 15 میلی مولار × پیش تیمار با ازتوباکتر
0/983 hi	1/096 ij	16/424 kj	17/32 ij	شوری 15 میلی مولار × پیش تیمار با آزوسپریلوم
1/186 fgh	1/283 fghi	19/433 hgi	19/86 fgh	شوری 15 میلی مولار × پیش تیمار با سودوموناس
2/276 b	2/386 b	30/383 b	29/703 b	شوری 30 میلی مولار × عدم پیش تیمار بذر
1/68 cd	1/84 cd	24/07 d	24/69 d	شوری 30 میلی مولار × پیش تیمار با ازتوباکتر
1/2 fgh	1/296 hgi	19/216 hgi	19/537 fgh	شوری 30 میلی مولار × پیش تیمار با آزوسپریلوم
1/286 efg	1/436 efg	20/02 fgh	21/027 efg	شوری 30 میلی مولار × پیش تیمار با سودوموناس
2/71 a	2/883 a	34/153 a	33/723 a	شوری 60 میلی مولار × عدم پیش تیمار بذر
1/873 c	2/046 c	26/73 c	27/35 c	شوری 60 میلی مولار × پیش تیمار با ازتوباکتر
1/33 efg	1/443 efg	20/913 efg	21/41 ef	شوری 60 میلی مولار × پیش تیمار با آزوسپریلوم
1/51 ed	1/64 ed	22/71 ed	23/143 e	شوری 60 میلی مولار × پیش تیمار با سودوموناس

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری با هم ندارند



شکل 1- روند تغییرات هدایت روزنه‌ای برگ در عدم اعمال شوری (الف)، شوری 15 میلی مولار (ب)، شوری 30 میلی مولار (ج) و شوری 60 میلی مولار (د) در پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد

جدول 5- تجزیه واریانس تأثیر شوری و باکتری های محرک رشد بر عملکرد و برخی صفات مرتبط با عملکرد گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	طول سنبله	تعداد دانه در سنبله	میانگین			عملکرد تک بوته
				وزن صد دانه	وزن ریشه	حجم ریشه	پروتئین دانه
تکرار	2	0/00062 ^{ns}	0/358 ^{ns}	0/00429 ^{ns}	0/03376 ^{**}	0/0608 ^{ns}	0/00018 9 ^{ns}
باکتری	3	3/59 ^{**}	27/94 ^{**}	1/661 ^{**}	0/20375 ^{**}	3/714 ^{**}	0/192 ^{**}
شوری	3	2/28 ^{**}	15/18 ^{**}	0/448 ^{**}	0/046788 ^{**}	11/469 ^{**}	0/659 ^{**}
شوری * باکتری	9	0/056 ^{**}	8/714 ^{ns}	0/0480 ^{**}	0/0527908 [*]	3/338 ^{**}	0/0553 ^{**}
خطا	30	0/017	0/178	0/00968	0/00179	0/145	0/00073
ضرب تغییرات	-	1/748	2/256	2/76	7/41	9/138	4/034

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول 6- مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری صفات مورد ارزیابی تحت سطوح مختلف شوری و پیش تیمار بذر با

باکتری های محرک رشد						
ترکیب تیماری	طول سنبله (سانتی متر)	وزن صد دانه (گرم)	وزن ریشه	حجم ریشه	پروتئین دانه (درصد)	عملکرد تک بوته (گرم)
عدم شوری × عدم پیش تیمار بذر	7/420 ^e	3/35 ^{ef}	0/568 ^{bcd}	4/33 ^{cdef}	11/17 ^{edf}	0/636 ^{ef}
با باکتری						
عدم شوری × پیش تیمار بذر با ازتوباکتر	8/366 ^b	3/48 ^{de}	0/611 ^b	4/60 ^{cde}	11/78 ^{dc}	0/660 ^e
عدم شوری × پیش تیمار بذر با آزوسپریلوم	8/960 ^a	4/67 ^a	0/778 ^a	6/66 ^a	12/96 ^a	1/02 ^a
عدم شوری × پیش تیمار بذر با سودوموناس	7/700 ^{cd}	3/66 ^c	0/621 ^b	5/53 ^b	12/51 ^{ab}	0/723 ^d
شوری 15 میلی مولار × عدم پیش تیمار	7/196 ^{gf}	3/36 ^{ef}	0/471 ^e	4/13 ^{def}	11/06 ^{efg}	0/606 ^{gf}
شوری 15 میلی مولار × پیش تیمار بذر با ازتوباکتر	7/753 ^c	3/45 ^b	0/561 ^{bcd}	4/2 ^{def}	11/66 ^{dec}	0/636 ^{ef}
شوری 15 میلی مولار × پیش تیمار بذر با آزوسپریلوم	8/460 ^b	4/06 ^d	0/754 ^a	4/93 ^{bc}	12/56 ^{ab}	0/860 ^b
شوری 15 میلی مولار × پیش تیمار بذر با سودوموناس	7/530 ^{ed}	3/64 ^{dc}	0/598 ^{bc}	4/66 ^{cd}	12/24 ^{bc}	0/716 ^d
شوری 30 میلی مولار × عدم پیش تیمار	7/060 ^{gh}	3/13 ^{hg}	0/367 ^f	3/8 ^f	9/66 ^h	0/533 ^h
شوری 30 میلی مولار × پیش تیمار بذر با ازتوباکتر	7/420 ^e	3/26 ^e	0/514 ^{de}	3/93 ^f	10/77 ^{fg}	0/566 ^{hg}
شوری 30 میلی مولار × پیش تیمار بذر با آزوسپریلوم	8/273 ^b	3/96 ^c	0/725 ^a	4/13 ^{def}	11/45 ^{de}	0/806 ^c
شوری 30 میلی مولار × پیش تیمار بذر با سودوموناس	7/356 ^{ef}	3/46 ^e	0/564 ^{bcd}	4/00 ^{def}	11/15 ^{edf}	0/623 ^{ef}
شوری 60 میلی مولار × عدم پیش تیمار	6/556 ⁱ	3/26 ^{fg}	0/304 ^f	2/46 ^g	9/54 ^h	0/480 ⁱ
شوری 60 میلی مولار × پیش تیمار بذر با ازتوباکتر	7/090 ^{gh}	3/34 ^{ef}	0/461 ^e	2/53 ^g	8/68 ⁱ	0/546 ^h
شوری 60 میلی مولار × پیش تیمار بذر با آزوسپریلوم	7/683 ^{cd}	3/63 ^{dc}	0/709 ^a	3/93 ^{ef}	10/476 ^g	0/713 ^d
شوری 60 میلی مولار × پیش تیمار بذر با سودوموناس	6/933 ^h	3/35 ^f	0/531 ^{cde}	2/86 ^g	9/61 ^h	0/613 ^{efg}

میانگین های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری با هم ندارند.

جدول 7- مقایسه میانگین اثر باکتری و شوری بر تعداد دانه در سنبله

تیمار	تعداد دانه در سنبله
عدم پیش تیمار	17/39 ^d
پیش تیمار با ازتو باکتر	17/78 ^c
پیش تیمار با آزوسپریلوم	20/79 ^a
پیش تیمار با سودوموناس	18/91 ^b
عدم اعمال شوری	19/89 ^a
شوری 15 میلی مولار	19/31 ^b
شوری 30 میلی مولار	18/33 ^c
شوری 60 میلی مولار	17/33 ^d

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند

فهرست منابع:

۱. کوچکی، ع. و نصیری محلاتی، م. (1373) اکولوژی گیاهان زراعی، جلد اول، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ص 291.
۲. مستأجران، ا، عموآقائی، ر، و امتیازی، گ. (1384) اثر آزوسپریلوم و اسیدیته قلیائی آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم، مجله زیست‌شناسی ایران، ج 18، ش 3، ص 248-260.
۳. برزوئی، ا. کافی، م. خزائی، ح. ر. و موسوی شلمانی، م. ا. (1390) تأثیر شوری آب آبیاری بر صفات ریشه دو رقم حساس و مقاوم به شوری گندم و ارتباط آن با عملکرد دانه در شرایط گلخانه. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. سال دوم ش هشتم.
۴. پوستینی، ک. 1374. واکنش‌های فیزیولوژیکی دو رقم گندم نسبت به تنش شوری. مجله علوم کشاورزی ج 26 ش 2 ص 57-65.
۵. ثابت تیموری، م. خزاعی، ح. نظامی، ا. و نصیری محلاتی، م. 1386. تأثیر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آن‌تی اکسیدان برگ و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کنگد. پژوهش کشاورزی: آب خاک گیاه در کشاورزی، ج 4، ش 7، ص 109-119.
۶. حاجیلو، م. سلیمی، ح. اصغری، ح. خاوازی، ک. 1389. استفاده از باکترهای محرک رشد گیاه به عنوان کود زیستی در جهت پایداری اکوسیست‌های زراعی. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود 10-12 اسفند. تهران - هتل المپیک.
۷. خدابنده، ن. 1382. غلات. انتشارات دانشگاه تهران، 537 ص.
۸. خرم‌دل، س. کوچکی، ع. نصیری محلاتی، م. قربانی، ر. 1387. اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر شاخص‌های رشدی سیاهدانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ج 6، ص 285-294.
۹. درویشی، ب. پوستینی، ک. و توکل افشاری، ر. 1388. بررسی الگوی توزیع یونی در اندام‌های مختلف یونجه و رابطه آن با عملکرد در شرایط تنش شوری. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ش 2، ص 31-43.
۱۰. ذبیحی، ح. ر. ثوابی، غ. ر. خاوازی، ک. و گنجعلی، ع. 1388. بررسی تأثیر کاربرد سوبه‌هایی از سودوموناس‌های فلورسنت بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم در سطوح مختلف شوری خاک. مجله آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی) ج 23، ش 1، ص 199-208.

۱۱. رمضانیان، ع. 1384. مکانیزم‌های به کار برده شده توسط باکتری‌های ریزوبیومی برای کاهش سطح اتیلن در گیاه و افزایش گره‌زایی. اولین همایش ملی حبوبات. 29 و 30 آبان. مشهد مقدس.
۱۲. عباسی، ف. و خاوری نژاد، ر. 1381. اثر تنش شوری بر خصوصیات رشد و جنبه‌های فیزیولوژیکی گونه *Aeluropus littoralis*. نشریه بیابان، ج 7، ش 1، ص 101-110.
۱۳. عمو آقایی، ر. مستاجران، ا و رحیمی، گ. 1381. اثر سویه و غلظت باکتری آزوسپیریلوم روی رشد و نمو ریشه گندم. ج 33، ش 2، ص 212-222.
۱۴. مشعوف، م. اسماعیلی آزاد گله، م.ع. بابائیان جلودار، ن.ع. و کافی، م. 1382. واکنش فتوسنتزی و هدایت روزنه‌ای دو رقم جو تحت تنش شوری. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ج 1، ش 1، ص 43-51.
15. Abbaspoor, A. Zabihi, H.R. Movavegh, S. and Akbari, M.H. 2009. The efficiency of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of two varieties of wheat in salinity conditions. Journal of Sustainable Agricultural. 3(4):824_828.
16. Alamgir, A., Kutube, K.K. and Paul, T. 1997. Use of mathematical growth curves in the analysis of growth and nutrient distribution pattern in wheat growth under salinity stress. Agronomy Journal. 21:37-46.
17. Alvarez., M.I., Sueldo, R.J. and Barassi, C.A. 1996. Effect of Azospirillum on coleoptile growth in wheat seedling under water stress. Cereal Research Communication. 24: 101-107
18. Ashraf, M. 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora. 199:361-376.
19. Bacilio. M., Rodriguez, H., Mereno. M. and Hernandez, J.P. 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedling by Azospirillum lipferum. Soil Biology. 40: 188-193.
20. Bashan, Y. Levanony, H. and Mitiju, G. 1989. Changes in proton efflux of intact wheat root induced by A. brasilense Cd. Canadian Journal of Microbiology. 35: 691-67.
21. Basra, A.S. and Basra, P.K. 1997. Mechanisms of environmental stress resistance in Plants. Hardwood Academic Publishers, 83-111.
22. Bashan, Y., Harrison, K. and Witimoyer, R.E. 1990. Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with azospirillum brasilense is not necessary due to general enhancement of mineral uptake. Applied Environmental Microbiology. 56: 769-775.
23. Belimov, A.A., Safronova, V.I. and Mimura, T. 2002. Response of spring rape (*Brassica napus* var. oleifera L.) to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria containing 1- aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. Canadian Journal of Microbiology. 48, 189-199.
24. Benlloch, M., Ojeda, M.A., Ramos, J. and Rodriguesnanavarro, A. 1994. Salt sensitivity and low discrimination between potassium and sodium in plants. Plant and Soil. 166: 117-123.
25. Bhattari, T., and Hess, D. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to inoculation with azospirillum spp of Nepalese origin. Plant and Soil. 151: 67-76.
26. Brognoli, E. and Bjorkman, D. 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress. Influence of allocation pattern, stomatal and non stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. Planta. 187: 335-347.
27. Chatrath, A. Mandal, P.K. and Anuradha, M. 2000. Effect of secondary salinization on photosynthesis in fodder oat (*Avena Sativa* L.) genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science. 184: 13-16.
28. Chen, Z. Newman, I., Zhuo, M., Mendham, N., Zhang, G. and Shabala, S. 2005. Screening plants for salt tolerance by measuring K⁺ flux: a case study for barley. Plant Cell and Environment. 28, 1230-1246.

29. Chen, Z., Newman, I., Zhuo, M., Mendham, N., Zhang, G. and Shabala, S. 2005. Screening plants for salt tolerance by measuring K⁺ flux: a case study for barley. *Plant, Cell and Environmental*. 28: 1230-1246.
30. Desingh, R and Kanagaraj, G. 2007. Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties. *Genetic Applied and Plant Physiology*. 33: 221-234.
31. Garcia, A. Rizzo, C.A., UD-Din, J., Bartos, S.L., Flowers, T.J. and Yeo, A.R. 1997. Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independent in rice, and the mechanisms of sodium: potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant Cell and Environment*. 20: 1167-1174.
32. Glick, B.R. Penrose, D. and Wendo, M. 2001. Bacterial promotion of plant growth. *Biotechnology Advances*. 19: 135-138.
33. Gramer, G.R. Alberico, G.J. and Schmidt, C. 1994. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. *Australian Journal of Plant Physiology*. 21(5): 675-682.
34. Hamaoui, B. Abbadi, J.M., Burdman, S., Rashid, A., Sarig, S. and Okon, Y. 2001. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agronomy Journal*. 21: 553-560.
35. Hamdi, M.A. Shaddad, M.A.K. and Doaa, M.M. 2004. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regulation*. 44: 165-174.
36. Hamdia, M.A. and El-Komy, H.M. 1997. Effects of salinity, gibberelic acid and *Azospirillum* inoculation on growth and nitrogen uptake of *Zea mays*. *Plant Biology*. 40: 109-120.
37. Hasnain, S., Sabri, A.N. 1996. Growth stimulation of *Triticum aestivum* seedlings under Cr-stresses by non-rhizospheric pseudomonad strains. *Environmental Pollution*. 97(3): 265-73.
38. Kafi, M. and Stewart, D.A. 1998. Effect of salinity on growth and yield of nine types of wheat. *Agronomy Food Science*. 12(1): 77-85.
39. Lobna, Z. Gharbi, F., Rezgui, F., Rejeb, S., Nahdi, H. and Rejeb, M.N. 2009. Application of chlorophyll fluorescence for the diagnosis of salt stress in tomato *Solanum lycopersicum* (variety Rio Grande). *Horticultural Science*. 120: 367-372.
40. Luttge, V. Andrew, J. and Smith, C. 2004. Structural, biophysical, and biochemical aspects of the role of the leaves in plant adaptation to salinity and water stress. In: R. C. Staples, and G. H. Toenniessen. *Salinity tolerance in plants*. pp: 125-151. A Wiley Interscience Publication.
41. Mass, E.V. 1986. Physiological response of plants to chloride in chloride and crop production. *Potash Phosphate Institute*. 4-20.
42. Munns, R. and Termaat, A. 2002. Whole plant responses to salinity. *Plant Physiology*. 13: 143-160.
43. Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M. and Arshad, M. 2007. Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. *Canadian Journal of Microbiology*. 53 (10): 1141-9.
44. Nelson, D.E. Rammesmayr, G. and Bohnert, H.J. 1998. Cell-specific inositol metabolism and transport in plant salinity tolerance. *Plant Cell*. 3: 117-121.
45. Okon, Y. Albercht, L.S. and Buriss, R.H. 1977. Methods of growing *Spirillum lipoferum* with plants. *Experimental Agriculture*. 33: 85-88.
46. Okon, Y. and Kapolink, Y. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant and Soil*, 90: 3-16.

47. Okon, Y. and Labandera-Gonzalez, C.A. 1994. Agronomic applications of Azospirillum: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*. 26: 1591-1601.
48. Omar, M.N.A. Osman, M.E.H., Kasim, W.A. and Abd El-Daim, I.A. 2007. Improvement of salt tolerance mechanisms of barley cultivated under salt stresses using of Azospirillum brasilense. *Plant and Soil*. 44:133-147.
49. Rai, R.S. 1991. Rain –specific salt tolerance and chemotaxis of azospirillum brasilense and their associate n-fixation with finger millet in saline calcareous soil. *Plant and Soil*. 137: 55-59.
50. Rao, A.V. and Warla, B.V. 1985. Salt tolerance of azospirillum brasilense. *Acta Microbiology*. 32: 221-224.
51. Rodriguez, H. and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biological Technology*. 17: 319-339.
52. Saravana Kumar, D. and Samiyapalan, R. 2007. ACC deaminase from Pseudomonas fluorescens mediated saline resistance in groundnut (Arachis hypogaea L.) plants. *Journal of Applied Microbiology*. 102:1283-1292.
53. Sarige, S., Blum, A. and Okon, Y. 1988. Improvement of the water status and yield of field-grown grain sorghum (*S.bicolor*) by inoculation with A.brasilense. *Journal of Agricultural Science*. 110: 271-277.
54. Schochman, D.P., Munns, R. and Whitecross, M.I. 1991. Variation in sodium exclusion and salt tolerance in triticum tauschii. *Crop Science*. 31: 992-997.
55. Scott, M.L. Catterina, M.G., Eugene, V.M. and Leland, E.F. 1992. Kernel distribution. 1: Main spikes of salt stressed wheat. A probabilistic modeling approach. *Crop Science*. 32: 704-712.
56. Siliverabush, M. and Ben-Asher, J. 1987. The effect of salinity on parameters of potassium and nitrate uptake of cotton commun. *Soil Science*. 18(1): 65-81.
57. Singh, B.R. and Singh, D.P. 1994. Effect of moisture stress morphological parameters and productivity of poaceous crops. *Agro Botanical Publishers*. India, Bikaner. pp: 241-246.
58. Singleton, D.W. and Bohlool, B.B. 1984. Effect of salinity on the nodule formation by soybean. *Plant. Physiology*. 74:pp. 72-76.25.
59. Spiers, J. H.J. and Vos, J. 1985. Grain growth of wheat and its limitation by carbohydrate and nitrogen supply. pp: 129- 141: W. Day and R. L. Atkin (ed). 129- 141.
60. Suneja, S. Lakshminarayana, K. and Gupta, P.P. 1994. Role of Azotobacter chroococcum siderophores in control of bacterial rot and Sclerotinia rot of mustard. *Indian Journal of Microbiology and Plant Pathology*. 24: 202-205.
61. Tajbakhsh, M. Zhou, M.X., Chen, Z.H. and Mendham, N.J. 2006. Physiological and cytological response of salt-tolerant and non-tolerant barley to salinity during germination and early growth. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 46: 555–562.
62. Tipping and, E.M. and Zaleska, I. 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of pseudomonas putida under genotobiotic conditions. *Canadian Journal of Microbiology*. 33: 390_395.
63. Tripathi Mishra, A.K. and Tripathi, P. 1998. Salinity stress responses in the plant growth promoting rhizobacteria., Azospirillum spp. *J. Biosci*. 23(4): 463-471.
64. Uzma, F. and Asghari, B. 2006. Effect of abscisic acid and chlorocholine chloride on nodulation and biochemical content of Vigna radiata L. under water stress. *Pakistan Journal of Botany*. 38(5): 1511-1518.
65. Wagar, A., B.Shahroona, Z., Zahir, A. and Arshad, M. 2004. Inoculation with ACC deaminase containing rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Pakistan Journal of Agriculture*. 41: 119-124.

66. Yassen, B.Y. and Jurgees, J.A. 1998. The response of sugar beet leaf growth and its ionic composition to sodium chloride. *Journal of Agriculture and Water Resource Research*.7: 47– 59.
67. Zahran, H. 1999. Rhizobiumlegom symbiosis and nitrogen fixation under sever condition and in arid climat. *Microbiology and Molecular Biology Rieviews*.4: 968-989.

بررسی تأثیر امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد گندم (*Triticum aestivum* L.)

علی انصوری¹، حسن شهقلى، منوچهر قلی‌پور و علیرضا فلاح

دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه صنعتی شاهرود؛ aliansori98@yahoo.com

دانشجوی کارشناسی ارشد اکولوژی دانشگاه صنعتی شاهرود؛ h_agroo2000@yahoo.com

دانشیار دانشگاه صنعتی شاهرود؛ manouchehr.gholipoor@gmail.com

استادیار موسسه تحقیقات آب و خاک کشور؛ rezafayah@yahoo.com

دریافت: 91/11/23 و پذیرش: 92/10/24

چکیده

امواج فراصوت به عنوان یک فناوری پیشرفته، کاربردهای جدیدی در علوم کشاورزی پیدا کرده است. به همین منظور آزمایشی گلدانی برای بررسی تأثیر امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد بر جوانه زنی و رشد گندم در سال 1390 در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در 4 تکرار به اجرا در آمد، فاکتورهای آزمایش شامل صوت دهی بذور در پنج سطح صفر (شاهد)، 2، 4، 6 و 8 دقیقه و تلقیح باکتری در سه سطح، عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح با سویه ازتوباکتر کروکوکوم و سویه سودوموناس فلورسنس بودند. نتایج این بررسی نشان داد، امواج فراصوت تأثیر معنی داری ($P < 0.01$) بر حداکثر جوانه زنی (G_{max})، یکنواختی جوانه زنی (GU)، سرعت جوانه زنی (R_{50})، زمان تا 10 درصد جوانه زنی (D_{10})، 50 زمان تا 50 درصد جوانه زنی (D_{50})، 90 زمان تا 90 درصد جوانه زنی (D_{90}) و زمان تا 95 درصد جوانه زنی (D_{95}) داشته و باکتری‌های محرک رشد بر G_{max} ، D_{50} و D_{10} تأثیر معنی دار داشتند. همچنین اعمال فراصوت و باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش G_{max} ، R_{50} و کاهش D_{50} ، D_{10} و D_{90} شد. اثر متقابل امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد تأثیر معنی داری بر حداکثر و سرعت جوانه زنی گیاه گندم داشت. همچنین امواج فراصوت موجب افزایش معنی دار زیست توده و وزن ریشه و باکتری‌های محرک سبب افزایش ارتفاع بوته در مقایسه با شاهد شدند. اثر متقابل امواج فراصوت و باکتری محرک رشد تأثیر معنی داری بر زیست توده گیاه گندم داشت. مشاهده شد با افزایش مدت زمان امواج فراصوت در هر دو شرایط تلقیح و عدم تلقیح باکتری زیست توده افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: امواج فراصوت، باکتری‌های محرک رشد، گندم، جوانه‌زنی

مقدمه

امواج فرا صوت یکی از عوامل مؤثر در رشد گیاهان می‌باشد، امواج فراصوت کاربردهای فراوانی در کشاورزی دارد، و از جمله این کاربردها می‌توان به تیمار دهی بذور گیاهان برای کاهش فاصله رشدی، کاهش و حذف آفات و بیماری‌ها و استفاده از آن

افزایش تقاضای روز افزون مصرف کنندگان برای استفاده از محصولات با کیفیت، منجر به استفاده از تکنولوژی‌های جدید و بدون عوارض مانند فراصوت² شده است. فراصوت به کیفیت محصولات غذایی (ارزش غذایی و ترکیبات شیمیایی) آسیبی نمی‌رساند.

¹ نویسنده مسئول، آدرس: دانشگاه صنعتی شاهرود- دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

² Ultrasound

در مهندسی ژنتیک و انتقال ژن اشاره کرد. افزایش تقاضای روز افزون جمعیت برای استفاده از محصولات با کیفیت منجر به استفاده از تکنولوژی‌های جدید شده است. فناوری استفاده از امواج فراصوت یکی از روش‌های جدید استفاده شده در کشاورزی به خصوص در ارزیابی کیفیت و عملکرد محصولات زراعی است. این امواج در صنایع غذایی از سال 1970 مورد استفاده قرار گرفته است (پوی و ویلکینسون 1980). مکانیسم اثر امواج فراصوت با فرکانس پایین به طور کلی به دلیل ایجاد پدیده حفرگی³ یا تشکیل حباب‌های بسیار ریزی است که تحت اثر انقباض و انبساط به صورت لحظه‌ای و نقطه‌ای حرارت و فشار فوق العاده زیاد در محیط مایع ایجاد می‌شود. این وضعیت باعث اثرات فیزیکی شیمیایی بر ملکول‌های مجاور می‌شود (ماسون و همکاران، 1996؛ ماسون و لوریمر، 2002؛ ماسون، 2002). همچنین امواج فراصوت، گردان فشار را در سطح گاز - مایع تحت تأثیر قرار می‌دهد (کیستی، 2002). دو پارامتر مهمی که در رابطه با امواج فراصوتی بوده و برای اندازه‌گیری خواص محصولات کشاورزی دارای اهمیت فراوانی می‌باشد، سرعت امواج فراصوت و ضریب تضعیف آن است. سرعت امواج فراصوت (V) از طریق اندازه‌گیری زمان مورد نیاز (T) برای عبور امواج فراصوت از ضخامت مشخص مواد (L) مطابق رابطه 1 تعیین می‌گردد (ذکی دیزجی و همکاران، 1387):

(1)

$$v = \frac{L}{T}$$

پژوهش‌هایی درباره استخراج آنتوسیانین از میوه‌ها و بررسی پایداری آن در شرایط مختلف بوسیله امواج فراصوت انجام شده است (مسکوک و مرتضوی، 1380). همچنین هیچ گونه خسارت شیمیایی که سبب افت احتمالی ترکیبات شیمیایی آنتوسیانین تمشک قرمز شود در عصره‌گیری با امواج فراصوت وجود ندارد (چن و همکاران، 2006). علاوه بر آنتوسیانین‌ها، ترکیبات دیگری مثل پلی فنل‌ها، پلی ساکاریدها، ترکیبات آروماتیک و سایر رنگدانه‌ها را با استفاده از امواج فراصوت در مدت زمانی کوتاه با کارایی بالا می‌توان استخراج نمود (ویلخو و همکاران، 2007). افزایش ضریب تضعیف امواج فراصوتی عبور کرده از میان بافت هندوانه با میزان رسیدگی آن گزارش شده است (کلارک و شاکلفورد، 1975). می‌توان از تغییرات سرعت امواج فراصوت در

میوه‌ها و سبزی‌ها، به منظور درجه بندی رسیدگی آنها استفاده نمود (میزارچ و همکاران، 1996). استفاده از امواج فراصوت به عنوان یک روش اقتصادی در افزایش بهره‌وری و کاهش زمان خشک کردن انگور در تهیه کشمش مؤثر است (مسکوک و همکاران، 1386). امواج فراصوت در مالت سازی برای افزایش فعالیت میزان آنزیم آلfa آمیلاز ایجاد شده، افزودن هورمون رشد گیاهی اسید جیبرلیک در مقیاس صنعتی و یا تأثیر اتیلن بر جو مرطوب مؤثر است (کریسوستو، 1996؛ اشمیت و همکاران). تیمار فراصوت از طریق تولید حباب‌هایی در داخل مایعات ایجاد نقاط داغ کرده و بدین ترتیب باعث افزایش انتقال گرما و انهدام میکروارگانیسم‌ها می‌شود (ایشیموری و همکاران، 1981؛ ساسلیک، 1990). گزارش‌ها مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم‌ها و هورمون‌ها خاص توسط امواج فراصوت (کریسوستو، 1996؛ اشمیت و همکاران، 1987؛ بارتون و همکاران، 1996؛ زرنر و همکاران، 1987) باعث گردید تا در این مطالعه اثرات هم افزایی این فناوری جدید با به کارگیری باکتری مورد بررسی قرار گیرد.

کودهای زیستی با استفاده از ظرفیت‌های طبیعی موجودات مفید خاکزی تهیه می‌شوند و تولید آنها علاوه بر صرفه اقتصادی به لحاظ رعایت جنبه‌های زیست محیطی نیز بسیار با ارزش است. بر این مبنای کودهای زیستی عمدتاً شامل باکتری‌های محیط ریشه تثبیت کننده زیستی نیتروژن مولکولی همزیست، آزادزی و همیار، باکتری‌ها و قارچ‌های حل کننده فسفات، قارچ‌ها و باکتری‌های حل کننده سیلیکات، باکتری‌های اکسید کننده گوگرد (تیوباسیلوس)، قارچ‌های میکوریزایی و غیره و مواد حاصل از فعالیت آنها می‌باشند (زهیر و همکاران، 2004). باکتری‌های محرک رشد به رشد سریع گیاه کمک کرده و ساختار خاک را اصلاح و سبب ریشه‌زایی بهتر و نگهداری بیشتر آب در خاک می‌شود که این امر سبب مقاومت گیاه در مقابل بیماری‌ها و افزایش راندمان آب مصرفی می‌شود. سودوموناس با تولید آنزیم و ترشحات اسیدی به انحلال و آزاد سازی عناصر تثبیت شده و نامحلول در خاک کمک می‌کند که این امر سبب کاهش مصرف کودهای شیمیایی و کاهش هزینه‌های تولید می‌شود. باکتری‌های جنس ازتوباکتر و سودوموناس آزادزی و باکتری‌های جنس آزوسپریلوم دارای رابطه همیاری با گیاه میزبان می‌باشند (جانسون و همکاران، 2007). واکنش نیتريت حاصل از تنفس نیتراتی با اسید اسکوربیک از مهم ترین سازوکارهای مؤثر این باکتری‌ها در تولید مواد هورمونی و شبه هورمونی هستند (زهیر و همکاران، 2004). از این طریق باکتری‌ها باعث تأثیر در رشد و نمو

³. Cavitation

محلول شکر، مایه تلقیح (دارای 10^8 CFU/ml) به بذور چسبنک اضافه گردید و سپس بذور روی ورقه آلومینیومی تمیز سایه خشک شدند. پس از تلقیح 6 عدد بذر برای هر گلدان انتخاب و کشت شد. برای محاسبه سرعت و حداکثر جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی بذرها از برنامه Garmin استفاده شد. این برنامه D_{50} ، D_{10} ، D_{05} و D_{90} را از طریق درون یابی منحنی افزایش جوانه زنی در مقابل زمان محاسبه می‌کند (سلطانی و مداح، 2010). و بعد از گذشت 10 هفته میزان زیست توده، وزن ریشه، تعداد برگ و ارتفاع گیاه در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز داده‌ها بوسیله نرم افزارهای SAS و MSTAT-C انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال 5 درصد و رسم نمودارها بوسیله Excel انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حداکثر جوانه‌زنی (G_{max}^4)، سرعت جوانه‌زنی (R_{50})، یکنواختی جوانه‌زنی (GU^5)، زمان تا 5 (D_{05})، 10 (D_{10})، 50 (D_{50})، 90 (D_{90}) و 95 (D_{95}) درصد جوانه‌زنی گیاه گندم در جدول (1) ارائه شده است. امواج فراصوت تأثیر معنی‌داری بر جوانه زنی و تمام صفات وابسته به آن بجز D_{05} داشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد اعمال امواج فراصوت موجب افزایش حداکثر جوانه‌زنی شد (جدول 2). همان طور که مشاهده می‌شود اعمال امواج فراصوت تا 4 دقیقه سبب افزایش 9/5 درصد حداکثر جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد و با افزایش مدت زمان امواج فراصوت تا 6 و 8 دقیقه جوانه‌زنی کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند. سرعت جوانه‌زنی (R_{50}) مشابه حداکثر جوانه‌زنی بوده بطوری که با افزایش مدت امواج فراصوت تا 4 دقیقه افزایش و سپس کاهش یافت. تیمار 2، 4، 6 دقیقه امواج فراصوت سبب افزایش 12/5، 17/6 و 6/7 درصد سرعت جوانه زنی نسبت به شاهد شد. همچنین یکنواختی جوانه‌زنی با افزایش مدت امواج فراصوت افزایش معنی‌داری پیدا کرد. بیشترین مقدار یکنواختی جوانه‌زنی مربوط به 8 دقیقه امواج فراصوت و کمترین مقدار در شاهد حاصل شد. هر چند اختلاف معنی‌داری بین زمان‌های 2، 4 و 6 دقیقه در یکنواختی جوانه‌زنی مشاهده نشد. زمان تا 10 (D_{10})، 50 (D_{50})، 90 (D_{90}) و 95 (D_{95}) درصد جوانه‌زنی نیز با افزایش مدت زمان امواج فراصوت، ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. مشاهده می‌شود کمترین زمان تا 10، 50،

گیاهان می‌شوند. در همین راستا مطالعات فراوانی مبنی بر افزایش عملکرد دانه ذرت (توران و همکاران، 2006) و افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه آفتابگردان تلقیح شده با باکتری‌های سودوموناس و ازتوباکتر گزارش شده است (شوکت و همکاران، 2006). از آنجا که عملکرد از نظر کمی و کیفی به میزان و درصد سبز شدن و همچنین یکنواختی آن وابسته است، بنابراین مرحله جوانه زنی گیاه مرحله حساس و مهمی است که می‌تواند با استقرار مطلوب گیاهچه‌ها در فرآیند تولید نقش مهمی ایفا نماید. روش‌های مختلفی از جمله تیمارهای حرارتی، فیزیکی، شیمیایی و در جهت افزایش سرعت و همچنین درصد جوانه زنی بذور مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت. از این رو هدف از این تحقیق بررسی تأثیر امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه گندم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

واکنش اجزای جوانه‌زنی (سرعت جوانه زنی، یکنواختی جوانه‌زنی و زمان تا 5، 10، 50، 90 و 95 درصد جوانه‌زنی) و رشد گیاهچه گندم تحت تأثیر امواج فراصوت و نیز تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال 1390 مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار به اجرا در آمد. فاکتورهای آزمایش شامل صوت دهی بذور در پنج سطح صفر (شاهد)، 2، 4، 6 و 8 دقیقه، (هیدروپرایم بذور 2 ساعت قبل از صوت دهی و در هر تیمار یک بار) و سه سطح تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه (بعد از صوت دهی و قبل از کاشت به صورت بذر مال) شامل: عدم تلقیح (شاهد)، تلقیح با سویه *ازتوباکتر کروکوکوم* و سویه *سودوموناس فلورسنس* بودند. بذور تیمار فراصوت در معرض امواج فراصوت 42 KHz با دستگاه Digital Ulterasonic مدل CD-4820 قرار گرفتند. در این آزمایش از گلدان‌هایی با قطر دهانه 20 سانتیمتر، ارتفاع 25 سانتیمتر به ظرفیت 5 کیلوگرم استفاده شد. تعداد کل گلدان‌های آزمایش 60 عدد بود. ابتدا جهت ضد عفونی بذور گندم، بذور به مدت 5 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 0/5 درصد قرار گرفته و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. باکتری‌های مورد نظر از شرکت فرآورده‌های زیستی زنجان تهیه شدند. در تیمارهایی که بایستی بذور با این ریز جانداران تلقیح می‌شد، پس از ریختن حدود 20 گرم بذر در داخل یک کیسه فریزر (برای هر باکتری به طور مجزا)، مقدار 20 میلی‌لیتر محلول شکر 20 درصد به آن اضافه شد. پس از آغشته کردن کامل سطح بذور با

⁴ Maximum Germination

⁵ Germination Uniformity

90 و 95 درصد جوانه‌زنی مربوط به 4 دقیقه امواج فراصوت و بیشترین مقدار مربوط به 8 دقیقه می‌باشد. به عبارت دیگر تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت که سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی بذور گندم شده، موجب کاهش شدید زمان تا جوانه‌زنی شده است. در آزمایشی با استفاده از امواج فراصوت با شدت 700 KHz بذورهای تربچه تیمار و گزارش شده که این تیمار باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و همچنین باعث افزایش 13 الی 16 درصدی طول ریشه چه نسبت به شاهد گردیده است (شیمومورا، 1990). در پژوهشی به کاهش 30 الی 45 درصدی در زمان جوانه‌زنی در بذور جو و افزایش درصد جوانه‌زنی را پس از تیمار بذور با امواج فراصوت اشاره شده است (یلداگرد و همکاران، 2008). در تحقیقی دیگر که توسط بینا و همکاران بر روی بذور بادمجان، فلفل و خیار انجام شده است، پس از تیمار بذور با امواج فراصوت 42-59KHz، نتایج حاکی از برتری بسیار بالای تیمارها نسبت به شاهد بوده است (بینا و همکاران، 1387).

تلقیح باکتری‌های محرک رشد تأثیر معنی‌داری (در سطح یک درصد) بر G_{max} ، R_{50} و D_{10} و D_{50} داشت (جدول 1). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین مقدار حداکثر جوانه‌زنی مربوط به تلقیح باکتری *ازتوباکتر کروکوم* (86/95 درصد) و کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به شاهد می‌باشد (جدول 2). مشاهده می‌شود باکتری *ازتوباکتر کروکوم* و *سودوموناس فلورسنس* توانست 9/7 و 6/7 درصد حداکثر جوانه‌زنی را نسبت به شاهد افزایش دهد. سرعت جوانه‌زنی با تلقیح باکتری افزایش معنی‌داری پیدا کرد (جدول 2). مشاهده می‌شود تلقیح باکتری *ازتوباکتر کروکوم* و *سودوموناس فلورسنس* بترتیب سبب افزایش 7/4 و 1/9 درصد سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد شده است. همچنین بین باکتری‌های تلقیح شده در زمان تا 10 و 50 درصد جوانه‌زنی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. هر چند بین تلقیح باکتری *سودوموناس فلورسنس* و عدم تلقیح (شاهد) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین زمان تا 10 و 50 درصد جوانه‌زنی مربوط به باکتری *ازتوباکتر کروکوم* بود. نخستین شواهد در مورد تأثیر افزایشدهنده مواد مترشحه از باکتری‌ها بر جوانه‌زنی بذور را حسین و وانگورا (1970) بدست آوردند. آنها مشاهده کردند که برخی از باکتری‌های محیط اطراف ریشه به طور معنی‌داری درصد جوانه‌زنی بذرها از جمله بذر ذرت را افزایش می‌دهند. تحقیقات حافظ و همکاران (2004) نیز ظهور سریعتر گیاهچه‌های ارقام پنبه بر اثر تلقیح بذر با باکتری‌های افزایشدهنده رشد گیاه از جمله *ازتوباکتر* را

گزارش کردند و ترشح اسید ایندول 3-استیک این باکتری را در بروز این پاسخ مؤثر دانستند.

اثر متقابل مدت زمان امواج فراصوت و باکتری محرک رشد تأثیر معنی‌داری بر حداکثر جوانه‌زنی گیاه گندم داشت (جدول 1). در شکل 1 مشاهده می‌شود با افزایش مدت امواج فراصوت درصد جوانه‌زنی در شرایط تلقیح و عدم تلقیح افزایش می‌یابد. اما با تلقیح باکتری‌های محرک این افزایش، بیشتر و معنی‌دار می‌باشد. تلقیح باکتری‌های محرک رشد در همه سطوح امواج فراصوت، درصد جوانه‌زنی بیشتری نسبت به عدم تلقیح باکتری داشت. همچنین به وضوح برتری باکتری *ازتوباکتر کروکوم* در سطوح مختلف امواج فراصوت مشاهده شد. کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمار شاهد (72/75) و بیشترین مقدار مربوط به تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت و تلقیح باکتری *ازتوباکتر کروکوم* (92/37 درصد) بود. سرخی‌لله لو (1388) طی تحقیقی بر جوانه‌زنی بذور گیاه همیشه بهار دریافت که تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت سبب افزایش درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد می‌شود. کاپالینیک و همکاران (1982) افزایش وزن تر و خشک برگ‌های ذرت که بذورهای آن با باکتری *آزوسپیریوم* تلقیح شده بودند، رویتاشاو-سینگ و همکاران (1993) و هرناوندز و همکاران (1995) افزایش تعداد برگ‌های بوته ذرت تلقیح شده با باکتری *سودوموناس فلورسنس* را مشاهده نمودند. همچنین اثر متقابل امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد بر سرعت جوانه‌زنی گیاه گندم معنی‌دار بود (جدول 1). در شکل 2 مشاهده می‌شود تلقیح باکتری موجب افزایش غیر معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی نسبت به عدم تلقیح شد. همچنین در همه سطوح باکتری، با افزایش مدت زمان امواج فراصوت ابتدا سرعت جوانه‌زنی افزایش سپس کاهش معنی‌داری پیدا کرد. کمترین سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار شاهد (0/0135 تعداد در ساعت) و بیشترین سرعت مربوط به تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت و تلقیح باکتری *ازتوباکتر کروکوم* (0/0177 تعداد در ساعت) بود. در آزمایشی با امواج فراصوت به شدت 700KHz بذر تربچه را تیمار کردند که باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و افزایش 13 الی 16 درصدی طول ریشه چه نسبت به شاهد گردید، (شیمومورا، 1990). سرخی‌لله لو (1388) طی تحقیقی بر جوانه‌زنی بذور گیاه همیشه بهار گزارش کرد که تیمار بذور تا 4 دقیقه امواج فراصوت سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی شده و تیمار 6 و 8 دقیقه امواج فراصوت موجب کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد. زهیر و همکاران (1998) افزایش 8/5 درصدی ارتفاع

اثر متقابل امواج فراصوت و باکتری‌های محرک رشد تأثیر معنی‌داری بر زیست توده گیاه گندم داشت (جدول 3). در شکل 3 مقایسه اثر متقابل تلقیح باکتری-های محرک رشد و امواج فراصوت بر زیست توده اندام هوایی ارائه شده است. مشاهده می‌شود با افزایش مدت زمان امواج فراصوت در هر دو شرایط تلقیح و عدم تلقیح باکتری زیست توده افزایش یافت. هر چند که این افزایش تا تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت بالا بوده و با افزایش این مدت زمان تا 6 و 8 دقیقه زیست توده کاهش معنی‌داری پیدا کرد. باید توجه کرد که تلقیح باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس در شرایط عدم صوت دهی باعث افزایش معنی‌دار زیست توده شد. در بیشتر مطالعات انجام شده تأثیر مثبت امواج فراصوت بر سیستم های زنده بویژه بر جوانه‌زنی و در رشد گیاهچه‌ها تأیید شده است (فرهودی، 2007، کورداس، 2002، بینا، 1387، شرفی و همکاران، 2006). بذر تریچه تیمار شده با امواج فراصوت افزایش سرعت جوانه زنی و همچنین افزایش 13 الی 16 درصدی طول ریشه چه را نسبت به شاهد نشان داد (شیمومورا، 1990). همچنین هرناندز و همکاران (1995) مشاهده کردند که تلقیح بذره‌های ذرت با باکتری سودوموناس فلورسنس موجب افزایش عملکرد علوفه شده و کابوت و همکاران (1993) افزایش 33 درصدی وزن تر بوته ذرت در اثر تلقیح بذر با این باکتری را گزارش کردند. حافظ و همکاران (2004) نیز ظهور سریعتر گیاهچه‌های ارقام پنبه در اثر تلقیح با PGPR از جمله ازتوباکتر را گزارش کردند و ترشح اسید ایندول 3-استیک این باکتری را در بروز این پاسخ مؤثر دانستند.

به‌طورکلی، با توجه به نتایج این آزمایش می‌توان بیان داشت که اعمال تیمار فراصوت به بذور گندم علاوه بر افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، موجب کاهش زمان تا جوانه‌زنی بذور شده که به استقرار سریع و استفاده از منابع خاکی این گیاه کمک می‌نماید. از طرفی تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد باعث بهبود رشد و استقرار گندم می‌گردد. تأثیر مثبت چنین تغییراتی در جهت بهبود رشد و نمو از اعمال امواج فراصوت به عنوان یک روش فیزیکی و غیر مخرب و از طرفی مصرف باکتری‌های محرک رشد به عنوان کودهای زیستی از طرفی دیگر، می‌تواند در خود کفایی گیاه و خود پایداری سیستم در راستای توسعه تولید گندم در سیستم کشاورزی پایدار نقش قابل ملاحظه‌ای داشته باشد.

بوته ذرت که بذره‌های آن با باکتری های ازتوباکتر و سودوموناس فلورسنس تلقیح شده بودند را گزارش کردند. همچنین روستا و همکاران (1377) افزایش ارتفاع بوته ذرت دورگ 704 که بذره‌های آن با باکتری‌های جنس آزوسپیریوم تلقیح شده بود را مشاهده کردند. ناندا و همکاران (1995) گزارش نمودند که تلقیح بذره‌های ذرت با باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریوم سبب افزایش عملکرد علوفه گردید.

نتایج تجزیه واریانس وزن زیست توده، وزن ریشه، تعداد برگ و ارتفاع بوته در جدول 3 ارائه شده است. مشاهده می‌شود که امواج فراصوت بر صفات وزن زیست توده و ریشه تأثیر معنی‌داری داشته است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین زیست توده گندم مربوط به 4 دقیقه امواج فراصوت (6/95 گرم) بود، و اعمال مدت زمان 2، 4، 6 و 8 دقیقه امواج فراصوت بترتیب سبب افزایش 22/2، 29، 23/2 و 22/7 درصد زیست توده نسبت به شاهد شد (جدول 4). نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بیشترین وزن ریشه گندم متعلق به تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت (0/86 گرم) بود، هرچند که اختلاف معنی‌داری با تیمار 6 و 8 دقیقه نداشت. تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت سبب افزایش 17/4 درصد وزن ریشه نسبت به شاهد شد. طی تحقیقی یلداگرد و همکاران (2008) دریافتند که تیمار فراصوت باعث افزایش 13 الی 16 درصدی طول ریشه چه نسبت به شاهد گریده است. همچنین سرخی‌الله لو (1388) طی بررسی بر جوانه‌زنی بذور گیاه همیشه بهار نتیجه‌گیری دریافت که تیمار 4 دقیقه امواج فراصوت سبب افزایش طول ریشه چه، ساقه چه و وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد می‌شود.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تلقیح باکتری تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته گندم دارد (جدول 3). در جدول 4 مشاهده می‌شود که بیشترین ارتفاع بوته مربوط به باکتری سودوموناس فلورسنس و کمترین مقدار مربوط به شاهد می‌باشد. باکتری سودوموناس فلورسنس ارتفاع بوته را نسبت به شاهد 20/8 درصد افزایش داد. اما بین تلقیح باکتری‌های سودوموناس و ازتوباکتر کروکوکوم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. هر چند باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس سبب افزایش غیر معنی‌دار زیست توده، وزن ریشه و تعداد برگ نسبت به شاهد شد.

جدول 1- نتایج جدول تجزیه واریانس برای حداکثر جوانه زنی (Gmax)، سرعت جوانه‌زنی (معکوس زمان تا 50 درصد جوانه زنی، $R50=1/D50$)، یکنواختی جوانه‌زنی (GU)، زمان تا 10 درصد جوانه‌زنی (D10)، زمان تا 50 درصد جوانه‌زنی (D50)، زمان تا 90 درصد جوانه‌زنی (D90) در گیاه گندم

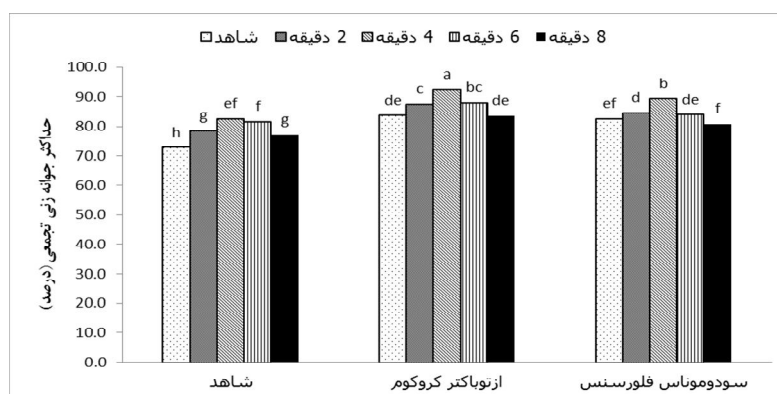
منابع تغییر	Gmax	R50	GU	D05	D10	D50	D90	D95
بلوک	6/32	0/000001	207/25	1/34	1/31	42/76	190/61	157/01
امواج آلتراسونیک (A)	136/71**	0/000015**	755/94**	3/07n.s	8/51**	256/46**	772/30**	472/87**
باکتری (B)	375/74**	0/000008**	197/85n.s	4/34n.s	9/01**	132/89**	193/37n.s	134/02n.s
A*B	8/85**	0/0000009**	163/95n.s	2/69n.s	3/40n.s	29/94n.s	187/03n.s	157/42n.s
خطا	1/56	0/0000002	87/22	1/72	1/66	20/39	87/91	77/15
ضریب تغییرات	1/50	3/24	9/42	4/75	4/12	7/11	7/20	6/31

** معنی‌دار در سطح احتمال 1 درصد؛ n.s: غیر معنی‌دار

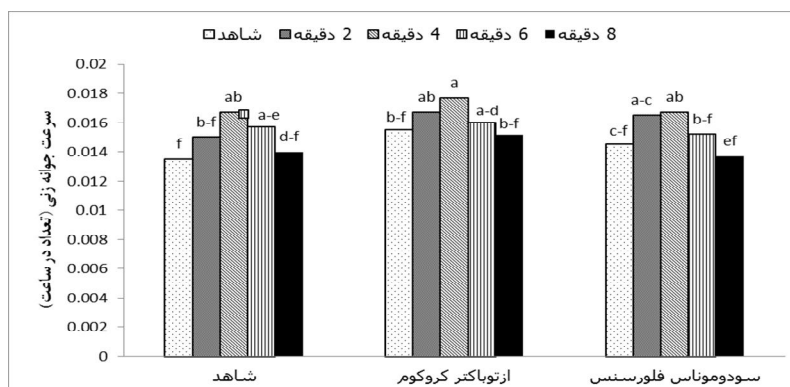
جدول 2- مقایسه میانگین‌های صفات حداکثر جوانه‌زنی (Gmax)، سرعت جوانه‌زنی (معکوس زمان تا 50 درصد جوانه‌زنی، $R50=1/D50$)، یکنواختی جوانه‌زنی (GU)، زمان تا 10 درصد جوانه‌زنی (D10)، زمان تا 50 درصد جوانه‌زنی (D50) و زمان تا 90 درصد جوانه‌زنی (D90) در گیاه گندم

صفت تیمار	Gmax (درصد)	R50 (بذر در ساعت)	GU (ساعت)	D05 (ساعت)	D10 (ساعت)	D50 (ساعت)	D90 (ساعت)	D95 (ساعت)
امواج آلتراسونیک								
شاهد	79/60c	0/014d	92/45c	27/57	32/30a	65/43b	124/62bc	135/74b
2 دقیقه	83/45b	0/016b	96/52bc	27/68	31/05bc	61/60c	127/62bc	137/56b
4 دقیقه	88/03a	0/017a	93/62bc	27/15	30/33c	57/82d	123/68c	132/86b
6 دقیقه	84/42b	0/015c	101/03b	27/37	30/69c	62/17bc	131/73b	139/77b
8 دقیقه	80/41c	0/014d	112/04a	28/48	31/99ab	70/14a	143/42a	145/33a
LSD	1/02	0/0004	7/69	1/08	1/06	3/72	7/72	7/23
باکتری‌ها								
شاهد	78/45c	0/0150c	98/35	27/71	31/68a	65/77a	130/10	138/74
ازتوباکتر کروکوم	86/95a	0/0162a	96/45	27/16	30/50b	60/67b	127/17	136/63
سودوموناس فلورسنس	84/15b	0/0153b	102/59	28/09	31/65a	63/87a	133/38	141/78
LSD	0/79	0/003	5/96	0/83	0/82	2/88	5/98	5/60

* وجود حرف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد.



شکل 1- اثر متقابل سطوح امواج فراصوت و باکتری محرک رشد بر حداکثر جوانه‌زنی گیاه گندم



شکل 2- اثر متقابل سطوح امواج فراصوت و باکتری محرک رشد بر سرعت جوانه‌زنی گیاه گندم

جدول 3- میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی در گیاه گندم تحت تأثیر امواج آتراسونیک و باکتری‌های

محرک رشد

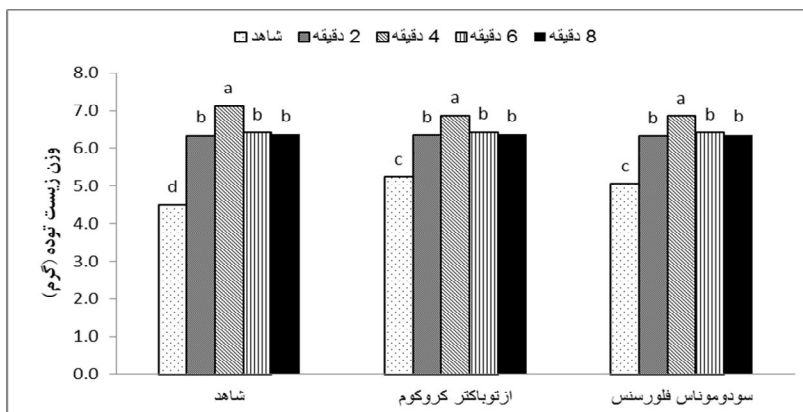
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن زیست توده	وزن ریشه	تعداد برگ	ارتفاع بوته
بلوک	3	0/27	0/0007	0/35	36/03
امواج آتراسونیک (A)	4	6/83**	0/038**	0/10n.s	19/94n.s
باکتری (B)	2	0/05n.s	0/004n.s	0/01n.s	276/95**
A*B	8	0/15*	0/086n.s	0/05n.s	52/22n.s
خطا	42	0/06	0/005	0/11	33/03
ضریب تغییرات (%)		3/96	9/36	5/84	18/82

*, ** و n.s. به ترتیب بیلگر معنی‌داری در سطح احتمال 1 درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

جدول 4- مقایسه میانگین تأثیر امواج آتراسونیک و باکتری‌های محرک رشد بر رشد گیاه گندم

صفت تیمار	وزن زیست توده (گرم)	وزن ریشه (گرم)	تعداد برگ	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)
امواج آتراسونیک				
شاهد	4/93c	0/71c	5/83	31/41
2 دقیقه	6/34b	0/75bc	5/83	28/44
4 دقیقه	6/95a	0/86a	5/75	31/70
6 دقیقه	6/42b	0/80ab	5/91	30/83
8 دقیقه	6/38b	0/80ab	6/00	30/29
LSD	0/20	0/06	0/28	4/73
باکتری‌ها				
شاهد	6/15	0/77	5/85	26/28b
ازتوباکتر کروکوم	6/25	0/80	5/85	32/12a
سودوموناس فلورسنس	6/21	0/79	5/90	33/20a
LSD	0/15	0/04	0/21	3/66

* وجود حرف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری در سطح 5 درصد.



شکل 3- اثر متقابل سطوح امواج فراصوت و باکتری محرک رشد بر زیست توده اندام هوایی گیاه گندم

فهرست منابع:

1. بینا، ف، رضایی، آ. و آقایی‌زاده، م. 1387. بررسی تأثیر امواج مافوق صوت بر فرآیند فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی تنیدن بذور. اولین همایش ملی زیست‌شناسی گیاهی.
2. ذکی، دیزجی، ح، مینایی، س، توکلی هشتجین، ت، مختاری دیزجی، م. و منتظر، ع. 1387. کیفیت سنج فراصوتی برای محصولات کشاورزی، مجموعه مقالات پنجمین کنگره مهندسی ماشین‌های کشاورزی و مکانیزاسیون ایران.
3. سرخی‌لله‌لو، ف. 1388. ارزیابی اثرات امواج فراصوت و میدان مغناطیسی بر جوانه‌زنی بذور گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.). ششمین کنگره علوم باغبانی ایران - 22 تا 25 تیرماه 1388. دانشگاه گیلان. 1165-1161.
4. مسکوکی، ع. م. مرتضوی، ع. و مسکوکی، آ. 1386. بررسی توأم فراصوت و قلیا در کاهش زمان خشک کردن انگور و تولید کشمش. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی. ایران. بهار 1386.
5. مسکوکی، ع. م. و مرتضوی، ع. 1380. طرح جامع استراتژیک تولید، تبدیل و توزیع زرشکی دانه، وزارت صنایع، معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد.
6. روستا، م.ج، صالح راستین، ن. و مظاهری اسدی، م. 1377. بررسی و فعالیت آزوسپیریلوم لیپوفروم در برخی از خاک‌های ایران. مجله علوم کشاورزی ایران. 29: 285-298.
7. Barton, S., Bullock, C. and Weir, D. 1996. The effects of ultrasound on the activities of some glycosidase enzymes of industrial importance, *Enzyme and Microbiology Technology*. 18:190-194.
8. Chabot, R., Antoun, H. and Cescas, M.P. 1993. Stimulation of the growth of maize and lettuce by inorganic phosphorus solubilizing micro-organisms. *Canadian Journal of Microbiology*, 39: 941-947.
9. Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J. and Wang, Z. 2006. Optimization of ultrasound – assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using HPLC–MS, *Ultrasonics Sonochemistry*. 14: 767 – 778.
10. Chisti, Y. 2002. Sonobioreactors: Using ultrasound for enhanced microbial productivity. *Trends in biotechnology*. 21 (3): 89-93.

11. Clark, R. L. and Shackelford, P. S. 1975. Methods for Testing the Dynamic Mechanical Response of Solid Foods. Transactions of the ASAE. 16 (6): 1140.
12. Crisosto, C. 1996. Optimum procedures for ripening stone fruit. Management of Ripening Fruit (Univ. of California, Davis). Postharvest Horticulture Series, 9: 28-30.
13. Czermer, R., Millner, R., Roenfeld, E., Schellenberger, A. and Schmidt, P. 1987. Theoretical and experimental studies on the influence of ultrasound on immobilized enzymes. Biotechnology Bioengineer. 30: 928-935.
14. Farhudi, R. 2007. The effect of NaCl priming on salt tolerance in canola (*Brassica napus*) seedlings grown under saline conditions. Seed Science and Technology. 35: 754-759.
15. Hafeez, F.Y., Safdar, M.E., Chaudry, A.U. and Malik, K.A. 2004. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. Australian Journal of Experimental Agriculture. 44:617-622.
16. Hernandez, A.N., Hernandez, A. and Heydrich, M. 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. Cultivos Tropicales, 6: 5-8.
17. Hussain, A. and Vancura, V. 1970. Formation of biologically active substances by rhizosphere bacteria and their effect on plant growth. Folia Microbiology, 15: 468-478.
18. Ishimori, Y., Karube, I. and Suzuki, S. 1981. Acceleration of immobilized alpha-chymotrypsin activity with ultrasonic irradiation. Journal Mol Catal. 12:253-259.
19. Johnson, F. Karlen L., Wilhelm, J.M. and David, T. 2007. Corn stover to sustain soil organic carbon further constrains biomass supply. Agronomy Journal. 99: 1665-1667.
20. Kapulnik, Y., Sarig, S., Nur, A., Okon, Y. and Henis, Y. 1982. The effect of Azospirillum inoculation on growth and yield of corn. Israel Journal of Botany. 31: 247-255.
21. Kordas, L. 2002. The effect of magnetic field on growth, development and the yield of spring wheat. Publish Journal of Enviromental Studies. 11:527-530.
22. Mason T. J. 2002. Trends in food science and technology. Ultrasonic Sonochemist. 13: 48 – 99.
23. Mason T.J, Daniwnyk, L.J, Lorimer, J.P. 1996. The uses of ultrasound in food technology. Ultrasonic Sonochemist. 3:5253-5260.
24. Mason, T.J, Lorimer, J.P. 2002. Applied Sonochemistry. The use of power ultrasound in chemistry and processing. First ed. New York: Oxford University Press Inc., pp.
25. Mizrach, A., N. Galili, S. Ganmor, U. Flitsanov and I. Prigozin. 1996. Models of ultrasonic parameters to assess avocado properties and shelf life. Journal of Agricultural Engineering Research. 65: 261–267.
26. Nanda, S.S., Swain, K.C., Panda, S.C., Mohanty, A.K. and Alim, M.A. 1995. Effect of nitrogen and biofertilizers in fodder rainfed upland conditions of Orisa. Current Agricultural Research. 8: 45-47..
27. Povey, M. J. W. and J. M. Wilkinson. 1980. Application of ultrasonic pulse-echo techniques to eggalbumin quality testing a preliminary report. British Poultry Science. 21, 489–495.
28. Rohitashav-Singh Sood, B.K., Sharma, V.K. and Singh, R. 1993. Response of forage maize to Azotobacter inoculation and nitrogen. Indian Journal of Agronomy. 38: 555-558.
29. Schmidt, P., E. Rosenfeld, R. Millner, and Schellenberger, A. 1987. Effects of ultrasound on the catalytic activity of matrix-bound glucoamylase, Ultrasonics. 25: 295-299.
30. Sharafi.S., Gholipoor.M., Ghassemi.S. and Sharafi.A. 2006. Effect of magnetic field on seed germination of two wheat cultivars. African Journal(publishing).
31. Shimomura, S.1990. The effects of ultrasonic irradiation on sprouting radish seed. Ultrasonic Symposium Proceedings. 3:1665-1667.
32. Shaukat, K., Affrasayab, S. and Hasnain, S. 2006. Growth responses of *Helianthus annus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer., Journal of Agriculture Research. 1(6):573-581.

33. Soltani, A. and Maddah, V. 2010. Simple applied programs for education and research in agronomy. ISSA Press, Iran, 80p. (In Persian).
34. Suslick, K.S. 1990. Sonochemistry Science. 247:1439-1445.
35. 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.
36. Vilkh, K., Mawson, R., Simons, L. and Bates, D. 2007. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9: 161–169.
37. Yaldagard, M., Mortazavi, S.A. and Tabatabaie, T. 2008. Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barely seed: optimization of method by the Taguchi approach. The Institute of Brewing & Distilling.
38. Zahir, A.Z., Arshad, M. and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. Advance Agronomy. 81:97-168.
39. 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.

تأثیر *Pseudomonas putida* بر عملکرد و جذب فسفر سه رقم

سورگوم علوفه‌ای

سید محمدرضا احتشامی¹، محمدرضا عباسی و کاظم خاوازی

استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان؛ smrehteshami@yahoo.com

دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد رودهن؛ smrehteshami@gmail.com

دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کرج؛ kkhavazi@yahoo.com

دریافت: 91/10/30 و پذیرش: 92/10/24

چکیده

به منظور بررسی نقش *Pseudomonas putida* بر خواص کمی و کیفی سه رقم سورگوم علوفه‌ای، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران (ورامین) در سال زراعی 1388-89 اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق شامل سویه‌های باکتری و گیاه بودند. عامل نوع باکتری در چهار سطح شامل بدون تلقیح بذر (شاهد)، تلقیح بذر با *Pseudomonas putida* strain 168، تلقیح بذر با *P. putida* strain 41 و تلقیح بذر با ترکیبی از دو باکتری و عامل رقم در سه سطح شامل Speedfed، Jumbo و KFS₁ اعمال شدند. در این آزمایش صفاتی چون ارتفاع بوته، تعداد پنجه، قطر ساقه، تعداد برگ، سطح برگ در مرحله گلدهی، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر و خشک برگ، عملکرد علوفه‌تر و خشک، درصد فسفر گیاه و میزان فسفر خاک مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمار تلقیح بذر با *P. putida* strain 168 در اکثر صفات مورد بررسی دارای بالاترین میانگین بود و کمترین آنها در تیمار ترکیبی از دو باکتری مشاهده شد. به نظر می‌رسد که ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات با یکدیگر اثر آنتاگونیستی دارند، هر چند که تلقیح بذر با هر یک از آنها به تنهایی به دلیل جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر و نیز تحریک رشد گیاه بر اثر ترشح متابولیت‌های ثانویه می‌تواند منجر به افزایش عملکرد گیاه شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل‌کننده فسفات، سورگوم علوفه‌ای، عملکرد، فسفر

مقدمه

کشاورزی پایدار محسوب می‌شود، جایگزینی تدریجی کودهای شیمیایی به‌خصوص کودهای نیتروژنه و فسفات با کودهای زیستی به دلیل مزایای این کودها و به‌علاوه، ارزان‌آن، امری اجتناب‌ناپذیر است. (رمضانیان، 1384). یکی از روش‌های تأمین فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه، استفاده از منابع زیستی است.

باور کردن واقعیتهای به نام رشد جمعیت، آدمی را ملزم به تولید بیشتر محصولات کشاورزی و ناگزیر، حرکت در جهت افزایش تولید در واحد سطح می‌نماید. این مهم، مگر از طریق تولید مقادیر بیشتر کود محقق نمی‌گردد (آدیسیموی و همکاران، 2010 از آنجا که مدیریت کود از عوامل اصلی در نیل به

¹ نویسنده مسئول، آدرس: رشت، مجتمع دانشگاه گیلان، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

باکتری *P. fluorescens* و *Bradyrhizobium* sp. باعث افزایش معنی‌داری در طول شاخساره، وزن شاخساره، تعداد برگ، تعداد گره و وزن خشک ریشه گیاه *Origanum majorana* L. در مقایسه با شاهد می‌شود (بانچی و همکاران، 2008). در ضمن مشخص شد که محلول‌پاشی باکتری‌های محرک رشد اثر معنی‌داری بر عملکرد میوه، رشد و میزان فسفر و روی توت‌فرنگی⁶ داشته است (اسپینکن و همکاران، 2010).

نقش تعیین کننده و جایگاه خاص گیاهان علوفه‌ای در حفظ حاصلخیزی خاک و جلوگیری از فشار بیش از حد دام بر مراتع کشور که سبب از بین رفتن پوشش گیاهی، فرسایش خاک و جاری شدن سیلاب‌ها می‌شود، بر کسی پوشیده نیست. سورگوم⁷ یکی از مهم‌ترین گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیاست و بیشترین نیاز را به کودهای شیمیایی دارد. استفاده از فرآورده‌های زیستی در تغذیه این گیاه یکی از راه حل‌های اساسی و مفید جهت افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصول، تأمین امنیت غذایی، پایداری در تولید و ارتقاء سطح سلامت جامعه در تولید محصولات کشاورزی عاری از هر گونه سم و آفت کش به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار 1388 در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران در شهرستان ورامین واقع در عرض جغرافیایی 35 درجه و 21 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 51 درجه و 38 دقیقه شرقی با ارتفاع 927 متر از سطح دریا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و 12 تیمار اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق شامل سویه‌های باکتری و رقم بودند. فاکتور باکتریایی در چهار سطح اعمال شد که عبارت بودند از: تیمار بذر با *P. putida strain 168*، تیمار بذر با باکتری *P. putida strain 41*، تیمار بذر با مخلوطی از باکتری‌ها (به نسبت 50 به 50)، تیمار شاهد بدون تلقیح باکتری. تیمار رقم در 3 سطح در نظر گرفته شد که عبارت بودند از: Speedfed Jumbo₁، KFS₁.

از عمق صفر تا 30 سانتی‌متری خاک محل اجرای آزمایش، نمونه‌گیری مرکب به‌عمل آمد تا میزان عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف خاک (شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، منگنز، روی و مس) اندازه‌گیری شوند (جدول 1). هر کرت آزمایشی از شش ردیف کاشت به

باکتری‌های ریزوسفری افزایش‌دهنده رشد گیاه که به آنها باکتری‌های محرک رشد اطلاق می‌شود، از جمله منابع زیستی می‌باشند که از طریق مستقیم و غیرمستقیم باعث بهبود رشد گیاه می‌شوند (ذبیحی و همکاران، 2009). این افزایش از طریق مکانیسم‌های مختلفی چون تأمین نیتروژن برای گیاه از طریق تثبیت N₂، تولید مواد محرک رشد یا همان فیتوهورمون‌ها شامل اکسین، سیتوکینین و جبریلین و ایجاد کنترل بیولوژیکی در مقابل پاتوژن‌های خاک‌زی است (پیرومپو و همکاران، 2011). باکتری‌های محرک رشد گیاه به عنوان مکمل و جایگزین کودهای شیمیایی شناخته می‌شوند که می‌توانند سبب افزایش باروری و حاصلخیزی خاک گردند. استفاده از کودهای زیستی باعث کاهش هزینه‌های تولید می‌شود (مهناز و همکاران، 2010). این ریزجانداران می‌توانند سبب افزایش قابلیت انحلال و تأمین عناصر معدنی برای گیاه شوند (سکار و کارمگام، 2010). مزایای تلقیح با این باکتری‌ها شامل افزایش شاخص‌های متعددی مانند سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، کنترل عوامل بیماری‌زا، سطح برگ، محتوی کلروفیل، مقاومت به خشکی، وزن ریشه و اندام هوایی و فعالیت میکروبی است (احتشامی و همکاران، 1388؛ لیوسی و همکاران، 2004). در آزمایشی اثر تلقیح گوجه‌فرنگی¹ با ازتوباکتر نشان داد که درصد جوانه‌زنی، طول ساقه، تعداد برگ‌ها و طول و عرض برگ در تیمار تلقیح شده نسبت به شاهد افزایش داشت (ماهاتو و همکاران، 2009). همچنین در اثر تلقیح بذر با سودوموناس² وزن خشک اندام هوایی شلغم روغنی³ 21/2 درصد افزایش یافت (بلیموف و همکاران، 2002). تحقیقات نشان داده است که تیمار نمودن بذر با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه⁴ می‌تواند میزان جذب نیتروژن گیاه را افزایش دهد (آدیسیموی و همکاران، 2010). هر چند که تأمین مقدار کافی عناصر غذایی می‌تواند باعث افزایش کارایی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه شود، در شرایط نامطلوب تغذیه‌ای نیز این باکتری‌ها قادرند به افزایش رشد و عملکرد گیاه کمک نمایند (رمضانیان، 1384). استفاده از این باکتری‌ها همراه با کیتین حتی باعث افزایش معنی‌دار رشد، عملکرد و عناصر غذایی موز⁵ گردید (کاوینو و همکاران، 2010). همچنین معلوم گردید که

¹ *Solanum lycopersicum*

² *Pseudomonas*

³ *Brassica rapa*

⁴ Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

⁵ *Musa* spp.

⁶ *Fragaria virginiana*

⁷ *Sorghum bicolor* L.

سطح برگ، وزن خشک بوته، قابلیت هضم علوفه و میزان فسفر خاک اندازه‌گیری شد. در زمان برداشت (در مرحله گلدهی) کلیه بوته‌های سبز در هر کرت شمارش و سپس از سطح خاک، قطع و برداشت گردید. وزن تر قسمت هوایی گیاه توسط ترازو اندازه‌گیری شد و سپس به منظور تعیین وزن خشک، نمونه‌های گیاهی برداشت شده به مدت 48 ساعت در آون با دمای 75 درجه سانتی‌گراد خشک و توزین شدند. پس از برداشت محصول، از خاک تک تک تیمارها نمونه‌گیری مرکب به‌عمل آمد. سپس نمونه‌ها به طور کامل در هوا خشک شدند و پس از عبور از الک دو میلی‌متری، آماده مراحل بعدی گردیدند. فسفر خاک توسط بی‌کربنات سدیم 0/5 مولار در اسیدیته 8/5 عصاره‌گیری و با استفاده از روش اسید اسکوربیک و دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج 882 نانومتر) اندازه‌گیری شد (اولسن و همکاران، 1354). به منظور تجزیه و تحلیل‌های آماری از برنامه آماری SAS استفاده گردید. سپس میانگین‌ها در صورت معنی‌دار بودن اثر عوامل آزمایشی با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن بود که بین سطوح مختلف باکتری در ارتفاع گیاه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه 168 با ارتفاع 140/55 سانتی‌متر نسبت به بقیه تیمارها بیشترین ارتفاع را داشت و کمترین ارتفاع در تیمار حاوی دو باکتری با میانگین 115/44 سانتی‌متر دیده شد (جدول 3). همچنین تفاوت بین ارقام نیز معنی‌دار بود (جدول 2). اثر متقابل باکتری و رقم نیز در این صفت در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین داده‌ها مشخص نمود که تیمار حاوی باکتری سویه 168 در رقم اسپیدفید، بیشترین ارتفاع را داشت و کمترین مقدار در تیمار حاوی هر دو باکتری در رقم جامبو دیده شد (شکل 1). برخی از محققین، افزایش ارتفاع گیاهان همزیست را به دلیل تأثیر این ریزجانداران بر روابط کربن و نیتروژن و احتمالاً جنبه‌های دیگر بیوشیمی گیاه می‌دانند (آسری و همکاران، 2008؛ کاوینو و همکاران، 2010). البته نتایج متناقضی نیز در این رابطه وجود دارد، به گونه‌ای که در تیمار واجد باکتری به دلیل آن که ریزجانداران برای ایجاد همزیستی با گیاه به کربن نیاز دارند، گیاه قسمتی از مواد فتوسنتزی خود را به تقویت همزیستی با این ریزجانداران اختصاص می‌دهد که

فاصله 50 سانتی‌متر و به طول پنج متر تشکیل شده بود. فاصله بوته‌ها در روی ردیف نیز 12 سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بین هر دو تیمار، یک ردیف به صورت نکاشت و فاصله بین دو تکرار نیز پنج متر تعیین شد. عملیات کاشت در نیمه دوم اردیبهشت ماه انجام گردید. ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات ابتدا در آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب فرموله و تهیه شدند. جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح، $10^7 \times$ 9/8 برآورد شد. ماده حامل نیز پرلیت بود. برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت Sperber استفاده شد. پس از کشت انفرادی باکتری‌ها، پس از 48 ساعت جمعیت آنها به روش Plate Count و بر روی محیط‌های اختصاصی شمارش گردید و سپس حجم مساوی از آنها با یکدیگر مخلوط شده و مجدداً جمعیت در محیط کشت شمارش شده و مایه تلقیح آماده شد. در تیمارهایی که بایستی بذور با این ریزسازواره‌ها تلقیح می‌شدند، پس از محاسبه میزان بذور برای هر تیمار و ریختن بذور سورگوم در داخل یک کیسه پلی اتیلنی، مقدار 20 میلی لیتر محلول شکر 20 درصد به آن اضافه شد. آنگاه کیسه حاوی بذور و ماده چسباننده برای مدت 30 ثانیه به شدت تکان داده شد تا سطح کلیه بذرها به طور یکنواخت چسبناک شود. پس از آن، مقدار 20 گرم از مایه تلقیح به بذورهای چسبناک اضافه شد و پس از 45 ثانیه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یکنواخت مایه تلقیح به بذرها، بذورهای آغشته به مایه تلقیح بر روی ورقه آلومینیومی تمیز در زیر سایه پهن گردید تا بذور خشک شدند. در تیمار بدون تلقیح نیز محیط کشت بدون باکتری با بذرها مخلوط شد تا شرایط برای تمام تیمارها یکسان باشد. کاشت بذور در عمق دو تا سه سانتی‌متر انجام گرفت. پس از کاشت بذور، بلافاصله کودهای اوره، پتاسیم و فسفر بر مبنای آزمون خاک و مطابق با توصیه کودی برای سورگوم علوفه‌ای به صورت نواری به خاک داده شد. علاوه بر این، نیتروژن در دو نوبت دیگر نیز به صورت سرک در اختیار گیاه قرار گرفت. کلیه عملیات زراعی از قبیل واکاری، وجین، تنک کردن و مبارزه با آفات و بیماری‌ها به طور همزمان و به نحو مطلوب در کلیه کرت‌های آزمایشی انجام شد. در شروع گلدهی، از ردیف‌های دوم و پنجم هر کرت آزمایشی پس از حذف تأثیر حاشیه‌ای، چهار بوته انتخاب و از برگ‌های انتهایی بوته جهت اندازه‌گیری میزان فسفر جذب شده در اندام هوایی، نمونه‌برداری انجام گرفت. اندازه‌گیری فسفر در گیاه به روش کالریمتری انجام شد (ملکوتی و همائی، 1372). در زمان برداشت محصول نیز ارتفاع ساقه (با استفاده از خط‌کش میلی‌متری)، قطر ساقه،

مراحل نمو گیاه شده و در نتیجه باعث قابلیت انجام فتوسنتز بیشتر می‌گردند، لیکن چون مقداری از مواد فتوسنتزی گیاه در حین رابطه همزیستی مصرف می‌شود، ممکن است کاهشی در بیوماس گیاه مشاهده شود که دور از انتظار نیست. در آزمایشی بر روی ذرت مشخص شد که در تیمارهای حاوی ریزجانداران حل‌کننده فسفات، تعداد برگ در بوته بیشتر است (احتشامی و همکاران، 1388).

بین سطوح باکتری‌ها در سطح احتمال یک درصد از لحاظ تعداد پنجه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که تیمار واجد باکتری 168 با پنج عدد، بیشترین تعداد پنجه را سبب شد و کمترین تعداد پنجه، در تیمار دارای دو باکتری مشاهده شد (جدول 3). تفاوت بین ارقام نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول 2). همچنین اثر باکتری در رقم در تعداد پنجه معنی‌دار شد (جدول 2)، به‌طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 در رقم جامبو بیشترین تعداد پنجه را تولید کرد (شکل 3). نشان داده شد که مصرف باکتری باعث افزایش تعداد پنجه در جو می‌شود (پاملا و استیون، 1982). در آزمایشی بر روی جو مشاهده شد که تیمارهای واجد باکتری سودوموناس، تعداد پنجه در بوته بیشتری نسبت به شاهد دارند (حسن زاده و همکاران، 1386). همچنین یافته‌ها نشان داده است که کاربرد کود فسفر به همراه باکتری باعث تسریع مراحل رشد در سویا می‌گردد (شاه و همکاران، 2001).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در سطح برگ در مرحله گلدهی، بین سطوح باکتری‌ها در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که تیمار حاوی باکتری سویه 168 و تیمار واجد هر دو باکتری به ترتیب، بیشترین و کمترین سطح برگ را به خود اختصاص دادند (جدول 3). اختلاف بین ارقام نیز در این صفت، تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول 2). اثر باکتری در رقم، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول 2). به نظر می‌رسد که این تغییر، به دلیل وجود یک رابطه سینرژیستی بین هورمون‌های گیاهی و متابولیت‌های ترشح شده به‌وسیله مواد تلقیحی است که تأثیر مثبت بر گیاه دارند. به نظر می‌رسد که سیگنال‌های شیمیایی در گیاهان تلقیح شده، رشد برگ را کنترل می‌نمایند. البته در گیاهان تلقیحی به دلیل ترشحات خارجی این باکتری‌ها که سبب افزایش حجم ریشه و بالطبع افزایش جذب آب و عناصر غذایی می‌شوند، برگ، رشد خود را انجام می‌دهد. میزان کمتر سطح برگ در گیاه در تیمارهای تلقیح بذر با هر دو باکتری را می‌توان به مصرف کربن و سایر مواد فتوسنتزی

این امر باعث کاهش وزن خشک گیاه می‌گردد. این موضوع در رابطه با تیمار واجد هر دو باکتری در آزمایش ما کاملاً مشهود بود. بنابراین به نظر می‌رسد که این دو باکتری اثر سینرژیستی با یکدیگر نداشته‌اند و همان‌طور که در نتایج هم مشخص است، حتی باعث کاهش ارتفاع گیاه نسبت به تیمار شاهد شدند. گزارش شده است که استفاده از تیمار تلقیح باکتری و قارچ میکوریزا باعث افزایش ارتفاع ذرت شد (احتشامی و همکاران، 1388). هر چند که برخی از سویه‌های سودوموناس بر ارتفاع ساقه تأثیری نداشته‌اند (حسن زاده و همکاران، 1386).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین سطوح باکتری‌ها، ارقام و همچنین اثر باکتری در رقم از نظر قطر ساقه در سطح احتمال یک درصد، اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2). به‌طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها بیانگر آن بود که ساقه در تیمار حاوی باکتری سویه 168 با 21/89 میلی‌متر، نسبت به ساقه سایر تیمارها قطورتر بود و نازک‌ترین ساقه به تیمار واجد دو باکتری با میانگین 19/5 میلی‌متر تعلق داشت (جدول 3). دلیل افزایش قطر ساقه در تیمار حاوی باکتری سویه 168 را می‌توان به تجمع مواد و بیوماس بالاتر گیاه نسبت داد. در تیمار حاوی دو باکتری قسمتی از این بیوماس صرف رابطه همزیستی بین باکتری و گیاه می‌شود که نتیجه آن کاهش قطر ساقه است. ضمن این‌که به نظر می‌رسد باکتری‌ها بر روی فعالیت یکدیگر اثر منفی داشته‌اند که باعث شده تا به‌خوبی نتوانند در کنار یکدیگر به کمک گیاه بیایند. گزارش شده است که ریزجانداران حل‌کننده فسفات باعث افزایش قطر ساقه ذرت می‌شوند (احتشامی و همکاران، 1388).

تجزیه واریانس داده‌ها مشخص نمود که بین سطوح باکتری‌ها، ارقام گیاهی و همچنین اثر باکتری در رقم در تعداد برگ، در سطح احتمال 1 درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به‌طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار واجد باکتری سویه 168 با 14 عدد برگ بیشترین تعداد و تیمار حاوی دو باکتری با 13 عدد، کمترین تعداد را به خود اختصاص دادند (جدول 3). اثر باکتری در رقم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت، به‌طوری‌که تیمار واجد باکتری 168 در رقم جامبو بیشترین تعداد برگ را داشت و کمترین تعداد برگ در تیمار واجد هر دو باکتری در رقم KFS₁ مشاهده شد (شکل 2). در تیمارهای تلقیح بذر، ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات به دلیل قدرت و کارایی بالایی که در جذب عناصر غذایی و به ویژه فسفر از خود نشان می‌دهند، باعث تداوم طول عمر برگ در

دو باکتری بود (جدول 3). بین ارقام، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 2). اثر متقابل باکتری در رقم در سطح 5 درصد نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد، به طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 در رقم اسپیدفید با میانگین 497/7 گرم بیشترین وزن تر ساقه را داشت و کمترین آن مربوط به تیمار حاوی دو باکتری در رقم KFS₁ با میانگین 214/3 گرم بود (شکل 5). تجزیه واریانس داده‌ها مشخص نمود که از نظر وزن تر ساقه بین سطوح باکتری‌ها و بین ارقام، اختلاف‌ها معنی‌دار نبود (جدول 2). با این حال مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار واجد باکتری سویه 168 بیشترین وزن خشک ساقه را داشت و کمترین آن مربوط به تیمار واجد دو باکتری بود (جدول 3). اثر متقابل باکتری در رقم بر وزن خشک ساقه نیز اختلاف معنی‌داری داشت (جدول 2). تیمار حاوی باکتری سویه 41 در رقم اسپیدفید بیشترین، و کمترین وزن خشک مربوط به تیمار حاوی باکتری سویه 168 در رقم KFS₁ بود (شکل 6). وزن خشک بالای ساقه می‌تواند ناشی از افزایش جذب گیاه بخصوص افزایش جذب فسفر به واسطه همیاری باشد. تلقیح ذرت با *G. intraradices* و *G. mosseae* وزن خشک اندام هوایی را بسته به ترکیب گونه و مایه تلقیح افزایش داده است (گلنرا و همکاران، 2006). نتایج سایر محققین نیز بیانگر افزایش وزن خشک ساقه به دنبال کاربرد کودهای زیستی است (کلبی و همکاران، 2010؛ غلامی و همکاران، 2009؛ بانچیو و همکاران، 2008).

در عملکرد علوفه تر بین سطوح باکتری‌ها، ارقام و اثر متقابل رقم در باکتری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه 168 بیشترین مقدار را داشت و کمترین مقدار در تیمار واجد هر دو باکتری دیده شد (جدول 3). تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در عملکرد علوفه خشک بین سطوح باکتری‌ها، ارقام و اثر متقابل رقم در باکتری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که مقایسه بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه 168 بیشترین مقدار را داشت و کمترین مقدار در تیمار واجد دو باکتری دیده شد (جدول 3). بین ارقام نیز رقم جامبو و رقم اسپیدفید به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را داشتند، هر چند که بین ارقام تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول 4). اثر مثبت ریزجانداران حل‌کننده فسفات در افزایش عملکرد علوفه خشک ذرت گزارش شده است (ادواردز و همکاران، 1998). در تحقیقی دیگر نیز اثر

گیاه توسط ریزسازواره‌ها و عدم اثر هم‌افزایی آنها مرتبط دانست. محرز شده است که این ریزجانداران باعث افزایش سطح برگ گیاه می‌شوند (وو و ژیا، 2006؛ وو و همکاران، 2008).

در وزن تر برگ، بین سطوح باکتری‌ها، بین ارقام و همچنین اثر متقابل باکتری در رقم در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول 2). مقایسه بین سطوح باکتری‌ها بیانگر آن بود که تیمار واجد باکتری سویه 168 با 246/8 گرم، وزن تر بالاتری نسبت به بقیه باکتری‌ها داشت و کمترین وزن تر برگ مربوط به تیمار واجد دو باکتری با 200/56 گرم بوده است (جدول 3). تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر آن بود که در وزن خشک برگ، اختلاف بسیار معنی‌داری بین سطوح باکتری‌ها و بین ارقام در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 2). به طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 با 102/78 گرم در بوته در سطح اول قرار گرفت و کمترین وزن، مربوط به تیمار واجد دو باکتری با 88/44 گرم در بوته بود (جدول 3). اثر باکتری در رقم نیز در این صفت اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول 2)، به طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 در رقم جامبو با 126/3 گرم در بوته و تیمار حاوی هر دو باکتری در رقم KFS₁ با 53 گرم در بوته به ترتیب، بیشترین و کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (شکل 4). وزن خشک برگ بالا از اجزای مهم و تأثیرگذار در عملکرد و گزینش یک گیاه علوفه‌ای است. احتمال می‌رود که همیاری با ریزجانداران حل‌کننده فسفات، اندازه و تناسب اندام گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر، مهم‌ترین عاملی است که می‌تواند وزن خشک گیاه را در همزیستی تحت تأثیر قرار دهد. البته سایر جنبه‌های بیوشیمیایی گیاه میزبان در همزیستی با این ریزسازواره‌ها می‌تواند اندازه اندام گیاه میزبان را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین اندازه گیاه و تناسب اندام درون گیاه از قبیل نسبت ساقه به ریشه، برگ، اندام زایشی و ... می‌تواند دستخوش تغییر به دلیل وجود روابط همزیستی شود. به دنبال بررسی اثر تلقیح لوبیا با باکتری‌های محرک رشد گزارش شد که استفاده از این باکتری‌ها منجر به افزایش وزن خشک برگ می‌گردد (لی و همکاران، 2005). سایر محققین نیز به نتایج مشابه دست یافته‌اند (ولنتاین و همکاران، 2006؛ کلبی و همکاران، 2010).

بین سطوح باکتری‌ها از لحاظ وزن تر ساقه در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2)، به طوری‌که تیمار واجد باکتری سویه 168 در سطح اول قرار گرفت و کمترین وزن تر ساقه مربوط به تیمار واجد هر

باکتری‌ها در افزایش عملکرد علوفه سورگوم به دلیل جذب بیشتر فسفر مشخص گردید.

در میزان فسفر گیاه، بین سطوح باکتری‌ها و همچنین بین ارقام اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول 2). تیمار واجد باکتری سویه 168 با میانگین 3/26 درصد نسبت به بقیه سطوح باکتری‌ها از میزان فسفر بالاتری برخوردار بود (جدول 3). این موضوع، اهمیت توان بالای ریزجانداران را در افزایش جذب فسفر توسط گیاه میزبان، خاطر نشان می‌سازد. به نظر می‌رسد افزایش جذب فسفر در گیاهان همزیست به‌واسطه تأثیر بر افزایش رشد و جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر و نیز افزایش حلالیت یون‌ها از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌ها بخصوص آنزیم فسفاتاز و افزایش تولید هورمون‌های رشد از جمله اکسین و سیتوکینین و در نتیجه افزایش منطقه تخلیه فسفر توسط سطح جذب کننده ریشه باشد (زیدی و همکاران، 2004). همچنین اظهار شد که افزایش جذب فسفر در گیاهان تلقیح شده، به‌واسطه افزایش در تعداد مناطق جذب در واحد سطح ریشه و توانایی بیشتر این ریشه‌ها برای جذب فسفر بوده است (کیم و همکاران، 1998). برخی از محققین، افزایش جذب فسفر توسط گیاهان همزیست با ریزجانداران حل کننده فسفات را به‌واسطه تولید دی اکسید کربن به وسیله باکتری‌ها و در نتیجه تولید اسید کربنیک و تأثیر آن بر افزایش قابلیت جذب فسفر دانسته‌اند (رودریگوز و فراگا، 1999). مطالعات قبلی در این رابطه نیز نشان داد که این باکتری باعث افزایش میزان فسفر گیاه می‌شود. البته اختلافات زیادی در این مقوله در مطالعات گوناگون مشاهده شده است (شاهارونا و همکاران، 2006). استفاده از باکتری‌های محرک رشد اثر معنی‌داری بر عملکرد میوه، رشد و میزان فسفر و روی توت‌فرنگی داشته است (اسیتکن و همکاران، 2010). محققین زیادی نیز نقش اتیلن در تغییرات مورفولوژیکی سیستم ریشه‌ای را بیان کرده‌اند که خود می‌تواند بر جذب عناصر غذایی توسط ریشه موثر باشد (افضل و همکاران، 2005). در یک تحقیق، بیشترین جذب فسفر در تیمار تلقیح با باکتری سودوموناس به همراه 100 درصد کود شیمیایی سوپرفسفات تریپل به دست آمد (ذبیحی و همکاران، 2009). محققین زیادی بر افزایش جذب فسفر در نتیجه تلقیح بذر با این ریزجانداران تأکید کرده‌اند (میرانصاری و همکاران، 2008). در میزان فسفر قابل جذب خاک، بین سطوح باکتری، اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما بین ارقام و اثر رقم بر باکتری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول 2).

مقایسه میانگین بین سطوح باکتری مشخص کرد که در خاک تیمار واجد باکتری سویه 168 بیشترین میزان فسفر قابل جذب وجود داشت و کمترین مقدار فسفر خاک، در تیمار واجد هر دو باکتری مشاهده شد (جدول 3). دانسته شده است که باکتری‌های حل کننده فسفات، موادی ترشح می‌کنند که در قابلیت حل شدن فسفر تثبیت شده خاک مؤثر است (هامل و اسمیت، 1991). باکتری‌های محرک رشد گیاه از جمله سودوموناس نیز اسیدهای آلی ترشح می‌کنند که فعالیت میکروبی را در ریزوسفر خاک افزایش داده و باعث افزایش حلالیت و میزان فسفر قابل دسترس خاک می‌گردند (زیدی و همکاران، 2004). قابلیت دسترسی پائین فسفر در نمونه‌های خاک می‌تواند به‌واسطه جذب فسفر به وسیله گیاه یا تثبیت شیمیایی فسفر باشد. طبق نتایج به‌دست آمده (زیدی و همکاران، 2003) میزان فسفر قابل دسترس در خاک بعد از برداشت محصول در تیمارهای تلقیح شده با ریزجانداران حل کننده فسفات بیشتر از تیمارهای کود شیمیایی و کنترل بود. بررسی‌ها نشان داده است که قارچ‌های میکوریزا از طریق ترشح مواد کلات کننده مانند اسید اگزالیک در افزایش میزان فسفر قابل دسترس خاک مؤثرند. همچنین با افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز، این امر تسهیل می‌گردد (داد و همکاران، 1987).

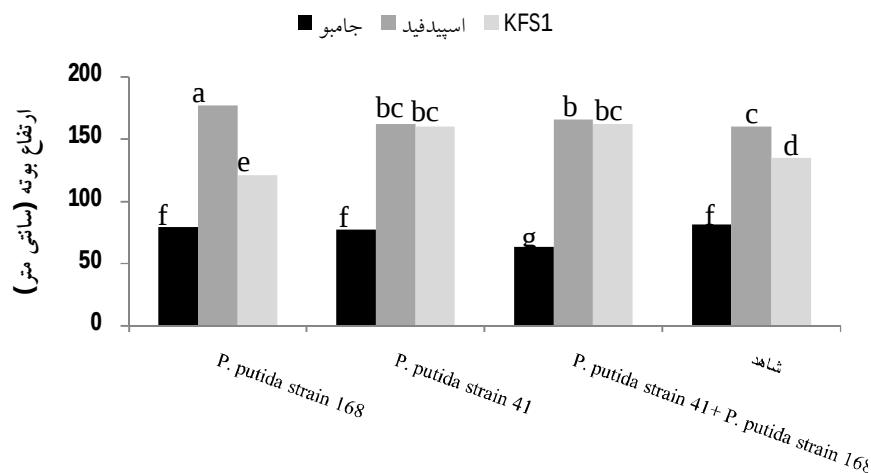
نتیجه‌گیری

تلقیح بذر سورگوم با *Pseudomonas putida* strain 168 بر عملکرد کمی و کیفی از طریق افزایش جذب مواد غذایی، به ویژه فسفر، اثر مثبتی داشت. به نظر می‌رسد این افزایش عمدتاً به‌دلیل تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آنها بر رشد ریشه بود که جذب آب و مواد غذایی را از خاک بهبود بخشید. افزایش در میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه باعث افزایش تجمع ماده خشک و مواد معدنی در ساقه‌ها و برگ‌های گیاه شد. تنوع عملکرد سویه‌های سودوموناس به صورت تفاوت در جذب عناصر غذایی و تأثیر بر عملکرد علوفه نمود یافت. در بین دو سویه مختلف باکتری، تیمار تلقیح بذر با سویه 168 نسبت به سویه دیگر اثر بارزتری بر اکثر صفات‌های مورد ارزیابی داشت. برای کاهش صفات مورد مطالعه نیز می‌توان این گونه پنداشت که این دو ریزسازواره در کنار یکدیگر بر هم اثر آنتاگونیستی داشته و تأثیر منفی بر رشد گیاه دارند. در حقیقت این آزمایش نشان داد که این ریزجانداران بر حسب ویژگی‌های خاک، ژنوتیپ گیاه و شرایط اقلیمی، واکنش‌های متفاوتی را از خود نشان می‌دهند. به این ترتیب پیش‌بینی می‌شود که در صورت تکرار آزمایش در محدوده‌ای وسیع از خاک،

شرایط اقلیمی و عملیات زراعی، وضعیت سازگاری این ریزجانداران به محیط و نیز برهمکنش آنها در تغییر عملکرد گیاه، با وضوح بیشتری قابل مطالعه و بررسی خواهد بود.

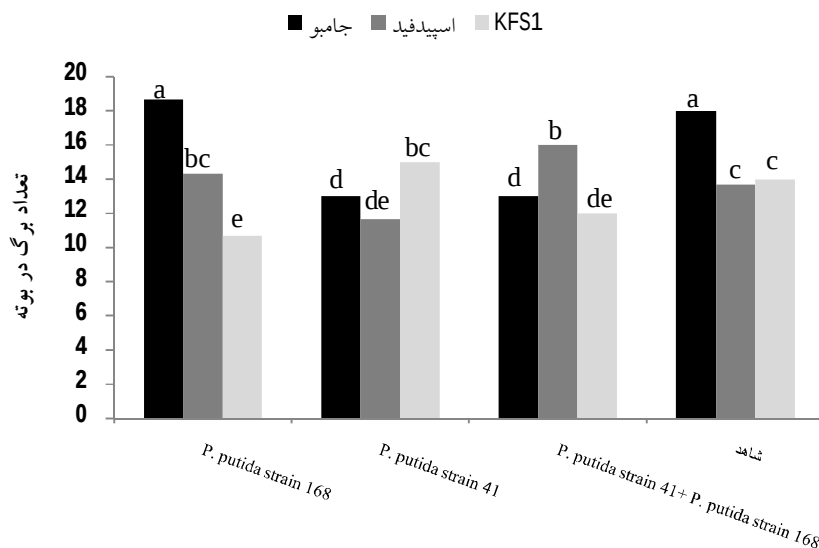
جدول 1- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

کربن آلی %	نیترژن %	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	آهن (ppm)	هدایت الکتریکی dS/m	منگنز (ppm)	روی (ppm)	مس (ppm)	اسیدیته	بافت خاک
0/81	0/1	9/6	260	4/1	3/1	11/3	0/8	1/3	7/1	لوم رسی



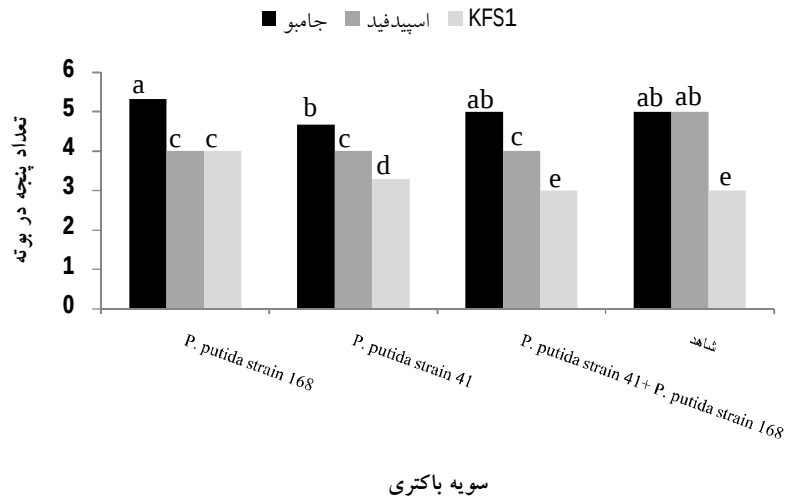
سویه باکتری

شکل 1- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری و ارقام سورگوم علوفه‌ای بر ارتفاع گیاه

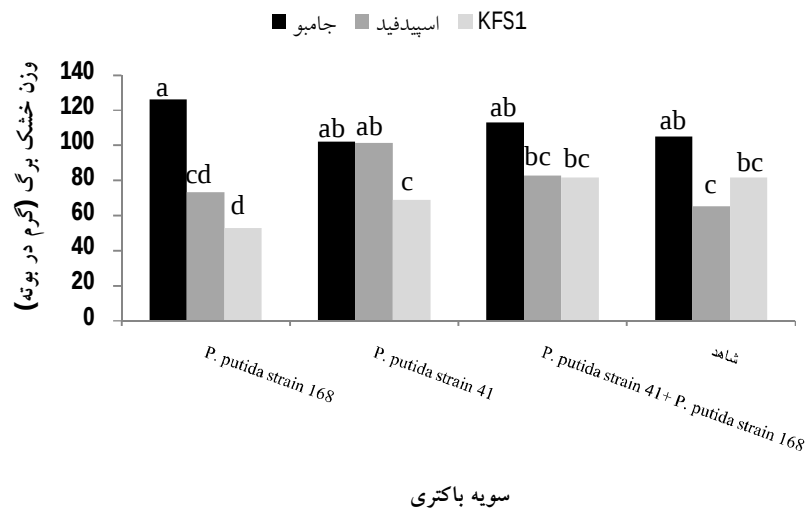


سویه باکتری

شکل 2- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام سورگوم علوفه‌ای بر تعداد برگ در بوته



شکل 3- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر تعداد پنجه در بوته



شکل 4- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر وزن خشک برگ

جدول 2- جدول تجزیه واریانس صفات کمی و کیفی ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع ساقه	قطر ساقه	تعداد برگ در بوته	وزن تر برگ	وزن تر ساقه	سطح برگ	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	تعداد پنجه در بوته	عملکرد علوفه خشک	عملکرد علوفه گیاه	فسفر خاک
تکرار	2	5/9 ^{ns}	3/03 ^{**}	0/58 ^{ns}	295/86 ^{**}	1451/03 ^{ns}	0/004 ^{ns}	42/25 ^{ns}	14/25 ^{ns}	0/11 ^{ns}	201310907 ^{**}	3409528/7 ^{**}	0/028 ^{ns}
باکتری	3	969/8 ^{**}	14/32 ^{**}	4/62 ^{**}	4730/29 ^{**}	19966/10 [*]	0/118 ^{**}	106/07 [*]	314/22 ^{ns}	3/65 ^{**}	1609646808 ^{**}	27386177/1 ^{**}	0/31 ^{**}
رقم	2	24984/2 ^{**}	180/78 ^{**}	79/1 ^{**}	61652/11 ^{**}	5406/86 ^{ns}	1/121 ^{**}	1714/75 ^{**}	361/58 ^{ns}	6/03 ^{**}	1365010870 ^{**}	23077311/5 ^{**}	17/12 ^{ns}
باکتری * رقم	6	576/9 ^{**}	26/18 ^{**}	3/93 ^{**}	4898/63 ^{**}	20498/15 [*]	0/062 ^{**}	58/04 ^{ns}	673/92 ^{**}	0/76 ^{**}	972629787 ^{**}	29892300/0 ^{**}	23/67 ^{ns}
خطا	22	6/8	0/48	0/25	17/34	5479/75	0/004	29/52	158/46	0/08	258936367	10784398/2	3/8
%CV	-	2/0	3/36	3/73	11/85	22/38	12/58	14/81	23/03	6/78	12/84	12/25	9/83

**اختلاف معنی‌دار در سطح 1 درصد

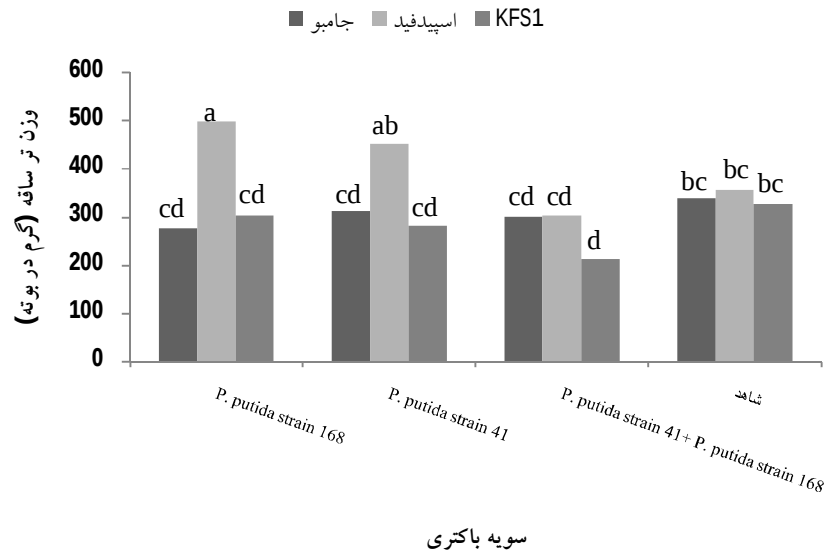
* اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد

^{ns} عدم وجود اختلاف معنی دار

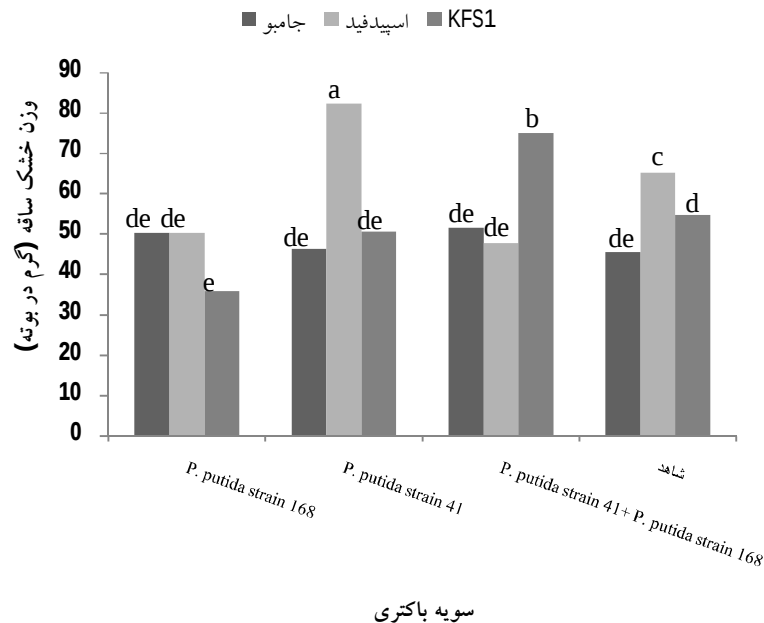
جدول 3- مقایسه میانگین صفات کمی و کیفی سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	ارتفاع ساقه (cm)	قطر ساقه (mm)	تعداد برگ	وزن تر برگ (گرم در بوته)	وزن تر ساقه (گرم در بوته)	سطح برگ (cm ²)	وزن خشک برگ (گرم در بوته)	وزن خشک ساقه (گرم در بوته)	تعداد پنجه	عملکرد علوفه تر (کیلو در هکتار)	عملکرد علوفه خشک (کیلو در هکتار)	فسفر گیاه (%)	فسفر خاک (mg/Kg)
<i>P. putida</i> strain 168	140/55 ^a	21/89 ^a	14/89 ^a	246/89 ^a	380/33 ^a	6022/5 ^b	36/89 ^b	60/11 ^a	5/11 ^a	94686 ^a	15103 ^a	3/26 ^a	8/56 ^a
<i>P. putida</i> strain 41	128/11 ^b	19/67 ^c	14/67 ^b	242/44 ^b	361/22 ^a	5854/2 ^a	41/33 ^a	59/44 ^a	4/11 ^b	86803 ^{ab}	14313 ^{ab}	2/87 ^b	7/14 ^b
<i>P. putida</i> strain 41,168	115/44 ^d	19/44 ^c	13/44 ^d	200/56 ^d	284/44 ^b	5202/9 ^d	33/33 ^d	49/44 ^b	3/67 ^d	72473 ^c	12412 ^b	2/83 ^b	3/81 ^d
بدون باکتری	124/78 ^c	21/55 ^b	13/67 ^c	211/00 ^c	297/22 ^b	5768/7 ^c	35/11 ^c	49/67 ^b	3/89 ^c	80235 ^{bc}	12952 ^{ab}	2/88 ^b	5/44 ^c

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD هستند.



شکل 5- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر وزن تر ساقه



شکل 6- اثر متقابل سطوح مختلف باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای بر وزن خشک ساقه

فهرست منابع:

۱. احتشامی، س.م.ر.، آقاعلیخانی، م.، چائیچی، م.ر. و خوازای، ک. 1388. تأثیر کودهای زیستی فسفات بر خواص کمی و کیفی ذرت دانه ای تحت شرایط تنش کم آبی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران 40 (1): 15-27.
۲. احتشامی، س.م.ر.، جاوید، ح.، مریدی، ر. و خوازای، ک. 1388. کارایی باکتری های محرک رشد بر جوانه زنی برنج در شرایط تنش شوری. اولین همایش ملی تنش های محیطی در علوم کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند.

۳. حسن‌زاده، ا.، مظاهری، د.، چائی‌چی، م.ر. و خواوازی، ک. 1386. کارایی مصرف باکتری های تسهیل کننده جذب فسفر و کود شیمیائی فسفر بر عملکرد و اجزای عملکرد جو. پژوهش و سازندگی (زراعت و باغبانی) 77: 111-118.
۴. رمضانیان، ع. 1384. نقش باکتری های ریزوبیومی مولد آنزیم ACC دآمیناز در تعدیل اثرات سوء اتیلن استرسی در گیاه گندم. پایان نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه تهران.
۵. ملکوتی، م.ج. و همائی، م. 1372. حاصلخیزی خاک های مناطق خشک « مشکلات و راه حل ها». چاپ اول. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. 494ص.
6. Adesemoye, A.O., Torbert, H.A. and Kloepper, J.W. 2010. Increased plant uptake of N from ¹⁵N-depleted fertilizer using PGPR. *Applied Soil Ecology* 46: 54-58.
7. Afzal, A., Ashraf, M., Asad, S.A. and Farooq, M. 2005. Effect of phosphate solubilizing microorganism on phosphorus uptake yield and yield traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) in rainfed area. *International Journal of Agricultural Biology* 7:207-9.
8. Aseri, G.K., Neelam, J., Jitendra, P., Rao, A.V. and Meghwal, P.R. 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. *Science of Horticulture* 117:130-135.
9. Banchio, E., Bogino, P.C., Zygadlo, J. and Giordano, W. 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. *Biochemical Systems and Ecology* 36: 766-771.
10. Belimov, A.A., Safronova, V.I. and Mimura, T. 2002. Response of spring rape (*Brassica napus* var. *Olifera* L.) to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane- 1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. *Canadian Journal of Microbiology* 48: 189-199.
11. Celebi, S.Z., Demir, S., Celebi, R., Durak, E.D. and Yilmaz, I.H. 2010. The effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) applications on the silage maize (*Zea mays* L.) yield in different irrigation regimes. *European Journal of Soil Biology*, In Press, Corrected Proof, Available online 29 June 2010.
12. Dodd, J.C., Burton, C.C., Bums, R.G. and Jeffries, P.J. 1987. Phosphatase activity associated with the roots and the rhizosphere of plants infected with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 167: 163-172.
13. Edwards, S.G., Peter, J., Young, W. and Fitter, A.H. 1998. Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere. *Original Research Article FEMS Microbiology Letters* 166: 297-303.
14. Esitken, A., Hilal, Y., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Tyran, M. and Gunes, A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Science of Horticulture* 124: 62-66.
15. Gholami, A., Shahsavani, S. and Nezarat, S. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *International Journal of Biological Life Science* 1(1): 35-40.
16. Gollnera, M.J., Puschelb, D., Rydlovab, J., Jana, D. and Vosatka, M. 2006. Effect of inoculation with soil yeasts on mycorrhizal symbiosis of maize. *Pedobiology* 50: 341-345.
17. Hamel, C. and Smith, D.L. 1991. Interspecific N-transfer and plant development in a mycorrhizal field-grown mixture. *Soil Biology and Biochemistry* 23(1): 661-665.
18. Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. 2010. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil Ecology* 45: 71-77.

19. Kim, K.Y., Jordan, D. and McDonald, G.A. 1998. Effect of phosphate-solubilizing bacteria (PSB) and VAM on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility Soils* 26: 79-87.
20. Li, H.Y., Zhu, Y.G., Marschner, P., Smith, F.A. and Smith, S.E. 2005. Wheat responses to arbuscular mycorrhizal fungi in a highly calcareous soil differ from those of clover, and change with plant development and P supply. *Plant Soil* 277: 221-232.
21. Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R. 2004. Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86: 1-25.
22. Mahato, P., Badoni, A. and Chauhan, J.S. 2009. Effect of *Azotobacter* and Nitrogen on Seed Germination and Early Seedling Growth in Tomato. *Researcher*, 1(4), <http://www.sciencepub.net>, sciencepub@gmail.com
23. Mehnaz, S., Kowalik, T., Reynolds, B. and Lazarovits, G. 2010. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 42:1848-1856.
24. Miransari, M., Bahrami, H.A., Rejali, F. and Malakout, M.J. 2008. Using arbuscular mycorrhizae to alleviate the stress of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth. *Soil Biology and Biochemistry* 40(5): 1197-1206.
25. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *United States Department of Agriculture Circular* 939: 1-19.
26. Pamella, A.C.S. and Steven, H. 1982. Inorganic phosphate solubilization by rhizosphere in a *zostera marini* community. *Canadian Journal of Microbiology* 28: 605-610.
27. Piromyoo, P., Buranabanayot, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N. and Teamroong, N. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *European Journal of Soil Biology* 47: 44-54.
28. Rodriguez, H. and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion (review paper). *Biotechnology Advances* 17: 319-339.
29. Sekar, K.R. and Karmegam, N. 2010. Earthworm casts as an alternate carrier material for biofertilizers: Assessment of endurance and viability of *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum*. *Science of Horticulture* 124: 286-289.
30. Shah, P., Kakar, K.M. and Zaha, K. 2001. Phosphorus use efficiency of soybean as effected by phosphorus application and inoculation. *Plant Nutrition Food Sec. Sus. of AgroEcology*. 670-671.
31. Shaharoona, B., Arshad, M., Zahir, Z.A. and Khalid, A. 2006. Performance of *Pseudomonas spp.* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2971-2975.
32. Valentine, A.J., Mortimer, P.E., Lintnaar, A. and Borgo, R. 2006. Drought responses of Arbuscular mycorrhizal greppines. *Symbiosis* 41: 127-133.
33. Wu, Q.S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology* 163: 417-425.
34. Wu, Q.S., Xia, R.X. and Zou, Y.N. 2008. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress. *European Journal of Soil Biology* 44: 122-128.
35. Zabihi, H.R., Savaghebi, G.R., Khavazi, K. and Ganjali, A. 2009. Response of wheat growth and yield to application of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of phosphorus fertilization. *Iranian Journal of Agricultural Science*, Skin 7, Number 1.
36. Zaidi, A., Khan, M.S. and Aamil, M. 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *European Journal of Agronomy* 19: 15-21.
37. Zaidi, A., Khan, M.S. and Aamil, M. 2004. Bioassociative effect of rhizospheric microorganisms on growth, yield and nutrient uptake of greengram. *Journal of Plant Nutrition* 27: 599-610.

تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد، شاخص‌های رشد و غلظت عناصر پرمصرف گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیم

اکبر نعمتی¹ و احمد گلچین

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه زنجان؛ akbar_nemati67@yahoo.com

استاد دانشگاه زنجان؛ agolchin2011@yahoo.com

دریافت: 91/11/9 و پذیرش: 92/10/24

چکیده

کادمیم (Cd) یکی از عناصر غیرضروری و سمی برای گیاهان است که غلظت‌های بالای آن باعث کاهش شدید عملکرد و نامطلوب شدن کیفیت محصولات کشاورزی برای مصرف می‌شود. بمنظور بررسی تأثیر کودهای زیستی بر عملکرد، شاخص‌های رشد و غلظت عناصر پرمصرف بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیم یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه به اجرا درآمد. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از سطوح مختلف آلودگی خاک به کادمیم (صفر، 5، 10، 20، 40 و 80 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و ترکیب کود زیستی که خاک با آن تلقیح گردید. دو نوع کود زیستی شامل (M_1): باکتری ازتوباکتر + قارچ میکوریز (VAM) + باکتری آزوسپریلوم و (M_2): باکتری محرک رشد گیاه (PGPR) + قارچ میکوریز (VAM) + باکتری آزوسپریلوم و یک تیمار بدون کود زیستی (M_0) نیز به عنوان شاهد در این آزمایش در نظر گرفته شد. کاربرد کودهای زیستی شاخص‌های رشد، عملکرد و غلظت عناصر بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی را نسبت به تیمار شاهد بطور معنی‌داری افزایش داد. ولی آلودگی خاک به کادمیم رشد گیاه را کاهش داد و با افزایش سطح آلودگی غلظت عناصر پرمصرف بخش هوایی و ریشه، شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه کاهش یافت. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تلقیح خاک با کودهای زیستی می‌تواند اثر سوء کادمیم بر رشد گیاه را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: کودهای زیستی، باکتری محرک رشد، قارچ میکوریز، آلودگی خاک با کادمیم، گیاه گوجه‌فرنگی

مقدمه

سنگین در خاک به نوع و ترکیب شیمیایی مواد مادری خاک و فعالیت‌های انسانی که منجر به افزایش غلظت این عناصر در خاک می‌شود، بستگی دارد (میرسال، 2008). محصولات پرورش یافته در خاک‌های آلوده، فلزات سنگین را جذب کرده و این امر خطر مصرف آنها را برای انسان و حیوانات افزایش می‌دهد (فو و همکاران، 2008). استفاده از تکنولوژی، صنعتی شدن جوامع و فعالیت‌های شهری خطر آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین را افزایش داده است. آلاینده‌ها از طروق مختلف از جمله دفع زباله‌های صنعتی، احتراق زغال سنگ و

خاک جزء مهم و اساسی محیط‌زیست است که نقش بارزی در تغذیه و سلامت انسان، گیاهان و جانوران ایفا می‌کند (سپهوند، 1386). آلودگی خاک به فلزات سنگین به دلیل سمیت و پایداری آنها در خاک و نگرانی از به مخاطره افتادن سلامت انسان و موجودات زنده مورد توجه زیاد قرار گرفته است (هامورکو و همکاران، 2010). به همین دلیل بررسی تأثیر عناصر سنگین بر اجزاء محیط‌زیست در چند دهه گذشته و در حال حاضر موضوع بسیاری از پژوهش‌های زیست محیطی بوده است (فاسچینلی و همکاران، 2001). غلظت فلزات

¹ نویسنده مسئول، آدرس: زنجان، بلوار دانشگاه-دانشگاه زنجان-دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی علوم خاک

رشد و دیگر میکروارگانیسم‌های سودمند امری اجتناب‌ناپذیر است (باشان و هولگین، 1997). باید توجه کرد که کشاورزی ارگانیک تعادل زیست محیطی را حفظ کرده و پایداری سطوح تولید را بدون آلوده کردن خاک، آب و هوا فراهم می‌کند. کودهای زیستی می‌توانند با تولید مواد محرک رشد گیاه اثر سوء تنش‌های محیطی را بر گیاه کاهش دهند (صدیقی و همکاران، 2004). مطالعات محدودی در زمینه کاربرد کودهای زیستی برای کاهش اثر سوء فلزات سنگین بر رشد گیاه صورت گرفته است. در همین راستا و با توجه به نقش سودمند کودهای زیستی در رشد و نمو گیاه و کاهش تنش‌های محیطی، این تحقیق بمنظور بررسی تأثیر این کودها بر رشد و نمو گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیم شکل گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر کودهای زیستی بر شاخص‌های رشد، عملکرد و غلظت عناصر پرمصرف بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش کادمیم در خاک‌های آلوده به کادمیم تحقیق حاضر بصورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در گلخانه به اجرا درآمد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل تیمارهای کود زیستی و سطوح آلودگی خاک به کادمیم بودند. تیمارهای کود زیستی شامل (M_1) : باکتری *ازتوباکتر کروکوکوم* + قارچ میکوریز VAM (از نوع گلواموس موسائه) + باکتری *آزوسپریلوم*، (M_2) : باکتری محرک رشد (PGPR) + قارچ میکوریز VAM (از نوع گلواموس موسائه) + باکتری *آزوسپریلوم* و (M_0) : تیمار شاهد (فاقد کود زیستی) بودند. در تیمار اول کود زیستی از باکتری‌های محرک رشد *ازتوباکتر* و *آزوسپریلوم* که توانایی تثبیت ازت دارند استفاده شده است در حالی که باکتری محرک رشد مورد استفاده در تیمار دوم کود زیستی از نوع *سودوموناس* بود. ضمن اینکه قارچ میکوریز مورد استفاده از کلنیک گیاه‌پزشکی ارگانیک در اسدآباد همدان خریداری گردید. سایر کودهای زیستی نیز از موسسه تحقیقات و خاک و آب کرج تهیه گردیدند. سطوح کادمیم خاک $(C_0, C_1, C_2, C_3, C_4, C_5)$ شامل ۵۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک بودند و برای آلوده کردن خاک بطور مصنوعی از نمک سولفات کادمیم استفاده شد. پس از آلوده ساختن خاک با کادمیم و گذشت حدود یک ماه بمنظور ایجاد تعادل در آنها، نمونه‌های خاک آلوده به کادمیم با کودهای زیستی تلقیح گردیدند. تلقیح کودهای زیستی در خاک قرار گرفته در اطراف ریشه انجام شد. بدین ترتیب که مقداری از خاک سطحی منطقه ریشه به صورت گود برداشته شد و سپس

سایر سوخت‌های فسیلی، سوزاندن پسماندها، استفاده از کودهای شیمیایی و سموم در کشاورزی وارد خاک می‌شوند (سان و همکاران، 2010). آلودگی خاک به عناصر سنگین نظیر کادمیوم، روی و سرب به دلیل توانایی بالقوه در آسیب‌رسانی به سلامت انسان‌ها و موجودات زنده در چند دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته و تلاش شده است که از ورود این عناصر به چرخه طبیعت تا حد امکان جلوگیری شود (بولان و همکاران، 2003). از این رو پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین و روش‌های کاهش قابلیت جذب آن توسط گیاه بوسیله محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (زانگ و جیانگ، 2008). قارچهای میکوریزی از جمله میکرو ارگانیسم‌هایی هستند که با ریشه گیاهان مختلف ایجاد همزیستی می‌کنند و از مهمترین فوائد آنها می‌توان به افزایش جذب آب، کمک به کاهش تنش‌های محیطی مثل شوری و غلظت زیاد فلزات سنگین اشاره نمود (آزکون و الاطرش، 1997). برخی از گزارش‌ها نشان می‌دهد که قارچ‌های میکوریزی تحمل گیاهان را در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین افزایش می‌دهند و مکانیسم اصلی افزایش تحمل گیاه اتصال فلزات سنگین به هیف‌های قارچ در ریزوسفر گیاه می‌باشد (زو و همکاران، 2001). باکتری‌های محرک رشد گیاه نیز، رشد و توسعه گیاه میزبان را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین از طریق کاهش اثرات سمی آنها بهبود می‌بخشند. کودهای زیستی مایه‌های تلقیح میکروبی هستند که حاوی، باکتری‌های مختلف از جنس‌های *آزوسپریلوم*، *ازتوباکتر*، *سودوموناس*، و غیره می‌باشند و با مکانیسم‌های متعدد از جمله تثبیت نیتروژن، آزاد کردن عناصر غذایی در خاک، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه، افزایش کارایی جذب ریشه و داشتن اثرات آنتاگونیستی بر میکروارگانیسم‌های بیماریزا، موجب رشد و افزایش عملکرد گیاه می‌شوند (باشو و همکاران، 2008). از فواید تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد مثل *آزوسپریلوم*، می‌توان به افزایش رشد و عملکرد گیاه از طریق تثبیت نیتروژن، افزایش توسعه ریشه و جذب بیشتر مواد معدنی اشاره نمود. علاوه بر تثبیت نیتروژن، *آزوسپریلوم* با تولید مواد ارتقا دهنده رشد مثل ایندول استیک اسید و جیبرلیک اسید نقش مهمی در افزایش رشد گیاه ایفا می‌کند. ایندول استیک اسید تولید شده از *آزوسپریلوم* باعث افزایش هورمون‌های درونی گیاه که مسئول کرده افشانی و رشد عرضی هستند شده و در نهایت تولید میوه و دانه افزایش می‌یابد (پرمسکار و راجاشری، 2009). بنابراین برای دستیابی به کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی مثل باکتری‌های محرک

قارچ میکوریز و سایر کودهای زیستی با خاک برداشته شده از گلدان تلقیح گردیدند. پس از تلقیح خاک‌های آلوده با کودهای زیستی، نمونه‌های تلقیح شده در گلدان-های 6 کیلوگرمی ریخته شدند و در آنها نشاءهای گوجه-فرنگی رقم اوربانا کاشته شدند. عملکرد گیاه از روی محصول برداشت شده در چین‌های مختلف اندازه‌گیری شد. پس از اتمام دوره کشت ارتفاع گیاه و تعداد برگ و تعداد شاخه‌های فرعی در بوته اندازه‌گیری شدند. همچنین سطح برگ در بوته نیز با استفاده از دستگاه تعیین سطح برگ اندازه‌گیری گردید. بخش هوایی و ریشه گیاه پس از برداشت و شستشو با آب معمولی و مقطر در دمای 55 درجه سانتیگراد خشک شدند. سپس بخش هوایی و ریشه گیاه خشک شده به طور جداگانه آسیاب شده و پس از گذراندن از الک نیم میلیمتری به روش تر هضم گردیدند (علی اخیایی و بهبهانی زاده، 1372). اندازه‌گیری منیزیم و کلسیم در نمونه هضم شده توسط دستگاه جذب اتمی مدل Spectr AA 20 (علی اخیایی و بهبهانی زاده، 1372)، فسفر با روش رنگ‌سنجی و بوسيله دستگاه اسپکتروفوتومتر (علی اخیایی و بهبهانی زاده، 1372)، پتاسیم با دستگاه فیلم فتومتر (علی اخیایی و بهبهانی زاده، 1372) و نیتروژن به روش کجلدال (علی اخیایی و بهبهانی زاده، 1372) اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار (SAS) و برای ترسیم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 1 درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

عملکردی و اجزای عملکرد

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر کودهای زیستی و سطوح آلودگی خاک به کادمیم بر شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه گوجه فرنگی در سطح 1% و اثر متقابل تیمارهای آزمایشی بر صفات مورد بررسی، در سطح 5% معنی‌دار بود (جدول 1).

کاربرد کود زیستی عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی را بطور معنی‌داری (در سطح 1%) افزایش داد (جدول 1). بیشترین میزان عملکرد از تیمار کود زیستی M_1 و کمترین میزان آن از تیمار بدون تلقیح یا (شاهد) بدست آمد (شکل 1 الف). در آزمایشی که توسط سانیتا-جوپتا و همکاران (1995) انجام شد تلقیح بذره‌های گوجه‌فرنگی با سه نوع باکتری آزوسپریلوم، ازتوباکتر و سودوموناس سبب افزایش رشد رویشی گیاه و در نهایت عملکرد گیاه شد. اردکانی (1379) طی تحقیقی نشان داد که تلقیح گندم با آزوسپریلوم برازیلنس موجب افزایش عملکرد دانه و

شاخص برداشت شد. سطوح کادمیم عملکرد گیاه را بطور معنی‌داری و در سطح احتمال 1% کاهش داد (جدول 1). بیشترین مقدار عملکرد از سطح 5 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کمترین میزان آن از سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 1 ب). اثر متقابل کود زیستی و سطوح کادمیم نیز در سطح 5% بر میزان عملکرد معنی‌دار بود (جدول 1). بیشترین مقدار عملکرد از تیمار 5 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کود زیستی M_1 و کمترین مقدار عملکرد از تیمار 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و عدم استفاده از کود زیستی (M_0) حاصل شد (جدول 2). اگر چه بکارگیری کود زیستی M_2 باعث افزایش غلظت برخی عناصر پرمصرف در بخش هوایی و زمینی گیاه گوجه-فرنگی شد ولی بیشترین عملکرد از بکارگیری کود زیستی M_1 حاصل شد. این امر احتمالاً می‌تواند ناشی از افزایش قابل توجه غلظت نیتروژن بخش هوایی و زمینی گیاه گوجه‌فرنگی در اثر مصرف کود زیستی M_1 باشد.

تلقیح با کودهای زیستی ارتفاع گیاه را بطور معنی‌داری (در سطح 1%) افزایش داد (جدول 1). بیشترین میزان ارتفاع گیاه در اثر تلقیح با کود زیستی M_2 و کمترین میزان این صفت از تیمار بدون تلقیح (M_0) حاصل شد (شکل 2 الف). نتایج آزمایش خرم دل و همکاران (1387) نشان داد که تلقیح بذر سیاهدانه با کودهای بیولوژیک باعث افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه، در مقایسه با تیمار شاهد شد و ارتفاع گیاه در تیمار حاوی آزوسپریلوم و قارچ میکوریز نسبت به سایر تیمارهای مورد آزمایش بیشتر بود. ولی نتایج اردکانی و همکاران (1386) نشان داد که کاربرد آزوسپریلوم به تنهایی هیچ گونه تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه و عملکرد دانه نداشت. عقیقی و همکاران (1389) گزارش کردند که اثر تلقیح بذور دو رقم گلرنگ با ازتوباکتر و آزوسپریلوم بر روی صفات وزن گیاهچه، تعداد برگ در بوته، وزن تر ساقه و برگ در بوته، وزن خشک برگ و ساقه در بوته و ارتفاع بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. سطوح آلودگی خاک به کادمیم بطور معنی‌داری (در سطح 1%) ارتفاع گیاه را کاهش داد (جدول 1). بیشترین مقدار ارتفاع گیاه از تیمار بدون کادمیم و کمترین میزان آن از تیمار 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 2 ب). نتایج آزمایش یعقوب زاده و همکاران (1390) نشان داد که اثر سطوح کادمیم بر صفات مورفولوژیک گیاه معنی‌دار بود و بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار شاهد (بدون کادمیم) و کمترین میزان ارتفاع از غلظت 400 میلی گرم نترات کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد. افزایش

(جدول 1). بیشترین تعداد برگ در بوته در اثر کاربرد کود زیستی (M_1) و کمترین تعداد آن از تیمار (M_0) یا بدون تلقیح بدست آمد (شکل 5 الف). نتایج این آزمایش با نتایج حمیدی و همکاران (1389) که اثر تلقیح گیاه ذرت با ازتوباکتر و آزوسپریلوم را بر تعداد برگ غیر معنی‌دار گزارش کردند، مطابقت نداشت. آلودگی خاک به کادمیم تعداد برگ در گیاه را بطور معنی‌داری (در سطح 1%) کاهش داد (جدول 1). بیشترین تعداد برگ از سطح صفر کادمیم (شاهد) و کمترین تعداد برگ از سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 5 ب). یعقوب زاده و همکاران (1390) همچنین در تحقیق خود نشان دادند تعداد برگ در بوته با افزایش سطح کادمیم خاک روند کاهشی داشت. اثر متقابل کودهای زیستی و سطوح کادمیم بر تعداد برگ گیاه گوجه‌فرنگی معنی‌دار نبود (جدول 1).

غلظت عناصر پرمصرف بخش هوایی و ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کودهای زیستی و سطوح کادمیم بر غلظت عناصر غذایی پرمصرف بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی، در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول‌های 3 و 4).

کاربرد کودهای زیستی غلظت نیتروژن بخش هوایی و ریشه گیاه را بطور معنی‌داری (در سطح 1%) افزایش داد (جدول 3 و 4). بیشترین غلظت نیتروژن بخش هوایی و ریشه از تیمار M_1 کود زیستی بدست آمد. اعمال تیمار M_1 غلظت نیتروژن بخش هوایی و ریشه را به ترتیب به میزان 70/5% و 116% نسبت به تیمار شاهد (M_0) افزایش داد. کمترین غلظت نیتروژن در هر دو بخش هوایی و ریشه از تیمار شاهد (M_0) بدست آمد (شکل 6 الف). به نظر می‌رسد ترکیب دو باکتری تثبیت کننده نیتروژن شامل ازتوباکتر و آزوسپریلوم در کود زیستی M_1 به همراه قارچ میکوریز باعث تثبیت بیشتر نیتروژن در ریزوسفر و افزایش غلظت نیتروژن در بخش هوایی و ریشه گیاه شده باشد. زهیر و همکاران (2005) نیز به افزایش 40 درصدی جذب نیتروژن در ذرت در تیمارهای حاوی ازتوباکتر اشاره کردند. بالدانی و همکاران (1987) در سه آزمایش مزرعه‌ای نشان دادند که بیشترین میزان نیتروژن در اندام‌های هوایی و دانه از تلقیح گندم با باکتری آزوسپریلوم برازیلینس حاصل شد. تحقیقات زانگ و همکاران (1995) نشان داد که استفاده از قارچ میکوریز همراه با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن سبب افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه سویا شد. سایر محققان نیز طی نتایج مشابهی افزایش جذب نیتروژن در اثر همزیستی با قارچ میکوریز را گزارش کردند (آزکون و الاترش، 1997؛

غلظت کادمیم در بستر رشد گیاه سبب کاهش محتوای آب گیاه از طریق تأثیر بر کانال‌های آبی تونوپلاست گردید و به دنبال آن کاهش طولی شدگی یاخته‌ای و کاهش طول اندام هوایی اتفاق افتاد (یعقوب زاده و همکاران، 1390). ارتفاع گیاه تحت تأثیر ژنوتیپ و عوامل محیطی است و غلظت‌های بالای عناصر سنگین می‌تواند آنرا تحت تأثیر قرار داده و کاهش دهند (یعقوب زاده و همکاران، 1390). اثر متقابل سطوح کادمیم و کود زیستی بر میزان ارتفاع گیاه معنی‌دار نبود (جدول 1).

کاربرد کودهای زیستی میزان سطح برگ را بطور معنی‌داری (در سطح 1%) افزایش داد (جدول 1). بیشترین میزان سطح برگ در تیمار کود زیستی M_1 و کمترین میزان آن در تیمار بدون تلقیح (M_0) مشاهده شد (شکل 3 الف). خرمدل و همکاران (1387)، گزارش کردند حداکثر و حداقل شاخص سطح برگ 82 روز پس از سبز شدن به ترتیب در تیمار حاوی آزوسپریلوم + میکوریز و شاهد مشاهده شد و شاخص سطح برگ این تیمار نسبت به شاهد 68/2% افزایش داشت. سطوح کادمیم بطور معنی‌داری میزان سطح برگ را (در سطح احتمال 1%) کاهش داد (جدول 1). بیشترین میزان سطح برگ از سطح صفر میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کمترین میزان آن از سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 3 ب). اثر متقابل سطوح کادمیم و کودهای زیستی بر میزان سطح برگ در سطح احتمال 1% معنی‌دار بود (جدول 1). بیشترین میزان سطح برگ از تیمار کود زیستی M_1 و سطح صفر کادمیم و کمترین میزان سطح برگ از تیمار بدون کود زیستی (M_0) و سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (جدول 2).

کاربرد کود زیستی تعداد شاخه‌های فرعی در بوته را بطور معنی‌داری (در سطح احتمال 1%) افزایش داد (جدول 1). بیشترین تعداد شاخه فرعی از کاربرد کودهای زیستی و کمترین تعداد شاخه فرعی از تیمار فاقد کود زیستی (M_0) بدست آمد (شکل 4 الف). آلودگی خاک به کادمیم تعداد شاخه‌های فرعی در بوته را بطور معنی‌داری (در سطح احتمال 5%) کاهش داد (جدول 1). بطوری که بیشترین تعداد شاخه فرعی در بوته از سطح صفر کادمیم و کمترین تعداد آن از سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 4 ب). اثر متقابل سطوح کود زیستی و کادمیم بر تعداد شاخه‌های فرعی در بوته گوجه‌فرنگی معنی‌دار نبود (جدول 1).

تلقیح خاک با کودهای زیستی تعداد برگ در بوته را بطور معنی‌داری (در سطح احتمال 1%) افزایش داد

لیو و همکاران، 2000؛ مارچنر و دل، 1994). آلودگی خاک با کادمیم غلظت نیتروژن بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی را بطور معنی‌داری در سطح احتمال 1% کاهش داد (جدول‌های 3 و 4). بطوری که بیشترین غلظت نیتروژن بخش هوایی و ریشه از سطح 5 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کمترین غلظت آنها از سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 6 ب). کادمیم به علت آسیب رسانی به جمعیت میکروبی خاک و در نتیجه اختلال در فرایند معدنی شدن نیتروژن آلی، آثار منفی بر جذب نیتروژن دارد (دوسک، 1995؛ دیانی و رئیس، 1385). اثر متقابل سطوح کود زیستی و کادمیم بر غلظت نیتروژن بخش هوایی و ریشه در سطح احتمال 5% معنی‌دار بود (جدول‌های 3 و 4). بیشترین غلظت نیتروژن بخش هوایی و ریشه گیاه از تیمار M_1 کود زیستی و سطح صفر کادمیم خاک بدست آمد و کمترین غلظت آن در بخش هوایی از تیمار M_2 کود زیستی و سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و در بخش ریشه از تیمار M_2 و سطح 40 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک حاصل گردید (جدول 5).

کاربرد کودهای زیستی غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه را بطور معنی‌داری (در سطح 1%) افزایش داد (جدول‌های 3 و 4). بیشترین غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه از کود زیستی M_2 بدست آمد. این کود زیستی M_2 غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه را به ترتیب به میزان 98% و 104/2% نسبت به تیمار شاهد (M_0) افزایش داد. کمترین غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه از تیمار شاهد (M_0) حاصل گردید (شکل 7 الف). باکتری محرک رشد گیاه از طریق تولید آنزیم آمینو سیکلو پروپان کربوکسیلات دامیناز و هورمون ایندول استیک اسید باعث کاهش سطح اتیلن تنشی در گیاه (گلیک و همکاران، 2002) و افزایش رشد میسلوم های خارجی و داخلی قارچ‌های میکوریزی می‌گردد، بنابراین سطح جذب ریشه افزایش می‌یابد که این امر منجر به افزایش جذب بیشتر فسفر می‌گردد (زاجکومار و فریت، 2008). بونیا و همکاران (1991) بیان کردند که مهمترین نقش قارچ‌های میکوریزی، افزایش جذب فسفر در گیاه میزبان می‌باشد به گونه‌ای که این قارچ‌ها می‌توانند میزان فسفر را 60 الی 335 درصد در گیاهان مختلف افزایش دهند. رحیمی و همکاران (1390) گزارش کردند که تلقیح با باکتری ازتوباکتر اثر معنی‌داری بر افزایش غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی گیاه داشت. افزایش کمتر غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه در کود زیستی M_1 می‌تواند به دلیل تثبیت نیتروژن بیشتر، رشد و نمو بیشتر گیاه و اثر رقت باشد.

مطالعات هدج (1988) نشان داد که با افزایش میزان مصرف نیتروژن در پیاز، غلظت فسفر کاهش یافت. سطوح کادمیم غلظت فسفر بخش هوایی را در سطح احتمال 1% و بخش ریشه را در سطح 5% کاهش داد (جدول‌های 3 و 4). بطوری که بیشترین غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه از سطح 5 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کمترین غلظت فسفر این بخش‌ها از سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 7 ب). سمیت کادمیم ممکن است باعث ایجاد کمبود فسفر یا بروز مشکلات مربوط به انتقال فسفر در داخل گیاه گردد (مک لاگلین، 1999؛ دنیس، 2000؛ حقیری، 1974). با افزایش سطح کادمیم خاک میزان فسفر قابل عصاره‌گیری کاهش می‌یابد که دلیل این کاهش احتمالاً مربوط به تشکیل ترکیبات نامحلولی همچون فسفات کادمیم می‌باشد (بیکر و همکاران، 1994). سیکوئیرا و همکاران (1999) همچنین اظهار نمودند که در خاکهای آلوده به کادمیم درصد کلنیزاسیون ریشه به قارچ‌های میکوریزی و رشد ریشه گیاه کاهش می‌یابد. اثر متقابل کادمیم و کود زیستی بر غلظت فسفر بخش هوایی در سطح 5 درصد معنی‌دار بود (جدول 3). بیشترین غلظت فسفر این بخش از صفر میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کاربرد کود زیستی M_2 و کمترین غلظت آن از سطح 80 میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و عدم کاربرد کود زیستی (M_0) بدست آمد (جدول 5). اثر متقابل سطوح کادمیم و کود زیستی بر غلظت فسفر بخش ریشه معنی‌دار نبود (جدول 4).

تلقیح با کودهای زیستی غلظت پتاسیم بخش هوایی و ریشه را بطور معنی‌دار (در سطح 1%) افزایش داد (جدول‌های 3 و 4). بیشترین غلظت پتاسیم بخش هوایی از کود زیستی M_1 بدست آمد که با کود M_2 تفاوت معنی‌داری نداشت. این کود زیستی غلظت پتاسیم بخش هوایی را به میزان 74/5% افزایش داد (شکل 8 الف). بیشترین غلظت پتاسیم بخش ریشه از کود زیستی M_2 بدست آمد این کود غلظت پتاسیم بخش ریشه را به میزان 191/6% نسبت به تیمار شاهد (M_0) افزایش داد. کمترین میزان پتاسیم بخش هوایی و ریشه در تیمار شاهد یا عدم مصرف کود زیستی اندازه‌گیری شد. (شکل 8 الف). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که هیف های قارچ‌های میکوریزی قادر به تامین 10 درصد از نیاز گیاه میزبان به پتاسیم هستند (مارچنر و دل، 1994). ساکیا و همکاران (2007) بیان داشتند که تلقیح بذور ذرت، با باکتری آزوسپریلوم باعث افزایش معنی‌دار مقدار پتاسیم گیاه شد. گویندرجالو و همکاران (2005) بیان کردند در اثر فعالیت قارچ‌های میکوریزی محیط خاک از حالت قلیایی به

بخش ریشه را به میزان (10/7%) کاهش داد. قارچ‌های میکوریزی در مواقع کمبود، انحلال عناصر پرمصرف کم محلول نظیر منیزیم را در خاک افزایش می‌دهند (آزکون و الاطرش، 1997). کاهش غلظت منیزیم بخش زمینی گیاه گوجه‌فرنگی در اثر بکارگیری کودزیستی M_1 می‌تواند بدلیل تثبیت بیشتر نیتروژن توسط دو باکتری ازتوباکتر و آزوسپریلوم باشد و اثر آنتاگونیسمی آمونیوم تولید شده بر جذب منیزیم توسط گیاه باشد. سلطانی و همکاران (1385) بیان کردند غلظت عناصر پتاسیم، کلسیم و منیزیم در گیاه با افزایش میزان نیتروژن آمونیومی مصرفی، کاهش یافت. با افزایش سطوح کادمیم خاک غلظت منیزیم بخش هوایی و ریشه گیاه به طور معنی‌داری (در سطح 1%) کاهش یافت (جدول‌های 3 و 4). بیشترین غلظت منیزیم بخش هوایی و ریشه از سطح صفر کادمیم (شاهد) و کمترین غلظت آن از سطح 80 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 9 ب). اثر متقابل سطوح کادمیم و کودهای زیستی نیز بر غلظت منیزیم بخش هوایی در سطح احتمال 5% معنی‌دار بود (جدول 3). بیشترین غلظت منیزیم بخش هوایی از سطح صفر کادمیم و کود زیستی M_2 و کمترین غلظت آن از سطح 80 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و عدم استفاده از کود زیستی (M_0) بدست آمد (جدول 5). اثر متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر غلظت منیزیم بخش ریشه معنی‌دار نبود (جدول 4).

نتیجه‌گیری

بکارگیری کودهای زیستی تعداد شاخه‌های فرعی و برگ در بوته را افزایش داد و باعث افزایش عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی گردید. کاربرد کودهای زیستی غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم و منیزیم بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی را افزایش داد. ولی آلودگی خاک به کادمیم باعث کاهش غلظت همه عناصر پرمصرف در بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی گردید و با افزایش میزان آلودگی خاک، میزان این کاهش نیز بیشتر شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح خاک با کودهای زیستی اثر سوء کادمیم خاک بر رشد گیاه را کاهش داد.

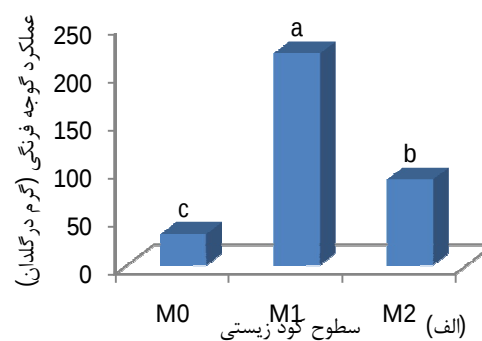
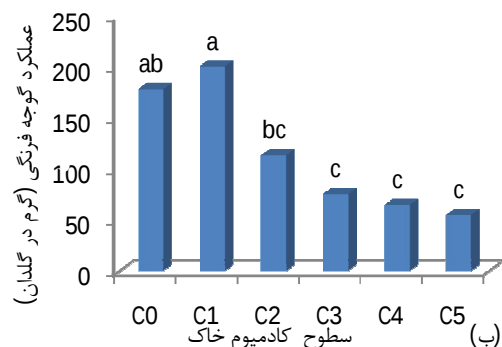
حالت اسیدی متمایل می‌شود این امر باعث می‌شود که عناصر کم محلول مانند پتاسیم حلالیت بیشتر پیدا کرده و غلظت این عناصر در محلول خاک افزایش یابد. افزایش بیشتر غلظت پتاسیم توسط کود زیستی M_2 دلایل مختلفی می‌تواند داشته باشد که از جمله آنها می‌توان به کاهش pH حلالیت بیشتر پتاسیم توسط باکتری‌های محرک رشد اشاره نمود. کارلیداق و همکاران (2007) بیان کردند که افزایش پتاسیم گیاه را ممکن است بتوان با کاهش pH خاک بوسیله اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌های PGPR و افزایش دسترسی به عناصر K و Ca توضیح داد. آلودگی خاک به کادمیم غلظت پتاسیم بخش هوایی را به طور معنی‌داری (در سطح 5%) و غلظت پتاسیم بخش ریشه را در سطح 1% کاهش داد (جدول‌های 3 و 4). بیشترین غلظت پتاسیم بخش هوایی از سطح 5 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کمترین غلظت از سطح 40 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 8 ب). در بخش ریشه بیشترین غلظت از سطح بدون کادمیم (شاهد) و کمترین غلظت پتاسیم از سطح 80 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (شکل 8 ب). اثر متقابل سطوح کادمیم و کود زیستی بر میزان پتاسیم بخش هوایی معنی‌دار نبود (جدول 3). ولی بر غلظت پتاسیم بخش ریشه در سطح احتمال 5% معنی‌دار بود (جدول 4). بیشترین غلظت پتاسیم بخش ریشه از تیمار کود زیستی M_2 و سطح صفر میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک و کمترین غلظت پتاسیم بخش ریشه از تیمار عدم مصرف کود زیستی M_0 و سطح 80 میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بدست آمد (جدول 5).

تلقیح با کودهای زیستی غلظت منیزیم بخش هوایی را در سطح احتمال 1% و بخش ریشه را در سطح 5% افزایش داد (جدول‌های 3 و 4). بیشترین غلظت منیزیم بخش هوایی و ریشه از کاربرد کود زیستی M_2 بدست آمد. مصرف کودزیستی M_2 غلظت منیزیم بخش هوایی و ریشه را به میزان (102/4%) و (8/8%) نسبت به تیمار شاهد (M_0) افزایش داد. کمترین غلظت منیزیم بخش هوایی از تیمار شاهد (M_0) و بخش زمینی از تیمار M_1 کود زیستی بدست آمد (شکل 9، الف). کود زیستی M_1 غلظت منیزیم

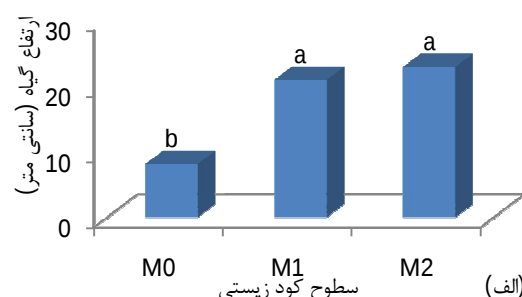
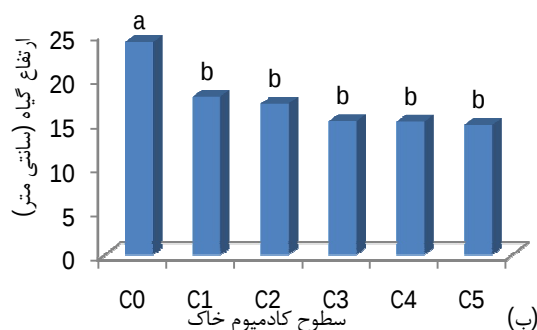
جدول 1- نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل تیمارهای مختلف آزمایشی بر عملکرد و شاخص‌های رشد گیاه گوجه‌فرنگی

میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد	سطح برگ در بوته	ارتفاع بوته	تعداد برگ در بوته
تعداد شاخه‌های فرعی در بوته					
سطوح کادمیم	5	34274/9**	15178/3*	113/4**	2497/4**
سطوح کود زیستی	2	167861/5**	74344/4**	1165/3**	9630/4**
اثر متقابل کادمیم×کود زیستی	10	14369/02*	9104/2*	4/62ns	432/6ns
خطا	36	6688/113	4313/9	14/44	365/2

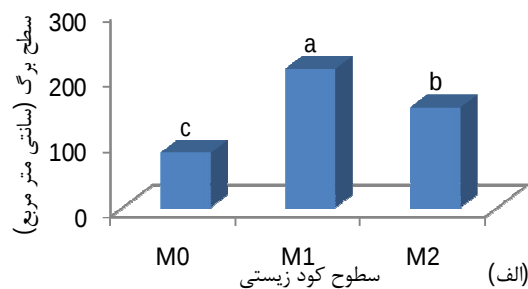
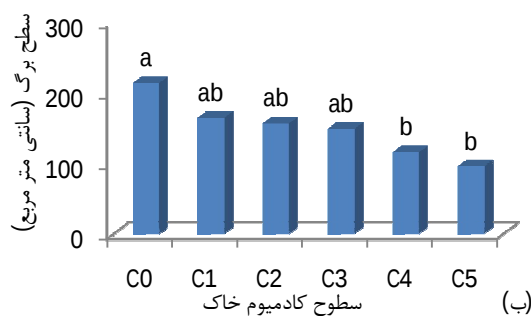
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد و 1 درصد ns بدون معنی می‌باشد



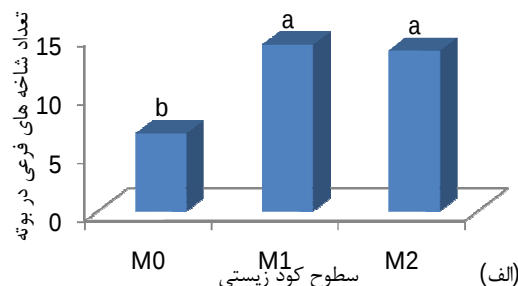
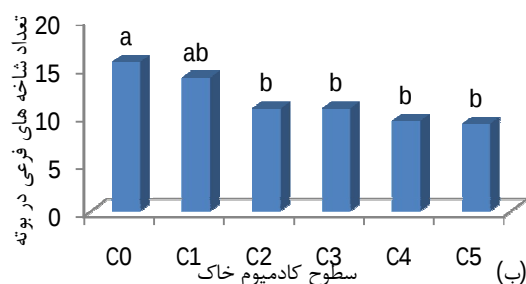
شکل 1- اثرات سطوح کود زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر میزان عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی



شکل 2- اثرات سطوح کود زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر میزان ارتفاع گیاه گوجه‌فرنگی



شکل 3- اثرات سطوح کود زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر میزان سطح برگ گیاه گوجه‌فرنگی

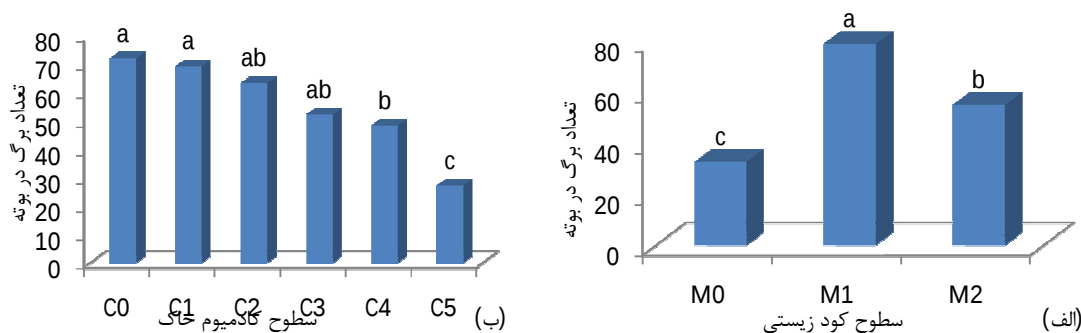


شکل 4- اثرات سطوح کود زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر تعداد شاخه‌های فرعی در بوته گیاه گوجه‌فرنگی

جدول 2- اثر متقابل کود زیستی و سطوح کادمیم بر عملکرد و سطح برگ در بوته در گیاه گوجه‌فرنگی

تیمار	عملکرد	سطح برگ
C0M0	61/9 bc	96/43 bcd
C0M1	359/3 a	401/61 a
C0M2	112/83 bc	142/66 bcd
C1M0	49/52 bc	110/29 bcd
C1M1	426/89 a	202/12 bc
C1M2	124/25 bc	181/43 bc
C2M0	35/98 c	90/23 bcd
C2M1	204/92 b	186/22 bc
C2M2	98/97 bc	193/26 bc
C3M0	22/48 c	78/97 bcd
C3M1	136/61 bc	205/96 b
C3M2	65/98 bc	161/48 bcd
C4M0	13/28 c	72/8 cd
C4M1	94/55 bc	141/88 bcd
C4M2	85/55 bc	132/52 bcd
C5M0	11/63 c	50/46 d
C5M1	102/46 bc	131/75 bcd
C5M2	49/49 bc	104/45 bcd

* در هر ستون اعدادی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از لحاظ آماری آزمون دانکن در سطح 5% معنی‌دار نیستند.



جدول 3- نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل تیمارهای مختلف آزمایشی بر غلظت عناصر پرمصرف بخش هوایی گیاه گوجه‌فرنگی

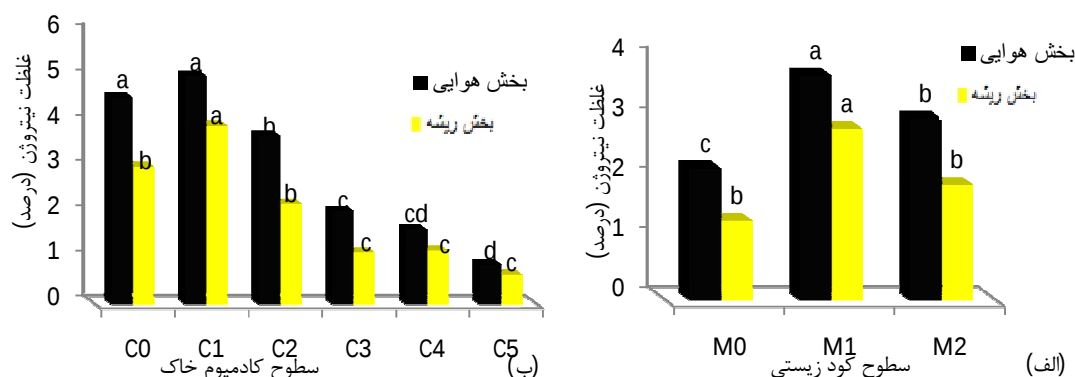
منابع تغییرات	درجه آزادی	نیتروژن (%)	فسفر (%)	پتاسیم (%)	منیزیم (%)	کلسیم (%)
سطوح کادمیم	5	25/77**	0/06**	2/48*	0/066**	1/017*
سطوح کود زیستی	2	10/84**	0/074**	12/64**	0/083**	7/55**
اثر متقابل کادمیم* کود زیستی	10	1/56*	0/007*	0/042ns	0/008*	0/14ns
خطا	36	0/71	0/003	0/72	0/003	0/32

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد و 1 درصد - ns بدون معنی می‌باشد.

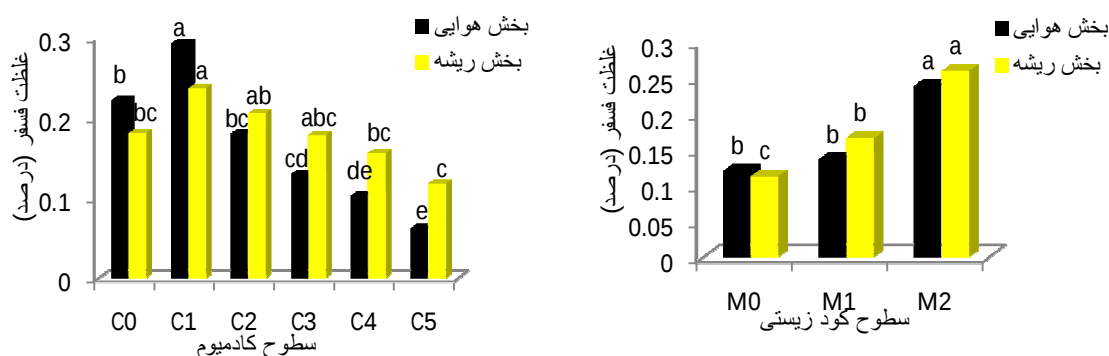
جدول 4- نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل تیمارهای مختلف آزمایشی بر غلظت عناصر بر مصرف بخش ریشه گیاه گوجه‌فرنگی

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	نیترژن (%)	فسفر (%)	پتاسیم (%)	منیزیم (%)	کلسیم (%)
سطوح کادمیم	5	14/61**	0/01*	6/25**	0/07**	3/38**
سطوح کود زیستی	2	10/75**	0/09**	30/1**	0/013*	8/61**
اثر متقابل کادمیم*کود زیستی	10	1/81*	0/001ns	0/78*	0/0002ns	0/57*
خطا	36	0/8	0/004	0/36	0/003	0/21

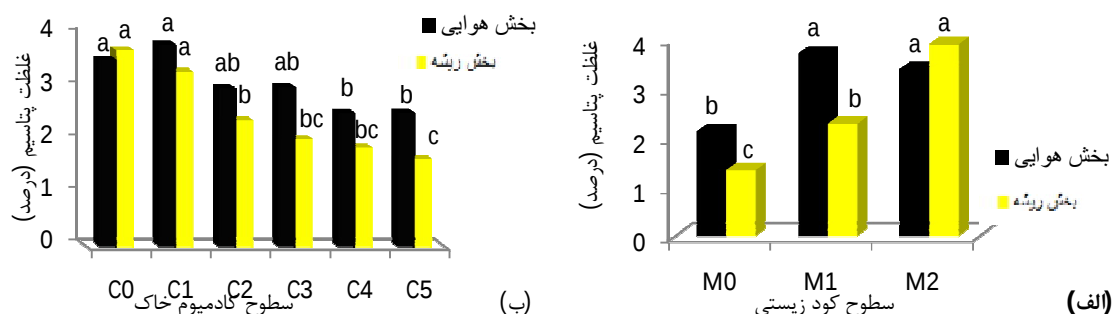
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد و 1 درصد - NS بدون معنی می‌باشد.



شکل 6- اثرات سطوح کودهای زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر غلظت نیترژن بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی



شکل 7- اثرات سطوح کودهای زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر غلظت فسفر بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی

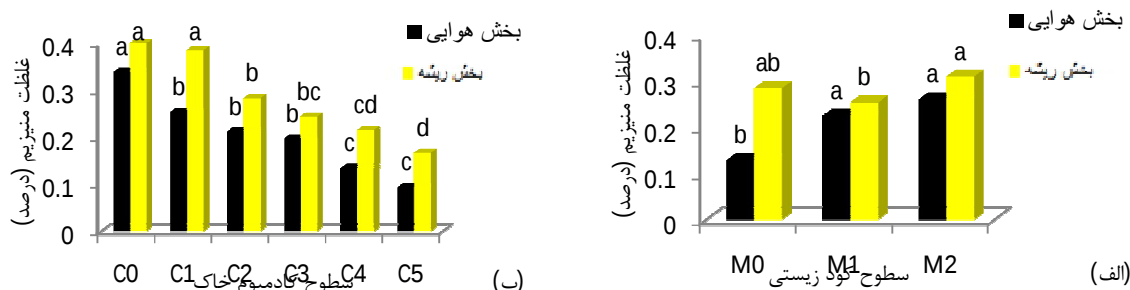


شکل 8- اثرات سطوح کودهای زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر غلظت پتاسیم بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی

جدول 5- اثر متقابل سطوح کود زیستی و کادمیم بر غلظت عناصر بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی

تیمار	نیترژن بخش هوایی	منبزییم بخش هوایی	فسفر بخش هوایی	پتاسیم بخش ریشه	کلسیم بخش ریشه	نیترژن بخش ریشه
						درصد
C ₀ M ₀	3/0765 defg	0/192defgh	1/58defg	1/954defg	2/31bcd	1/597cdefg
C ₀ M ₁	6/1081ab	0/33bc	1/66cdef	3/194bc	1/62cdef	4/974 a
C ₀ M ₂	4/528 cd	0/485 a	3/43 b	6/021 a	4/486 a	2/556bcde
C ₁ M ₀	3/579cdef	0/156defghi	1/86cde	1/66efg	1/99cde	2/662bcd
C ₁ M ₁	6/558 a	0/255bcde	2/397 cd	3/09bc	1/846cdef	5/716 a
C ₁ M ₂	5/0003bc	0/35 b	4/541 a	5/18 a	2/919 b	3/462 b
C ₂ M ₀	2/647efgh	0/132fghi	1/285efg	1/399efg	1/766cdef	1/499cdefg
C ₂ M ₁	3/88cde	0/263bcd	1/485defg	2/264cdef	1/552def	2/362bcdef
C ₂ M ₂	4/63bc	0/24bcdef	2/662bc	3/515 b	3/002 b	2/823bc
C ₃ M ₀	1/61ghi	0/117ghi	1/12efg	1/13fg	1/45def	0/863efg
C ₃ M ₁	2/748efgh	0/218cdefg	1/218efg	1/93defg	1/237ef	1/456cdefg
C ₃ M ₂	1/832ghi	0/255bcde	1/563defg	3/049bcd	2/464bc	1/115cdefg
C ₄ M ₀	1/26 hi	0/104ghi	0/891efg	0/971g	1/114ef	0/555 g
C ₄ M ₁	2/29fghi	0/155defghi	0/878efg	1/603efg	1/009 f	1/96bcdefg
C ₄ M ₂	1/404 hi	0/143efghi	1/323defg	3/054bcd	1/624cdef	1/025edfg
C ₅ M ₀	0/99 i	0/067 i	0/496 g	0/885 g	1/041f	0/75gf
C ₅ M ₁	0/9 i	0/125fghi	0/554fg	1/574efg	1/076 f	0/657gf
C ₅ M ₂	0/76 i	0/086 hi	0/825efg	2/529bcde	1/619cdef	0/569 g

* در هر ستون اعدادی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از لحاظ آماری آزمون دانکن در سطح 5٪ معنی‌دار نیستند



شکل 9- اثرات سطوح کودهای زیستی (الف) و کادمیم (ب) بر غلظت منبزییم بخش هوایی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی

فهرست منابع:

- اردکانی، م. 1379. بررسی کارایی کودهای بیولوژیک در زراعت پایدار گندم. رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی. واحد علوم و تحقیقات. ص: 85-89.
- اردکانی، م. ر. ثانی، ب. نور محمدی، ق. خسروی، ه. و فرح بخش، ا. 1386. مقایسه کارایی تلقیح کودهای زیستی روی بازدهی تولید و عملکرد سویا. مجموعه مقالات دومین همایش ملی کشاورزی بوم‌شناختی ایران. 25-26 مهرماه 1386 - گرگان. ص: 3334-3347.

۳. حمیدی، آ. اصغرزاده، ا. چوکان، ر. دهقان شعار، م. قلاوند، ا. و ملکوتی، م. ج. 1389. تأثیر کاربرد باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه (PGPR) بر تسهیم ماده خشک و برخی ویژگی‌های رشد ذرت در شرایط گلخانه. مجله پژوهش‌های علوم خاک و آب. 24 (1): 67-55.
۴. خرم‌دل، س.، کوچکی، ع.، نصیری محلاتی، م. و قربانی، ر. 1387. اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر شاخص‌های رشدی سیاهدانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. 6 (2): 285-293.
۵. دیانی، ل. و ف. رئیس. 1385. اثر سطوح مختلف کادمیم بر پویایی نیتروژن در یک خاک مرتعی. مجموعه مقالات همایش خاک، محیط زیست و توسعه پایدار. ص: 111-112.
۶. رحیمی، ل. علی اصغرزاده، ن. و اوستان، ش. 1390. اثر سویه‌های بومی ازتوباکتر کروکوکوم بر رشد، جذب نیتروژن و فسفر گیاه گندم در شرایط گلخانه‌ای. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، سال پانزدهم، شماره پنجاه و هشتم. ص: 171-159.
۷. سلطانی، ف. کاشی، ع. و بابالار، م. 1385. اثر محلول‌های غذایی مختلف روی فاکتورهای رشد و درصد عناصر برگ دو رقم خیار گلخانه‌ای در بستر پرلیت. مجله علوم کشاورزی ایران. 16 (9): 387-381.
۸. سپهوند، م. 1386. کلش سوزی مزارع گندم و جو، تهدیدی جدی برای منابع خاک و محیط زیست، اولین همایش ملی حفاظت محیط زیست و توسعه پایدار روستایی. ص: 4-1.
۹. عقیقی شاهوردی کندی، م. توبه، ا. عباسی شاه مرسی، ف. و صناعی، س. 1389. تأثیر محرک‌های رشد (PGPR) بر روی صفات مورفولوژیکی و اجزای عملکرد دو رقم گلرنگ. سومین سمینار بین المللی دانه‌های روغنی و روغن‌های خوراکی. تهران دیماه 1389. ص: 196.
۱۰. علی احیایی، م. و بهبهانی زاده، ع. ا. 1372. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب، 1 (893).
۱۱. یعقوب زاده، ف. ارادتمند، د. و یوسفی راد، م. 1390. مقایسه دو گیاه آفتابگردان و ذرت در گیاه پالایی کادمیم از خاک. اولین کنگره ملی علوم و فناوریهای نوین کشاورزی دانشگاه زنجان، 19 الی 21 شهریور 1390. ص: 1-4.
12. Azcon, R. and El-Atrash, F. 1997. Influence of Arbuscular mycorrhizae and phosphorus fertilization on growth, nodulation and fixation (N15) in *Medicago sativa* at four salinity levels. *Biology and Fertility of Soils*, 24: 81-86.
13. Baker, A. J. M., McGrath, S. P., Sidoli, C. M. D. and Reeves, R. D. 1994. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Resources, Conservation and Recycling*. 11:41-49.
14. Baldani, V. L. D. and Alvarez, M. A. B. 1987. Establishment inoculated *Azospirillum* Spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. *Plant Soil*. 90: 35-45.
15. Bashan, Y. and Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances microbial (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 103-121.
16. Basu, M., Bhadoria, P. B. S. and Mahapatra, S. C. 2008. Growth, nitrogen fixation, yield and kernel quality of peanut in response to lime, organic and inorganic fertilizer levels. *Bioresource Technology*, 99: 4675-4683.
17. Bolan, N. S., Adriano, B. C. and Mani, P. A. 2003. Immobilization and phyto availability of cadmium in variable charge soils. II. Effect of lime addition. *Plant and Soil*, 251: 187 - 198.
18. Bun – Ya, M., Nishimura, M., Harashima, S. and Oshima, Y. 1991. The PHO 84 gene of *saccharomyces cerevisiae* encodes an inorganic phosphate transporter. *Molecular and Cellular Biology*, 11:3229 – 3238.

19. Dennis, T. 2000. A report of the uptake of metal from fertilizer. J. Environ. Qual. 33:497-504.
20. Dusek, L. 1995. The effect of cadmium on the activity of nitrifying populations in two different grassland soils. Plant Soil, 177: 45-53.
21. Facchinelli, A., Sacchi, E. and Mallen, L. 2001. Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal source in soils. Environmental pollution, 114: 313 - 324.
22. Fu, J., Zhou, Q., Liu, J., Liu, W., Wang, Th., Zhang, Q. and Jiang, G. 2008. High levels of heavy metals in rice (*Oryza sativa* L.) from a typical E-waste recycling in south east China and its potential risk to human health, Chemosphere, 71: 1269-1275
23. Glick, B. R., Penrose, D. M. and Li, J. A. 2002. Model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. Journal of Theoretical Biology, 190: 63-68.
24. Govindarajulu, M., Pfeffer, P., Jin, H., Abubacker, J., Douds, D. D., Allen, J. W., Bucking, H., Lammers, P. J. and Shachar-hil, Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Nature, 435: 819 - 823.
25. Haghiri, F., 1974. Cadmium uptake by plants. Journal of Environmental Quality. 2: 93-96.
26. Hamurcu, M., ozcan, M. M., Dursun, N. and Gezgin, S. 2010. Mineral and heavy metal levels some of fruit group at the roadside, Food and Chemical Toxicology, 48: 1767 - 1770.
27. Hedge, D. M. 1988. Effect of irrigation and nitrogen fertilization on yield, quality, nutrient uptake and water use of onion (*Allium cepa* L.). Singapore Journal of Primary Industries, 16: 111-123.
28. Karlidag, H., Esitken, A., Metin, T. and Fikrettin, S. 2007. Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. Scientia Horticulturae, 114: 16-20
29. Liu, A., Harnel, C., Hamilton, R.I., Ma, B. L. and Smith, D. L. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels, Mycorrhiza. 9(6): 331-336
30. Marschner, H. and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159:89-102.
31. McLaughlin, M. J., Parker, D. R. and Clarke, J. M. 1999. Metals and micronutrients. Food Safety Field Crops Research. 60: 143-163.
32. Mirsal, I. A. 2008. Soil Pollution. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany: 115 - 172.
33. Premsekhar, M. and Rajashree, V. 2009. Influence of bio-fertilizers on the growth characters, yield attributes, yield and quality of tomato. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 3(1): 68-70.
34. Rajkumar, M. and H. Freitas. 2008. Effects of inoculation of plant-growth promoting bacteria on Ni uptake by Indian mustard. Bioresource Technology, 99: 3491-3498.
35. Sakia, S. P., Jain, V., Khetarpal, S. and Aravid, S. 2007. Dinitrogen fixation activity of Azospirillum brasiliense in maize (*zea mays*). Current Science, 93(9): 188-195.
36. Sanhita-Gupta, D., Dilp, K., Arora, K. D. and Srivastava, K. 1995. Growth promotion of tomato plants by rhizobacteria and imposition of energy stress on rhizoctonia solani. Soil Biology Biochemistry, 27:1051-1058.
37. Siddiqui, Z. A. 2004. Effects of plant growth promoting bacteria and composed organic fertilizers on the reproduction of meloidogyne incognita and tomato growth. Bioresources Technology, 95: 223-227.

38. Siqueria, J.O., Pereira, M. A. M., Simao, J. B. P. and Moreira, F. M. S.1999. Effect of formononetin on mycorrhiza colonization and growth corn in soil with excess of heavy metals. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*.23(3):561-567.
39. Sun, Y., Zhou, Q., Xie, X. and Liu, R. 2010. Spatial, sources and risk assessment of heavy metal contamination of urban soils in typical regions of Shenyang, China. *Journal of Hazardous Materials*, 174: 455 - 462.
40. Zahir, A. Z., Asghar, H. N. Akhtar, M. J. Arshad, M. 2005. Precursor (L-tryptophan)-Inoculum (Azotobacter) Interaction for Improving Yield and nitrogen uptake of maize. *Journal of plant nutrition*, 28 (5): 805-817.
41. Zhang, F. C., Hamel Kianmehr., H. and Smith, D. L. 1995. Root zone temperature and soybean (*Glycin max L.*) vesicular arbuscular mycorrhizae development and interactions with the nitrogen fixing symbiosis. *Environmental and Experimental Botany*, 35: 287 – 298.
42. Zhang, Q. and Jiang, G. 2008.High levels of heavy metals in rice (*Oryza sativa L.*) from a typical E-waste recycling in southeast China and its potential risk to human health, *Chemosphere*, 71: 1269-1275.
43. Zhu.Y. G., Christie, P. and Laidlaw, A. S. 2001.Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil.*Chemosphere* , 42: 193- 199.

بررسی ریسک‌پذیری و سازگاری تلقیح کود بیولوژیک نیتروکسین در مزارع گندم و جو

پرویز مهاجرمیلانی¹ و محمد پسندیده

استادیار، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات خاک و آب: parvizmilani@yahoo.com

کارشناس ارشد مؤسسه تحقیقات خاک و آب: mpassandideh@yahoo.com

دریافت: 91/12/20 و پذیرش: 92/10/24

چکیده

تأثیر مصرف مایه تلقیح ازتوباکتر و آزوسپریلیوم (*Azospirillum* و *Azotobacter*) به منظور کاهش وابستگی زارعین به کودهای شیمیایی، افزایش راندمان آبیاری و افزایش درآمد خانوارهای روستایی به مدت دو سال در الشتر استان لرستان و سرفیروزآباد استان کرمانشاه مورد مطالعه قرار گرفت. طبیعت مشارکتی این تحقیق با ارائه یک پروژه ساده، با یک پلات مایه تلقیح (تیمار ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) و یک پلات کنترل (تیمار شاهد) در زمین هر کشاورز اجرا گردید. از هر کشاورز خواسته شد یکی از مزارع گندم یا جو خود به مساحت تقریبی یک هکتار را برای این منظور لحاظ نماید. و آن را به دو قسمت مشابه از نظر اندازه تقسیم نموده و با مدیریت کشاورز با 1/5 لیتر در هکتار کود بیولوژیک برای گندم و جو دیم و با سه لیتر در هکتار برای گندم و جو آبی بذر مال نماید. در نهایت عملکرد محصول مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در سال زراعی 1385 - 1384 عملکرد دانه گندم آبی تلقیح شده 11 درصد و عملکرد دانه جو دیم تلقیح شده 36 درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. در سال زراعی 1386 - 1385 عملکرد گندم آبی 24/1 درصد نسبت به شاهد افزایش داشت ($P < 0/05$)، ریسک عدم تحصیل عملکرد دانه موردنظر در تیمارهای تلقیح شده، همیشه کمتر از تیمار شاهد بوده است. تجزیه و تحلیل سازگاری نشان داد که افزایش عملکرد دانه مستقل از محل اجرای پروژه بوده است. از اینرو این تکنولوژی بسیار مؤثر بوده و افزایش عملکرد در محیط‌های مورد مطالعه ثابت باقی مانده است. هزینه خرید مایه تلقیح نسبتاً اندک و معادل ارزش حدود 14 و 27 کیلوگرم دانه در هکتار به ترتیب برای گندم و یا جو دیم و آبی بوده است. این فرآورده از جنبه قیمت نسبتاً اندک و از نظر اقتصادی و زراعی برای افزایش محصول و افزایش راندمان آبیاری ریسک کمی دارد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه و تحلیل سازگاری، ریسک‌پذیری، سودمندی اقتصادی، کود بیولوژیک.

مقدمه

بوده است. در همان سال سطح زیر کشت جو در مرک و هنام به ترتیب 9 و 22 درصد اراضی زراعی گزارش شده است (تماس شخصی با مسئول مراکز خدمات کشاورزی علی آباد الشتر و سرفیروز آباد). میانگین محصول دانه گندم آبی، گندم دیم و جو دیم در هنام به ترتیب حدود 3750، 1350 و 1500 کیلوگرم در هکتار و در مرک حدود 4500، 1500 و 1200 کیلوگرم در هکتار است (تماس شخصی با مسئول مراکز خدمات

منابع اصلی درآمد روستائیان در الشتر استان لرستان و سرفیروزآباد استان کرمانشاه از تولید محصولات کشاورزی و فرآورده‌های دامی است. دام‌ها به صورت پراکنده عمدتاً از منابع مرتعی کوه‌های نسبتاً خشک تعلیف می‌کنند. محصولات کشاورزی را عمدتاً غلات (گندم و جو) تشکیل می‌دهند. مجموع اراضی اختصاص داده شده به گندم در سال 1385 در سرفیروزآباد (مرک) و الشتر (هنام) به ترتیب 44 و 49 درصد اراضی زراعی

¹ نویسنده مسئول، کرج، مشکین دشت، مؤسسه تحقیقات خاک و آب

کشاورزی علی آباد الشتر و سرفروز آباد، 1386).

عملکرد این محصولات در سطح استان لرستان بسیار کمتر است (بی نام، 1387). به طوری که ملاحظه می‌شود عملکرد محصول پائین است و هر عملیات اصلاحی بر روی این محصولات تأثیر اساسی بر زندگی روستائیان خواهد داشت.

مسائل محیطی ناشی از مصرف زیاد کودهای شیمیایی از یک طرف و افزایش هزینه دولت برای تأمین کودهای شیمیایی یارانه دار ما را مجبور به استفاده از تکنولوژی‌هایی برای تأمین بخشی از نیاز محصولات به کودهای شیمیایی و تأثیر مثبت بر اقتصاد و کشور می‌کند. کودهای بیولوژیک حاوی مایه تلقیح ریزجانداران مفید خاک هستند که مشهورترین آن باکتری‌های ریزوبیوم می‌باشند که قادر به تثبیت نیتروژن اتمسفر بوده و در نتیجه می‌تواند جایگزین کودهای نیتروژنه شود. در ایران همه ساله 85 هزار تن کود نیتروژنی برای گیاهان خانواده بقولات مصرف می‌شود که می‌تواند با کودهای بیولوژیک جایگزین شود (خاوازی و همکاران، 1384). امروزه تأکید بر استفاده از باکتری‌های تنظیم کننده رشد گیاهان و ریز جاندارانی است که قادرند رشد گیاهان را با روش‌های مستقیم و غیر مستقیم افزایش دهند. ترشح ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه، اکسین‌ها و تثبیت نیتروژن اتمسفر بوسیله ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم از روش‌های مستقیم توسعه رشد گیاه است (رادوان¹، 2002، خاوازی و همکاران، 1384، اکبری و همکاران 1386). ترشح سیدروفورها و سیانیدهای هیدروژن و آنتی‌بیوتیک‌های کنترل کننده بیماری‌های گیاهی از دیگر تأثیرات اصلاحی میزان رشد و محصول گیاهانی مانند گندم و جو است (خاوازی و همکاران، 1384). مطالعات اخیر تأثیر سبزی‌زیستی ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد (مانند ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم) و ریزوبیوم‌های تولید غده‌های تثبیت‌کننده نیتروژن را نشان داده است (تیلاک² و همکاران، 2006). این کود بیولوژیک بر روی سرعت تنفس، متابولیسم، رشد و توسعه ریشه تأثیر می‌گذارد. در نتیجه جذب آب و مواد غذایی در گیاهان تلقیح شده را افزایش می‌دهد (هولگوین³ و همکاران، 1999). توسعه سیستم ریشه‌ای به عنوان عامل اصلی در افزایش جذب آب و عناصر معدنی و در نتیجه زیاد شدن ماده خشک گیاهی معرفی شده است (میچیلز⁴، 1989). دوبلاری⁵ و همکاران

(2003) مشاهده نمودند که تلقیح گیاهان با انواع باکتری‌هایی که توانایی تولید اکسین را داشته‌اند در مقایسه با شاهد، ریشه‌های بلندتر، تارهای کشنده طولتر و انشعابات ریشه فرعی بیشتری را در پی داشته است. باکتری‌های آزوسپیریلیوم با بسیاری از گیاهان یکساله و چند ساله همیاری برقرار می‌نماید. این باکتری‌ها دارای جمعیت فراوانی در ریزوسفر ریشه غلات و دیگر گیاهان است (باشان⁶ و هولگوین، 1997). علاوه بر آن افزایش عملکرد بیولوژیک گندم و جو در اثر تلقیح بذور گندم و جو با ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم توسط علی⁷ و همکاران 2005 اعلام شده است محققان زیادی روی تأثیر سویه‌های مختلف PGPR بر تعدیل اثرات تنش شوری در انواع گیاهان مطالعه و بررسی نموده‌اند (شوکل⁸ و همکاران، 2011). افزایش 20 درصدی محصول گندم نسبت به شاهد با استفاده از مایه تلقیح ازتوباکتر آزوسپیریلیوم بوسیله خاوازی و همکاران 1384 گزارش شده است. با این حال هنوز کمبود آزمایش‌های مزرعه‌ای آنفارم برای نشان دادن پتانسیل کودهای بیولوژیک در شرایط زارع به چشم می‌خورد. این پروژه با هدف بررسی تأثیر کود بیولوژیک حاوی ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم بر عملکرد محصول گندم و جو و درآمد خالص زراعت در مزارع تحت مدیریت آنان بصورت مشارکتی در دو پایلوت هنام و مرک به ترتیب در استان‌های لرستان و کرمانشاه اجرا شده است.

مواد و روش‌ها

منطقه مرک در سرفروزآباد استان کرمانشاه بین 25°، 04' تا 47°، 18'، 22' طول شرقی و 38°، 00' تا 34°، 31'، 04' عرض شمالی با ارتفاع از سطح دریا 2800-1440 متر به مساحت 24000 هکتار و میزان بارندگی سالیانه 316 میلی‌متر است. خاک آن در رده انستیتی‌سول، بافت بسیار سنگین رسی و رس سیلتی با ساختمان مکعبی است. خاک این منطقه در نواحی کوهستانی و تپه‌ای صخره‌ای دارای 25-60 درصد سنگریزه (Gravel) است. واکنش خاک بین 7/3- 7/9، شوری خاک بین 0/4-0/8 دسی‌زیمنس بر متر و کربن آلی بین 1-3 درصد است (شکل 1).

منطقه هنام در الشتر استان لرستان بین 51°، 50' تا 33°، 51'، 44'، 33° طول شرقی و 42°، 28' تا 31°، 12' عرض شمالی با ارتفاع از سطح دریا

5. Dobbelaere, S.

6. Bashan, Y.

7. Ali, S.

8. Shukla, P.

1. Radwan, F.I.

2. Tilak, K.V.B.R.

3. Holguin, G.

4. Michiels,

کیلوگرم اوره به صورت سرک در بهار بود. برای گندم دیم عملیات تهیه زمین شامل یک شخم و یک دیسک و 50 کیلو کود سوپر فسفات تریپل قبل از کاشت و 50 کیلوگرم اوره به صورت سرک در بهار بود. برای کشت جو دیم که عمدتاً در اراضی تپه ماهور فقیر و سنگلاخی کشت می‌شود عملیات تهیه زمین و کاشت شامل توزیع بذر به میزان حداقل 2 برابر میزان معمول در اراضی دیم و سپس شخم سطحی با گاو آهن برگردان دار به عمق 15-10 سانتی متر بود. در هر دو منطقه محصول دانه و کاه هر کشاورز با کف بر نمودن محصول از 10 نقطه هر تیمار، هر یک به مساحت یک متر مربع در تیر ماه انجام شد و بوسیله خرمنکوب دانه از کاه جدا گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات و ارقام بدست آمده با آزمون کولوموگوف اسمیمو¹ توزیع نرمال گردید (جاستل²، 1997) و با آزمون t جفت نمونه‌ای انجام شد زیرا هر دو تیمار بوسیله یک زارع آزمایش شده بود. خطای استاندارد اختلاف بین میانگین ها³ محاسبه شد. مقایسه پارامترهای آزمایشی و ارتباط داخلی آن‌ها با تجزیه رگرسیونی محاسبه و ترسیم شد. احتمال وقوع آن نیز با درجات 5، 1 و 0/1 درصد به ترتیب با علامت‌های *، ** و *** مشخص گردید (مک دانلد⁴، 1997).

تجزیه و تحلیل سازگاری⁵

جایی که اطلاعات کافی موجود بود برای تعیین سازگاری تیمار مایه تلقیح به مقدار تولید زارع هر منطقه، از اعداد و ارقام هر جفت استفاده شد. تا اینجا برای هر مزرعه میانگین تولید با فرمول $[0.5 Y_{Azo} + Y_{Ctrl}]$ به عنوان مؤلفه محیطی محاسبه شد. محصول هر تیمار (تیمار مایه تلقیح و شاهد) با مؤلفه‌های محیطی با رگرسیون خطی به صورت نمودار ترسیم و با روش هیلد براند راسل⁶ (1996) توضیح داده شد.

محاسبه ریسک⁷

کلیه اعداد و ارقام برای محاسبه ریسک مورد استفاده قرار گرفت این محاسبه نشان می‌دهد که تولید در هر تکنولوژی زیر سطح بحرانی محصول واقع می‌شود یا خیر. جایی که اطلاعات بدست آمده نرمال شده بود احتمال اینکه مقدار محصول این تکنولوژی در یک محیط

1610-3500 متر به مساحت 14200 هکتار و میزان بارندگی سالیانه 540 و 572 میلی‌متر به ترتیب در سال های 85-1384 و 86-1385 است. خاک آن در رده انستیتی سول با 50 درصد رخنمون سنگی دارای شرایط آب و هوایی بسیار سرد تا معتدل سرد با یک فصل کشت 8 ماهه است (شکل 1).

طرح آزمایش، تیمارها و انتخاب کشاورزان

انتخاب کشاورزان در سال اول آزمایش از طریق مرکز خدمات کشاورزی و در سال دوم آزمایش بطور اختیاری و داوطلب صورت گرفت. طبیعت مشارکتی این تحقیق با ارائه یک پروژه ساده، با یک پلات مایه تلقیح (تیمار ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم) و یک پلات کنترل (تیمار شاهد) در زمین هر کشاورز اجرا گردید. از هر کشاورز خواسته شد یکی از مزارع گندم یا جو خود به مساحت تقریبی یک هکتار را برای این منظور لحاظ نماید، و آن را به دو قسمت مشابه (حدود نیم هکتاری) از نظر اندازه، تاریخچه کشت و تولید متوسط تقسیم کند. هر دو قسمت با مدیریت کشاورز کشت گردید. در هنگام کاشت بذر، در پلات مایه تلقیح ابتدا بذور آماده کاشت بر روی یک پلاستیک پهن شده در روی زمین ریخته شد و سپس کود بیولوژیک مایع (تحت نام نیتروکسین) با جمعیت 10^7 به میزان 1/5 لیتر بازار هر 100 کیلوگرم بذر، بر روی بذور محلول‌پاشی شد و سپس بذور بطور کامل با بیل به هم زده شد تا مایه تلقیح با سطح بذور تماس یابد. بذور تلقیح شده بعد از ده دقیقه آماده کاشت گردید و تا زمان کاشت بذور تلقیح شده در سایه نگهداری شد. در سال زراعی 85-1384 آزمایش بر روی گندم آبی در هنام و مرک با 6 نفر از کشاورزان و آزمایش بر روی جو دیم با 4 نفر از کشاورزان در هنام انجام شد. در سال زراعی 86-1385 آزمایش بر روی گندم دیم در مرک با 13 کشاورز علاقمند، بر روی گندم آبی با یک کشاورز و بر روی جو دیم نیز با یک کشاورز در مرک صورت گرفت. در هنام این آزمایش بر روی گندم آبی با 15 کشاورز، بر روی گندم دیم با سه کشاورز و بر روی جو دیم با سه کشاورز دیگر انجام گرفت.

مدیریت پلات‌های آزمایشی

در کلیه پلات‌های آزمایشی از کشاورزان خواسته شد مدیریت خود را از نظر نوع رقم، مقدار بذر، مقدار مصرف کود، آبیاری، تعداد و نوع مبارزه با علف‌های هرز اعمال نمایند. برای گندم آبی ابتدا زمین شخم و سپس دیسک زده شد و کشت با ماشین بذر کار صورت گرفت. مقدار کود شیمیایی مصرف شده برای گندم آبی 200 کیلوگرم سوپر فسفات تریپل قبل از کاشت و 100

1. Kolomogov smimov

2. Justel, A.

3. Standard error of mean difference

4. McDonald, J.H.

5. Adaptability analysis

6. Hildebrand Russel

7. Risk assessment

هکتار در گندم و جو دیم، 250-400 کیلوگرم در گندم آبی. از زمان اضافی لازم برای مخلوط نمودن مایه تلقیح با بذور گندم و جو صرف‌نظر شده است.

نتایج

ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک اولیه مزارع کشاورزان در هنام و مرک در عمق 0-30 سانتی در جدول 1 نشان داده شده است. در فصل زراعی 1384-85 مایه تلقیح از تو باکتر و آزوسپریلیوم عملکرد دانه گندم آبی را از 8346 کیلوگرم در هکتار به 9265 کیلوگرم در هکتار، با اختلاف 11 درصد، افزایش داد (جدول 2). میانگین درآمد خالص بین تیمار مایه تلقیح و تیمار شاهد 1940164 ریال در هکتار (± 717782 ریال) بود. در همان فصل زراعی عملکرد جو دیم با استفاده از مایه تلقیح ازتوباکتر از 2356 به 3196 کیلوگرم در هکتار حدود 36 درصد افزایش یافت. میانگین درآمد خالص بین دو تیمار 1803867 ریال در هکتار (± 378470 ریال) بود.

در سال 1385-86 تیمار ازتوباکتر میزان عملکرد دانه گندم آبی در هنام از 3656 به 4536 کیلوگرم در هکتار افزایش داد (جدول 3). آنالیز سازگاری نشان داد که اختلاف عملکرد بین محل‌های آزمایش متفاوت بود و با بهتر شدن سطح تولید در محل‌های آزمایش از نظر آماری افزایش داشت (شکل 2). از این رو میزان محصول شاخص محیطی بیشتر، بالاتر از میانگین عملکرد محصول قرار داشت.

آنالیز ریسک نشان داد که صرف‌نظر از عملکرد بحرانی، همیشه احتمال اینکه در تیمار مایه تلقیح همان مقدار محصول برداشت شود بیشتر از شاهد بود (شکل 3). برای مثال احتمال اینکه عملکرد تیمار شاهد به زیر سطح تولید 4000 کیلوگرم در هکتار بیافتد 71 درصد بود در حالیکه همان ریسک برای عملکرد تیمار مایه تلقیح ازتوباکتر فقط 30 درصد بود. در مقایسه عملکرد دانه دو تیمار با یکدیگر، ریسک اینکه عملکرد تیمار شاهد بالاتر از عملکرد تیمار مایه تلقیح باشد فقط 13 درصد بود.

میانگین درآمد خالص 1847838 ریال در هکتار (± 430224 ریال) افزایش یافت. درآمد خالص هم چنین با شاخص محیطی همبستگی مثبت داشت ($R^2 = 0.23$). ($P < 0.05$) هزینه اندک برای مصرف ازتوباکتر در گندم آبی معادل 40 کیلوگرم دانه گندم در هر هکتار بود. ریسک اقتصادی مصرف ازتوباکتر که تولید کمتر از شاهد باشد فقط 14 درصد است که مانند ریسک زراعی پایین است.

مایه تلقیح هم چنین محصول دانه گندم و جو دیم را در همان سال افزایش داد (جدول 3) اما بدلیل تفاوت زیاد بین عملکرد در منطقه و تعداد کمی از

اتفاقی انتخاب شده (j) زیر سطح بحرانی λ قرار گیرد بوسیله معادله شماره 2 محاسبه گردید. معادله شماره 2 (اسکریج¹، 1990)

$$\Pr(Y_j < \lambda) = \Phi\left[\frac{\lambda - \mu}{\sigma}\right]$$

که در آن Φ توزیع نرمال استاندارد و معادله توزیع تجمعی، μ میانگین و σ انحراف از استاندارد تکنولوژی است. برای مقایسه مستقیم تکنولوژی کاربرد مایه تلقیح با روش کار متداول کشاورزان، احتمال اینکه یک سیستم آن کار را بهتر از دیگری تکمیل کند با معادله شماره 3 محاسبه شد.

معادله شماره 3 (اسکریج² و موم، 1992)

$$\Pr(D_j > 0) = \Phi\left[\frac{\delta}{\sigma_D}\right]$$

که در آن D_j تفاوت عملکرد بین دو تکنولوژی در منطقه تصادفی انتخاب شده، Φ توزیع نرمال استاندارد معادله توزیع عمقی $\delta = \mu_1 - \mu_2$ و μ_2 به ترتیب میانگین عملکرد دو تکنولوژی و σ_D انحراف از استاندارد اختلافات D_j است.

برای برآورد ریسک اقتصادی، هزینه و سود دو تکنولوژی در این آنالیز بررسی شد. به همین دلیل احتمال افتادن در زیر اختلاف محصول بحرانی که نیاز به برتری داشتن قبل از اینکه یک تکنولوژی نسبت به تکنولوژی دیگر از نظر اقتصادی جذاب باشد با معادله شماره 4 محاسبه شده است.

$$\Pr(Y_j < \lambda_D) = \Phi\left[\frac{\lambda_D - \mu_D}{\sigma_D}\right] \quad \text{معادله شماره 4}$$

که در آن D_j تفاوت عملکرد بین دو تکنولوژی در منطقه تصادفی انتخاب شده، λ_D تفاوت عملکرد بحرانی، Φ توزیع نرمال استاندارد معادله توزیع تجمعی، μ_D اختلافات میانگین و σ_D انحراف از استاندارد اختلاف‌هاست.

تجزیه و تحلیل اقتصادی³

آنالیز ریسک اقتصادی بر اساس درآمد خالص هر تیمار بود. از آنجایی که هدف اصلی اختلاف بین تیمارها بود بنابراین فقط اختلاف عوامل درآمد و هزینه‌ای بین تیمارها مورد محاسبه قرار گرفت. این عوامل شامل عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) قیمت دانه که برابر 2200 ریال در هر کیلو گرم، قیمت نیتروکسین که 18000 ریال بازاری هر لیتر، مقدار مایه تلقیح 1/5 لیتر بازاری هر 100 کیلوگرم بذر، مقدار بذر 150-200 کیلو گرم در

¹ Eskridge, K. M.

² Eskridge, K. M. and Mumm

³ Economic analysis

شاخص محیطی است از اینرو صرفنظر از سطح تولید در یک نقطه آزمایش شده، چنین افزایش می‌تواند عملی شود. موقعیت در هنام متفاوت بود. گرچه تیمار مایه تلقیح محصول گندم آبی را بطور متوسط 24 درصد افزایش داد لیکن این افزایش بستگی به نقطه آزمایش داشت. با افزایش شاخص محیطی اختلاف محصول بین دو تیمار نیز افزایش یافت در حالیکه در محیط های فقیرتر (کم حاصلخیز) اختلاف کمتر شد. عوامل محیطی مانند غالب شدن سرمای زیاد در زمستان در قسمت بالایی حوزه کرخه ممکن است تأثیر داشته باشد. تلقیح بذر در سیکیم هندوستان نتیجه مثبتی نداشت که پیشنهاد شده بود به دلیل عدم توانایی باکتری مصرفی شده برای زنده ماندن در شرایط سرد است (پاندی و همکاران 1998). تأثیر درجه حرارت پایین در میزان زنده ماندن ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم ممکن است اهمیت بیشتری داشته باشد. در حالیکه در آب و هوای گرمتر ممکن است در خاک باقی بمانند (نارولا⁵ و همکاران 2005). در آب و هوای سردتر مانند قسمت فوقانی حوزه کرخه بایستی مصرف مایه تلقیح هر ساله تکرار شود. هرچند قیمت ارزان این محصول ضرورت استفاده از این تکنولوژی را از بین نمی‌برد.

شرایط محیطی خاک در مرک در رابطه با ارتفاع و شیب که شامل دره‌های طویل و عریض است دارای یکنواختی بوده و لذا تغییرات اختلاف محصول بین تیمار ازتوباکتر و شاهد کمتر است (د پائو و همکاران⁶ 2007). برعکس در هنام این تغییرات شدید بوده و تأثیر مزارع زارعین بیشتر بوده است. افزایش محصول در نتیجه مصرف کود بیولوژیک در محدوده مورد انتظار بود. در یک آزمایش گلخانه‌ای که 60-120 کیلو گرم نیتروژن مصرف شده بود ازتوباکتر کروکوکوم عملکرد دانه گندم را از 12/6 به 14 درصد افزایش داد (کومار⁷ و همکاران 2001). در یک آزمایش مزرعه‌ای تحقیقاتی در ایران مایه تلقیح ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم محصول گندم را 20 درصد افزایش داد. نارولا و همکاران، 2005 اعلام نمود با مصرف مایه تلقیح ازتوباکتر بر روی گندم، مقدار 25-30 کیلوگرم نیتروژن صرفه‌جویی خواهد شد.

تأثیر مایه تلقیح بر روی محصول جو بیشتر از محصول گندم بود. در سال زراعی 85-1384 در هنام مقدار افزایش بر روی گندم آبی 11 درصد بود در حالیکه بر روی محصول جو دیم 36 درصد

کشاورزان این تفاوت زیاد معنی‌دار نگردید. هرچند افزایش‌های محصول در تمام محل‌های آزمایش در جو دیم بدست آمد به طوری که میزان محصول با استفاده از مایه تلقیح ازتوباکتر به دو برابر افزایش یافت. هزینه اندک مصرف ازتوباکتر در گندم یا جو دیم معادل فقط 21 کیلوگرم دانه در هکتار بود. تفاوت درآمد خالص بین تیمار ازتوباکتر برای گندم دیم و شاهد و بین جو دیم و شاهد به ترتیب برابر 892883 ریال در هکتار (± 469216) ریال و 2959417 ریال در هکتار (± 1012893) ریال بود. در مرک جائیکه مایه تلقیح برای اولین بار در سال زراعی 2006-2007 آزمایش شده بود محصول گندم دیم کمی افزایش نشان داد یعنی از 1314 کیلوگرم در هکتار به 14567 کیلوگرم در هکتار افزایش داشت. در ضمن آنالیز سازگاری افزایش محصول مشابهی را صرفنظر از شاخص محیطی، نشان داد (شکل 4).

احتمال اینکه عملکرد شاهد پایین‌تر از حد بحرانی باشد نسبت به عملکرد تیمار ازتوباکتر همیشه بیشتر بوده ولی اختلاف ریسک بین دو تیمار هرگز بیش از 15 درصد نبود (شکل 5). در ضمن در مورد عملکرد محصول و درآمد خالص، ریسک اینکه تیمار ازتوباکتر کمتر از تیمار شاهد باشد به ترتیب برابر 27 و 30 درصد بود. متوسط تفاوت درآمد خالص بین تیمار ازتوباکتر و تیمار شاهد برابر 267273 ریال در هکتار (± 144052) ریال بود.

بحث

کود بیولوژیک ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم مقدار عملکرد محصول گندم و جو آبی دیم را در هر دو سال آزمایش از نظر آماری افزایش داد. سازگاری ازتوباکتر بوسیله حمدی¹ و همکاران (1978) در عراق، محمود² و همکاران (1978) در مصر و احمد و ساحی³ (1979) در هندوستان در شرایط اکولوژیکی خشک و نیمه خشک گزارش شده است. بعضی از گونه‌های ازتوباکتر مقاوم به شرایط نامساعد شوری، پ هاش زیاد و شرایط خشکی توسط فولر و هنکز⁴ (1982) گزارش شده است. از این رو ازتوباکتر با شرایط محیطی خشک کوهستانی ایران سازگار هستند.

آزمایش انجام شده در سال زراعی 1385-1386 در مرک نشان داد که مایه تلقیح ازتوباکتر محصول گندم دیم را از نظر آماری افزایش داد و این افزایش مستقل از

1. Hamdi, Y.A.

2. Mahmoud, S.A.Z.

3. Ahmed, N. and Sahi, B.P.

4. Fuller, W.H., and Hanks, K.

5. Narula, N.

6. De Pauw, E.

7. Kumar, V.

نتیجه‌گیری

مایه تلقیح از تو باکتر و آزوسپیریلیوم تکنولوژی است که سازگاری خوبی با مناطق کوه‌های خشک حوزه آبریز کرخه دارد. این کود بیولوژیک عملکرد گندم و جو و سود خالص را افزایش داد. هرچند ریسک اقتصادی کمی برای تیمار ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم، که تولید کمتری نسبت به شاهد داشته باشد ملاحظه گردید. این تکنولوژی هم چنین ارزان و اجرای آن آسان بوده و نیازی به تغییر سیستم کشت ندارد و به آسانی در دسترس می‌باشد. بنابراین این کود بیولوژیک می‌تواند یک ماده استرژیک برای مقابله با شرایط نامطلوب قلمداد شده که سطح درآمد کشاورزان را در حوزه آبریز کرخه افزایش می‌دهد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از آقایان دکتر یورگن آنتوفر³ که زحمت تجزیه و تحلیل آماری و ترسیم شکل‌ها را به عهده داشته و از خانم دکتر آدریانا بروکمن⁴ که کل پروژه را سرپرستی نموده و آقای مهندس کلهر و آقای مراد عزیزان که در عملیات اجرای میدانی پروژه صمیمانه زحمت کشیده‌اند کمال تشکر و سپاسگزاری را دارد.

گزارش شده است در سال بعد مقدار محصول دانه گندم آبی 24 درصد افزایش یافت در حالی که مقدار محصول جو دیم تقریباً دو برابر گردید. به نظر می‌رسد این اختلاف به خاطر اختلاف در میزان حاصلخیزی خاک و مصرف کود شیمیایی بوده است. گندم و به ویژه گندم آبی در خاک‌های حاصلخیز کشت می‌شود و بیشترین مقدار کود را به خود اختصاص می‌دهد. برعکس جو دیم بیشتر در خاک‌های غیر حاصلخیز و نامناسب در زمین‌های تپه ماهور سنگلاخی کشت می‌شود و به آن کودی داده نشده و توجه کمی به آن می‌شود. این نتیجه بوسیله آزمایش گلدانی رای و گوار¹، 1988 تأیید شده است. نامبردگان نشان دادند تأثیر ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم بر عملکرد دانه و جذب ازت بدون مصرف کود نیتروژنه اثر به ترتیب 57 و 94 درصد بوده است. بین مصرف مایه تلقیح و مصرف کود نیتروژنه بر جذب نیتروژن و محصول گندم اثر متقابل معنی‌دار وجود دارد. تأثیر ازتو باکتر و آزوسپیریلیوم بر عملکرد دانه و جذب ازت بدون مصرف کود نیتروژنه به ترتیب 57 و 94 درصد بوده است، ولی تأثیر آن بتدریج با افزایش مصرف کود نیتروژنه تا 120 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، کاهش یافت و در نهایت تفاوتی وجود نداشت. بیشترین عملکرد بیولوژیک با دوزهای متوسط کود شیمیایی در سینای شمالی بدست آمد (علی و همکاران 2005). تأثیر بسیار زیاد کود بیولوژیک بر روی جو در مقایسه با گندم بویژه برای زارعین کم درآمد مهم است. زارعینی که به خاک‌های حاصلخیز در مرکز دشت و اراضی فاریاب دسترسی ندارند.

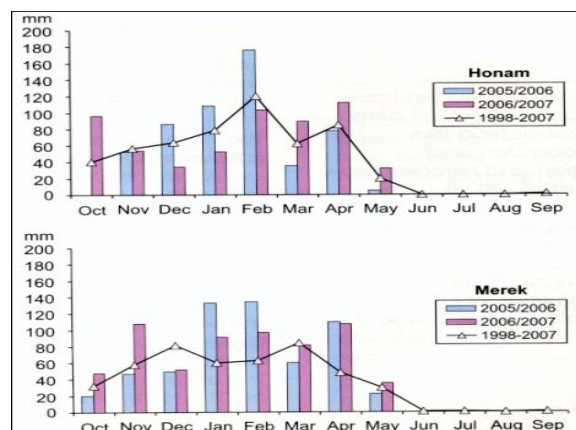
استفاده از مایه تلقیح ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم بر روی بذور گندم و جو تکنولوژی مناسبی برای ورود به توسعه تکنولوژی مشارکتی² است. این تکنولوژی برای کشاورزان بسیار ساده و آسان است. این تکنولوژی ارزان بوده و نیاز به تغییر اساسی سیستم کشت و کار یا مدیریت اجرایی ندارد. اجرای این تکنولوژی در یک منطقه وسیع زراعی ثابت کرد که آن می‌تواند با ریسک بسیار کم اقتصادی با فعالیت‌های جاری کشاورزان قابل مقایسه باشد. افزایش تعداد زارعین متقاضی برای اجرای این تکنولوژی نشان دهنده مناسب بودن آن برای خانواده‌های روستایی در قسمت بالا دست حوزه آبریز کرخه است. با جلب اعتماد تشکل‌های محلی و کشاورزان شرکت کننده، زمینه برای فعالیت در اجرای آزمایش‌های پیچیده‌تر فراهم می‌گردد.

³ Jurgen Anthofer

⁴ Adriana Bruggeman

¹ Rai, S.N., and gaur, A.C.

² Participatory Technology Development



شکل 1- توزیع بارش در دو منطقه هنام لرستان و مرک کرمانشاه

جدول 1- ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک اولیه عمق 0-30 سانتی‌متر مزارع زارعی در هنام و مرک

مرک	هنام	پارامترهای اندازه‌گیری شده
$1/1 \pm 0/1$	$1/1 \pm 0/1$	کربن آلی (%)
$0/1 \pm 0/01$	$0/1 \pm 0/01$	نیتروژن (%)
$9/1 \pm 1/17$	$14/6 \pm 1/1$	فسفر (میلی گرم بر کیلو گرم)
$324/7 \pm 24/6$	$418/5 \pm 28/2$	پتاسیم (میلی گرم بر کیلو گرم)
$33 \pm 1/55$	$30 \pm 1/3$	آهک معادل (%)
$38/4 \pm 1/4$	$47/3 \pm 0/8$	در صد اشیاع (%)
$7/51 \pm 0/03$	$7/45 \pm 0/05$	واکنش گل اشیاع
$0/71 \pm 0/08$	$0/66 \pm 0/06$	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)
$35/8 \pm 1/9$	$45/5 \pm 0/6$	رس (%)
$43/0 \pm 2/0$	$43/7 \pm 1/7$	سیلت (%)
$21/3 \pm 3/5$	$10/8 \pm 2/0$	شن (%)
لوم رسی سیلتی SiCl	لوم رسی سیلتی SiCl	بافت

± انحراف معیار

جدول 2- میزان محصول گندم و جو (کیلوگرم در هکتار) تحت تأثیر تیمار مایه تلقیح در هنام سال 85-1384

گندم آبی (میانگین 6 محل)			جو دیم (میانگین 4 محل)			
	دانه	کاه	شاخص برداشت	دانه	کاه	شاخص برداشت
مایه تلقیح	9265	13715	0/41	3197	3460	0/47
شاهد	8346	10928	0/43	2356	2949	0/44
انحراف معیار	326 **	1400 ns	0/02 ns	172 **	309 ns	0/04 ns

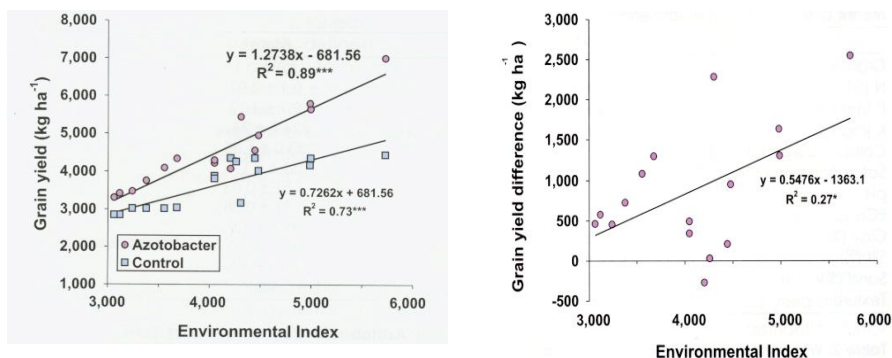
(*) احتمال معنی‌دار شدن در سطح 5 درصد، (**) احتمال معنی‌دار شدن در سطح 1 درصد، (***) احتمال معنی‌دار شدن در سطح

0/1 درصد و ns عدم معنی‌دار بودن آماری است.

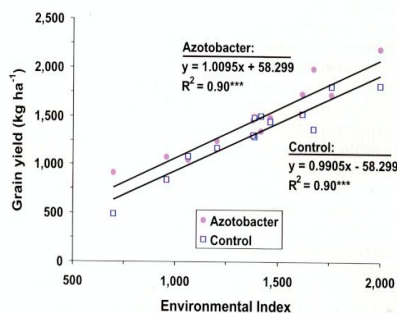
جدول 3- تأثیر تیمار مایه تلقیح بر اجزای عملکرد گندم و جو (بر حسب کیلوگرم در هکتار) در هنام در سال زراعی 1385-86

	گندم آبی (میانگین 15 محل)			گندم دیم (میانگین 3 محل)			جو دیم (میانگین 3 محل)		
	دانه	کاه	شاخص برداشت	دانه	کاه	شاخص برداشت	دانه	کاه	شاخص برداشت
مایه تلقیح	4536	5173	0/32	2355	6225	0/27	2726	4090	0/40
شاهد	3656	4844	0/30	1927	5544	0/26	1359	1519	0/47
انحراف معیار	196***	220 ns	0/01 *	213 ns	165 *	0/02 ns	460 ns	801 ns	0/02 ns

(*) احتمال معنی دار شدن در سطح 5 درصد، (**) احتمال معنی دار شدن در سطح 1 درصد، (***) احتمال معنی دار شدن در سطح 0/1 درصد و ns عدم معنی دار بودن آماری است.

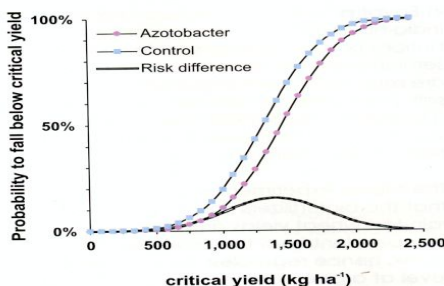


شکل 3- احتمال قرار گرفتن عملکرد گندم آبی تلقیح شده با ازتوباکتر در زیر عملکرد تیمار شاهد در هنام در سال 1385-86



شکل 4- سازگاری گندم دیم تلقیح شده با ازتوباکتر و آزوسپریلیوم و تیمار شاهد (تلقیح نشده)

به شاخص محیطی در مرک در سال زراعی 1385-86



شکل 5- احتمال قرار گرفتن عملکرد گندم دیم تلقیح شده با ازتوباکتر در زیر عملکرد شاهد در مرک

در سال زراعی 1385-86

فهرست منابع:

۱. بی نام. (1387). آمار نامه کشاورزی، جلد اول، محصولات کشاورزی، سال زراعی 1385-86. دفتر آمار و فناوری اطلاعات، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، وزارت جهاد کشاورزی.
۲. خاوازی، ک، اسدی رحمانی، ه، ملکوتی، م. ج. 1384. ضرورت تولید کودهای بیولوژیک در ایران. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات کشاورزی و مؤسسه تحقیقات خاک و آب. تهران ایران، 419 صفحه.
3. Ahmed, N. and Sahi, B.P. 1979. Morphological and cultural characteristics of salt and alkali tolerant soils of *Azotobacter chroococcum* (nitrogen fixing bacteria) Curr. Sci. 48:321-328.
4. Akbari, G.A., Arab, S.M., Alikhani, H.A., Allahdadi, I. and Arzanesh, M.H. 2007. Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. and the IAA of superior strains effects on wheat roots. World J. Agric. Sc. 3(4), 523-529.
5. Ali, S., Hamza, M., Amin, G., Fayaz, M., El-Tahan, M., Monib, M., Hegazi, N. 2005. Production of biofertilizers using baker's yeast effluent and their application to wheat and barley grown in north Sinai deserts. Archives of Agronomy. Soil Sc. 51(6), 589-604.
6. Bashan, Y., and Holguin, G. (1997). *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Can. J. Microbiol. 43: 103-121.
7. De Pauw, E., Mirghasemi, A., Ghaffari, A. and Nseir, B. 2007. Agro-ecological zones of KRB. Research Report, ICARDA, Aleppo, Syria.
8. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. and Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences 22: 107-149.
9. Eskridge, K.M. 1990. Selection of stable cultivars using a safety first rule. Crop Science 30, 369-374.
10. Eskridge, K.M., and Mumm, R.F. 1992. Choosing plant cultivars based on the probability of outperforming a check. Theoret. Appl. Genet. 84, 894-900.
11. Fuller, W.H., and Hanks, K. 1982. Distribution of *Azotobacter* in arid soils. Plant and soil 64(3), 355-361.
12. Hamdi, Y.A., Yousef, A.N., Al-Azawi, S., Al-tai, A., and Al-Baquari, L.S. 1978. Distribution of certain non-symbiotic nitrogen fixing organisms in Iraqi soils. Ecological Bulletin/NFR 27 (Stockholm), 110-115.
13. Hildebrand, P.E., and Ressel, G.T., 1996. Adaptability analysis – a method for the design, analysis and interpretation of on-farm research – extension. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 189 pp.
14. Holguin, G., Patten, c. l. and Glick, B.R. (1999). Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. Bio. Fertil. Soils 29: 10-23.
15. Justel, A., Peña, D. and Zamar, R. (1997) A multivariate Kolmogorov-Smirnov test of goodness of fit, Statistics & Probability Letters, 35(3), 251-259.
16. Kumar, V., Kumar, B.R. and Narula, N., 2001. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under green house conditions. Microbiological Research 156(1), 87-93.
17. Mahmoud, S.A.Z., EL-sawy, M., Ishac, Y. Z., and El-Safy, M.M. 1978. The effect of salinity and alkalinity on the distribution and capacity of N₂-fixation by *Azotobacter* in Egyptian soils. Ecological Bulletin/NFR 27 (Stockholm), 99-109.
18. McDonald, J.H. 2009. Handbook of Biological Statistics (2nd ed.). Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland.
19. Michiels, k., Vanderleyden J., Van Gool, I. (1989). *Azospirillum* plant root association: A review. Bio. Fertil. Soils 8: 356-368.

20. Narula, N., Kumar, V., Singh, B., Bhatia, R., Lakshminarayana, K., 2005. Impact of biofertilizers on grain yield in spring wheat under varying fertilizer conditions and wheat-cotton rotation. *Archives of Agron. Soil Sc.* 51(1), 79-89.
21. Pandey, A., Sharma, E., Palni, L.M.S. 1998. Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biol. Biochem.* 30(3), 379-384.
22. Radwan, F.I. 2002. Response of some maize cultivars to VA mycorrhizal inoculation, biofertilization and soil nitrogen application. *Alex. J. Agric. Res.* 43, 43-56.
23. Rai, S.N., and Gaur, A.C. 1988. Characterization of *Azotobacter* spp. And effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculants on the yield and N uptake of wheat crop. *Plant and Soil* 109, 131-134.
24. Shukla, P. Agarwal, P. K. and Jha, B. 2011. Improved salinity tolerance of *Arachis hypogaea* (L.) by the interaction of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*. (DOI: 10.1007/s00344-011-9231-y).
25. Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki, N., and Manoharachari, C. 2006. Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Europ. J. Soil Sc.* 57(1), 67-71.
26. Yasari, E., and Patwardhan, A.M. 2007. Effect of (*Azotobacter* and *Azospirillum*) inoculants and chemical fertilizers on growth and productivity of canola (*Brassica napus* L.). *Asian J. Plant Sc.* 6(1), 77-82.
27. Yasari, E., and Patwardhan, A.M., Ghole, V.S., Ghasemichapi, O., and Asgharzadeh, A. 2007. Biofertilizers impact on canola (*Brassica napus* L.) seeds yield and quality. *Asian J. Microbial. Biotech. Env. Sc.* 9(3), 707.

Adaptability and Risk Analysis of Nitroxin Biological Fertilizer Inoculation in Wheat and Barley

P. Mohajer Milani and M. Pasandideh¹

Scientific Member of Soil and Water Research Institute; E-mail: parvizmilani@yahoo.com

Master of Science of Soil and Water Research Institute; E-mail: mpassandideh@yahoo.com

Received: March, 2013 & Accepted: January, 2014

Abstract

To reduce farmers' dependency on chemical fertilizers, to increase water use efficiency, and to increase households' incomes, a participatory on-farm research trials was conducted to test the effect of inoculums of *Azotobacter* and *Azospirillum* in the yields of wheat and barley in Alashtar, Lorestan province, and Sarfirouzabad of Kermanshah province, for two years. The research was conducted simply by only one test plot (*Azotobacter* and *Azospirillum* treatment) and one control plot at each farmer's location due to participatory nature of research. Each farmer was asked to choose one hectare of his wheat or barley fields and divide it into two similar parts with the same management. The cereal seeds were coated by 1.5 liter per hectare of *Azotobacter* and *Azospirillum* biofertilizer for rainfed and 3 liters per hectare for irrigated wheat and barley, before planting. After harvest, the yield data was statistically analyzed. Results of this experiment showed that grain yield of irrigated wheat and rain fed barley increased by 11% and 36 percent, respectively, compared with the control in 2005-06 season. Grain yield of irrigated wheat was enhanced by 24.1 percent compared with the control ($P < 0.05$) in 2006-2007. The risk for randomly selected farmers not to obtain a determined yield target was always lower for the inoculation treatment than for the control. Adaptability analysis revealed that the increase in grain yield was independent of the farmers' field location, hence, the technology is robust and yield increases remain constant with improved environmental conditions. The marginal costs for the inoculation treatment were low and were equivalent to about 14 and 27 kg grain per ha⁻¹ for rain-fed and irrigated wheat or barley, respectively. The studied bio-fertilizer has low cost and low risk for increasing the yield and enhancing water use efficiency, from agronomic and economic point of view.

Keywords: Adaptability analysis, Risk analysis, Economical benefit, Biofertilizer.

¹ Corresponding author: Soil Reclamation and Sustainable Agriculture Management Research Department of Soil and Water Research Institute.

Effects of Biological Fertilizers on Yield, growth Indices and Concentration of Macronutrients in Tomato under Cadmium Stress

A. Nemati¹ and A. Golchin

MSc. Student, University of Zanjan; E-mail: akbar_nemati67@yahoo.com

Professor, niversity of Zanjan; E-mail: agolchin2011@yahoo.com

Received: January, 2013 & Accepted: Jonuary, 2014

Abstract

Cadmium is a toxic and non essential element for plants and its high concentration in soil can reduce yield quantity and quality of the agricultural crops. In order to evaluate the effects of biological fertilizers on yield, growth indices and macro nutrients contents of shoot and root of tomato under cadmium stress, a factorial experiment with completely randomized design was conducted. Factors investigated were levels of soil cadmium and the kinds of biological fertilizers used to inoculate tomato plant. Six levels of soil cadmium 0,5,10,20,40 and 80 mg Cd/kg soil and two combinations of biological fertilizers plus the control (without fertilizer) comprised the experimental treatments.. First combination (M₁) was Azotobacter bacteria+mycorrhizal fungi (VAM) +*Azospirillum* bacteria and the second combination (M₂) included plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) + *Azospirillum* + mycorrhizal fungi (VAM). The results showed that application of biological fertilizers increased yield, growth indices and concentration of macronutrients(...) in root and aerial part of the tomato plant when compared with the control. The second combination of the biological fertilizer (M₂) was more effective in this respect than the first one (M₁). The yield and growth indices of tomato plant decreased as the levels of soil cadmium increased. I Inoculation of tomato plant with biological fertilizers decreased the harmful effect of cadmium.

Keywords: Biological fertilizers, plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), growth indices , Micorrhizal fungi (VAM)

¹. Corresponding author: Soil Science Department , Faculty of Agricultural Engineering, University of Zanjan , Iran

Effect of *Pseudomonas putida* on Yield and Phosphorus Uptake of Three Forage Sorghum Cultivars

S. M. R. Ehteshami¹, M. R. Abbasi and K. Khavazi

Assistant Professor, University of Guilan; E-mail: smrehteshami@yahoo.com

M. Sc Agronomy, Islamic Azad University, Branch of Rudehen;

E-mail: smrehteshami@gmail.com

Faculty member, Research Institute of Soil and Water, Karaj; E-mail: kkhavazi@yahoo.com

Received: January, 2013 & Accepted: January, 2014

Abstract

To investigate the effect of *Pseudomonas putida* bacteria application on quantitative and qualitative characteristics of three forage sorghum cultivars, an experiment was carried out at the Agricultural and Natural Resource Research Center of Tehran Province (Varamin) during 2009-2010. The experiment comprised of a factorial arrangement of treatments based on a complete randomized block design with three replications. The treatments consisted of different bacterial strains and sorghum cultivars. The bacterial strain factor was 1) no seed inoculation (control), 2) seed inoculation with *Pseudomonas putida* strain 168, 3) seed inoculation with *Pseudomonas putida* strain 41 and 4) seed co-inoculation with both bacterial strains. The investigated sorghum cultivars were 1) Speedfeed, 2) Jumbo and 3) KFS₁. The measured traits were plant height, number of tillers, stem diameter, leaf number, plant tissue P content, soil available P and the dry and fresh weights of stem, leaf, and forage yield. Seed inoculation with *Pseudomonas putida* strain 168 achieved the highest level in most of the measured characteristics. However, seed co-inoculation with the two bacterial strains had the lowest performance for the most traits. The findings of this research showed that integrated bacteria application created an antagonistic effect. However, seed inoculation with *Pseudomonas putida* strain 168 enhanced nutrient uptake (especially P) and consequently promoted plant growth. It seems that stimulation of the secondary metabolites production would lead to better forage yield in sorghum.

Keywords: Forage Sorghum, Phosphate-Solubilizing Bacteria, Phosphorus, Yield

¹. Corresponding author: Assistant Professor of Plant Eco-physiology, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran

Effect of Ultrasound Waves and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Germination and Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.)

A. Ansori¹, H. Shahgholi, M. Gholipoor and A. R. Fallah

MSc. Student in Agronomy, Shahrood University of Technology; E-mail: aliansori98@yahoo.com

MSc. Student in Ecology, Shahrood University of Technology; E-mail: h_agroo2000@yahoo.com

Associate Professor, Shahrood University of Technology; E-mail: manouchehr.gholipoor@gmail.com

Assistant professor of soil and water research institute; E-mail: rezafayah@yahoo.com

Received: February, 2013 & Accepted: January, 2014

Abstract

The ultrasound waves as a novel technology can be used in agriculture science. The aim of this pot experiment was to evaluate the effects of ultrasound waves and plant growth promoting rhizobacteria on germination and growth of wheat (*Triticum asativum* L.). The treatments were arranged as factorial based on randomized complete block design at Shahrood University of Technology in 2011. The treatments consisted of ultrasound waves at five levels of exposure [zero (control), 2, 4, 6 and 8 minute] and three levels of bacterial inoculation [non-inoculation (control), *Azotobacter chroococum* and *Pseudomonas fluorescens*]. The results showed a significant ($p < 0.01$) effect of ultrasound waves on maximum germination (G_{max}), germination uniformity (GU), germination rate (R₅₀), time to 10% (D₁₀), 50% (D₅₀), 90% (D₉₀) and 95% (D₉₅) germination; PGPR inoculation affected significantly only G_{max}, R₅₀, D₁₀ and D₅₀. Simultaneous exposure to waves and inoculation increased G_{max} and R₅₀ but decreased D₁₀, D₅₀, D₉₀ and D₉₅. The interactive effects of ultrasound waves and bacterial inoculation affected significantly the G_{max} and R₅₀ values. Ultrasound waves increased G_{max} and R₅₀ values significantly as compared to non-ultrasound plants at all level of inoculation. Although ultrasound waves effect was significant ($P < 0.01$) for biomass and root weight, inoculation with PGPR significantly raised plant height. The latter was promoted by increase in ultrasound waves in all of the bacterial inoculation.

Keywords: Ultrasound waves, PGPR, Wheat, Germination

¹ Corresponding author: Shahrood University of Technology - College of Agriculture

Influence of Soil Salinity and Seed Inoculation with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Sodium and Potassium Contents, Stomatal Conductance and Yield of wheat (*Triticum aestivum* L.)

M. Hagh Bahari and R. Seyed Sharifi¹

MSc. Student, University of Mohaghegh Ardabili; E-mail: m_bahari_agri@yahoo.com

Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili;

E-mail: raouf_ssharifi@yahoo.com

Received: December, 2012 & Accepted: January, 2014

Abstract

In order to investigate the influence of soil salinity and seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on sodium and potassium, stomatal conductance and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.), a factorial experiment based on randomized complete block design with three replications was conducted under greenhouse conditions at the University of Mohaghegh Ardabili in 2012. Experimental factors included four levels of soil salinity (0, 1, 15, 30 and 60 Mm NaCl) and four levels of seed inoculation with PGPR (no inoculation as control, inoculations with *Azotobacter chroococum* strain 5, *Azospirillum lipoferum* strain OF or *Pseudomonas putida* strain 186). The results showed that the quality and quantity, stomatal conductance, sodium and potassium contents of root and shoot were significantly affected by soil salinity and seed inoculation with PGPR. Means comparison showed that under salinity conditions, grain yield per plant, number of seed per spike, 100 grains weight, spike length and root weight increased due to seed inoculation with PGPR. Increasing in soil salinity raised Na^+/K^+ ratio in root and shoots while seed inoculation with PGPR decreased the ratio. Maximum of Na^+/K^+ was obtained at the highest level of salinity with no inoculation with PGPR. The minimum ratio was recorded in the treatments their seed inoculated with *Azospirillum* with the least level of salinity. Thus in order to, decrease Na^+/K^+ in root and shoots, maintain high stomatal conductance and ultimately achieve high quality and quantity of wheat yield, seed inoculation with *Azospirillum* seems promising.

Keywords: Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), Salinity, Wheat, Yield

¹ Corresponding author: Ardabil, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Department of Agronomy and Plant Breeding.

Impact of Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Drought Stress on Root Growth, Leaf Proline, and some Nutrient Uptake by Three Leek Genotypes with Different Root Morphologies

N. Ghasemjokar¹, H. Nadian, B. Khalillmoghaddam and M. Haydari

Former MSc student of Ramin University of Agriculture and Natural Resources;

E-mail: nastaran_ghasemjokar@yahoo.com

Associate professor, Ramin University of Agriculture; E-mail: Nadian_habib@yahoo.com

Assistant professor, Ramin University of Agriculture; E-mail: moghaddam623@yahoo.ie

Assistant professor, Ramin University of Agriculture; E-mail: neshat236@yahoo.com

Received: April, 2012 & Accepted: January, 2014

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi are the most important symbiotic fungi that increase plant growth by improving nutrient uptake, particularly phosphorus (P) uptake, and by alleviating the detrimental effect of environmental stresses on the host plant. In this research, the effects of arbuscular mycorrhiza fungi and drought stress levels on root growth, proline accumulation, P, potassium (K), sodium (Na) and zinc (Zn) concentrations in three leek genotypes were studied. The experiments had a randomized complete block design with treatments arranged in factorial combination. The treatments with 4 replications were three soil moisture levels (the pots were watered when 40, 60, and 80 percent of the available water was consumed), two mycorrhizal status (with and without mycorrhiza), and three leek genotypes (Shadegan, Esfahan and Carantan 2). The results showed that drought stress significantly decreased root growth (root dry weight, total root length colonized, and percentage of root colonization). However, mycorrhizal colonization increased root growth at all drought stress levels. The percentage of mycorrhizal dependency increased as drought stress was increased. This increase was affected by morphological root characteristics and plant genotype. Among the leek genotypes, Shadegan genotype with a poor root system had the greatest mycorrhizal dependency compared with the other two genotypes at all drought stress levels. This is in agreement with the Baylis's hypothesis even in drought stress condition. Drought stress significantly decreased leaf phosphorus concentration and content. In non-mycorrhizal treatment, proline accumulation, K, Na, and Zn concentrations in leaves increased as drought stress was increased. Mycorrhizal fungus significantly increased the uptake of P, K, and Zn, while proline and sodium concentrations decreased. The results of this study clearly indicated that mycorrhizal colonization improved drought tolerance of the host plants not by osmotic adjustment, but by increasing P, K, and Zn uptake.

Keywords: Drought stress, leek, mycorrhizal fungus, phosphorus, proline

¹. Corresponding author: Ahvaz, Mollasani, Soil Science Department, Ramin University of Agriculture and Natural Resources

Potential of Nanoparticle Nanoprosil-1 as the Carrier of Phosphate Solubilizing Bacteria in Nanobiologic Inoculants Production Process

S. Shariati, H.A. Alikhani¹ and A.A. Pourbabaee

Former MSc. Student, University of Tehran; E-mail: shayan_shariati@ut.ac.ir

Associate Professor, University of Tehran; E-mail: halikhan@ut.ac.ir

Assistant Professor, University of Tehran; E-mail: pourbabaee@ut.ac.ir

Received: February, 2013 & Accepted: January, 2014

Abstract

The purpose of this study was to determine the capability of bacteria *Pseudomonas fluorescence* survival as one of phosphate solubilizing bacteria on nanoprosil-1 as a bacterial carrier in nano-biologic inoculant production. The examined carrier treatments were nanoprosil-1, vermicompost, bentonite, rock phosphate and their different mixtures. After inoculation of carriers by *Pseudomonas fluorescence* bacteria, inoculants were incubated at 28°C for 15 days and then preserved at 4 °C for 180 days. Bacteria populations were measured at times 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 day by CFU method. The results of 15- day incubation showed decrease of bacteria population except for vermicompost treatment. The least count (about zero) was observed in nanoprosil-1 and in the combined treatment (nanoprosil-1 + bentonite + rock phosphate), and the highest population of 7.77×10^7 CFU was measured in the vermicompost treatment. At the end of maintenance period, population of the combined treatments containing nanoprosil-1 (vermicompost+bentonite+ nanoprosil-1 and nanoprosil-1+ bentonite+ vermicompost+ rock phosphate) increased in comparison to vermicompost (2.42×10^7) and showed the highest populations of 6.45×10^7 and 4.19×10^7 , respectively. Based on the results of this study, the application of nanoprosil-1 alone as bacterial carrier was not appropriate probably because of high pH and EC and other undefined factors. Using of nanoprosil-1 mixed with other carriers due to their moderating effect can be a novel progress in nano-biologic inoculants production.

Keywords: Bentonite, Nanoparticle, *Pseudomonas fluorescence*, Rock phosphate, Vermicompost

¹ Corresponding author: Soil Science Department, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

Changes of Expression Pattern of Proteins and Superoxide Dismutase Isozymes of Nodules to Drought Stress in Symbiosis of Chickpea with Three Strains of *Mesorhizobium ciceri*

M. Nasr Esfahani¹

Assistant Professor, Biology Department, Lorestan University; E-mail: Esfahani.m@lu.ac.ir

Received: February, 2013 & Accepted: January, 2014

Abstract

In this study, the role of rhizobium strains on symbiotic effectiveness of chickpea plants under drought stress was evaluated. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) plants were inoculated with three strains of *Mesorhizobium ciceri* (C-15, CP-31 and CP-36) and subsequently were exposed to drought stress by withholding irrigation for two and three days. Nitrogen fixation decreased in three symbiotic associations, but decline level was higher in the plants inoculated with CP-31 and CP-36 strains. Re-watering of plants under drought stress for three days led to a partial recovery of nitrogen fixation rate in C-15 strain, but there was no recovery in CP-31 and CP-36 strains. Changes of protein profiles of the nodules inoculated with the three studied strains were analyzed by using SDS-PAGE under normally irrigated condition, no irrigation for 2 and 3 days, and no irrigation for three days followed by a watering period of three days. Protein pattern in nodules infected with C-15 strain did not change in response to drought stress, but in nodules infected with CP-31 and CP-36 strains, some protein bands were identified whose expression specifically decreased under drought and, did not recover after re-watering,. Electrophoresis analysis of superoxide dismutase isoenzymes from nodules infected with the studied three strains did not show significant difference under drought compared with the control. However, after application of drought stress, superoxide dismutase activity of nodules increased in symbiosis with C-15, whereas it decreased in symbiosis with CP-31 and CP-36. In conclusion, tolerance level of symbioses to drought stress could be enhanced by selection of effective rhizobium strains.

Keywords: symbiosis, *Cicer arietinum*, *Mesorhizobium ciceri*, nodule, nitrogen fixation, drought stress, nitrogenase

¹. Corresponding author: Biology Department, Science Faculty, Lorestan university, Khorramabad, Iran

Contents

Subject	Page
Changes of Expression Pattern of Proteins and Superoxide Dismutase Isozymes of Nodules to Drought Stress in Symbiosis of Chickpea with Three Strains of <i>Mesorhizobium ciceri</i>	7
<i>M. Nasr Esfahani</i>	
Potential of Nanoparticle Nanoprosil-1 as the Carrier of Phosphate Solubilizing Bacteria in Nanobiologic Inoculants Production Process	8
<i>S. Shariati, H.A. Alikhani and A.A. Pourbabaee</i>	
Impact of Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Drought Stress on Root Growth, Leaf Proline, and some Nutrient Uptake by Three Leek Genotypes with Different Root Morphologies	9
<i>Nastaran Ghasem jokar</i>	
Influence of Soil Salinity and Seed Inoculation with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Sodium and Potassium Contents, Stomatal Conductance and Yield of wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.)	10
<i>M. Hagh Bahari and R. Seyed Sharifi</i>	
Effect of Ultrasound Waves and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Germination and Growth of Wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.)	11
<i>A. Ansori, H. Shahgholi, M. Gholipoor and A. R. Falah</i>	
Effect of <i>Pseudomonas putida</i> on Yield and Phosphorus Uptake of Three Forage Sorghum Cultivars.....	12
<i>S. M. R. Ehteshami, M. R. Abbasi and K. Khavazi</i>	
Effects of Biological Fertilizers on Yield, growth Indices and Concentration of Macronutrients in Tomato under Cadmium Stress	13
<i>A. Nemati and A. Golchin</i>	
Adaptability and Risk Analysis of Nitroxin Biological Fertilizer Inoculation in Wheat and Barley	14
<i>P. Mohajer Milani and M. Pasandideh</i>	

Soil Science Society of Iran Soil and Water Research Institute

Journal of Soil Biology

**Vol. 1, No 2
2014**

Manager-in-Charge: Mohammadreza Neishabori

Director General, Soil Science Society of Iran

Editor-in-Chief: Kazem Khavazi, PhD

Associate Professor (Research), Soil and Water Research Institute

Editorial Board

Hadi Asadi Rahmani, PhD

Hossein besharati, PhD

Naser Aliasgharzad, PhD

Alireza Fallah Nosratabad, PhD

Ahmad Golchin, PhD

Najafali Karimian, PhD

Amir Lakzian, PhD

Habibollah Nadian Ghomshe

Farshid Norbakhsh

A.H. Ziaecian, PhD

Associate Professor, Soil and Water Research Institute

Associate Professor, Soil and Water Research Institute

Professor, Tabriz University

Assistant Professor, Soil and Water Research Institute

Professor, Zanzan University

Professor, Shiraz University

Professor, Ferdowsi University, Mashhad

Associate Professor, Ramin University

Professor, Isfahan University of Technology

Associate Professor of agricultural and natural resource research center of fars

Executive Manager:

Alireza Fallah Nosratabad

Type and design:

Kobra Alinezhad

Address: P. O. Box: 31785-311, Karaj – IRAN

Tel / Fax: 026-36208796

SSSI Website: www.soiliran.org

Institute Website: www.swri.ir

Journal Website: : www.iranjsb.ir

E-mail: JSB.soilbiology@yahoo.com



Journal of Soil Biology



ISSN: 2345-2536

Vol. 1, No. 2, 2014

Contents

Subject	Page
Changes of Expression Pattern of Proteins and Superoxide Dismutase Isozymes of Nodules to Drought Stress in Symbiosis of Chickpea with Three Strains of <i>Mesorhizobium ciceri</i> M. Nasr Esfahani	7
Potential of Nanoparticle Nanoprosil-1 as the Carrier of Phosphate Solubilizing Bacteria in Nanobiologic Inoculants Production Process S. Shariati, H.A. Alikhani and A.A. Pourbabae	8
Impact of Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Drought Stress on Root Growth, Leaf Proline, and some Nutrient Uptake by Three Leek Genotypes with Different Root Morphologies Nastaran Ghasem jokar	9
Influence of Soil Salinity and Seed Inoculation with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Sodium and Potassium Contents, Stomatal Conductance and Yield of wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) M. Hagh Bahari and R. Seyed Sharifi	10
Effect of Ultrasound Waves and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Germination and Growth of Wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) A. Ansori, H. Shahgholi, M. Gholipoor and A. R. Falah	11
Effect of <i>Pseudomonas putida</i> on Yield and Phosphorus Uptake of Three Forage Sorghum Cultivars..... S. M. R. Ehteshami, M. R. Abbasi and K. Khavazi	12
Effects of Biological Fertilizers on Yield, growth Indices and Concentration of Macronutrients in Tomato under Cadmium Stress A. Nemati and A. Golchin	13
Adaptability and Risk Analysis of Nitroxin Biological Fertilizer Inoculation in Wheat and Barley P. Mohajer Milani and M. Pasandideh	14