بررسی اثرات کودهای زیستی باکتریهای محرک رشد گیاه (PGPR) و کود نیتروژنه بر پارامترهای کمی و کیفی گندم (Triticum aestivum)

 3 عليرضا فلاح 1 ، سميه مومنى 2 ، شايان شريعتى

(تاریخ دریافت: 1392/10/09 تاریخ پذیرش: 1393/02/24

چكىدە

با توجه به مصرف بی رویه کودهای شیمیایی نیتروژنه، آلودگیهای ناشی از مصرف این کودها و هزینه تولید بالا، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات کودهای زیستی محرک رشد گیاه و کود نیتروژنه بر افزایش عملکرد کیفی و کمی گندم اجرا گردید. آزمایش بهصورت فاکتوریل شامل دو فاکتور: چهار سطح کود زیستی (-7): بدون کود زیستی (-7): بدون کود زیستی حاوی از توباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنس با جمعیت (-7) سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح، (-7): کود زیستی حاوی از توباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنس با جمعیت (-7) سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح، (-7): کود زیستی حاوی از توباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با جمعیت (-7) سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح) و پنج سطح کود نیتروژنه (-7): مفر، (-7): (-

واژههای کلیدی: از توباکتر، آزوسپیریلوم، کودهای زیستی، گندم، کود شیمیایی

¹⁻ دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور (مکاتبه کننده)

پست الکترونیک: rezafayah@yahoo.com

²⁻ گروه علوم خاک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

³⁻ عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

مقدمه

با این که کودهای شیمیایی در 50 سال اخیر نقشی عمده در افزایش عملکرد محصولات کشاورزی داشتهاند، ولی امروزه به تدریج اثرات منفی ناشی از مصرف بیرویه این کودها مانند وارد شدن نیترات به آبهای زیرزمینی و یا انباشت فسفر در خاکها منجر به اهتمام بیشتری در استفاده از ریزسازوارهها به صورت کودهای زیستی شدهاست (Bohlool et al., 1992). در سالهای اخیر استفاده از باکتریهای محرک رشد گیاه نظیر ازتوباکتر، باسیلوس، آزوسپیریلوم و سودوموناس به منظور بهبود تغذیه، رشد گیاه و نیز کنترل عوامل بیماریزا در محیط ریشه، بسیار مورد توجه قرار گرفتهاست. مکانیسمهای عملکردی باکتریهای محرک رشد گیاه $^{1}(PGPR)$ شامل توان تولید فیتوهورمونها، تثبیت نیتروژن، روابط آنتاگونیستی با فیتوپاتوژنها و حل کردن فسفاتهای غيرمحلول (Lugtenberg & Kamilova, 2009)، توان کلونیزهشدن، برقراری ارتباط با گیاهان، افزایش زیست توده محصول و رشد ريشه مي باشد (Maddonni *et al.*, 2004). با توجه به این که نیتروژن یکی از عناصر اصلی مورد نیاز گیاه بوده و نیاز گیاه به این عنصر بیش از سایر عناصر می باشد، ریزسازوارههای تثبیت کننده نیتروژن مولکولی هوا از رایج ترین کودهای زیستی محسوب می شوند. از جمله باکتریهای آزادزی تثبیت کننده نیتروژن، ازتوباکتر و آزوسپیریلوم هستند که امروزه به تثبیت زیستی نیتروژن از طریق این باکتریها در مدیریت کشاورزی پایدار توجه ویژهای معطوف شده است (Tilak et al., 2005). از توباکتر و آزوسپیریلوم همچنین در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامینهای ب (B)، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین، اکسینها، جیبرلینها و غیره را دارند که در افزایش رشد ریشه نقش مفید و موثری ایفا می کنند (Kader et al., 2002). ازتوباكتر بر حمل و نقل نيتروژن در خاک ریزوسفری اثر گذاشته (Das & Saha, 2000) و Mishra &) منجر به افزایش عملکرد محصول می گردد Sen, 1996). بررسی رجائی و همکارانش (Sen, 1996 2007) بر روی اثر باکتری از توباکتر کروکوکوم با قابلیت تولید اندول استیک اسید (IAA)، سیانید هیدروژن

(HCN)³، سیدروفور و تثبیت نیتروژن بر روی گیاه گندم نشان داد تلقیح با این باکتری، تأثیر مثبت و قابل توجهی بر درصد پروتئین دانه، وزن هزار دانه و جذب نیتروژن داشت. افزایش رشد گندم بیشتر به تولید ایندول استیک اسید و بعضی ترشحات توسط گونه تلقیح شده مربوط مى شود (Rajaee et al., 2007). آزوسپيريلوم نيز با توليد مواد محرک رشد، سبب بهبود رشد ریشه و متعاقب آن افزایش سرعت جذب آب و عناصر غذایی گردیده و از این طریق در افزایش عملکرد تأثیر گذار می باشد (Tilak et al., 2005). تحقيقات براسيني و همكاران (2005). 2012) نشان داد تلقیح گیاه ذرت با مایه تلقیح حاوی باكترى آزوسپيريلوم برازيلنس باعث افزايش وزن خشك گیاه و عملکرد دانه در مقایسه با شاهد شد. بررسی ييسينين و همكاران (Piccinin et al., 2013) نشان داد تلقيح باكترى تثبيت كننده نيتروژن آزوسپيريلوم برازیلنس به بذر گیاه گندم به همراه نصف مقدار مصرفی کود نیتروژنه تاثیرات مثبتی را روی عملکرد زراعی و عملکرد گیاه گندم داشت. افزایش عملکرد در گیاهان تلقيح شده با آزوسپيريلوم عمدتاً مربوط به توليد مواد محرک رشد و افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه تلقيح شده با اين باكترى مي باشد (Pereira et al., 1988). بحرانی و همکاران (Bohrani et al., 2007) بیان کردند استفاده توأم از باکتریهای ازتوباکتر و آزوسپیریلوم در کشت گندم باعث افزایش معنی دار وزن هزار دانه و درصد پروتئین دانه می شود. سودوموناسها و باسیلوسها گونه-هایی از باکتریهای محرک رشد گیاه هستند که از طریق تولید مواد محرک رشد و به ویژه انحلال فسفاتهای نامحلول موجب افزایش رشد گیاه می شوند (Rodriguez % Fraga, 1999; Trivedi & Sa, 2008 پررسي راثي پور و همکاران (Rasipour et al., 2009) نشان داد باکتریهای حل کننده فسفات وزن خشک و نیتروژن بخش هوایی گیاه سویا را بهطور معنی داری افزایش دادند. میا و همکاران (Mia et al., 2010) نيز افزايش عملكرد، جذب عناصر غذایی و فعالیت فتوسنتزی را در اثر تلقیح با باکتری سودوموناس گزارش کردند. نتایج کار توران و همکارانش (Turan et al., 2010) حاكى از آن است كه تلقيح با گونه-های باکتریهای محرک رشد گیاه به تنهایی یا به صورت ترکیبی، میزان عناصر معدنی در گیاه به خصوص در دانه را

³⁻ Hydrogen cyanide

¹⁻Plant growth promoting rhizobacteria

²⁻ Indole-3-acetic acid

افزایش میدهد. بررسی بیاری و همکاران (Biari et al.,) 2008) نشان داد که تلقیح ذرت با باکتریهای محرک رشد گیاه (آزوسپیریلوم لیپوفروم و آزتوباکتر کروکوکوم) باعث تاثیر معنی داری در افزایش ارتفاع، وزن خشک ساقه، تعداد دانه و جذب نیتروژن می شود. بررسی جاراک و همكاران (Jarak et al., 2012) نشان داد تلقيح تركيبي گیاه ذرت با باکتریهای سودوموناس پوتیدا، باسیلوس و ازتوباكتر كروكوم باعث افزايش معنى دار عملكرد گياه گردید. با توجه به رشد جمعیت و افزایش نیاز به گندم به عنوان محصول پر مصرف جهانی و افزایش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، هدف از این پژوهش مقایسه اثر کود زیستی ترکیبی باکتریهای آزادزی تثبیت کننده نیتروژن و محرک رشد گیاه (آزوسپیریلوم برازیلنس و ازتوباکتر کروکوکوم) به تنهایی، به همراه باکتریهای محرک رشد گیاه (سودوموناس یوتیدا و باسیلوس سابتیلیس) و در ترکیب با پنج سطح کود نیتروژنه بر ویژگیهای رشد و عملکردی گیاه گندم بود.

مواد و روشها

پژوهش حاضر در شرایط گلخانهای به صورت فاکتوریل در قالب طرح كاملا تصادفي با سه تكرار اجرا شد. تيمارها شامل ترکیبی از دو فاکتور شامل فاکتور اول: کود زیستی در چهار سطح (T_0) : بدون کود زیستی، T_1 : کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنس با جمعیت 10^6 سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح، T_2 : کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنس با جمعیت 10^8 سلول از هر باکتری در هر میلیلیتر مایه تلقیح، T_3 : کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنس و باکتریهای محرک رشد شامل سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با جمعیت 10^8 سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح) و فاکتور دوم کود شیمیایی نیتروژنه در ینج سطح (N_0 : صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار (عدم N_2 مصرف نیتروژن)، N_1 : 25 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، N_2 : 50 كيلوگرم نيتروژن در هكتار، N₃: 75 كيلوگرم نيتروژن در هکتار، N_4 : 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) بود. گونههای باکتریایی مورد استفاده در این یژوهش از بانک ژن موسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه گردید. برای تهیه مایه تلقیح باکتریها یک کلونی از کشت تازه باکتری

برداشته، به محیط نوترینت براث اضافه گردید و با استفاده از انکوباتور شیکردار در دمای 28 درجه سانتیگراد و چرخش 100 دور در دقیقه تکثیر شد. با توجه به منحنی رشد باکتریها، پس از رشد کافی و رسیدن به مرحله رشد ثابت OD بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج 600 نانومتر قرائت گردید و با استفاده از جدول استانداردهای مک فارلند، جمعیت سوسپانسیون 10^6 و Besharati) باکتری به ازای هر میلی لیتر تنظیم شد 10^8 et al., 2004). سپس مایه تلقیحهای ترکیبی از سوسپانسیون باکتریها به نسبت مساوی تهیه گردید. برای انجام آزمون گلخانهای نمونه برداری از عمق 0-30 سانتيمتري خاک منطقه قاسم آباد شهرستان ساوجبلاغ واقع در غرب استان البرز انجام گرفت. بعد از هوا خشک شدن فاکتورهای بافت خاک، یتاسیم قابل استفاده (استات آمونیوم) (Kunze & Dixon, 1986)، PH، قابليت هدايت الكتريكي (Sparks, 1996)، نيتروژن كل خاک به روش کجلدال، کربنات کلسیم (روش کلسیمتری)، ماده آلی به روش والکی بلاک و فسفر قابل جذب به روش اولسن اندازه گیری گردید (Carter & Gregorich, 2008). در این پژوهش از گیاه گندم رقم کرج 1 که گندم پائیزه، دارای کیفیت نانوایی متوسط و نیمه زودرس بود، استفاده گردید. قبل از کاربرد کودهای مذکور بذرهابه مدت تقريباً 24 ساعت خيسانده شد تا جوانه زده و آماده تلقیح با کود زیستی گردند. برای اعمال تیمارهای آزمایشی در زمان کاشت، هر کدام از کودهای زیستی مایع به میزان 2 لیتر در هکتار (زمان تلقیح، معادل کود زیستی آب به مایه تلقیح اضافه، آنگاه عمل تلقیح انجام گرفت) به صورت بذر مال تلقیح شد؛ سپس اقدام به خشک کردن کلیه بذور تیمار شده در سایه و به دور از نور خورشید گردید (Bashan, 1998). کشت به تعداد 30 بذر گندم در هر گلدان چهار و نیم کیلویی انجام گرفت. یک سوم کود اوره در شروع کاشت به گلدانها اضافه گردید. دو سوم باقیمانده کود اوره هفته سوم بعد از کشت و همراه با آب آبیاری به صورت محلول اضافه شد. با توجه به این که پتاسیم موجود در خاک در حد مطلوب بود، از کود پتاسیمی استفاده نشد. برای تامین فسفر کافی برای رشد گندم (14میلی گرم کیلوگرم خاک) نیز از کود سوپر فسفات ترییل استفاده گردید. آبیاری بهصورت روزانه با آب مقطر و در حدود 70% ظرفیت زراعی (FC) به صورت

وزنی انجام پذیرفت. پس از دو هفته گلدانها تنک شده و در هر گلدان تعداد 10 بوته تا پایان دوره کشت حفظ گردید. برداشت بخش هوایی گیاه در زمان خوشهدهی و رسیدگی کامل انجام پذیرفت و ارتفاع گیاه با سانتیمتر اندازه گیری شد. فاکتورهای وزن هزاردانه و عملکرد دانه بعد از خشک شدن اندام کامل گیاه به مدت 72 ساعت در دمای حدود 70 درجه در آون اندازهگیری گردید. اندازه-گیری نیتروژن با روش هضم و تقطیر (سیستم کجلدال) انجام شد. درصد پروتئین از حاصل ضرب درصد نیتروژن در عدد ثابت 5/6 حاصل گردید. برای محاسبه وزن هزاردانه، چهار نمونه 100 تایی از هرگلدان انتخاب و میانگین وزن نمونهها در عدد 10 ضرب شد (Rashidi et al., 2011). آزمون آماری با هدف مقایسه چهار سطح کود زیستی و توأمان مقایسه اثر مصرف ینج سطح کود نیتروژنه (اوره) بر خصوصیات رشد و عملکرد گیاه گندم صورت گرفت. نتایج حاصل با کمک نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون چند دامنهای دانکن در سطح احتمال 0/01انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه خاک گویای آن است (جدول 1) که میزان دو عنصر پرمصرف نیتروژن و فسفر پائین تر از حد کفایت برای رشد گیاه گندم است. pH خاک نیز نزدیک به قلیایی بود. هدایت الکتریکی خاک کمتر از 4 و غیر شور و درصد ماده آلی خاک پائین بود. بافت خاک سنگین می-باشد که برای کشت گندم مناسب میباشد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی کود زیستی و کود شیمیایی و همچنین اثر متقابل تیمارهای کود زیستی و سطوح کود شیمیایی بر صفات اندازه گیری شده معنیدار میباشد (جدول 2) (P<0.01).

مقایسه میانگین اثر اصلی کود زیستی بر روی صفات مورد بررسی نشان داد (جدول 3) که در همه صفات کود زیستی سوم (T3: کود زیستی حاوی از توباکتر کروکوکوم، آزوسیپریلوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با جمعیت 108 سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح) بیشترین تاثیر را داشته و تفاوت معنی داری با تیمار عدم مصرف کود زیستی نشان داد

P<0.01). در مــورد صــفت ارتفــاع، کمتــرین ارتفــاع بوته مربوط به تیمار عدم مصرف کود زیستی (T0) و بیشترین ارتفاع در مورد تیمار کود زیستی (T3) مشاهده گردید که تفاوت معنیداری با سایر کودهای زیستی نشان داد (P<0.01). در مصورد عملکرد دانه، وزن هزار دانه، درصد نیتروژن، درصد پروتئین در هر سه کود زیستی T3 (کود زیستی حاوى از توباكتر كروكوكوم، آزوسيپريلوم برازيلنيس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با جمعیت 108 سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح)، T2 (کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسـپيريلوم بـرازيلنيس بـا جمعيـت 108 سـلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح)، T1 (کود زیستی حاوی از توباکتر کروکوکوم و آزوسییریلوم برازیلنیس با جمعیت 108 سلول از هر باکتری در هر میلی لیتر مایه تلقیح) اختلاف معنی داری با تیمار عـدم مصـرف كـود زيسـتى مشـاهده شـد (P<0.01). در حالی که این تیمارها به ترتیب ذکر شده از نظر ميزان عملكرد اختلاف معنى دارى به لحاظ اين صفت با همدیگر نداشتند (جدول3) (P>0.01). در مـورد اثـر اصـلی کـود شـیمیایی نیتروژنـه، مقایسـه میانگین های سطوح کود نیتروژنه (جدول 4) نشان می دهد که مقدار صفات ارتفاع گیاه، عملکرد دانه و وزن هزاردانه به ترتیب با افزایش میزان کود نیتروژنه افزایش می یابد، به طوری که بالاترین مقدار با کاربرد 100 کیلوگرم نیتروژن در هکتار و کمترین مقدار در تیمار عدم مصرف کود نیتروژنه (صفر کیلوگرم نیتروژن) مشاهده شد. تیمارهای کاربرد 75، 50، 25 ریار (N_1, N_2, N_3) کیلےوگرم کےود نیتروژنے از نظے ایس صفات به ترتیب بعد از تیمار N₄ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) قرار می گیرند. در مورد صفات 75) N_3 درصـد نیتـروژن دانـه و پـروتئین دانـه تیمـار کیلوگرم نیتروژن در هکتار) بیشترین مقدار را داشت و بعــد از آن بــه ترتيـب تيمارهـاي 100، 50، 25 و صفر (N_1, N_2, N_4, N_0) کیلوگرم نیتروژن در هکتار قـرار داشـتند. تیمارهـای N₄ (100 کیلـوگرم نیتـروژن در هکتار) و 75 N_3 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) از نظر آماری در یک گروه قرار گرفته و اختلاف معنی-داری با دیگر تیمارها دارند (P>0.01).

	جدول۱- نتایج فیزیکی و شیمیایی تجزیه خاک Table 1- Physical and chemical results of soil analysis							
آهک (/.) Carbonate calcium	ماده آلی (٪) Organic carbon	یاقت خاک Soil texture	یتاسیم قابل دسترس(mgkg ⁻¹) available K	قسفرقایل دسترس(mgkg ⁻¹) available P	نیتروژن (٪) N	هدايت الكتركى (dSm ⁻¹) EC	اسیدیته pH	ەيزگى Parameter
9	0.78	لوم رسى	270	8	0.08	3.1	7.64	مقادير (Values)

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات اندازه گیری شده

Table 2- Variance analysis of treatments effect on the measured indices

وزن هزاردانه 1000-grain weight	يروتغين دانه (٪) Grain protein	نیتروژن دانه (٪) Grain nitrogen	عملكرد دانه (g) Grain yield	ارتفاع گیاه (cm) Plant height	درجه آزادی Degrees of Freedom	منابع تغییرات Source of variance
94.448**	2.627**	0.070**	41.011**	313.724**	3	Aيقاكتور Factor A
346.178**	29.075**	0.949**	209.723**	397.571**	4	Bقاكتور Factor B
13.814**	0.087**	0.03**	2.861**	6.201**	12	AB
0.808	0.023	0.000	0.044	0.478	40	خطا Error
1.1	1.15	1.35	0.92	0.81		ضریب تغییرات CV%

فاكتور A = اثراصلي كود زيستي فاكتور B = اثراصلي كود شيميايي AB=اثر متقايل كود زيستي وكود شيميايي Factor A= main effect of bio-fertilizer, Factor B= main effect of chemical fertilizer, Factor AB=Interactions of the bio fertilizer and chemical fertilizer

بررسی اثرات کودهای زیستی باکتریهای محرک رشد گیاه...

جدول 3- مقایسه میانگین اثر اصلی باکتری بر صفات بررسی شده Table 3- Comparison of mean for bacterial main effect on the studied indices

پروتئین دانه (%) Grain protein	وزن هزاردانه 1000-grain weight	نيتروژن دانه (%) Grain nitrogen	(g) عملكرد دانه Grain yield	ارتفاع گیاہ (cm) Plant height	تيمار Treatment
10.41 ^b	41.8 ^b	1.859 ^b	19.29 ^b	56.46°	T_0
10.95 ^a	46.49 ^a	1.955 ^a	21.96 ^a	59.84 ^b	T_1
11.03 ^a	46.08 ^a	1.971 ^a	22.16 ^a	59.31 ^b	T_2
11.24 ^a	47.26 ^a	2.007 ^a	23.09 ^a	65.61 ^a	T_3

T₀ = بدون کود زیستی T_1 کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنس با جمعیت 10⁶ سلول از هر باکتری در هر میلیلیتر مایه تلقیح، T_2 کود زیستی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با آزوسپیریلوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس با جمعیت 10⁸ سلول از هر باکتری در هر میلیلیتر مایه تلقیح،

T₀:as control treatment without biofertilizer T₁:biofertilizer containing *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* with population density of 10⁶ cfu ml⁻¹ of inoculum, T₂: bio-fertilizer containing *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* with population density of 10⁸ cfu ml⁻¹ of inoculum, T₃: the bio-fertilizer containing *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis* with population density of 10⁸ cfu ml⁻¹ of inoculum.

 N_1 دو تیمار N_2 (میلوگرم نیتروژن در هکتار) و N_2 (معنی داری 25) کیلوگرم نیتروژن در هکتار) داشته با یکدیگر و با N_0 (صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار) داشته و در سه گروه آماری مختلف قرار گرفتند (جدول4). (P<0.01)

مقایسه میانگینها در مورد اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی نیتروژن (جدول5) نیز نشان میدهد که بیشترین مقدار در مورد صفات مورد بررسی از اثر متقابل کود زیستی حاوی 10^8 سلول از باکتریهای ازتوباکتر كروكوكوم، آزوسپيريلوم برازيلنس، سودوموناس پوتيدا و باسیلوس سابتیلیس در هر میلیلیتر مایه تلقیح با 75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (T_3N_3) حاصل گردید، که با اثر متقابل همین کود زیستی و 100 کیلوگرم نیتروژن در هكتار (T₃N₄) تفاوت معنى دارى نداشته (T₃N₄)، در صورتی که با تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری نشان می دهند (P<0.01). كمترين مقدار در اثر متقابل عدم مصرف کود زیستی و عدم مصرف کود نیتروژن (T_0N_0) بهدست آمده که با تیمارهای دیگر به غیر از تیمارهای عدم مصرف کود زیستی همراه با 25 کیلوگرم کود نیتروژنه (T_0N_1) و کود زیستی حاوی 10^6 سلول از باکتریهای ازتوباکتر و آزوسپیریلوم در هر میلی لیتر مایه تلقیح همراه با صفر کیلوگرم کود نیتروژنه (T_1N_0) در صفات عملکرد دانه و وزن هزار دانه تفاوت معنی داری دارند (P<0.01). هم چنین این اثرات متقابل نشان داد در مورد تمام صفات مورد بررسی اگرچه تیمار کود زیستی حاوی 10^8 سلول از باکتریهای از توباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس در هر میلی لیتر (T_3N_3) مایه تلقیح با 75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار بیشترین مقدار را داشته، ولی در مورد صفت عملکرد دانه با تیمارهای (T₁N₃)، (T₁N₄)، (T₁N₃)، (T₂N₄)، صفت وزن هزار دانه با تیمارهای (T_1N_4) ((T_2N_3))، (T_1N_4) و درصد نیتروژن با تیمارهای (T_2N_3) , (T_1N_4) , (T_1N_3) , (T_2N_3) , (T_2N_3) (P>0.01) تفاوت معنى دارى نشان نداد (جدول 5) (P>0.01). با توجه به نتایج می توان این گونه بیان کرد با افزایش میزان کود نیتروژنه در هر کدام از سه کود زیستی مقدار صفات اندازه گیری شده افزایش می یابد، ولی با افزایش مقدار کود نیتروژنه از 75 کیلوگرم به 100 کیلوگرم در هکتار مقدار صفات مورد بررسی بر خلاف روند موجود در اثر اصلی کود کاهش می یابد. بنابراین با توجه به نتایج به

لحاظ صرفه جویی در کاربرد کود نیتروژنه، بهترین گزینه 75 کیلوگرم نیتروژنه در هکتار به همراه کودهای زیستی می باشد. گواداریسیا و همکاران (Govedarica et al., 2002) بیان کردند وارد کردن باکتریهای مولد مواد محرک رشد به خاک، باعث افزایش ارتفاع و عملکرد گندم Micatovic et) می گردد (P<0.01). میکانوویچ و همکاران (al., 2002 بيان كردند، طول ساقه نشاء گندم در شرايط تلقیح با باکتریهای آزادزی تثبیت کننده نیتروژن بزرگتر از شرایط تلقیح نشدهاست و تلقیح اثر معنی داری بر ارتفاع گیاه داشت (P<0.01). بررسی بیاری و همکاران (P<0.01 al., 2008) هم نشان داد که تلقیح ذرت با باکتریهای محرک رشد گیاه (آزوسپیریلوم لیپوفروم و آزتوباکتر کروکوکوم) تاثیر معنی داری در افزایش ارتفاع دارد Mohajer-Molani &) مهاجر میلانی و کلهر (P<0.01) Kalhor, 2007) بيان كردند تلقيح همزمان بذور گندم و جو با کود حاوی ازتوباکتر و آزوسپیریلوم با افزایش عملكرد دانه همراه بود. این افزایش عملكرد وابسته به تلقیح با میکروارگانیسمهای تثبیت کننده نیتروژن است، که باعث پیشرفت سیستم ریشه، تولید هورمونهای رشد گیاه، جذب نیترات، بهبود وضعیت آب گیاه و افزایش در فعالیت احیای نیترات می گردد (Wani et al., 1988) فعالیت بررسی رجائی و همکاران (Rajaee et al., 2007) نشان داد تلقیح بذر گندم بهاره با چند گونه از توباکتر کروکوکوم تأثیر مثبت و قابل توجهی بر وزن هزاردانه گندم داشت. جواد-اختر و همكاران (Javad-Akhtar et al., 2009) نيز بيان کردند تلقیح دانه گندم با باکتریهای محرک رشد گیاه و مصرف همزمان 120 كيلوگرم كود شيميايي نيتروژنه وزن هزاردانه و درصد نیتروژن را نسبت به کاربرد تنها 120 کیلوگرم کود نیتروژنه بهطور معنی داری افزایش داد (P<0.05). كادر و همكاران (Kader et al., 2002) بيان کردند تلقیح با باکتری از توباکتر به تنهایی یا در ترکیب با اوره و یا کود گاوی اثر معنی داری در افزایش جذب نیتروژن در دانه، ریشه و کاه دارد. بحرانی و همکاران (Bohrani et al., 2007) بيان كردند استفاده توأم از باکتریهای ازتوباکتر و آزوسپیریلوم در کشت گندم باعث افزایش معنی دار وزن هزار دانه و درصد پروتئین دانه می-شود. بررسی جاراک و همکاران (Jarak et al., 2011) نشان داد تلقیح ترکیبی گیاه ذرت با باکتریهای سودوموناس یوتیدا، باسیلوس و ازتوباکتر کروکوم باعث

افزایش معنی دار عملکرد گیاه گردید. مطالعات زهیر و همکاران (Zahir et al., 2007) نشان داد تلقیح بذرگندم با باکتری های محرک رشد (PGPR) و کاربرد همزمان کود نیتروژنه و کمپوست افزایش معنی داری بر محتوی نیتروژن دانه و کاه نشان می دهد. توران و همکاران

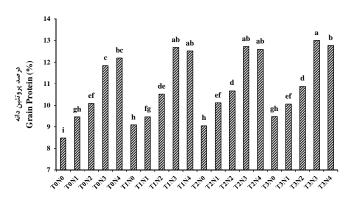
(Turan et al., 2010) بیان کردند تلقیح همزمان آزوسپیریلوم و دوگونه باسیلوس با مصرف کود اوره، محتوی نیتروژن در دانه، کاه، برگ و عملکرد دانه را به طور معنیداری افزایش میدهد.

جدول4- مقایسه میانگین اثر اصلی کود شیمیایی نیتروژنه بر صفات بررسی شده Table 4- The main effect of nitrogen chemical fertilizer on the studied indices mean

پروتئین دانه (%) Grain protein	وزن هزاردانه 1000-grain weight	(%) نیتروژن دانه Grain nitrogen	(g) عملکرد دانه Grain yield	ارتفاع گیاہ (cm) Plant height	تیمار Treatment
9.027 ^d	38.17 ^d	1.612 ^d	16.50 ^d	52.31 ^d	N_0
9.896 ^c	41.75 °	1.767 ^c	18.47 ^c	55.99 °	N_1
10.54 ^b	46.01 ^b	1.882 ^b	21.65 ^b	59.99 ^b	N_2
12.54 ^a	50.21 ^a	2.243 a	25.46 a	64.92 ^a	N_3
12.52 ^a	50.90 ^a	2.235 a	26.05 a	65.82 ^a	N_4

 $100=N_4$ مفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار، $N_2=25$ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، $N_2=100=N_2$ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، $N_3=100=N_3$ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، کیلوگرم نیتروژن در هکتار،

 $N_0: Control - 0 \; kg \; N \; ha^{\text{-}1} \; , \; N_1: 25 \; kg \; N \; ha^{\text{-}1} \; , \; N_2: 50 \; kg \; N \; ha^{\text{-}1} \; , \; N_3: 75 \; kg \; N \; ha^{\text{-}1} \; , \; N_4: 100 \; kg \; N \; ha^{\text{-}1} \; , \; N_4:$



شکل 1- مقایسه میانگینهای اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی بر درصد پروتئین دانه Fig. 1- Mean comparison of biofertilizer and chemical fertilizer interaction effect on the grain protein percentage

جدول 5- مقایسه میانگینهای اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی نیتروژنه بر صفات مورد بررسی Table 5- Mean comparison of interaction effect of biofertilizer and nitrogen chemical fertilizer on the studied indices

نیتروژن دانه (%)	وزن هزاردانه	عملکرد دانه (g)	ارتفاع گیاه (cm)	تيمار
Grain nitrogen	1000-grain weight	Grain yield	Plant height	Treatment
1.513 ^h	35.77 ^j	14.92 ⁱ	46.82 i	T^0N^0
$1.690^{\rm \ f,g}$	37.62 ^{i,j}	16.04 h,i	50.66 ^h	T_0N_1
1.800 ^e	$41.10^{g,h}$	18.49 e,f,g	54.02 g,h	T_0N_2
2.113 °	44.99 ^e	21.78 ^d	57.67 e,f	T_0N_3
2.177 b,c	49.50 b,c	25.22 b,c	$63.10^{b,c,d}$	T_0N_4
1.623 ^g	38.82 ⁱ	$16.67^{g,h,i}$	51.86 ^h	T_1N_0
1.777 e,f	$43.02^{e,f,g}$	18.92 e,f	56.11 f,g	T_1N_1
1.877 d ^e	47.17 ^d	22.21 ^d	60.06 d,e	T_1N_2
2.263 a,b	52.22 a	26.19 a,b	66.05 ^b	T_1N_3
2.233 a,b	51.24 ^{a,b}	25.82 a,b	65.14 ^b	T_1N_4
$1.617^{\rm g}$	38.57 ⁱ	16.95 g,h	52.02 ^h	T_2N_0
1.807 ^{d,e}	42.72 f,g	19.11 ^{e,f}	56.11 f,g	T_2N_1
1.907 ^d	47.11 ^d	22.43^{d}	59.31 ^{e,f}	T_2N_2
2.273 a	51.00 ^{a,b}	26.32 a,b	64.81 ^b	T_2N_3
2.250 a,b	51.00 ^{a,b}	26.09 a,b	64.32 b,c	T_2N_4
1.693 f,g	39.50 h,i	17.45 f,g,h	58.52 e,f	T_3N_0
1.797 ^e	43.65 e,f	19.80 ^e	$61.08^{c,d,e}$	T_3N_1
1.943 ^d	48.65 ^{cd}	23.47 c,d	66.58 ^b	T_3N_2
2.323 a	52.62 ^a	27.67 ^a	71.16 ^a	T_3N_3
2.280 a	51.86 ^a	27.06 ^{a,b}	70.71 ^a	T_3N_4

مقایسه میانگینها در اثر متقابل کود زیستی و کود نیتروژنه نشان می دهد که بالاترین درصد پروتئین در اثر متقابل کود زیستی سوم (T3) و سطح 3 (75 کیلوگرم در هکتار) کود نیتروژنه (T3N3) به دست آمده، که با اثرات دوگانه T1N4 ،T2N4 ،T1N3 ،T2N3 ،T3N4 دریک گروه قرار گرفته و تفاوت معنی داری ندارند (P>0.01). کمترین درصد پروتئین در عدم کاربرد کود زیستی و کود نیتروژنه (TON0) مشاهده می گردد، که با تمام اثرات متقابل تفاوت معنی داری دارد (نمودار (1) (P<0.01). با درنظر گرفتن این نکته که درصد پروتئین دانه برابر با حاصلضرب درصد نیتروژن دانه در ضریب ثابت 5/6 می-باشد، میتوان معنی دار بودن تیمارها در مورد این صفت را به نوعی با درصد نیتروژن مرتبط دانست. نیتروژن به عنوان عنصر اصلی ماده اولیه تشکیل دهنده پروتئین، از عوامل تاثیر گذار روی پرشدن دانه و محتوی پروتئین دانه محسوب مى شود (Zecevic et al., 2005). با توجه به اين كه

ازتوباکتر و آزوسپیریلوم از باکتریهای تثبیت کننده نیتروژن هستند، احتمالاً یکی از دلایل افزایش درصد پروتئین با کاربرد این باکتریها تثبیت نیتروژن توسط آنها است (Bohrani et al., 2007). تلقیح بذر گندم با کتریهای آزوسپیریلوم و ازتوباکتر درصد پروتئین بالاتری را نسبت به عدم مصرف آن تولید میکند (Bohrani et al., 2007). رجائی و همکاران (al., 2007 بیان کردند تلقیح با گونه-های ازتوباکتر کروکوکوم، تأثیر مثبت و قابل توجهی بر عملکرد بیولوژیکی، درصد پروتئین دانه، وزن هزاردانه، پهنای برگ، جذب نیتروژن، فسفر و روی داشت. عمو آقایی و همکاران (Amoaghaei et al., 2003) هزاردانه و درصد پروتئین دانه گندم تحت تأثیر باکتری آزوسییریلوم افزایش یافت.

پروتئین بالاتری نسبت به عدم مصرف کود زیستی در سطوح یکسان و حتی در سطوح پائینتر کود نیتروژنه نشان میدهد. این مطلب گویای آن است که استفاده هم زمان از کود زیستی و کود نیتروژنه باعث کاهش میزان کود نیتروژنه مصرفی میگردد. توصیه میگردد در کنار عرضه کودهای شیمیایی، کودهای زیستی نیز با توضیح روش درست استفاده از این کودها، به مصرف کننده عرضه

نتیجهگیری کلی

با توجه به نتایج می توان دریافت که استفاده از کود زیستی باعث پائین آمدن میزان مصرف کود شیمیایی شده، به طوری که کاربرد هر سه کود زیستی به خصوص مایه تلقیح سوم (حاوی 10⁸سلول از باکتریهای ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپیریلوم برازیلنس، سودوموناس پوتیدا و باسیلوس سابتیلیس در هر میلیلیتر مایه تلقیح)، ارتفاع گیاه، عملکرد دانه، وزن هزاردانه، درصد نیتروژن و درصد

References

- Amoaghaei R, Mostaejeran A and Emtiazi G. 2003. The effect of *Azospirillum* bacteria on some growth and yield parameters of three varieties of wheat, Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources, 7(2): 127-139. (In Persian).
- Besharati H, Saleh rastin N, Malakouti M and Alizade A. 2004. The investigation on viability potential of *Thiobacillus* on several kinds of carriers. Iranian Journal of Soil Research, 18(2):170-181. (In Persian).
- Bohrani A, Hosseini M, Meemar S and Tahmasbie Sarvestani, Z. 2007. The study of the effect of *Azospirillum* and *Azotobacter* along with micro elements use as foliar spraying and its use in the soil on qualitative and quantitative characters of five wheat varieties after maize cultivation in fars province. Journal of Agricultural Sciences of Iran, (6): 1-38. (In Persian).
- Bashan Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances, 16(4): 729-770.
- Biari A, Gholami A and Rahmani HA. 2008. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of iran. Journal of Biological Sciences, 8(6):1015-1020.
- Bohlool BB, Ladha JK, Garrity DP and George T. 1992. Biological nitrogen fixation for sustainable: A perspective. Plant and Soil, 141:1-11.
- Braccini AL, Dan LG, Piccinin GG, Albrecht LP, Barbosa MC and Ortiz AH. 2012. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. Revista Caatinga, 25(2): 58–64.
- Carter MR and Gregorich EG. 2008. Soil sampling and methods of analysis. 2nd edition, Canadian Society of Soil Science, 1224p.
- Das AC and Saha D. 2000. Inoculation of diazotrophs on nitrogenase activity of roots and N-Transformations in the rhizosphere soils of rice. In Extended summaries. Proc. International Conference on Managing Natural Resources for Sustainable Agricultural Production in the 21" Centuray. New Delhi.
- Govedarica M, Milosevic N, Jarak M, Duric S, Hajnal T, Jelicic Z and Kuzevski J. 2002. Application of biofertilizers in agriculture production. Proceeding of 6th International Symposium Interdisciplinary Regional Research. Hungary-Romanian-Yogoslavia, 407 (Abst.)
- Jarak M, Mrkovacki N, Bjelic D, Josic D, Hajnal-Jafari T and Stamenov D. 2012. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on maize in greenhouse and field trial. African Journal of Microbiology Research, 6(27): 5683-5690.
- Javed Akhtar M, Asghar HN, Shahzad K and Arshad M. 2009. Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria applied in combination with compost and mineral fertilizers to improve growth and yield of wheat (*Triticum aestivume* L.). Pakistan Journal of Botany, 41(1):381-390.
- Kader MA, Mian MH and Hoque MS. 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Science, 2(4):259-261.
- Kunze GW and Dixon JB. 1986. Method of soil analysis, Part 1. Physical and mineralogical methods, American Society of Agronomy, Wisconsin, pp. 568-577.

- Lugtenberg BJ and Kamilova F. 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. Annual Review of Microbiology. (63):541-556.
- Mia MAB, Shamsuddin ZH, Wahab Z and Marziah M. 2010. Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa* spp.). Scientia Horticulturae, (126): 80–87.
- Micanovic D, Zecevic V, Urosevic D and Knezevic D. 2006. Nitrogen content in the seedlings of wheat as parameter for selection on nitrogen fixation. Kragujevac Journal of Science, (28):159-164.
- Mishra BK and Sen SP. 1996. Associative and nitrogen nutrition of rice. Current Agricultural Research. (9):71-76.
- Mohajer M, Kalhor P and Kalhor M. 2007. The study on inoculation of *Azotobacter* and *Azospirillum* inoculants on wheat and barley yield, The 10th Congress on Soil Sciences of Iran. University of Tehran, Karaj. (In Persian).
- Pereira JA, Cavalcarte VAR, Baldani JI and Dobereiner J. 1988. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* Spp. and *Hebirillum* Seropedica. Plant and soil, (110):269-274.
- Piccinin GG, Braccini AL, Dan LGM, Scapim CA, Ricci TT and Bazo GL. 2013. Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. Industrial Crops and Products, (43):393–397.
- Rajaee S, Alikhani HA and Raiesi F. 2007. Effect of plant growth promoting potentials of *Azotobacter Chroococcum* native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat. Journal of science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science. 11(41): 285-297. (In Persian).
- Rashidi Z, Zare MJ, Rejali F and Ashraf Mehrabi A. 2011. Effect of soil tillage and integrated chemical fertilizer and biofertilizer on quantity and quality yield of bread wheat and soil biological activity under dry land farming. Electronic Journal of Crop Production, 4 (2): 189-206. (In Persian).
- Rasipour L and Aliasgharzadeh N. 2008. Interactive effect of phosphate solubilizing bacteria and *Bradyrhizobium japonicum* on growth, nodule indices and some nutrient uptake of soybean. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science, 11 (40): 53-63. (In Persian).
- Rodriguez H and Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, (17):319-339.
- Sparks DL. 1996. Method of soil Analysis. Part 3. Chemical methods. American Society of Agronomy. Wisconsin, USA, 1390p.
- Tilak KV, Ranganayaki N, Pal KK, De R, Satena AK, Tripathi, AK and Johri BN. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science, 89:136-150.
- Trivedi P and Sa T. 2008. *Pseudomonas corrugata* (NRRL B-30409) mutants increased phosphate solubilization, organic acid production, and plant growth at lower temperatures. Current Microbiology, (56):140-144.
- Turan M, Gulluce M, Cacmakei R, Ostas T and Sahin F. 2010. The effect of PGPR strain on wheat yield and quality parameters. World Congress of Soil Science, Brisbane, Australia, pp: 140-143.
- Wani SP, Chandra palaiah S, Zambre MA and Lee KK. 1988. Association between nitrogen-fixing bacteria and pearlmillet plants, responses mechanisms and resistance. Plant and Soil, (110):284-302.
- Zahir ZA, Naveed M, Zafar MI, Rehman HS, Arshad M and Khalid M. 2007. Evaluation of composted organic waste enriched with nitrogen and L-Tryptophan for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Botany, 39(5): 1739-1749.
- Zecevic V, Knezevic D, Micanovic D and Dimitrijevic B. 2005. Wheat mineral nutrition and quality. Proceedings of International Conference on sustainable Agriculture and European Integration, Novi Sad. Contemporary Agriculture, pp: 613-619.

Effect of PGPR Biofertilizers on the Qualitative and Quantitative Yield Parameters of Wheat (Triticum aestivum)

Alireza Fallah ¹, Somayeh Momeni ², Shayan Shariati³

(Received: December 2013 Accepted: May 2014)

ABSTRACT

Due to the indiscriminate use of nitrogen fertilizers, pollution caused by the use of fertilizers and high production costs, the present study examined the effects of plant growth promoting biofertilizers and nitrogen fertilizer on increasing the quality and quantity of wheat. The experiment was conducted in two-factor factorial design in three replications; (T₀: as control treatment without biofertilizer T₁: biofertilizer containing Azotobacter chroococcum and Azospirillum brasilense with population density of 10⁶ cfu ml⁻¹ of inoculum, T₂: bio-fertilizer containing Azotobacter chroococcum and Azospirillum brasilense with population density of 108 cfu ml⁻¹ of inoculum, T₃: the bio-fertilizer containing Azotobacter chroococcum, Azospirillum brasilense, Pseudomonas putida and Baillus subtilis with population density of 10^8 cfu ml⁻¹ of inoculum) and nitrogen fertilizer (N₀: Control, N₁:25, N₂:50, N₃:75, N₄:100 kg N ha⁻¹) in a completely randomized design. The results showed that the main effect of bio-fertilizer was related to treatment T₃ which resulted respectively in 13, 20.4, 8, 19.7 and 8% increase in the 1000-grain weight, plant height, grain nitrogen content, grain yield and grain protein content in comparison to the control. In the case of main effect of chemical fertilizer levels on the mentioned parameters, the treatments 75 and 100 kg N ha⁻¹ were the best treatments and they didn't show a significant difference (P>0.05). Regarding interactions of the treatment T_3 with N_3 had the highest amount and resulted respectively in 50, 51, 57.3, 81.3 and 50.5% increase in the 1000-grain weight, plant height, grain nitrogen content, grain yield and grain protein content.

Keywords: Azotobacter, Azosprillum, Bio-fertilizer, Chemical fertilizer, Wheat

¹⁻ Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran (Corresponding author) $\underline{rezafallah@yahoo.com}$

²⁻ Soil Science Department, Islamic Azad University, Karaj Branch

³⁻ Young Researchers Club Islamic Azad University, Rasht Branch