Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

بررسی اکولوژیکی ازتوباکتر در دو منطقه مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن روی رشد و تغذیه معدنی گیاه گندم

رقیه حاجی‌بلند[۱]، ناصر علی‌اصغرزاده[۲] و زهرا مهرفر[۳]

چکیده

اطلاعات نسبتاً کاملی در مورد نقش ازتوباکتر کروکوکوم - یک تثبیت کننده آزاد ازت - در خاک‌های کشاورزی وجود دارد، با این‌حال آگاهی ما درمورد اهمیت اکولوژیک این باکتری‌ها در مناطق مرتعی به‌ویژه در ایران ناچیز است. این بررسی به منظور بررسی ارتباط بین عوامل اکولوژیک و عوامل مربوط به خاک با جمعیت باکتری‌ها انجام گرفته است. نمونه‌های خاک از دو منطقه مرتعی میشوداغ و خواجه که از نظر اکولوژیکی، نوع خاک و پوشش گیاهی از یکدیگرکاملاً متفاوت بودند، انتخاب شدند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که جمعیت ازتوباکتر با مقدار کربن آلی و pH خاک به‌ترتیب هم‌بستگی معنی‌دار مثبت و منفی دارد. پوشش گیاهی نیز روی جمعیت باکتری‌ها به‌شدت موثر بوده و علاوه بر کاهش جمعیت در خاک‌های فاقد پوشش، ریزوسفر گیاهان تیره گندم بیشترین جمعیت و ریزوسفر گیاهان تیره نخود کمترین جمعیت ازتوباکترها را داشت. هم‌چنین اثر تلقیح باکتری‌های جدا شده از خاک‌های مورد مطالعه، روی رشد و تغذیه معدنی در گندم به عنوان گیاه مدل مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که رشد اندام هوایی و ریشه به ترتیب از تیمار کود ازتی (+N) به سمت تیمار تلقیح با ازتوباکتر (+A) و تیمار توأم (+A+N) نسبت به شاهد (-A-N) افزایش یافت. تیمارهای سه‌گانه فوق هم‌چنین باعث افزایش جذب و انتقال پتاسیم به اندام هوایی شدند، با این‌حال تأثیر تیمار +A بر روی این پارامترها بیش از تأثیر تیمارهای +A+N و +N بوده است. این موضوع در مورد جذب ازت نیز صادق بود. بالاتر بودن مقدار جذب و خصوصا انتقال پتاسیم در تیمار تلقیح با ازتوباکتر به اثر احتمالی ترکیبات آلی تولید شده در ریشه که پتاسیم را با خود به اندام هوایی انتقال می‌دهند نسبت داده شد. نتایج نشان داد که ازتوباکترها نه تنها روی افزایش رشد و مقدار کلروفیل در گندم موثرند، بلکه به‌طور اختصاصی روی جذب و خصوصاً انتقال عناصر نیز تأثیر مثبتی دارند. به نظر می‌رسد این اثر اختصاصی نبوده و می‌تواند برای عناصر کم مصرف نیز از اهمیت برخوردار باشد.

واژه‌های کلیدی: *جمعیت ازتوباکتر، تلقیح با ازتوباکتر، گندم، جذب و انتقال عناصر غذایی، خاک مرتعی*

۱. استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز
۲. استادیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم گیاهی، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

مقدمه

باکتری‌های دیازوتروف با زندگی آزاد توزیع گسترده‌ای در خاک‌ها دارند. این باکتری‌ها بی‌هوازی، بی‌هوازی اختیاری و یا هوازی می‌باشند. از مهم‌ترین جنس‌هایی که عمدتاً در مجاورت ریشه گونه‌های گرامینه یافت می‌شوند می‌توان به ازتوباکتر (*Azotobacter*)،آزوسپریلوم (*Azospirillum*)، کلبسیلا (*Klebsiella*)، انتروباکتر (*Enterobacter*) و پسودوموناس (*Pseudomonas*) اشاره کرد. از این میان، ازتوباکترها به دلیل فراوانی و وسعت انتشار بیش از سایر انواع تثبیت کننده‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند و در خاک‌های مناطق معتدله نیز بیشترین اهمیت را دارند. گفته می‌شود در خاک‌های زراعی با زهکشی خوب بیشترین مقدار تثبیت ازت به‌صورت آزاد توسط این باکتری‌ها انجام می‌گیرد (۱۳). ازتوباکترها در زیستگاه‌هایی مانند خاک، سطح برگ، آب‌های شیرین و در مناطق مختلف شامل حاره‌ای و قطبی رشد می‌کنند. فراوانی ازتوباکترها در خاک‌های مختلف متفاوت بوده و عمدتاً در خاک‌های قلیایی تا خنثی دیده می‌شوند و در خاک‌های فقیر و اسیدی کمیاب‌اند(۲۴). ازتوباکترها توانایی ساختن ویتأمین‌های B_1 ، B_2 ، B_6 ، B_{12} ، پانتوتنیک اسید و نیکوتینیک اسید (۳۱) را دارا بوده و تولید این ویتامین‌ها تحت شرایط دی آزوتروفیک و تغذیه کافی کربن افزایش می‌یابد (۱۶). هم‌چنین ازتوباکترها قادر به ساختن اسیدهای آمینه مانند آرژینین، لیزین، تریپتوفان، هیستیدین، سیستئین، پالمتیک اسید (۱۶) و انواع عوامل رشد مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکینین هستند (۱۷، ۲۸، ۳۰).

در خاک‌هایی که محدودیت منبع کربن وجود دارد، سهم ازتوباکترها در تثبیت ازت چندان قابل توجه نیست. با این‌حال با افزایش عرضه کربن و ایجاد نسبت بالای C/N در خاک سهم آنها درتثبیت ازت افزایش می‌یابد. نه تنها مانده‌های گیاهی باعث افزایش نسبت کربن آلی درخاک می‌باشند، ریشه گیاهان در حال رشد نیز عامل افزایش کربن آلی خاک است. گفته می‌شود نسبت قابل توجهی از کربن تثبت شده در طی فتوسنتز در گیاهان عالی به شکل ترشحات ریشه و یا سلول‌های ریشه در حال تخریب به ریزوسفر آزاد می‌شود (۲۰). به همین دلیل جمعیت میکروارگانیسم‌های خاک از جمله باکتری‌های دیازوتروف در ریزوسفر چندین بار بیشتر از کل خاک است (۳۹). به‌طوری‌که به‌عنوان مثال بین فراوانی ازتوباکترها و رشد ریشه درگیاه ذرت ارتباط مستقیمی وجود دارد (۳۷)، هم‌چنین تولید اکسین، جیبرلین و سیتوکینین توسط این باکتری‌ها در این شرایط دو برابر می‌شود (۱۷).

چندین آزمایش مزرعه‌ای برای بررسی اثر تلقیح با آزوسپریلوم وازتوباکتر روی رشد و عملکرد گونه‌های زراعی حاره و معتدله انجام شده است (۲۲). پس از تلقیح با این باکتری‌ها افزایش در عملکرد دانه تا ۴۰٪ در گندم و جوگزارش شده است (۲۳). این‌که آیا این افزایش در عملکرد تنها به تثبیت ازت مربوط است و یا آثار هورمونی و سایر آثار روی رشد و نمو گیاه عامل این افزایش می‌باشد، مشخص نشده است (۲۳). تأثیر تلقیح ازتوباکتر به‌ویژه همراه با کود دامی روی عملکرد محصولاتی مانند ذرت (۳۰) و ارزن نیز مثبت بوده است (۴۷). تأثیر تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپیریلوم برازیلنز همراه با کود دامی، رشد، تجمع ماده خشک، تولید دانه و پروتئین را در سورگهوم افزایش داده است (۴۱).

هرچند جمعیت ازتوباکترها و شدت تثبیت ازت توسط آنها در خاک‌های زراعی تا کنون بررسی‌های زیادی را به‌خود اختصاص داده است (۷، ۲۱)، در اکوسیستم‌های طبیعی که کشت و زرع در آنها انجام نمی‌شود و خاک تنها با عوامل طبیعی با منشأ گیاهی یا جانوری غنی می‌گردد، در زمینه ازتوباکترها اطلاعات زیادی در دسترس نیست. از سوی دیگر هرچند در مورد افزایش جمعیت باکتری‌ها تحت تأثیر ترشحات ریشه گیاهان اطلاعاتی وجود دارد(۳۸)، ولی گزارش‌هایی نیز نشان داده است که بعضی از مواد آلی مانند ترکیبات فنلی و محلول در آب که از ریشه برخی از گونه‌ها ترشح و وارد خاک می‌شوند برای باکتری‌های مختلف ریزوسفر سمی بوده و مانع رشد و فعالیت آنها می‌شوند (۱۸، ۲۵).

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

بـه هـمـیـن دلـیل یکـی از اهـداف پـژوهـش حاضـر بررسـی جمعـیت ازتوباکتـرها در مـناطق مرتعی و ارتباط آن با عـوامل اکولوژیکی، عوامل مربوط به خاک و نوع پوشش گیاهی بـوده اسـت. از سوی دیگر هرچند تأثیر تلقیح مصنوعی خاک با ازتوباکتـرها روی رشـد و عملکـرد گـندم در شـرایط مـزرعه‌ای تاکـنون بررسـی‌هایی را به خود اختصاص داده است (۲۳)، ولـی نقـش این تلقیح در جذب و خصوصاً انتقال عناصر معدنـی بـه انـدام هوایـی در شرایط آزمایشگاهی تاکنون مطالعه نشده است.

بـا تـوجه به این‌که عمدتاً در مطالعات مربوط به بررسی آثار تلقـیح بـا ازتوباکتـر روی رشـد و عملکرد از گیاه گندم به‌عنوان یک مدل مناسب استفاده شده است (۲۷)، در پژوهش حاضر نیز بـه ایـن مـنظور ازتوباکتـر جدا شده از یکی از خاک‌های مناطق مرتعـی مـورد بررسـی، بـه گیاه گندم تلقیح شده، رشد و تغذیه معدنی این گیاه مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مـنطقه میشـوداغ بـا ارتفـاع ۳۱۲۵ متـر از سـطح دریـا در ۵۹ کیلومتـری غرب تبریز واقع شده است و بخصوص دامنه شمالی آن پوشـش گیاهـی بسـیار غنی دارد. از آنجا که یکی از اهداف ایـن بررسـی مطالعـه رابطـه بـین نوع پوشش گیاهی با جمعیت ازتوباکتـرها بـوده اسـت، ایـن مـنطقه برای بررسی انتخاب شد. مـنطقه خـواجه در ۳۰ کیلومتـری شمال شرق تبریز واقع شده و ارتفـاع آن از سـطح دریـا ۱۵۰۰ متـر است. این منطقه در بخش وسـیعی به‌صورت ایستگاه تحقیقاتی و قرق شده در آمده است. پوشـش گیاهـی آن ضـعیف و خـاک آن از نـوع مارنی ـ گچی مـی‌باشـد. بـه‌دلـیل تفـاوت قابل توجهی که از نظر پارامتر های خـاک و نـوع پوشـش گیاهـی بین دو منطقه وجود دارد، جهت بررسی انتخاب شدند.

نمـونه‌هـای خـاک از دو مـنطقه مـورد نظر برداشت شده و جمعـیت باکتـری در نمـونه‌هـا تعیین شد و هم‌زمان پارامترهای مختـلف خـاک نیز مورد سنجش قرار گرفت. سپس باکتری‌های تخلـیص شـده از یکـی از نمـونه‌هـای برداشـت شده از منطقه میشوداغ، برای تلقیح به گیاه گندم استفاده شد.

نمونه برداری

در فصـل بهـار از خـاک دو منطقه مرتعی میشوداغ و خواجه از عمـق ۳ تـا ۳۰ سـانتی‌متـر، در ریزوسفر گیاهان و یا منطقه فاقد پوشـش به‌صورت تصادفی نمونه برداری انجام شد. البته به‌دلیل تصـادفی بـودن نمـونه‌برداری و پایین بودن تنوع پوشش گیاهی خصوصـاً در منطقه خواجه، تعداد نمونه‌های مربوط به ریزوسفر گـونه‌های مختلف متفاوت بود. نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه، بلافاصله از نظر وجود ازتوباکترها مورد آزمایش قرار گرفته و بقیه آن برای سایر سنجش‌ها در یخچال نگه‌داری شد.

جداسازی باکتری‌ها و تعیین جمعیت آنها

جداسازی باکتری به‌روش خمیر اشباع خاک انجام گرفت (۱۴). در ایـن روش نیم گرم پیروات سدیم با ۵۰ گرم خاک مخلوط و بـا آب مقطـر اشـباع شـد.گـل اشباع به پتری دیش‌های استریل منـتقل شـده و در درون ظـروف پتری استریل بزرگ‌تر که کف آنهـا با آب مقطر استریل به‌منظور جلوگیری از خشک شدن گل اشـباع پوشیده شده بود، قرار گرفته و درپوش آن بسته شد. پس از دو هفـته، از نقـاط قهـوه‌ای در سـطح گـل اشـباع، کـه کلنی ناخـالص باکتـری بـود با سیم کشت استریل برداشت شده و به محـیط کشـت جنسـون (pH =۷/۱) انـتقال داده شـد و با تکرار کشـت، کلنـی خالص تهیه گردید. برای مشاهده واکنش باکتری در رنـگ‌آمیـزی گـرم از کلنـی تـازه و بـرای مشاهده کیست از کشـت‌هـای دو هفـته‌ای استفاده شد. برای نگه‌داری باکتری‌ها و سـرانجام تلقـیح آن بـه گـیاه، کلنـی‌هـای تازه رشد یافته با سیم کشت استریل بر روی محیط کشت جنسون (۴۰) به اضافه آگار کـه بـه‌صـورت مورب در لوله آزمایش آماده شده بود، قرار داده شـد و در انکوباتـور در دمـای ۲۶ درجـه سـانتی‌گراد نگه‌داری گـردید. پـس از نمایان شدن نخستین آثار رشد باکتری، نمونه‌ها در یخچـال و دمـای ۴ درجـه سـانتی‌گراد تا زمان تلقیح به گیاه نگـه‌داری شـد. بـرای تأیـید تشـخیص گـونه باکتـری پـس از

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

خالص سازی و انتقال روی آگار مورب، رنگ آمیزی گرم، آزمون تحرک، تولید رنگدانه قهوه‌ای رنگ، آزمون کاتالاز و تولید سولفید هیدروژن انجام شد.

برای تعیین جمعیت باکتری از روش شمارش کلنی استفاده شد (۹). ده گرم خاک تازه برداشت شده از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شده و به ارلن ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۹۵ میلی لیتر آب مقطر استریل برده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در همزن قرار گرفت. سوسپانسیون خاک به‌مدت ۱۵ ثانیه به حالت سکون قرار گرفته و سپس از محلول روشناور یک میلی لیتر برداشت و به لوله آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. با برداشت‌های متوالی و رساندن آن با آب مقطر استریل به حجم ۱۰ میلی لیتر، تا رقت 10^{-5} از آن تهیه شد. از هر رقت تهیه شده، در سه تکرار با پیپت استریل نمونه‌هایی هرکدام به حجم ۰/۱ میلی‌لیتر برداشت و روی ظروف پتری حاوی محیط کشت Ashby (۴۰) منتقل و با میله شیشه‌ای L شکل به‌صورت یکنواخت روی سطح محیط توزیع شد. ظروف پتری به‌مدت یک هفته در انکوباتور و در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس کلنی‌ها شمارش شده و عدد به‌دست آمده در ۱۰ و نیز عکس رقت مربوطه ضرب شد و تعداد باکتری‌ها در هر گرم خاک محاسبه گردید (۹).

اندازه‌گیری پارامترهای خاک

اندازه‌گیری pH و EC در عصاره گل اشباع خاک و سنجش کربن آلی خاک به‌روش والکلی بلک انجام گرفت (۳۳). ازت خاک به‌روش کجلدال با استفاده از دستگاه میکروکجلدال مدل 2300 Kjeltec Analyzer اندازه‌گیری شد. مقدار پتاسیم و سدیم خاک در عصاره تهیه شده با استات آمونیوم نرمال در pH =۷ با استفاده از فلیم فتومتر (مدل JEANWAY PEP7) سنجش گردید.

کشت گیاه و تلقیح آن با ازتوباکترها

در این بررسی از گندم رقم امید (*Triticum aestivum* L. var. Omid) استفاده شد. در هر گلدان به اندازه ۱/۵ کیلوگرم خاک (گذرانده شده از الک ۴ میلی‌متری) و ۱٪ وزن خاک کود گاوی پوسیده، ریخته شد. برخی مشخصات خاک مورد استفاده (مربوط به ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان) در این آزمایش در جدول ۱ آمده است. مقدار آب به اندازه ۵۰٪ ظرفیت مزرعه به خاک‌ها اضافه شد و هر روز با توزین گلدان‌ها کنترل گردید. طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار شامل نیترات آمونیوم (+N) ، تلقیح با ازتوباکتر (+A)، تلقیح با ازتوباکتر توأم با افزودن نیترات آمونیوم (+A+N) و شاهد (-A-N) هر کدام با چهار تکرار اعمال شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای و در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد، طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و شدت روشنایی ۷۰۰۰ تا ۸۰۰۰ لوکس نگه‌داری شدند. در هفته اول به همه تیمارها محلول عناصر غذایی کم مصرف و به تیمارهای کود ازتی ۳۵ میلی گرم ازت به شکل نیترات آمونیوم به ازای هر کیلوگرم خاک اضافه شد. البته مقدار کود ازتی مورد نیاز گیاه در این خاک با توجه به مقدار کربن آلی آن که به روش Biswas (۵) محاسبه گردید ۵۲ میلی گرم در کیلوگرم خاک بود.

برای تلقیح باکتری به گیاه، مقداری از کلنی خالص باکتری از لوله آزمایش حاوی محیط کشت جامد جنسون با سیم کشت استریل برداشت شده و به محیط کشت مایع جنسون مانیتول دار اضافه و در شیکر انکوباتور در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. پس از افزایش جمعیت باکتری‌ها و شیری رنگ شدن محیط، با استفاده از اسپکتروفوتومتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جمعیت باکتری‌ها 10^{9} در یک میلی لیتر تعیین شد. محلول‌های استاندارد بر اساس روش Mc Farland (۹) با حجم‌های مختلفی از اسید سولفوریک ۱٪ و باریم کلرید ۱٪ تهیه شد و خط استاندارد ترسیم گردید.

برای تلقیح گیاهان با باکتری از ورمیکولیت به‌عنوان حامل استفاده شد. به ۱۰۰ گرم ورمیکولیت پودر شده و استریل، ۱۰ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری اضافه شده و ۱ گرم از آن در داخل خاک قرار گرفت و سطح آن پوشانده شده و سپس روی آن بذور ضدعفونی شده قرار گرفت. بدین ترتیب جمعیت

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به‌کار رفته در این پژوهش

	pH	EC	O.C	P	K	Fe	Mn	ماسه	سیلت	رس
		ds/m	٪	Mg/kg				٪		
خاک	۷/۲	۱/۸	۰/۳۹	۴/۴	۲۰۰	۳/۷۳	۳/۵۴	۷۴/۳	۱۵/۲	۱۰/۵

باکتری‌ها، 10^8 به ازای هر گرم حامل و هر گیاه بود. حفره‌ها در نهایت با خاک پوشانده شده و در هر گلدان ۸ عدد بذر گندم با این روش کاشته شد.

برداشت و سنجش پارامترهای مربوط به گیاه

پس از ۵۶ روز رشد در گلخانه، گیاهان برداشت شدند. اندام هوایی و ریشه از محل یقه جدا شده و ریشه‌ها نیز به‌طور کامل از خاک مجزا و شستشو داده شدند. چهار گیاه از هر گلدان برای سنجش کلروفیل و طول ریشه و به همین تعداد برای تعیین وزن خشک و مقدار عناصرمورد استفاده قرار گرفتند. وزن تر اندام هوایی و ریشه تعیین شد. طول ریشه به روش شمارش شبکه‌ای (۴۳) به‌دست آمد و کلروفیل برگ‌ها با استخراج در استن و به‌روش اسپکترفوتومتری در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر تعیین شد. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در آون و دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند.

برای تعیین غلظت ازت و پتاسیم، نمونه‌ها به‌روش خاکستر مرطوب و با استفاده از اسید پرکلریک در روی دستگاه حرارتی تا بی‌رنگ شدن کامل خاکستر شدند. پس از رساندن به حجم، پتاسیم نمونه‌ها به‌روش فلم فتومتری و ازت به‌روش آندوفنل آبی (۴۶) اندازه‌گیری شد.

برای محاسبه پارامترهای جذب (uptake) و انتقال (transport) از فرمول‌های زیر استفاده گردید:

جذب= مجموع مقدار عنصر ریشه و اندام هوایی (mg) / وزن خشک ریشه (g)

انتقال= مقدار عنصر اندام هوایی (mg) / وزن خشک ریشه (g)

مقایسه میانگین‌ها به‌روش ANOVA و با استفاده از آزمون توکی (Tukey) انجام شد. بررسی هم‌بستگی بین پارامترهای مختلف خاک به روش رگرسیون خطی با نرم افزار SPSS انجام گردید. برای تعیین ارتباط بین نوع پوشش گیاهی با جمعیت باکتری، به چهار نوع پوشش گیاهی مورد بررسی، رتبه‌های ۰ تا ۳ داده شده و سپس هم‌بستگی بین این رتبه‌ها با جمعیت باکتری تعیین گردید. تجزیه و تحلیل چند متغیره داده‌های مربوط به جمعیت باکتری‌ها به جز در مورد متغیر کیفی پوشش گیاهی، به روش گام به گام و با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت.

نتایج

مشخصات ازتوباکتر کروکوکوم جدا شده از خاک

پس از قرار دادن خمیر اشباع خاک به مدت ۱۰ تا ۱۵ روز در انکوباتور ۲۶ درجه سانتی‌گراد، لکه‌های قهوه‌ای رنگی که کلنی ناخالص باکتری بود، در روی سطح گل ظاهر شدند. سه روز پس از انتقال این کلنی‌ها به محیط کشت جامد جنسون، کلنی‌های شفاف کروی شکل ظاهر شد. به منظور تأیید تشخیص باکتری آزمایش‌هایی از جمله رنگ آمیزی گرم، آزمون تحرک، آزمون کاتالاز، ایجاد رنگدانه‌های قهوه‌ای نامحلول در آب و تولید H_2S صورت گرفت که نتایج این بررسی در جدول۲ آمده است.

در بررسی‌های میکروسکوپی، ازتوباکتر کروکوکوم به اشکال میله‌ای دوتایی (رویشی) و کروی (کیست) به‌صورت منفرد یا زوج دیده شد. هم‌چنین باکتری‌ها به‌دلیل دارا بودن تاژک پیرامونی متحرک بودند. در کشت‌های دو هفته‌ای باکتری‌ها متورم و دیواره آنها ضخیم شد که مراحل تبدیل به کیست را

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

جدول ۲. برخی مشخصات باکتری ازتوباکتر کروکوکوم که در این بررسی مورد آزمایش قرار گرفت

مورفولوژی	رنگ‌آمیزی گرم	تحرک	تشکیل کیست	کاتالاز	تولید H_2S	تولید رنگدانه قهوه‌ای نا محلول درآب
دیپلوباسیل کوتاه	−	+	+	+	−	+

نشان می‌داد. کلنی‌های رشد یافته در محیط کشت جنسون، بعد از یک هفته رنگدانه‌های قهوه‌ای رنگی تولید کردند.

ارتباط بین ویژگی‌های شیمیایی خاک و جمعیت باکتری

برخی مشخصات شیمیایی خاک در دو منطقه میشوداغ و خواجه به‌ترتیب در جدول ۳ و ۴ آمده است. نتایج ارتباط بین پارامترهای خاک و نوع پوشش گیاهی با جمعیت ازتوباکتر کروکوکوم به شرح زیر است.

الف) ارتباط بین نوع پوشش گیاهی با جمعیت باکتری

هم‌بستگی معنی‌داری به‌ترتیب در سطح ۱٪ و ۵٪ بین نوع پوشش گیاهی و جمعیت باکتری در منطقه میشوداغ و خواجه وجود داشت و جمعیت باکتری تحت تأثیر نوع پوشش گیاهی قرار گرفت. جمعیت باکتری در ریزوسفر گیاهان تیره گندم به‌طور متوسط در منطقه میشو داغ ۱۰۰ و در منطقه خواجه ۳۴ (هزار در گرم خاک خشک) بود، در حالی‌که مثلاً در منطقه میشوداغ در ریزوسفر گیاهان تیره نعناع این مقدار به‌طور متوسط ۲۵ و در ریزوسفر گیاهان تیره نخود ۱۰ (هزار در گرم خاک خشک) بود.

ب) ارتباط بین pH و EC خاک با جمعیت باکتری

هر چند با افزایش pH خاک جمعیت باکتری در هر دو منطقه کاهش یافت ولی نتایج به‌دست آمده از جدول هم‌بستگی (جدول ۵) نشان می‌دهد که این هم‌بستگی بین pH خاک با جمعیت باکتری فقط در منطقه خواجه معنی‌دار بود. در هیچ‌کدام از دو منطقه هم‌بستگی معنی‌داری بین EC و جمعیت باکتری وجود نداشت (جدول ۵).

در مورد داده‌های منطقه خواجه، معادله رگرسیون چند متغیره به‌صورت زیر حاصل شد که در آن Y جمعیت باکتری در خاک است. بنابراین عامل تعیین کننده جمعیت باکتری‌ها در این منطقه pH خاک است.

$$Y= 312.66-36.52\ pH$$

ج) ارتباط بین ازت و کربن آلی خاک با جمعیت باکتری

هم‌بستگی معنی داری بین ازت کل و جمعیت باکتری منطقه خواجه و میشوداغ وجود نداشت ولی هم‌بستگی مثبت و معنی‌داری بین کربن آلی خاک و جمعیت باکتری در هر دو منطقه وجود داشت ($P<0.01$)، به‌طوری‌که با افزایش کربن آلی خاک جمعیت باکتری‌ها در هر گرم خاک خشک افزایش یافت.

برای داده‌های منطقه میشوداغ، نتایج محاسبات رگرسیون چند متغیره به روش گام به گام نشان داد که تنها متغیرهای کربن آلی و ازت کل خاک دارای ضریب تبیین معنی‌دار هستند. بدین ترتیب سایر متغیرها حذف شده و معادله به‌صورت زیر به‌دست آمد:

$$Y= -53.5+23.1\ OC - 192/9\ TN \quad R^2= 0.0874\ * \quad (p<0.05)$$

که در آن OC کربن آلی خاک و TN ازت کل خاک می‌باشد. با توجه به معادله فوق می‌توان گفت که مقدار کربن آلی رابطه مستقیم و معنی‌داری با جمعیت باکتری و مقدار ازت کل خاک رابطه معنی‌دار و منفی با آن دارد.

د) ارتباط بین قابلیت جذب سدیم و پتاسیم خاک با جمعیت ازتوباکتر

هر چند ارتباط ضعیفی بین فراهمی سدیم و پتاسیم با جمعیت باکتری در هر دو منطقه دیده شد، بدین معنی که با افزایش فراهمی سدیم و پتاسیم تمایلی به سمت افزایش جمعیت باکتری‌ها در منطقه میشوداغ و کاهشی در این پارامتر در منطقه خواجه آشکار بود، ولی این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (جدول ۵).

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

جدول ۳. جمعیت ازتوباکتر کروکوکوم و ارتباط آن با برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک و محل نمونه برداری در منطقه مرتعی میشوداغ

نوع پوشش گیاهی	pH	EC (µs/cm)	ازت کل ٪	کربن آلی ٪	فراهمی سدیم (mg/Kg)	فراهمی پتاسیم (mg/Kg)	جمعیت باکتری (هزار در گرم خاک خشک)
تیره گندمیان	۷/۵	۱۳۰	۰/۴۶	۱۲/۵۸	۸۰۷/۶	۱۳/۲	۱۵۰
تیره گندمیان	۷/۶	۸۰	۰/۲۶	۷/۲۶	۴۳۹/۵	۱۰/۹	۸۰
تیره گندمیان	۷/۸	۲۱۰	۰/۲۰	۶/۴۵	۷۸۰/۷	۱۳/۲	۷۰
تیره نعناع	۷/۸	۱۳۰	۰/۳۹	۵/۸۱	۱۰۷۶/۶	۱۳/۲	۲۰
تیره نعناع	۷/۳	۸۰	۰/۲۲	۵/۵۶	۷۵۳/۸	۱۰/۹	۳۰
تیره نخود	۷/۸	۱۰۰	۰/۴۷	۶/۸۷	۱۰۲۲/۸	۱۰/۹	۱۰
تیره نخود	۷/۸	۱۱۰	۰/۲۲	۵/۳۲	۴۴۴/۴	۱۰/۹	۱۰
تیره نخود	۷/۷	۴۰	۰/۰۹	۲/۸۹	۲۱۱/۲	۱۰/۹	۱۱
فاقد پوشش	۷/۶	۶۰	۰/۲۲	۵/۸۱	۲۹۶/۴	۱۰/۹	۳/۴

جدول ۴. جمعیت ازتوباکتر کروکوکوم و ارتباط آن با برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک و محل نمونه‌برداری در منطقه مرتعی خواجه

نوع پوشش گیاهی	pH	EC (µs/cm)	ازت کل ٪	کربن آلی ٪	فراهمی سدیم (mg/Kg)	فراهمی پتاسیم (mg/Kg)	جمعیت باکتری (هزار در گرم خاک خشک)
تیره گندمیان	۷/۸	۶۶۰	۰/۲۳	۴/۸۳	۳۴۱/۳	۱۰/۹	۴۰
تیره گندمیان	۷/۵	۹۹۰	۰/۲۲	۴/۴۵	۳۹۹/۶	۲۹/۱	۳۰
تیره گندمیان	۷/۷	۳۸۰	۰/۱۷	۲/۹۹	۳۸۶/۱	۱۳/۲	۴۰
تیره گندمیان	۷/۶	۶۰۰	۰/۰۴	۲/۸۹	۱۵۷/۴	۸/۶	۴۰
تیره گندمیان	۸/۵	۲۰۰۰	۰/۰۳	۱/۴۵	۳۸۶/۱	۱۴۰/۳	۲۰
تیره نخود	۸/۱	۴۲۰	۰/۰۷	۱/۴۵	۳۹۰/۶	۲۲/۳	۲
فاقد پوشش	۸/۲	۱۰۷۰	۰/۰۵	۱/۹۴	۲۸۲/۹	۹۵/۰	۱/۵
فاقد پوشش	۸/۳	۹۵۰	۰/۰۵	۱/۹۴	۴۶۶/۸	۳۳/۶	۱/۳

جدول ۵. تجزیه آماری هم‌بستگی بین جمعیت ازتوباکتر کروکوکوم با پارامترهای خاک در دو منطقه مرتعی آذربایجان‌شرقی

	pH	EC	٪ ازت کل	٪ کربن آلی	پتاسیم	سدیم
منطقه میشوداغ	(−۰/۳۲۸) ns	(+۰/۴۲۲) ns	(+۰/۳۷۲) ns	(+۰/۸۶۵) **	(+۰/۱۹۷) ns	(+۰/۵۷۴) ns
منطقه خواجه	(−۰/۷۳۲) *	(−۰/۲۳۵) ns	(+۰/۵۸۷) ns	(+۰/۷۲۴) *	(−۰/۳۷۸) ns	(−۰/۴۱۳) ns

ns : غیر معنی‌دار

* : معنی‌دار در سطح ۵٪

** : معنی‌دار در سطح ۱٪

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

اثـر تلقیح گیاه گندم با ازتوباکترهای جدا شده از خاک روی رشد و تغذیه معدنی گیاه

وزن خشک اندام هوایی گیاهان در تیمار های (+A+N) ، +A و +N به‌طـور معـنی‌داری بـیشتر از شاهـد (-A-N) بود ولـی بین تیمارهـا تفـاوت معنـی‌داری وجـود نـداشت (جدول ۶). تعداد برگ‌ها تحت تأثیر تیمارهای سه گانه فوق افزایش یافت ولی اثر آنهـا از یکدیگـر مـتفاوت نـبود. تـیمارهای کـود ازتی، تلقیح با باکتـری و یـا توأم، باعث افزایش معنی‌داری در غلظت کلروفیل برگ‌ها شد. اثر تیمار ازتوباکتر بیش از تیمار نیترات آمونیوم بود، هـرچند بـا تیمار توأم تفاوت معنی داری نشان نداد (جدول ۶). هـر سه تیمار کود ازتی، تلقیح و کود توأم با تلقیح، وزن خشک ریشـه و طـول آن را نسـبت بـه شـاهد افزایش دادند. تأثیر این تـیمارها یکسـان نـبوده و اثـر تیمار توأم تلقیح وکود بیش از اثر هرکدام به تنهایی بود (جدول ۶).

غلظت پتاسیم ریشه در اثر تیمارهای سه گانه (+A+N)، +A و +N نسـبت بـه تیمار شاهد افزایش یافت (شکل ۱). تأثیر این سـه تـیمار یکسـان نبوده و در تیمار تلقیح بیش از تیمار نیترات آمونـیوم بـوده اسـت، هـر چـند با تیمار توأم تفاوت معنی‌داری نداشت. پارامترهای جذب و انتقال نیز تفاوت بین اثر تلقیح را با کـود نشـان داد. تأثیر تلقیح با ازتوباکتر روی جذب پتاسیم بیش از دو تیمار کود و توأم بود (شکل ۲).

غلظـت ازت در ریشه‌ها در اثر تیمار تلقیح با ازتوباکتر بیش از تیمار کود ازتی نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۳). تیمار +A بیشـترین تأثیـر معنـی‌دار را در افـزایش جذب ازت داشت. افـزایش انـتقال ازت نیـز بـه انـدام هوایـی تحت تأثیر تلقیح با ازتوباکتـر نسـبت بـه اثـرکود بیشـتر بـود، هر چند با تیمار توأم تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۴).

بحث

بالاتـرین جمعـیت ازتوباکتـر کـروکوکوم مـربوط بـه نمونه‌های برداشت شده از ریزوسفر گیاهان در مقایسه با نمونه‌های مربوط بـه مناطق فاقد پوشش بوده است. با توجه به شیمیوارگانوتروف بودن ازتوباکتـرها، بالابودن جمعیت در ریزوسفر گیاهان که منبع تولید و ترشح مواد آلی مختلف به خاک می‌باشند، قابل انتظار است (۲۷).

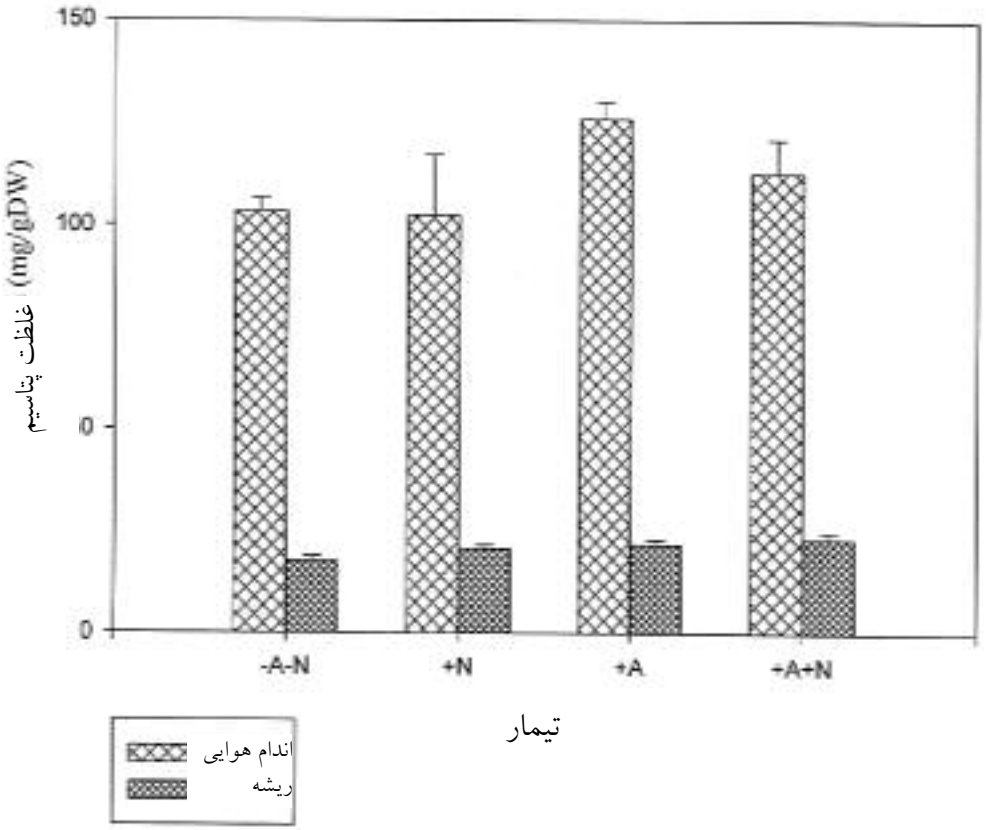
از سـوی دیگر، جمعیت در هر دو منطقه مرتعی میشوداغ و خـواجه بـا نـوع پوشـش گیاهی نیز هم‌بستگی مثبت معنی‌داری داشـت. بیشـترین جمعـیت در ریزوسـفر گـیاهان تیـره گندم و کمتـرین جمعیت در ریزوسفر گیاهان تیره نخود یافت شد. دلیل پایـین بودن قابل توجه جمعیت ازتوباکتر در ریزوسفر گونه‌های متعلق به تیره نخود و نیز تیره نعناع در مقایسه با تیره گندمیان را می‌توان به کم بودن ترشحات کربنی ریشه نسبت داد. نشان داده شده است که در گیاه سورگهوم بیکلر، تفاوت‌های بین رقمی در تثبـیت ازت در ریزوسفر، مربوط به تفاوت در شدت آزادسازی و ترشح ترکیبات کربن دار به ریزوسفر است (۲۶). علاوه بر کم بـودن ترشحات کربنی، مواد فنلی موجود در ترشحات ریشه نیز مـی‌تـواند عامـل تفـاوت در جمعیت باکتری‌ها در ریزوسفر این گیاهان باشد. مشاهده شده است که مواد فنلی دفع شده از ریشه گیاهان مانع تکثیر و افزایش جمعیت باکتری‌ها در محیط اطراف ریشـه مـی‌شوند (۲۵). ترشح ترکیبات فنلی از ریشه‌های گیاهان تیـره نخـود پدیـده‌ای شناخته شده می‌باشد (۱۲) که در افزایش جذب آهن نقش دارد (۲۷).

pH معـیار مهمی برای پیش بینی توانایی خاک برای حمایت از واکـنش‌هـای میکروبـی اسـت (۲۷). جمعـیت باکتـری در نمـونه‌هـای برداشـت شـده از مـنطقه خـواجه بـا pH نمـونه‌ها هـم‌بسـتگی منفی و معنی‌داری داشت در حالی‌که pH در منطقه میشـوداغ بـا جمعـیت باکتـری هم‌بستگی نشان نداد. با توجه به ایـن‌که تفاوت بینpH نمونه‌های خاک در منطقه میشوداغ جزیی بـوده و در محدوده ۷/۳ تا ۷/۸ بوده است (جدول ۳)، علی‌رغم کـاهش جمعـیت در پاسـخ بـه افزایش pH این کاهش معنی‌دار نـبوده است. بر عکس با توجه به این‌که pH خاک در نمونه‌های خـواجه بـین ۷/۵ تـا ۸/۵ بـوده است (جدول ۴)، نوسانات این عامـل، تأثیـر خـود را روی جمعـیت باکتـری این منطقه در حد معنی‌دار نشان داده است. مناسب‌ترین دامنه pH خاک برای رشد و تکثـیر ازتوباکترها معادل ۸– ۶/۵ گزارش شده و خارج از این

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

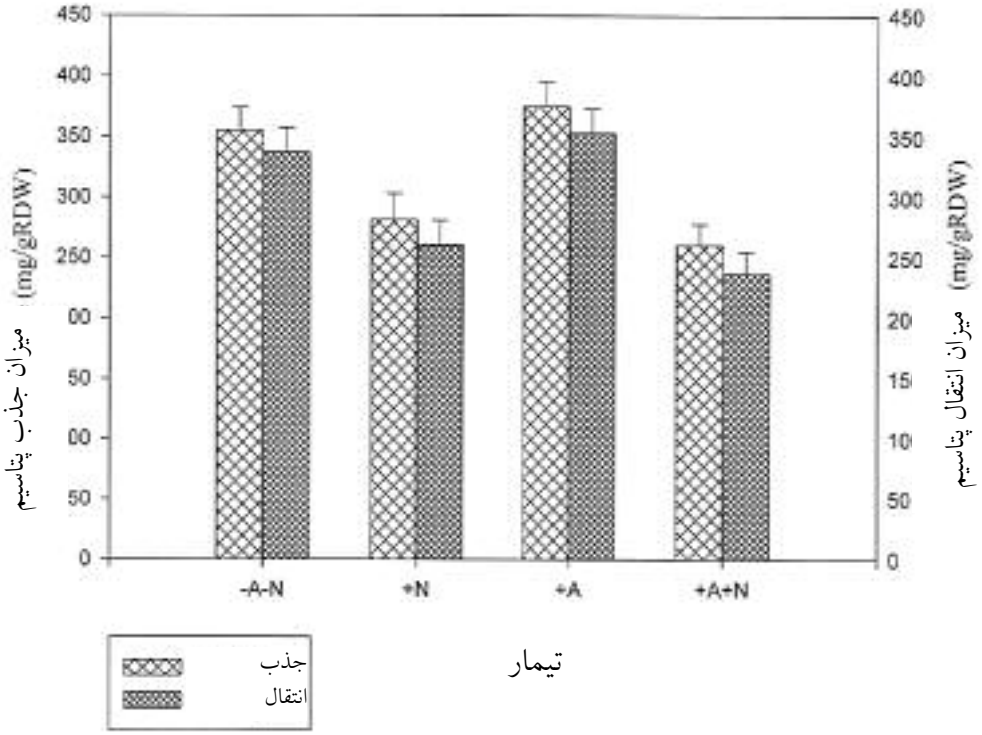
جدول ۶. اثر تیمارهای کود ازتی (+N) ، تلقیح با ازتوباکتر(+A) و تلقیح توام با کود ازتی (+A+N) درمقایسه با شاهد (-A-N) روی پارامترهای رشد و مقدار کلروفیل در گیاه گندم که به مدت ۵۶ روز در خاک و در شرایط گلخانه‌ای رشد کرده است. تفاوت بین تیمارها در صورت داشتن حداقل یک حرف مشترک معنی‌دار نبوده است (p< ۰/۰۵).

	اندام هوایی			ریشه	
	وزن خشک (میلی گرم /گیاه)	تعداد برگ (هرگیاه)	کلروفیل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	وزن خشک (میلی‌گرم /گیاه)	طول (سانتی‌متر/گیاه)
تیمار					
-A-N	۱۲۳/۵±۱۳/۳ b	۴/۲۵±۰/۳۱ b	۰/۳۹۹±۰/۰۴ c	۳۸/۰±۶/۶ c	۲۰۴/۱±۳۳/ ۴ c
+N	۱۵۶/۰±۶/۶ a	۵/۴۳±۰/۲۸ a	۰/۵۹۴±۰/۰۳ b	۶۳/۰±۶/۶ b	۳۵۴/۸±۲۳/۷ b
+A	۱۶۶/۳±۳/۳ a	۵/۴۳±۰/۲۸ a	۰/۶۸۶±۰/۰۴ a	۵۹/۳±۳/ ۳ b	۳۷۷/۴±۱۸/۲ b
+A+N	۱۶۹/۷±۱۳/۳ a	۵/۸۱±۰/۲۱ a	۰/۶۳۱±۰/۰۶ ab	۸۲/۳±۱۰/۰ a	۴۶۹/۳±۳۸/۰ a

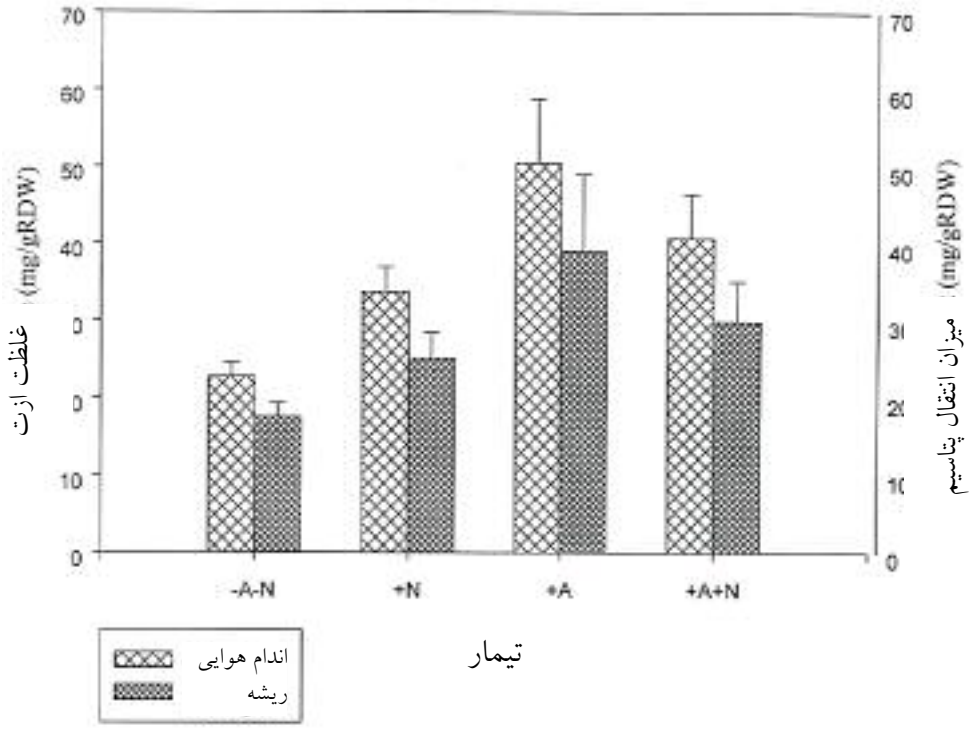


شکل ۱. اثر تیمارهای کود ازتی (+N) ، تلقیح با ازتوباکتر (+A) و تلقیح توام با کود ازتی (+A+N) درمقایسه با شاهد (-A-N) روی غلظت پتاسیم در اندام هوایی و ریشه گیاه گندم که به مدت ۵۶ روز در خاک و در شرایط گلخانه‌ای رشد کرده است.

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

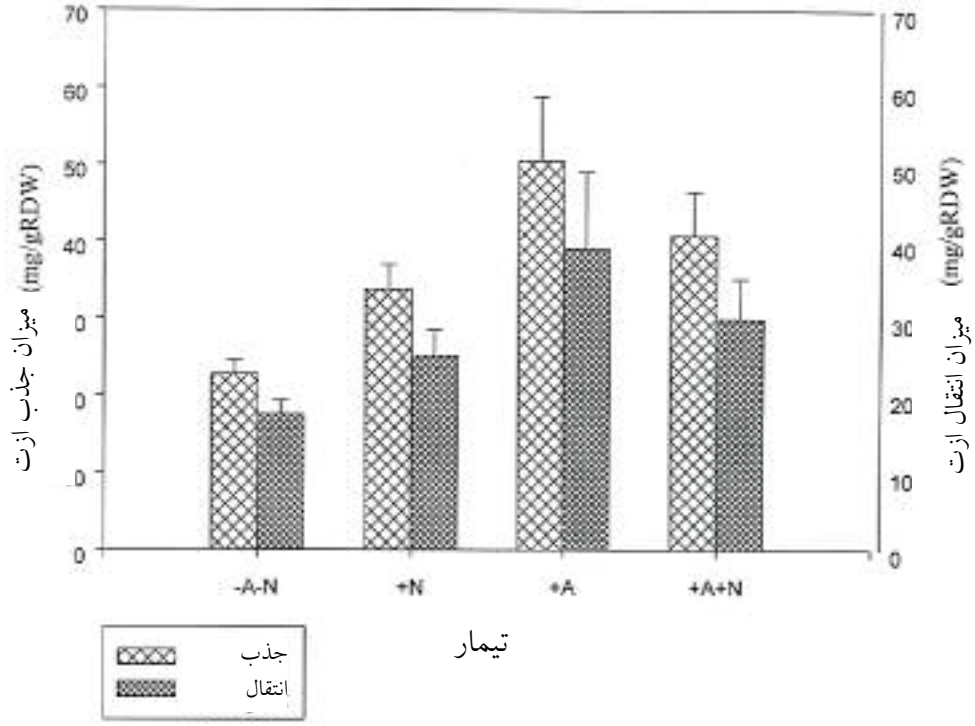


شکل ۲. اثر تیمار های کود ازتی (+N) ، تلقیح با ازتوباکتر (+A) و تلقیح توام با کود ازتی (+A+N) درمقایسه با شاهد (-A-N) روی جذب و انتقال پتاسیم به اندام هوایی گیاه گندم که به مدت ۵۶ روز در خاک و در شرایط گلخانه‌ای رشد کرده است.



شکل ۳. اثر تیمارهای کود ازتی (+N) ، تلقیح با ازتوباکتر (+A) و تلقیح توام با کود ازتی (+A+N) درمقایسه با شاهد (-A-N) روی غلظت ازت در اندام هوایی و ریشه گیاه گندم که به مدت ۵۶ روز در خاک و در شرایط گلخانه‌ای رشد کرده است.

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017



شکل ۴. اثر تیمارهای کود ازتی (N+)، تلقیح با ازتوباکتر (A+) و تلقیح توام با کود ازتی (A+N+) درمقایسه با شاهد (A-N-) روی جذب و انتقال ازت به اندام هوایی گیاه گندم که به مدت ۵۶ روز در خاک و در شرایط گلخانه‌ای رشد کرده است.

دامنه جمعیت باکتری‌ها کاهش می‌یابد (۱). برخی محققین علت تأثیر pH را به قابلیت جذب فسفر که به مقدار زیاد برای رشد و تثبیت ازت لازم است، نسبت داده‌اند (۳۴). از آنجایی‌که با افزایش pH، فسفر محلول خاک به دلیل تشکیل فسفات کلسیم کاهش می‌یابد، جمعیت باکتری نیز در خاک تحت تأثیر قرار می‌گیرد. ارتباطی بین EC خاک و جمعیت ازتوباکتر مشاهده نشد (جدول ۵). این موضوع را می‌توان مانند pH به نوسانات غیر قابل توجه EC خاک در هر دو منطقه نسبت داد.

جمعیت ازتوباکتر کروکوکوم در هر دو منطقه مرتعی میشوداغ و خواجه با مقدار کربن آلی خاک هم‌بستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. از سوی دیگر، میانگین جمعیت باکتری در هر گرم خاک خشک در منطقه میشوداغ (۳۹۴۴۰) بیش از منطقه خواجه (۲۲۷۷۵) بود. با توجه به این‌که مقدار متوسط کربن آلی خاک در منطقه میشوداغ (۶/۳۶) نیز بالاتر ازمنطقه خواجه (۷۶/ ۲) بوده است، می‌توان نتیجه گرفت که یکی از دلایل بالابودن جمعیت ازتوباکتر کروکوکوم در منطقه میشوداغ در صد بالای کربن آلی خاک در منطقه میشوداغ است.

رشد اندام هوایی از جمله وزن خشک و تعداد کل برگ در گیاه گندم در اثر تیمار های A+N+ ، A+ و N+ به‌طور معنی‌داری بیشتر از A–N– بوده است. افزایش عرضه ازت در هر سه تیمار دلیل چنین افزایشی در رشد اندام هوایی است. هم‌چنین هر سه تیمار نسبت به گیاهان شاهد طول ریشه و وزن خشک آن را افزایش دادند. تحریک رشد ریشه در گیاه ذرت (۳۲) و تغییر مورفولوژی ریشه در گیاه گندم (۲۸) و ذرت تلقیح شده با ازتوباکتر و آزوسپریلوم گزارش شده است (۴).

بیشتر بودن تأثیر تیمار توأم (A+N+) روی رشد ریشه در مقایسه با اثر هر یک از دوتیمار به تنهایی می‌تواند مربوط به محدود کننده بودن عنصر ازت در تیمارهای اخیر باشد. با توجه به این‌که کود ازتی به کار رفته در این بررسی برای تیمار N+ (۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) کمتر از نیاز واقعی گیاه بود، ازت در

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

همـه تـیمارها در مقایسه با تیمار توأم عنصر محدود کننده رشد بوده و رشد بیشتر ریشه گیاهان در تیمار توأم، به‌دلیل نقش منبع دوم ازت در تأمین نیاز ازتی است.

عـلاوه بـر رشد، غلظت کلروفیل نیز در تیمارهای N+ ، A+ تـا A+N+ نسـبت بـه گیاهان شاهد افزایش نشان داد. این نتیجه قابل انتظار بود زیرا از علائم شایع کمبود ازت پیری برگ‌هاست کـه بـا کلـروز آغـاز می‌شود و غلظت کلروفیل بستگی به مقدار ازت در بافـت دارد (۲۷). افزایش مقدار کلروفیل (جدول ۶) در ایـن بررسـی کـه بـه مـوازات افـزایش غلظـت ازت در برگ‌ها (شـکل ۳) بـوده اسـت را نیـز مـی‌توان به تأمین بهتر این عنصر نسبت داد.

غلظـت پتاسـیم انـدام هوایـی در تـیمارهای A+ و A+N+ نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد، در حالی‌که در گیاهان تیمار شده با کود، غلظت پتاسیم مانند شاهد بوده است. از سوی دیگـرکود ازتـی و تـیمار تـوأم نـه تنها جذب پتاسیم را افزایش ندادند بلکه نسبت به شاهد جذب پتاسیم در این تیمارها کاهش یافت. از سوی دیگر، علی‌رغم داشتن بیشترین غلظت پتاسیم در انـدام هوایـی، در گـیاهان تلقـیح شـده‌ای که کود ازت دریافت نکـرده بـودند، جـذب پتاسـیم تنها اندکی بیش از گیاهان شاهد بوده است. این موضوع مربوط به افزایش وزن خشک ریشه بود کـه در محاسـبه پارامتـر جـذب بـه‌کـار می‌رود. افزایش غلظت پتاسـیم بـه‌دلـیل گسـترش قابـل تـوجه سیسـتم ریشـه‌ای است (جـدول ۶).گسـترش سیسـتم ریشـه‌ای در گیاهانی که در خاک رشـد کـرده‌انـد باعـث افـزایش سطح جذبی و بنابراین افزایش جـذب عناصـر می‌شود. گزارش شده است که ترشح پروتون از ریشـه‌هـای گـندم تلقیح شده با باکتری‌های دیازوتروف افزایش مـی‌یابـد (۳)، ایـن پـروتون‌هـا نقش مهمی در افزایش حلالیت عناصـر در خـاک داشته و می‌توانند عامل ثانوی تحریک جذب عناصر از جمله پتاسیم در بررسی حاضر قلمداد شوند. در مورد عنصـر پتاسـیم خصوصـا بـه‌دلـیل اهمیت تشکیل منطقه تخلیه، ارتـباط مسـتقیمی بین میزان جذب پتاسیم و چگالی ریشه‌ها در خـاک (طـول ریشـه در واحـد حجـم خاک) وجود دارد (۱۵).

افـزایش مقـدار پتاسـیم ریشه با تیمار ازتوباکتر در گیاه ارزن نیز گزارش شده است (۴۷).

انـتقال پتاسیم به اندام هوایی در تیمار A+ به‌طور معنی‌داری بیشـتر از تیمار A+N+ و N+ بود (شکل ۲). انتقال کمتر پتاسیم از ریشه به اندام هوایی در گیاهانی که نیاز ازتی آنها با کود ازتی و یـا با تیمار توأم تأمین شده است، نسبت به گیاهان تلقیح شده بـا ازتوباکتـر، احـتمالاً بـه دلیل رقابت یون‌های NH_4^+ با K^+ در مـرحله جـذب و انـتقال (بارگیـری چـوب) بـوده اسـت. اثـر آنتاگونیسـتی NH_4^+ روی جـذب کاتـیون به وسیله ریشه (۶) و بارگیری چوب گزارش شده است (۴۴).

در تثبـیت هم‌زیستی ازت، افزایش اسیدهای آمینه خاصی از جمله گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید در شیره چوب گزارش شـده اسـت (۲)، می‌توان فرض نمود که درگیاهان تلقیح شده با باکتـری‌هـای دیازوتـروف نیز مقدار این اسیدهای آمینه افزایش مـی‌یابـد، بـه‌دنـبال ایـن افـزایش، انتقال این اسیدها نیز به اندام هوایـی بیشـتر مـی‌شود که همراه خود یون‌هایی مانند پتاسیم را حمـل مـی‌نمایـند. اساسـاگروه‌هـای کربوکسـیلی مـی‌توانـند بـا کاتـیون‌های فلزی تشکیل کمپلکس داده و علاوه بر انحلال آنها در خـاک و افـزایش جـذب، باعـث افـزایش انتقال آنها به اندام هوایـی نیـز شوند (۲۷). افزایش انتقال پتاسیم (۴)، روی (۱۹) و آهن (۴۵) توسط اسیدهای آلی که از ریشه به اندام هوایی منتقل مـی‌شـوند، گزارش شده است. نقش مثبت اسیدهای آلی و آمینه در نقـل و انـتقال یـون‌های غیر غذایی مانند نیکل و کادمیوم نیز به اندام هوایی گزارش شده است (۱۰).

غلظـت ازت ریشـه و انـدام هوایی در تیمار با N+ ، A+ تا A+N+ بـه‌طـور معنـی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. بیشترین مقـدار جـذب ازت مربوط به گیاهان تلقیح شده بود که بیش از دو برابـر نسـبت بـه گـیاهان شـاهد بوده است (شکل ۴). بالاتر بودن مقدار جذب ازت در گیاهان تلقیح شده در مقایسه با تیمار تـوأم، مربوط به اثر بازدارندگی کود ازت روی تثبیت ازت است (۱۱). مشـابه یـون پتاسـیم، ازتوباکتـر در هـر دو تـیمار A+ و A+N+ در انـتقال ازت بـه انـدام هوایـی نیـز بیشـترین تأثیر را

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

داشت. احتمالاً ترکیبات ازتی که به‌دنبال آثار متقابل بین ریشه و ازتوباکتر ساخته می‌شوند، نسبت به شکل عادی انتقالی ازت (در گیاهان تلقیح نشده) با سرعت و کارآیی بیشتری (مثلاً در مرحله بارگیری چوب) به اندام هوایی انتقال می‌یابند. اساساً ازت حاصل از تثبیت زیستی می‌تواند به اشکال مختلف به اندام هوایی انتقال یابد و یکی از روش‌هایی که به نفع اقتصاد کربن گیاه می‌باشد، استفاده از ترکیبات غنی از ازت با نسبت N/C بیش از ۰/۴ است. در گرامینه‌ها این ترکیبات شامل گلوتامین و آسپاراژین می‌باشد (۲۷).

در صورتی‌که اثر تلقیح با ازتوباکترها روی انتقال عناصر عمومیت داشته باشد، می‌توان انتظار داشت که این تلقیح عامل افزایش انتقال عناصر کم مصرف از ریشه به اندام هوایی نیز باشد. بدین ترتیب می‌توان ازتوباکترها را نه تنها به‌عنوان تأمین‌کننده ازت بلکه عناصر پرمصرف دیگر مانند پتاسیم و عناصر کم مصرف برای اندام هوایی قلمداد نمود. برای اثبات فرض اخیر نیاز به مطالعات بیشتری وجود دارد.

بسیاری از باکتری‌های دیازوتروف هورمون‌های گیاهی مانند اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها را تولید و ترشح می‌نمایند (۸، ۲۸، ۲۹). امروزه افزایش رشد گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های دیازوتروف را خصوصاً در مناطق معتدله (۲۸) علاوه بر تأمین ازت، عمدتاً به آثار هورمونی نسبت می‌دهند (۲۳). افزایش در عملکرد دانه به‌دنبال تلقیح برگی گیاه گندم با آزوسپریلوم مستقل از کود ازتی به‌کار رفته (۳۵) دلیل قاطعی بر این ادعاست. افزایش رشد ریشه در گیاهان تلقیح شده نیز عمدتاً به آثار هورمونی نسبت داده می‌شود (۲۸). در این بررسی نیز افزایش مقدار کلروفیل و انتقال بیشتر K^+ به اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با ازتوباکتر را به اثر احتمالی هورمونی مانند سیتوکینین نیز می‌توان نسبت داد که ضمن تحریک رشد ریشه، پس از انتقال به اندام هوایی عامل افزایش کلروفیل و نیز هدایت یون‌های ضروری به اندام هوایی می‌شود. نقش سیتوکینین در انتقال مواد غذایی به اندام هوایی و مراکز رشد موضوعی شناخته شده است (۴۲). بین سیتوکینین‌ها و تغذیه ازتی و پتاسیم در گیاه ارتباط تنگاتنگی وجود دارد، به‌طوری که کمبود ازت و پتاسیم در گیاه عامل کاهش سیتوکینین ریشه و کاهش صادرات آن به اندام هوایی است (۳۶).

منابع مورد استفاده

1. Alef, K. 1995. Enrichment, isolation and counting of soil microorganisms. PP. 124-191. *In*: K. Alef and P. Nannipieri (Eds.), Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press.
2. Atkins, C. A. 1987. Metabolism and translocation of fixed nitrogen in the nodulated legume. Plant Soil. 100: 157-169.
3. Bashan, Y. 1990. Short exposure to *Azospirillum brasilense* inoculation enhanced proton efflux of intact wheat roots. Can. J. Microbiol. 36: 419-425.
4. Bialczyk, J. and Z. Lechowski. 1995. Chemical composition of xylem sap of tomato grown on bicarbonate containing medium. J. Plant Nutr. 18: 2005-2021.
5. Biswas, T. D. and S. K. Mukherjef. 1992. Text Book of Soil Science. P. 191. Tata McGraw Hill Publishing Co. Limited, New Dehli.
6. Blair, G. J., M. H. Miller. 1970. Nitrate and ammonium as sources of nitrogen for corn and their influence on the intake of other ions. Agron. J. 62: 530-532.
7. Boddey, R. M., S. Urquiaga, V. Reis and J. Doebereiner. 1991. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane. Plant Soil. 137: 111-117.
8. Cacciari, I., D. Lippi, T. Pietrosanti and W. Pietrosanti. 1989. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Enterobacter*. Plant Soil. 115: 151-153.
9. Cappuccino, J. G. and N. Sherman. 1987. Microbiology: A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc.
10. Cataldo, D. A., K. M. Mc Fadden, T. M. Garland and R. E. Wildung. 1988. Organic constituents and complexation of Nickel (II), Iron (III), Cadmium(II) and Plutonium (IV) in soybean xylem exudates. Plant Physiol. 86: 734-739.
11. Cohen, E., Y. Okon, J. Kigel, I. Nur and Y. Henis. 1980. Increase in dry weight and total nitrogen content in *Zea mays* and *Setaria italica* associated with nitrogen fixing *Azospirillum* spp. Plant Physiol. 66: 746-749.

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017

12. D'Arcy-Lameta, A. 1982. Etude des exudats racinaires de soja et de lentille. I. Cinetique d'exsudation composes phenoliques, des amino acides et des sucres, au cours de premiers jours de la vie des plantules. Plant Soil 68: 399-403.
13. Dart, P. J. and J. M. Day. 1975. Nitrogen fixation in the field other than by nodules. *In*: N. Walker (Ed.), Soil Microbiology. Butter Worth Sci. Publication, London.
14. Dobereiner, J. 1974. Nitrogen fixing bacteria in the rhizosphere. *In*: A. Quispel (Ed.), The Biology of Nitrogen Fixation. North Holland Publishing Co. Amsterdam.
15. Fussender A. and M. Kraus. 1986. Individuelle Wurzelkonkurrenz und Ausnutzung der immobilen Makronaehstoffe im Wurzelraum von Maiz. Flora 178: 11-18.
16. Gonzalez-lopes, J., V. Salmeron and J. Moreno. 1983. Amino acid and vitamins produced by *Azotobacter vinelandii* in chemically – defined media and dialysed soil media. Soil Biol. Biochem. 6: 711-713.
17. Gonzalez-lopes, J., M. V. Martinez-Toledo, S. Reina and V. Salmeron. 1991. Root exudates of maize and production of auxins, gibberellins, cytokinins, amino acids and vitamins by *Azotobacter chroococcum* in chemically-defined media and dialised-soil media. Technol. and Environ. Chem. 33: 69-78.
18. Graham, M. Y. and T. L. Graham. 1991. Rapid accumulation of anionic peroxidase and phenolic polymers in soybean cotyledon tissues following treatment with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* wall glucan. Plant Physiol. 97: 1445-1455.
19. Hajiboland, R. 2000. Zinc Efficiency in Rice (*Oryza sativa* L.) Plants. Ph.D. Thesis. University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
20. Haller, Th. and H. Stolp. 1985. Quantitative estimation of root exudation of maize plants. Plant Soil. 86: 207-216.
21. Idris, M., F. P. Vinther and V. Jensen. 1981. Biological nitrogen fixation associated with roots of field-grown barley (*Hordeum vulgare* L.). Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 144: 385-394.
22. Jagnow, G. 1987. Inoculation of cereal crops and forage grasses with nitrogen-fixing rhizosphere bacteria: possible causes of success and failure with regard to yield response – a review. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 150: 361-368.
23. Jagnow, G., G. Hoeflich and K. H. Hoffmann. 1991. Inoculation of non-symbiotic rhizosphere bacteria: possibilities of increasing and stabilizing yields. Angew. Botanik. 65: 97-126.
24. Kanungo, P. K., B. Ramakrishan and V. Rajaramamohan Rao. 1997. Placement effect of organic sources on nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria in flooded rice soils. Biol. Fertil. Soil. 25: 103-108
25. Kiraly, Z. 1964. Effect of nitrogen fertilization on phenol metabolism and stem rust susceptibility of wheat. Phytopathol. Z. 51: 252-261.
26. Krotzky, A., R. Berggold and D. Werner. 1986. Analysis of factors limiting associative N_2-fixation (C_2H_2 reduction) with two cultivars of *Sorghum nutans*. Soil Biol. Biochem. 18: 201-207.
27. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed., Academic Press, London, U.K.
28. Martin, P. A. Glatzle, W. Kolb, H. Omay and W. Schmidt. 1989. N_2-fixing bacteria in the rhizosphere: Quantification and hormonal effects on root development. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 152: 237-245.
29. Martinz-Toledo, M.W., J. Moreno and J. Gonzalez-Lopez. 1988. Root exudates of *Zea mays* and production of auxins, gibberellins and cytokinins by *A. chroococcum*. Plant Soil. 110: 149-152.
30. Martinz-Toledo, M. V., J. Gonzalez-Lopez, T. De La Rubia and J. Moreno. 1988. Effect of inoculation with *A. chroococcum* on nitrogenase activity of *Zea mays* roots grown in agricultural soil under aseptic and non-sterile conditions. Biol. Fertil. Soil 6: 170-173.
31. Martinz-Toledo, M. V., B. Rofelas, V. Salmeron, C. Pozo and J. Gonzalez-Lopez. 1996. Production of pantothenic acid and thiamine by *Azotobacter vinelandii* in a chemically defined medium and a dialyzed soil medium. Biol. Fertil. Soil 22: 131-135.
32. Nieto, K. F. and W.T. Frankenberger. 1991. Influence of adenine, isopentyl alcohol and *Azotobacter chroococcum* on the vegetative growth of *Zea mays*. Plant Soil 135: 213-221.
33. Page, A.L. 1982. Methods of Soil Analaysis. Part 2, Chemical Microbiology Properties. 2nd ed., Agronomy Number 9 Published, Soil of American. ASA, Soil Sci. Soc. America Pub., U.S.A.
34. Rosin, M. B. 1981. Microbe survivle in the soil assayed by the thread method. Mikro. Biologiya 33: 1074-1077.
35. Rynders, L. and K. Vlassak. 1982. Use of *Azospirillum brasilense* as biofertilizer in intensive wheat cropping. Plant Soil 66: 217-223.
36. Sattelmacher, B. and H. Marschner. 1978. Nitrogen nutrition and cytokinin activity in *Solanum tuberosum*. Physiol. Plant. 44: 65-68.
37. Schoenwitz, R. and H. Ziegler. 1986. Influence of rhizosphere bacteria on morphological characteristics of maize seedlings (*Zea mays* L.). Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 149: 614-622.
38. Schoenwitz, R. and H. Ziegler. 1986. Quantitative and qualitative aspects of a developing rhizosphere microflora and hydroponically grown maize seedlings. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk 149: 623-634.

39. Schoenwitz, R. and H. Ziegler. 1989. Interaction of maize roots and rhizosphere microorganisms. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk 152: 217-222.
40. Subba Rao, N. S. 1981. Biofertilizer in Agriculture. 2nd ed., oxford & IBH Publishing Co., New Dehli.
41. Subba Rao, N. S. 1989. Soil Microorganisms and Plant Growth. Oxford & IBH Publishing Co, New Delhi.
42. Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. Plant Physiology. 2nd ed., Sinaur Publisher, U.S.A.
43. Tennant, D. 1975. A test of modified line intersect method of estimating root length. J. Ecol. 63: 995-1001.
44. Theodore, K. R. and T. Norman. 1995. Carbon, nitrogen and nutrient interaction in *Beta vulgaris* as influenced by nitrogen source. Plant Physiol. 107: 575-584.
45. Tiffin, L. O. 1966. Iron translocation II. Citrate/iron ratios in plant stem exudates. Plant Physiol. 41: 515-518.
46. Weather-Brun, M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Anal. Chem. 39: 971-974.
47. Yahlom, E., Y. Kapulnik and Y. Okon. 1984. Response of *Setaria italica* to inoculation with *Azospirillum brasilense* as compared to *A. chroococcum*. Plant Soil 82: 77-85.

Downloaded from jcpp.iut.ac.ir at 4:12 IRST on Tuesday November 21st 2017