

## نقش همیاری باکتری آزوسپیریلوم در تثبیت بیولوژیکی ازت، عملکردانه و اجزاء عملکرد آندم

محمد رضا اردکانی، داریوش مظاہری، فرامرز مجید و قربان نور محمدی

به ترتیب دانشگاه آزاد اسلامی کرج - دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران - دانشکده کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و پژوهشی هسته‌ای کرج، دانشگاه آزاد اسلامی - علوم و تحقیقات تهران

### مقدمه

در حال حاضر استفاده از باکتری‌های *Azospirillum* sp. که قابلیت همیاری با ریشه بسیاری از گیاهان خانواده غلات را دارند، رایج گشته و نقش آنها در انجام فرآیند تثبیت بیولوژیک ازت در این گیاهان به اثبات رسیده است. کودهای شیمیایی ازته نقش اساسی در تولید غذا طی قرن اخیر داشته‌اند و در حال حاضر یکی از مهمترین نهادهای کشاورزی می‌باشند. اما به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی در راستای رسیدن به اهداف کشاورزی پایدار استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید مورد توجه قرار گرفته است. باکتری آزوسپیریلوم به دلیل توان تثبیت ازت مولکولی به صورت همیاری با گیاهان زراعی مانند انواع غلات و همچنین تولید هورمون‌های محرك رشد گیاه به عنوان یک کود بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته است (۱ و ۲). از بین پنج گونه مختلف آزوسپیریلوم، دو گونه *brasiliense* و *lipoferum* نسبت به سایرین پراکنش بیشتر داشته و قابل ذکر است که گونه *brasiliense* با غلات سه کربنی (C3) و گونه *lipoferum* عمدتاً با غلات چهار کربنی (C4) همیاری برقرار می‌نمایند (۴). تلقیح گیاهان با آزوسپیریلوم علاوه بر کاهش مصرف کود ازته، حدود ۳۵ درصد سبب بهبود رشد گیاه و افزایش مقدار محصول آن گردد (۵ و ۶). در گیاهان تلقیح شده با آزوسپیریلوم معمولاً تعداد و طول ریشه‌های فرعی و تارهای کشنده افزایش می‌یابد، ارتفاع گیاه بیشتر شده و همچنین افزایش میزان جذب عناصر غذایی مشاهده شده است (۴ و ۵ و ۶ و ۷). لذا با توجه به منابع موجود، در این تحقیق سعی شد که اثر این باکتری را بر روی گیاه گندم از جنبه‌های مختلف بررسی نمائیم تا شاید بتوان با استفاده از این میکروارگانیسم گامی مؤثر در جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی ازته برداشت.

### مواد و روشها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۷۷-۷۸ در منطقه زعفرانیه واقع در جنوب شهرستان کرج و ارتفاع ۱۳۰۰ متر از سطح دریا و زمینی با بافت لومنی رسی و  $pH = 8$  به اجرا درآمد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل باکتری آزوسپیریلوم (*Azospirillum brasiliense*) در دو سطح با مصرف و بدون مصرف (مشخصات آزوسپیریلوم: تهیه شده توسط Favilli در دانشگاه FIRENZE ایتالیا، جمعیت:  $10^4$  cfu/g، ماده حامل پیت، مقدار مصرف: ۶۰ گرم در هکتار، زمان مصرف: تلقیح بذور هنگام کاشت) و فاکتور کود دامی نیز در دو سطح شامل عدم کاربرد کود دامی و کاربرد کود دامی بر مبنای ۳۰ تن در هکتار (دادگانه برای هر یک از کرت‌های آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت (کود گاوی کاملاً پوسیده)). با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایشات مقدماتی سال قبل کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر نیز هر یک به ترتیب بر مبنای ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و ۹۰ کیلوگرم فسفر خالص در هکتار برای کل مزرعه مصرف گردید. کود دامی نیز طبق نقشه آزمایش فقط در کرت‌های مورد نظر توزیع گردید و با خاک مخلوط شد. بذر گندم رقم مهدوی بر مبنای ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار به طور یکسان برای کلیه تیمارها توزیع و پس از آغازته نمودن با باکتری آزوسپیریلوم در سطح هر کرت پخش شدند. سپس با استفاده از فاراونر عملیات احداث جوی و یشته انجام گرفت. برای هر کرت آزمایشی چهار پیشته به طول ۷ متر و به فاصله ۵۰ سانتیمتر از یکدیگر ایجاد شد. به منظور جلوگیری از اختلاط آب تیمارها در تکرارهای مختلف، بین تکرارها جوی آب احداث شد. فاصله تکرارها از یکدیگر ۴ متر و فاصله تیمارها در هر تکرار  $1/5$  متر در نظر گرفته شد تا

از انتقال و جابجایی میکرووارگانیسم‌ها جلوگیری به عمل آید. به منظور بررسی وضعیت تثبیت بیولوژیک ازت در ریشه‌های گندم از روش احیاء استیلین استفاده شد. به این منظور در مرحله ظهر سنبله‌ها (۱۰) از هر تیمار ۵ بوته با کمترین صدمه به ریشه با خاک اطراف آن خارج گردید و پس از شستشو ریشه‌ها در داخل شیشه‌های ارنل ۳۰۰ میلی‌لیتر قرار داده شدند و گاز استیلین به آنها تزریق شد و بعد از ۷۲ ساعت میزان اتیلن تولید شده در آنها با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) مدل (Perkin-Elemer Sigma 300) سی فوار گرفت. در انتهای نیز برای تعیین عملکرد دانه و بعد از حذف حاشیه‌های کرت، از دو خط میانی هر یک به طول ۴ متر برداشت صورت گرفت. به منظور بررسی اجزاء عملکرد نیز پیش از برداشت نهایی تراکم سنبله در واحد سطح تعیین گردید و تعداد ۲۰ ساقه بارور به طور تصادفی انتخاب گردیدند که از آنها جهت بررسی اجزاء عملکرد استفاده شد. برای تعیین وزن هزار دانه، ۵ نمونه ۱۰۰ تایی از هر کرت به طور تصادفی انتخاب و پس از خشک نمودن درون آون با دمای ۷۵ درجه سانتیگراد و به مدت ۲۴ ساعت، وزن هزار دانه محاسبه گردید.

### نتایج و بحث

نتایج نشان دادند که میزان احیاء استیلین در تیمارهایی که آزوسپیریلوم به کار برده شده بودند ۲/۴۹ میکرومول در ساعت در هر گیاه بوده است که در مقایسه با تیمارهایی که آزوسپیریلوم به کار برده نشده بود (صفرا) مقدار قابل توجهی را نشان داد. همچنین کاربرد کود دامی در مقایسه با عدم کاربرد آن در سطح ۱٪ معنی‌دار بود و توانست میزان احیاء استیلین در گیاه را حدود ۸/۷ درصد افزایش دهد. تأثیر آزوسپیریلوم بر روی تعداد سنبله در واحد سطح و تعداد دانه در سنبله در سطح ۱٪، بر روی عملکرد دانه در سطح ۵٪ و بر روی وزن هزار دانه و شاخص برداشت اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد. کاربرد آزوسپیریلوم نسبت به عدم کاربرد آن، تعداد سنبله در واحد سطح را افزایش داد که این امر نشان دهنده تعداد پنجه‌های تولید شده توسط گیاه می‌باشد. مرتضوهس (۱۹۸۴) نیز طی تحقیقات خود، افزایش عملکرد گندم تلقیح شده با آزوسپیریلوم را مربوط به افزایش تعداد پنجه در گیاه دانسته‌اند (۹). همچنین افزایش تعداد دانه در سنبله در اثر کاربرد آزوسپیریلوم می‌تواند ناشی از اثر آن بر روی طول سنبله باشد که تا حدودی توانسته مقدار آن را افزایش دهد. کاربرد آزوسپیریلوم توانست عملکرد دانه را به میزان ۴/۵ درصد افزایش دهد که در سطح وسیع یک نتیجه نسبتاً مطلوب است. افزایش عملکرد گندم در اثر تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم توسط محققین مختلفی گزارش شده است. پریرا و همکاران افزایش عملکرد در گیاهان تلقیح شده با آزوسپیریلوم را عمدتاً مربوط به تولید مواد محركه رشد توسط آزوسپیریلوم دانسته‌اند که البته حضور آنها در رابطه با جذب مواد غذایی و آب نیز بسیار مؤثر است (۱۱). کاربرد کود دامی نیز توانست بر روی تعداد سنبله در واحد سطح، تعداد دانه، وزن هزار دانه و عملکرد دانه در سطح ۱٪ تأثیر بسیار خوب و معنی‌داری بگذارد ولی بر روی شاخص برداشت اثر کاربرد آن در مقایسه با عدم کاربرد کود دامی، معنی‌دار نبود.

### منابع مورد استفاده

- ۱- رosta, M.J. ۱۳۷۵. بررسی فراوانی و فعالیت آزوسپیریلوم در برخی خاک‌های ایران، پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- ۲- صالح راستین، ن. ۱۳۷۷. کودهای بیولوژیک. مجله خاک و آب. جلد ۱۲ شماره ۲ ص ۱-۲۶.
- 3- Bashan, Y., and J.h. Dubrovsky. 1996. *Azospirillum* spp. Participation in dry matter partitioning in grasses at the hole plant level. Biol.Fertil. Soils.23:435-440.
- 4- Bhattacharai,T.,and D.Hess.1993.Yield responses of Nepales spring wheat cultivars to inoculation with *Azospirillum* spp. of Nepales origin. Plant and Soil.151:67-70
- 5- Boddey, R.M., and J.Dobereiner.1988.Nitrogen fixation associated with grasses and cereals. Recent results and perspective of future research. Plant and Soil.108: 53-65.
- 6- Chalk, P.M. 1991. The contribution of associative and symbiotic nitrogen fixation to the nitrogen nutrition of non-legumes. Plant and Soil.132:29-39
- 7- Jain, D.K., and D.G. Patriquin. 1985. Characterization of substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. Can.J.Microbiol. 31:206-210.

- 8- Kapulnik, Y., S. Sarig, I. Nur and Y. Okon. 1983. Effect of *Azospirillum* inoculation on yield of field grown wheat. Can. J. Microbiol. 20:895-899.
- 9- Mertnese, T., and D. Hess. 1984. Yield increase in spring wheat inoculated with *Azospirillum* under greenhouse and field conditions of a temperate region. Plant and Soil. 82:87-99.
- 10- Pederson, W.L., K. Chakrabarty, G.V. Klacase and A.K. Vidaver. 1978. Nitrogen fixation (acetylen reduction) associated with roots of winter wheat and sorghum in Nebraska. Appl. Environ. Microbiol. 35:129-135.
- 11- Pereira, J.A.R., V.A. Cavalcante, J.I. Baldani and J. Dobereiner. 1988. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum spp.* and *Herbaspirillum seropedicae*. Plant and Soil. 110:269-274.
- 12- Sarig, S., Y. Kapulnik and Y. Okon. 1984. Response of *Setaria italica* to inoculation with *Azospirillum* inoculation on nitrogen fixation and growth of winter legumes. Plant and Soil. 90:335-342.
- 13- Yahalom, E., Y. Kapulnik and Y. Okon. 1984. Response of *Setaria italica* to inoculation with *Azospirillum brasiliense* to *Azotobacter chroococcum*. Plant and Soil. 82:77-85.