شانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

دانشگاه زنجان، ۵ تا ۷ شهریور ۱۳۹۸

محور مقاله: بیولوژی خاک و کودهای زیستی

بررسی پتانسیل کاربرد باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیتی محرک رشد گیاه گندم به عنوان یک بسته کود کمپلکس (زیستی-شیمیایی)

سمیه امامی[۱] حسینعلی علیخانی[۲]، احمد علی پوربابایی[۳]، حسن اعتصامی[۴]، فریدون سرمدیان[۲]، بابک متشرع‌زاده[۳]

[۱] دانشجوی دکتری بیولوژی و بیوتکنولوژی گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

[۲] استاد گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

[۳] دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

[۴] استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

چکیده

در این تحقیق، باکتری‌ها از ریزوسفر (۲۵۰ جدایه) و از ریشه‌های (۱۵۰ جدایه) گیاه گندم جداسازی شدند. تولید سیدروفور، هیدروژن سیانید، ایندول استیک اسید، انحلال فسفات آلی و معدنی و توانایی کلونیزاسیون ریشه‌های گیاه گندم توسط ۴۰۰ جدایه بدست آمده ارزیابی و با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج حاصل از آزمون تولید IAA نشان داد که ۸۸ درصد باکتری‌های ریزوسفری و ۷۲ درصد باکتری‌های اندوفیت دارای توان تولید IAA هستند؛ همچنین ۳۸ و ۲۴ درصد باکتری‌های ریزوسفری گندم و ۳۴/۶۶ و ۲۸ درصد باکتری‌های اندوفیت ریشه قادر به حل کردن به ترتیب فسفر نامحلول آلی و معدنی بودند. نتایج حاصل از اثر تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد زادمایه سویه‌های برتر (R185+E240) و کود فسفر (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد نیاز کودی)، در شرایط مزرعه‌ای طی سال‌های زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ و ۱۳۹۷- ۱۳۹۶، نشان داد که افزایش فسفر در بافت‌های گیاه گندم (برگ، ساقه و دانه) در نتیجه مایه‌کوبی بذور گندم با سویه‌های محرک رشد گیاه بعلاوه ۷۵ درصد از کود فسفر از نظر آماری برابر با تیمار ۱۰۰ درصد کود فسفر و بدون زادمایه باکتری بود. نتایج این پژوهش در مجموع اثبات نمود که زادمایه باکتری بومی محرک رشد گیاه می‌تواند به عنوان مکمل با کودهای شیمیایی به منظور کاهش سطح مصرف کودهای شیمیایی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: ارتباط متقابل گیاه-باکتری، باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیت، فسفر، گندم.

مقدمه

تأمین غذای کافی با قیمت مناسب برای افراد یک جامعه، از مهم‌ترین ارکان اصلی توسعه پایدار هر کشور می‌باشد. در عصر حاضر با توجه به محدودیت منابع و افزایش روزافزون جمعیت و در نتیجه افزایش تقاضا برای محصولات غذایی، شرایط ایجاب می‌کند که از منابع محدود به نحو بهینه استفاده شود. غلات منبع اصلی غذایی برای تغذیه بشر در جهان می‌باشد. در میان غلات نیز گندم مهم‌ترین منبع غذایی برای مصرف انسانی است (Curtis et al., 2002). در ایران نیز گندم به لحاظ راهبردی، مهم‌ترین محصول زراعی کشور محسوب می‌شود؛ همچنین نان حاصل از آن مهم‌ترین منبع غذایی است به طوری که قسمت عمده کالری و پروتئین مورد نیاز مردم از این طریق به دست می‌آید. سطح زیر کشت گندم آبی و دیم کشور در سال زراعی ۱۳۹۵-۱۳۹۴ به ترتیب ۲۱۲۷۹۹۰ و ۳۸۰۰۷۳۸ هکتار (در مجموع ۵۹۲۸۷۲۸ هکتار از ۱۱۷۶۶۴۸۷ هکتار از اراضی زیر کشت به کشت گندم اختصاص داشت) و متوسط عملکرد آن در شرایط آبی و دیم به ترتیب ۴۱۵۶ و ۱۵۱۳ کیلوگرم در هکتار بوده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۶). با توجه به آمار ذکر شده میانگین عملکرد گندم در ایران کمتر از متوسط جهانی تولید گندم است. این در حالی است که متخصصین به صورت تئوری پتانسیل عملکرد دانه گندم را ۲۰ تن در هکتار تخمین می‌زنند.

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در تولید و عملکرد بالا برای تولید محصول گندم، مصرف کودهای فسفر است. بدون افزودن کود فسفر عملکرد ارقام موجود شدیداً محدود می‌شود. برآورد شده که در دو سوم خاک‌های کشت شده جهان، قابلیت دسترسی فسفر توسط ریشه گیاهان با مشکل مواجه است (Syers et al., 2008). برای بهبود تغذیه فسفر گیاه روش مرسوم، کاربرد مقدار زیاد کود فسفر در خاک است. با این حال راندمان کاربرد کود فسفر ۱۰ تا ۳۰ درصد است و باقیمانده فسفر در خاک تثبیت می‌شود (Hart et al., 2004). افزون بر این، کودهای فسفر دارای عناصر سمی همچون فلوراید، کادمیم، آرسنیک، جیوه و ... است. مطالعات اخیر نشان داده است که ۴۵ درصد مجموع عناصر ورودی به زمین‌های کشاورزی اتحادیه اروپا را کود فسفات تشکیل می‌دهد و ۵۵ درصد کل کادمیم موجود در مواد غذایی مربوط به کادمیم خاک است. این موضوع باعث کاهش کارایی کوددهی و کاهش سودآوری محصول شده که منجر به هدر رفت اقتصادی و مشکلات زیست محیطی می‌شود (Ulrich et al., 2019).

باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه[1] شامل باکتری‌های احاطه‌کننده ریشه‌اند که باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند. امروزه باکتری‌های محرک رشد گیاه به عنوان زادمایه میکروبی به شکل کودهای زیستی و یا کنترل‌گرهای زیستی استفاده می‌شوند. استفاده از انحلال زیستی فسفات‌های آلی و معدنی نامحلول می‌تواند مصرف کودهای شیمیایی فسفر را کاهش دهد که در کاهش خطرات زیست محیطی مؤثر است (Naher et al., 2016). جامعه میکروبی خاک حاصلخیزی آن را از طریق تجزیه، معدنی کردن، ذخیره‌سازی و رهاسازی عناصر غذایی تحت تأثیر قرار می‌دهند. رابطه بین گیاهان و باکتری‌های حل کننده فسفات به عنوان یک رابطه هم‌افزایی یا تشدید شونده در طبیعت شناخته می‌شود زیرا از یک سو باکتری، فسفات محلول را برای گیاه فراهم می‌کند و از سوی دیگر، گیاه از طریق ترشحات ریشه خود ترکیبات کربنه مورد نیاز را برای رشد باکتری آزاد می‌کند (Gouda et al., 2018). همکاری ریزسازواره‌های موجود در ریزوسفر گیاهان می‌تواند موجب بهبود جذب فسفات‌های در دسترس و همچنین فراهم ساختن منابع فسفات تثبیت شده برای گیاه شود. میزان فراهم‌سازی فسفات توسط باکتری‌های حل کننده فسفات از منابع معدنی و آلی فسفات به ترتیب ۴۲-۲۵ و ۱۸-۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بوده است (Rodríguez et al., 2006). از آنجایی که عناصر غذایی ضروری گیاه، توسط ریشه از خاک جذب می‌شوند، رشد خوب ریشه یک پیش‌نیاز برای افزایش رشد و نمو گیاه به حساب می‌آید. تعداد زیادی از باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق تولید هورمون‌های گیاهی باعث افزایش رشد ریشه گیاه می‌شوند. اگر تحریک رشد ریشه گیاه توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه با فراوانی بالا در مزارع انجام گیرد، باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند ابزارهای پتانسیل، برای افزایش جذب عناصر غذایی باشند (Glick, 2012). دو سوال اصلی برخاسته از برخی مطالعات گذشته این است آیا روند جاری کاربرد مقادیر زیاد کودهای شیمیایی با کاهش مقدار کودهای شیمیایی همراه با مایه تلقیح های میکروبی ممکن است؟ آیا پتانسیل باکتری های محرک رشد گیاه در جذب عناصر غذایی گیاه می تواند از طریق ترکیب آنها با کاهش مقادیر کودها استفاده شود. فرض کلی این است که باکتری های محرک رشد گیاه یا ترکیبی از باکتری های محرک رشد گیاه با کودهای شیمیایی کارایی استفاده از کودهای شیمیایی را بهبود می دهد و منجر به کاهش در مقادیر استفاده از کودهای شیمیایی می شود. این پژوهش یک ارزیابی کلی از پتانسیل

[1] Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیت جداسازی شده از ریشه گیاه گندم به منظور بررسی خصوصیات محرک رشدی و اثر آن‌ها در کاهش مصرف کود فسفر فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی نمونه‌ها

در این تحقیق به منظور جداسازی باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیت محرک رشد گیاه گندم، نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری گندم (مزرعه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در محمد شهر کرج) انجام شد. تعداد ۸ نمونه از گیاهان سالم گندم در مرحله رشد رویشی بطور تصادفی از موقعیت‌های مختلف در مزارع جمع‌آوری و در کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه انتقال یافتند تا جهت جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌ها از آنها استفاده شود (Emami et al., 2019).

بررسی خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیت

اندازه‌گیری کمی تولید ایندول استیک اسید (اکسین) به روش بریک در محیط کشت مایع رنگی در نتیجه استفاده از محلول سالکوفسکی با دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت (Brick et al. 1991). برای انجام این آزمون درون هر ظرف ارلن مقدار ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع نوترینت براث حاوی یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ال تریپتوفان ریخته شد و پس از استریل، محتوی هر ارلن با یکی از جدایه‌های مورد نظر تلقیح گردید. ارلن‌های مذکور با ورقه آلومینیومی پوشانده شدند و به مدت ۷۲ ساعت برای باکتری‌های تند رشد و تا ۱۲۰ ساعت (برای انواع کند رشد) در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد بر روی بهم زدن دورانی با سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه هوادهی شدند. پس از گذشت این مدت سوسپانسیون‌های مذکور سانتریفیوژ گردیدند. سپس محلول رویی با معرف سالکوسکی به نسبت ۱:۱ با هم مخلوط گردید محلول حاضر به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. مقدار تولید اکسین توسط هر جدایه از مقایسه‌ی جذب نور آن با منحنی استاندارد تهیه شده با غلظت‌های ۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

به منظور بررسی توان جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیت در انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول، از محیط کشت اسپربر استفاده گردید (Sperber, 1995). ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط نوترینت براث کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه کمی توان حل فسفات، ۷ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری با روش قطره گذاری برروی پلیت‌های حاوی محیط جامد اسپربر (شامل ۱۰ گرم در لیتر گلوکز، ۰/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر، ۰/۳۲ گرم در لیتر سولفات منیزیم، ۰/۱۴گرم در لیتر کلسیم کلرید، ۲/۵ گرم در لیتر تری کلسیم فسفات، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر و pH= ۷/۲)کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد نگه داری شدند. ظهور هاله شفاف در پیرامون کلونی باکتری به عنوان نشانه حل فسفات در نظر گرفته شد. قطر کلونی رشد یافته و نیز قطر هاله شفاف حاصل از انحلال فسفات که در اطراف هر کلنی تشکیل شده بود به دقت اندازه گیری شدند. برای ارزیابی انحلال فسفات نسبت متوسط قطر هاله به قطر کلونی بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه گردید. معدنی شدن فسفر آلی نیز در محیط اسپربر با استفاده از اینوزیتول هگزافسفات به عنوان منبع فسفر آلی بررسی شد.

توانایی تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها بصورت نیمه کمی با کشت در محیط CAS-Agar با استفاده از روش پیشنهادی Schwyn and Neiland (۱۹۸۷) و براساس استفاده از محیط کشت پایه‌ای به نام کروم آزرول- اس (CAS) صورت گرفت. در نهایت برای شناسایی مولکولی سویه‌های برتر ابتدا DNA آنها استخراج شد. سپس با استفاده از آغازگرهای طراحی شده برای ابتدا و انتهای 16S rRNA واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. محصول PCR تعیین ترادف شده و ترادف تعیین شده با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژنومی مقایسه گردید.

در ادامه آزمایشات آزمایشگاهی، آزمایش مزرعه‌ای در طی دو سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ و ۱۳۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه آموزشی و پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج (۴۰ کیلومتری غرب تهران، ۵۰ درجه، ۵۴ دقیقه طول شرقی و ۳۵ درجه و ۵۵ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۳۱۲ متری از سطح دریا) به اجرا گذاشته شد. طرح به صورت فاکتوریل با دو فاکتور (باکتری و سطوح کودی) و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) و در سه تکرار و به مدت دو سال به اجراء درآمد. تیمارهای آزمایش شامل تیمار میکروبی و کود فسفری بود که تیمار کود میکروبی در دو سطح و شامل تیمار باکتریایی (تلفیقی از جدایه ریزوسفری و اندوفیت) و تیمار شاهد بود. بر اساس مطالعات آزمایشگاهی از میان تیمارهای باکتریایی تیمار زادمایه ترکیبی باکتری ریزوسفری و اندوفیت جهت آزمون مزرعه‌ای برگزیده شد. کود شیمیایی به عنوان فاکتور دوم از منبع سوپر

فسفات تریپل در پنج سطح شامل: ۱- عدم مصرف کود شیمیایی فسفر، ۲- ۲۵٪ توصیه کودی فسفر، ۳- ۵۰٪ توصیه کودی فسفر، ۴- ۷۵٪ توصیه کودی فسفر، و ۵- ۱۰۰٪ توصیه کودی فسفر در نظر گرفته شدند. هر کرت آزمایشی شامل چهار ردیف با فواصل ۲۰ سانتی‌متری و طول ۴ متر و فاصله هر تکرار دو متر در نظر گرفته شد (شکل ۱).

قبل از کاشت، بذور گندم در کیسه‌های پلی‌اتیلنی حاوی بذر و یک درصد کربوکسی متیل سلولز (به عنوان ماده چسبنده) به مدت ۶۰ ثانیه تکان داده شده و سپس مقدار کافی از زادمایه (مخلوط دو باکتری به میزان جمعیت $10^8 \times 5$ در لیتر)، به آن افزوده شد و به مدت ۶۰ ثانیه دیگر تکان داده شدند تا بذرها به طور یکنواخت به زادمایه آغشته شوند. سپس بذرها در سایه خشک شدند (برای اطمینان از آغشته شدن بذر به زادمایه این کار دو بار تکرار شد). برای تیمار شاهد نیز مراحل آماده‌سازی همانند تیمار باکتریایی صورت گرفت؛ با این تفاوت که در مرحله افزودن باکتری از زادمایه اتوکلاو شده استفاده شد. جهت آماده‌سازی زادمایه، جدایه‌های باکتری از استوک برداشته و بر روی محیط کشت نوترینت آگار رشد داده و جوان شدند. کلونی‌های مجزا هر سویه در محیط نوترینت براث مایه‌کوبی و بر روی بهم‌زن دورانی با سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه هوادهی و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگزاری شدند. جمعیت سلولی به $10^8 \times 5$ CFU/ml تنظیم شد. به منظور آماده‌سازی زادمایه مخلوط، جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیت به صورت مجزا به طوری که در بالا شرح داده شد آماده شدند و دو جدایه به طور مساوی از نظر حجمی به منظور ایجاد یک سوسپانسیون شامل سلول‌های از هر کدام از جدایه‌ها با یکدیگر مخلوط شدند. بذور مایه‌زنی شده در دو طرف پشته به صورت دستی با استفاده از فوکا در عمق ۴- ۵ سانتی‌متری کاشته شدند؛ همراه با کاشت تیمارهای کود فسفری نیز به صورت نواری اعمال شد. بلافاصله بعد از کاشت عمل آبیاری انجام گردید. بر اساس توصیه متداول کودی برای مزرعه آزمایشی کود اوره ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار در مراحل پنجه‌زنی و ساقه رفتن به صورت سرک به زمین داده شد. در طول فصل رشد علف‌های هرز به صورت دستی کنترل شدند. آبیاری مزرعه به صورت نشتی (تیپ‌بندی) در مواقع لازم انجام شد. تاریخ برداشت ۲۰ تیر ماه هر سال بود. پس از برداشت محصول، اندام هوایی به سه بخش برگ، ساقه و دانه تقسیم شد و با آب مقطر کاملا شسته شده و سپس درون پاکت‌های کاغذی تمیز قرار گرفته و در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس اندام هوایی خشک شده به صورت مجزا توسط آسیاب پودر شده و در ظروف پلاستیکی دربدار به منظور تهیه عصاره گیاهی و انجام آزمایش‌های تجزیه‌ای، نگهداری شدند. میزان فسفر در نمونه‌های گیاهی به روش زرد (مولیبدووانادات) اندازه‌گیری شد (Westerman, 1991).

شکل ۱- تصویری از بررسی تاثیر زادمایه باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیت بر گیاه گندم در کشت مزرعه‌ای

نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های مربوط به آزمون مزرعه‌ای با استفاده از نرم افزار آماری SAS آنالیز شد. جهت جمع‌بندی نتایج مربوط به مقایسه تیمارها در دو سال نیاز به تجزیه واریانس مرکب بود تا از این طریق بتوان علاوه بر مقایسه تیمارها، از اثر متقابل تیمار× سال آگاهی یافت. لذا پس از آزمون بارتلت و مشخص شدن یکنواختی واریانس‌های آزمایشی اقدام به تجزیه واریانس مرکب شد. مقایسه میانگین تیمارها و گروه‌بندی آن‌ها به روش آزمون Tukey در سطح ۵ درصد انجام گرفت. همچنین نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel و R ترسیم شد.

نتایج و بحث

پتانسیل کل ۴۰۰ جدایه به دست آمده از گیاه گندم به منظور تحریک رشد گیاه از طریق غربال‌گری آن‌ها برای ویژگی‌های فنوتیپی و محرک رشد گیاه ارزیابی شد. شکل (۲) درصد فراوانی ویژگی‌های محرک رشد جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیت را نشان می‌دهد. ۲۲۰ جدایه از ۲۵۰ جدایه ریزوسفری IAA تولید کردند در حالی که ۱۰۸ جدایه از ۱۵۰ جدایه اندوفیت ریشه تولید IAA نشان دادند. حدود ۵۹/۲ درصد جدایه‌های ریزوسفری سیدروفور تولید کردند و ۱۸ درصد این جدایه‌ها قادر به تولید سیانید هیدروژن بودند در حالی که فقط ۵۲ درصد جدایه‌های اندوفیت سیدروفور تولید کردند و ۱۰ درصد از این جدایه‌ها توان تولید سیانید هیدروژن را داشتند. این نتایج به خوبی نشان داد که یک بخش مهمی از همه جدایه‌ها، توانایی تولید IAA را دارند. فراوانی و توانایی بیشتر جدایه‌های ریزوسفری در تولید IAA را می‌توان به ترشحات ریشه‌ای نسبت داد. باکتری‌ها برای تولید IAA نیاز به ال- ترپتوفان دارند و این ماده در ترشحات ریشه‌ای ناحیه اطراف ریشه نسبت به توده خاک و بافت داخلی گیاه به مقدار بیشتری وجود دارد. IAA یک هورمون گیاهی است که هیچ نقش واضحی در سلول‌های باکتریای ندارد و می‌تواند فرض شود که تولید IAA می‌تواند قابلیت این جدایه‌ها را در ارتباط گیاه و باکتری بهبود بخشد (Defez et al., 2017). مطالعات دیگر هم نقش این هورمون را در اندوفیت شدن باکتری گزارش کرده‌اند (Verma et al., 2001). توانایی تولید IAA در شمار متعددی از باکتری‌های آزادزی، همزیست و پاتوژن نیز گزارش شده است. این هورمون باعث توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و به دنبال آن، افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه می‌شود (Emami et al., 2019).

در ادامه همه جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیت به منظور توانایی احتمالی آن‌ها در انحلال فسفات نامحلول معدنی و آلی ارزیابی شدند. از محیط جامد اسپربر حاوی تری کلسیم فسفات و اینوزیتول هگزا فسفات به ترتیب به عنوان منبع نامحلول فسفر معدنی و آلی برای رشد جدایه‌ها استفاده شد. ایجاد هاله شفاف اطراف کلونی باکتری درون این محیط به عنوان شاخصی از توانایی این جدایه در حلالیت فسفات نامحلول در نظر گرفته شد. نتایج این ارزیابی نشان داد که ۳۸ و ۲۴ درصد جدایه‌های ریزوسفری گندم و ۳۴/۶۶ و ۲۸ درصد جدایه‌های اندوفیت ریشه قادر به حل کردن فسفر نامحلول آلی و معدنی در محیط اسپربر بودند (شکل ۲).

تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که باکتری‌های اندوفیت همانند باکتری‌های ریزوسفری توانایی انحلال فسفات نامحلول معدنی را دارند (Verma et al., 2001). مواد ترشح شده به وسیله باکتری‌های حل کننده فسفات مانند اگزالات، لاکتات، سیترات، سوکسینات، آنیون‌های کربوکسیلیک و پروتون‌ها که منجر به کاهش pH محیط می‌شوند در افزایش حلالیت فسفات‌های نامحلول معدنی (ترکیبات فسفات کلسیم) نقش دارند. از طرف دیگر ریزسازواره‌های موجود در خاک و ریشه گیاهان، با تولید آنزیم‌های فسفاتاز (اسیدی و قلیایی) فسفر آلی را معدنی می‌کنند. کارایی متفاوت فسفاتازهای میکروبی نیز در انحلال ترکیبات آلی فسفر در ریزوسفر و جذب فسفر به وسیله گیاهان گزارش شده است (Satyaprakash et al., 2017). از بین باکتری‌های حل کننده فسفر آلی، معمول‌ترین آن‌ها گونه‌هایی از جنس‌های *Bacillus*، *Burkholderia*، *Enterobacter*، *Pseudomonas*، *Rhizobium*، *Serratia* و *Staphylococcus* هستند. رابطه بین گیاهان و باکتری‌های حل‌کننده فسفات به عنوان یک رابطه هم‌افزایی یا تشدید شونده در طبیعت شناخته می‌شود . زیرا از یک سو باکتری، فسفات محلول را برای گیاه فراهم می‌کند و از سوی دیگر، گیاه از طریق ترشحات ریشه خود ترکیبات کربنه مورد نیاز (عمدتاً قندها) را برای رشد باکتری آزاد می‌کند.

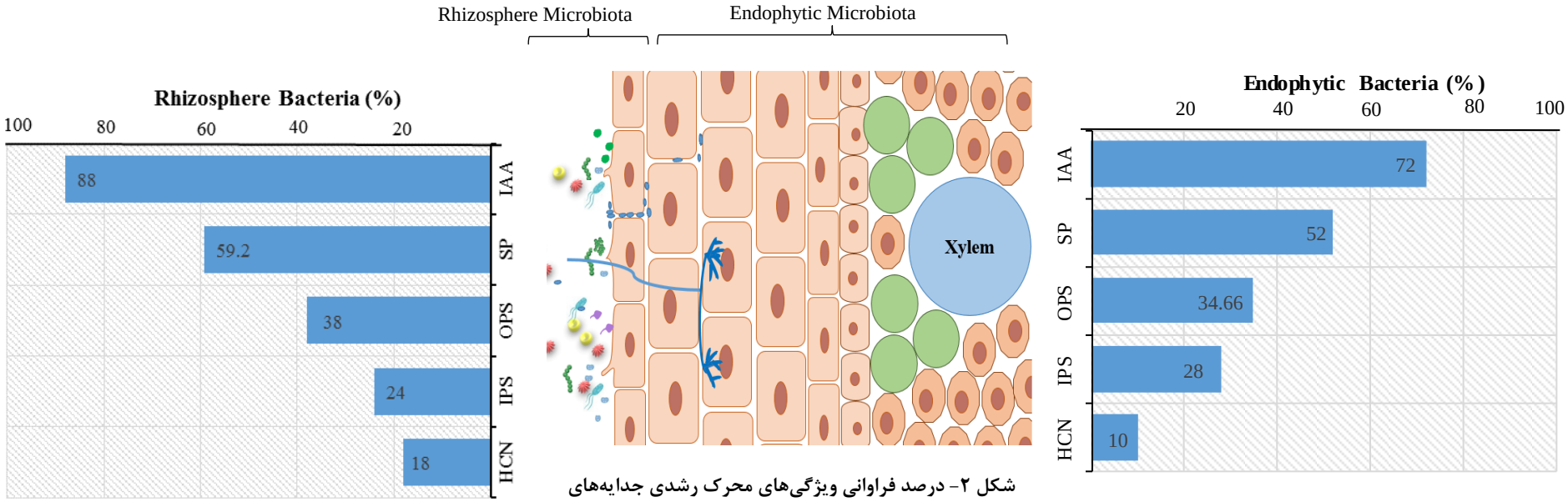
در این تحقیق فراوانی کمتری از جدایه‌های حل کننده فسفات نسبت به فراوانی جدایه‌های تولید کننده IAA مشاهده شد. فراوانی پایین جدایه‌های حل کننده فسفر می‌تواند به علت مصرف کودهای شیمیایی فسفر در مزارع ایران باشد. کو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که استفاده از کودهای شیمیایی (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) به طور قابل توجهی تنوع جامعه باکتریایی را (۷/۳۲ درصد) کاهش می‌دهد، در حالی که استفاده از کود دامی به تنهایی یا همراه با کود شیمیایی، موجب افزایش تنوع زیستی جامعه باکتریایی (به ترتیب ۱/۴۵ و ۱/۸۷ درصد) نسبت به شاهد می‌شود (Cui et al., 2018).

علاوه بر این، درصد فراوانی جدایه‌های حل کننده فسفات آلی ریزوسفر (۳۸ درصد) و اندوفیت ریشه (۳۴/۶۶ درصد) مشابه نبود. فراوانی تعداد جدایه‌های ریزوسفری حل کننده فسفات معدنی بیشتر از فراوانی تعداد جدایه‌های اندوفیت حل کننده فسفات معدنی بود. اما درصد جدایه‌های ریزوسفری حل کننده فسفات معدنی (۲۴ درصد) کمتر از درصد جدایه‌های اندوفیت حل کننده فسفات معدنی (۲۸ درصد) بود (شکل ۲).

مطالعات گذشته نشان می‌دهد که جدایه‌های حل کننده فسفات، دارای سایر صفات محرک رشدی نیز می‌باشند، بر اساس یافته‌های علمی، باکتری‌های محرک رشد گیاه احتمالا با بیش از یک مکانیسم عمل می‌کنند (Sharma et al., 2013)؛ و عقیده بر این است که ریزسازواره‌های حل کننده فسفات،

به طور هم زمان دارای پتانسیل کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و همچنین افزایش رشد گیاه از طریق تولید سیدروفور و IAA هستند (Sharma et al., 2013). آنتون و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که از ۲۶۶ سویه ریزوبیا جدا شده ۸۳ درصد توانایی تولید سیدروفور، ۵۸ درصد توانایی تولید IAA و ۵۴ درصد توانایی حل فسفات نامحلول، ۶۴ درصد بدون خصوصیت مشخص و ۱۱ درصد هم اثرات مخربی بر روی گیاه داشتند. این مطالعات نشان می‌دهد که باکتری‌های محرک رشد اغلب مکانیسم‌های عمل چندگانه‌ای دارند (Antoun et al., 1998). رقابتی که در محیط CAS برای پیوند با آهن بین کمپلکس فریک معرف رنگی به نام کروم آزورل دترجنت هگزا دسیل تری متیل آمونیوم بروماید و یک کلات کننده یا سیدروفور میکروبی به وجود می‌آید اساس ارزیابی تولید سیدروفور در این محیط می‌باشد. فراوانی باکتری‌های تولید کننده سیدروفور در جدایه‌های ریزوسفری بیشتر از باکتری‌های اندوفیت بود. این نتایج نشان می‌دهد که توانایی کلات کردن آهن سه ظرفیتی باکتری‌های خاک برای کلونیزه کردن یا ماندن در ارتباط با بافت‌های گیاه می‌تواند مفید باشد. نقش جدایه‌های تولید کننده سیدروفور می‌تواند از طریق کلات کردن آهن سه ظرفیتی باشد که فراهمی آهن را به طور موضعی افزایش یا سمیت آهن دو ظرفیتی به سوی گیاه از طریق تجمع آهن ترسیب شده به درون سلول‌های باکتریایی را کاهش می‌دهد. در نتایج بررسی ۱۰ سویه *Pseudomonas* مولد سیدروفور جدا شده از خاک‌های تحت کشت ذرت، برنج، یونجه مشاهده شد که این جدایه‌ها را می‌توان به عنوان کودهای زیستی بالقوه و نیز به عنوان عوامل بیوکنترلی مورد استفاده قرار داد (Suresh et al., 2010). نتایج مطالعه طهماسبی و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان داد که کاربرد سویه‌های تولید کننده سیدروفور در مقایسه با شاهد باعث افزایش معنی‌دار میزان جذب آهن، میزان کلروفیل و همچنین وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه ذرت شده است (Tahmasbi et al., 2014). سیانید هیدروژن یکی دیگر از متابولیت‌های ثانویه است که برخی باکتری‌های محرک رشد از جمله *Pseudomonas* آن را تولید می‌کنند که از یک سو ماده‌ای سمی برای قارچ‌های بیمارگر گیاهی است و از سوی دیگر باکتری‌های تولید کننده سیانید هیدروژن متابولیسم گیاه را تحت تاثیر قرار داده و موجب تشکیل ریشه‌های مویین می‌شوند.

برای تعیین تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون‌های مختلف آزمایشگاهی انجام شده، دو جدایه ریزوسفری و اندوفیت با قابلیت حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول و توان تولید IAA انتخاب شدند و به عنوان تیمارهای باکتریایی محرک رشد گیاه مورد استفاده قرار گرفتند. خصوصیات دو جدایه مورد استفاده در کشت مزرعه ای در جدول (۱) آورده شده است. جدایه‌های ریزوسفری R185 و اندوفیت E240 به ترتیب با تولید ۲۹۹ و ۳۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر فسفر و همچنین تولید ۱۹/۲ و ۲۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر هورمون IAA به عنوان جدایه‌هایی با توان انحلال فسفات‌های نامحلول و مولد IAA بودند؛ این جدایه‌ها به ترتیب با ۹۸ و ۹۸/۷ درصد تشابه با *Pseudomonas* sp. JHEE_s و *Pseudomonas mosselii* مرتبط است.



شکل ۲- درصد فراوانی ویژگی‌های محرک رشدی جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیت ریشه گندم

SP: تولید سیدروفور؛ **OPS**: حلالیت فسفات آلی؛ **IPS**: حلالیت فسفات معدنی؛ **HCN**: تولید سیانید هیدروژن

جدول (۱)- خصوصیات جدایه ریزوسفری و اندوفیت انتخاب شده برای کشت مزرعه‌ای

شماره جدایه	IAA ($\mu g\ mL^{-1}$)	حلالیت فسفات نامحلول معدنی (قطر هاله به قطر کلونی)	حلالیت فسفات نامحلول آلی (قطر هاله به قطر کلونی)	تولید سیدروفور (قطر هاله به کلونی)	میزان انحلال فسفات نامحلول معدنی ($\mu g\ mL^{-1}$)	pH در محیط کشت حاوی تری کلسیم فسفات
R 185	۱۹/۲ ± ۰/۱^{b}	۴/۰ ± ۰/۲^{b}	۳/۸ ± ۰/۱^{a}	۱/۸ ± ۰/۱^{ab}	۲۹۹ ± ۲^{b}	۴/۵ ± ۰/۱^{fg}
E 240	۲۲/۰ ± ۰/۳^{a}	۵/۰ ± ۰/۲^{a}	۳/۷ ± ۰/۱^{a}	۱/۸ ± ۰/۱^{a}	۳۳۰ ± ۳^{a}	۴/۲ ± ۰/۱^{g}

جدول ۲ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار زادمایه باکتریایی محرک رشد گیاه و سطوح کودی فسفر را نشان می‌دهد. بر این اساس، کاربرد توام جدایه‌های باکتریایی و سطوح کودی فسفر (۲۵، ۵۰ ، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) نسبت به شاهد سبب افزایش معنی‌داری در مقدار فسفر برگ شده است که نشان می‌دهد فسفر نقش کلیدی و مهم در رشد گیاه گندم دارد. همان‌طور که مشاهده می‌شود تیمارهای B1+F3، B1+F4 و B0+F4 دارای بیشترین مقدار فسفر برگ بوده‌اند و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نمی‌شود. این موضوع نشان می‌دهد که جدایه‌های محرک رشد توانسته است میزان مصرف کود فسفر را تا ۲۵ درصد کاهش دهند. تیمار B0 +F0 دارای حداقل مقدار فسفر برگ (۰/۰۰۶ درصد) می‌باشد و مقدار فسفر گیاه در این تیمار به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای دیگر می‌باشد.

کاربرد زادمایه موجب افزایش ۱۹ درصدی در میزان فسفر در ساقه گیاه گندم شد؛ به طوری که مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد مقدار فسفر در ساقه در تیمار B1+F3 از نظر آماری با مقدار فسفر در ساقه در تیمار B0+F4 اختلاف معنی‌داری ندارد (جدول ۲). این موضوع نشان می‌دهد که جدایه‌های محرک رشد توانسته‌اند میزان مصرف کود فسفر را تا ۲۵ درصد کاهش دهند. تیمارهایB0+F0، B0 + F1 و B1+F0 دارای حداقل مقدار فسفر در ساقه می‌باشند و مقدار فسفر گیاه در این تیمارها به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای دیگر می‌باشد.کاربرد فسفر به همراه مایه‌کوبی با زادمایه باکتریایی نسبت به کاربرد فسفر به تنهایی سبب افزایش معنی‌داری در مقدار فسفر دانه گیاه شده است که نشان می‌دهد فسفر نقش کلیدی و مهم در دانه گیاه گندم دارد و بدون وجود فسفر عملکرد گیاه کاهش پیدا می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود تیمارهای B1+F4، B1+F3 و B0+F4 به ترتیب با ۰/۳۷۵، ۰/۳۶۸ و ۰/۳۷ درصد فسفر دارای بیشترین مقدار بوده‌اند هر چند اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نمی‌شود. به طوری که مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد همانند درصد فسفر در برگ و ساقه، مقدار فسفر دانه در تیمار B1 + F3 از نظر آماری برابر با مقدار فسفر در تیمار B0 + F4 می‌باشد. این موضوع نشان می‌دهد که جدایه‌های محرک رشد توانسته‌اند میزان مصرف کود فسفر را تا ۲۵ درصد کاهش دهند. تیمار B0+F0 دارای حداقل مقدار فسفر در دانه گندم (۰/۱۹۸ درصد) می‌باشند و مقدار فسفر در دانه گیاه در این تیمار به طور معنی‌داری کمتر از برخی تیمارهای دیگر می‌باشد. شکل ۳ تغییرات میزان فسفر در دانه، ساقه و برگ گیاه گندم در مرحله رسیدگی را نشان می‌دهد؛ با افزایش سطح کودی و کاربرد باکتری میزان فسفر در بافت گیاه افزایش می‌یابد. باکتری‌های حل کننده فسفات باعث افزایش حلالیت فسفر غیر محلول خاک و افزایش رشد گیاه و کمیت و کیفیت محصول تحت شرایط کمبود فسفر می‌شوند و استفاده از کودهای شیمیایی فسفر را کاهش می‌دهند. مشخص شده است که باکتری‌های حل کننده فسفات علاوه بر کمک به جذب عنصر فسفر، موجب جذب سایر عناصر، کاهش بیماری‌ها و بهبود ساختمان خاک و در نتیجه تحریک رشد و افزایش کمی و کیفی محصول می‌شوند.

مطالعات نشان می‌دهد که قابلیت دسترسی فسفر خاک برای گیاه به فاکتورهای فیزیکی خاک (بافت، رطوبت، دما، تهویه و فشردگی)، فاکتورهای شیمیایی خاک (pH، مینرالوژی، مواد آلی و برهمکنش با دیگر عناصر غذایی)، فاکتورهای زیستی خاک (فعالیت و ترشحات ریشه گیاهان و ریزسازواره‌های خاک)، فاکتورهای گیاهی (واریته و سن گیاه، توسعه و پخشیدگی ریشه گیاه) و فاکتورهای کود فسفر (مقدار، روش کاربرد، قابلیت انحلال در آب، فرمول شیمیایی و شکل فیزیکی کود) بستگی دارد. بنابراین قابلیت دسترسی فسفر خاک به برآیند فاکتورهای اشاره شده بستگی دارد که پیچیدگی خاصی به چرخه فسفر داده است. به همین دلیل تخمین قابلیت دسترسی فسفر خاک و جذب آن به وسیله گیاه با در نظر گرفتن تعداد محدودی از فاکتورهای اشاره شده احتمالاً اشتباه خواهد بود. از طرفی رشد و نمو گیاهان به فاکتورهای خیلی زیادی بستگی دارد که یکی از آن‌ها تأمین عناصر غذایی ضروری است؛ و این در حالی است که فسفر تنها یکی از ۱۷ عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان می‌باشد. بنابراین گاهی با افزایش مقدار کود سوپر فسفات تریپل مصرف شده (البته تا یک حدی) تفاوت معنی‌داری از نظر برخی از صفات رشد و نموی ایجاد نمی‌شود (Jeshni et al., 2017).

در شرایط کمبود فسفر، تیمار باکتریایی نسبت به شاهد (بدون مایه‌کوبی باکتری) فسفر گیاه را افزایش داد. پژوهش‌ها نیز تأیید کننده این موضوع می-باشد که باکتری‌های محرک رشد گیاه با فرآیندهای ترشح ترکیبات کمپلکس کننده یا حل کننده مانند اسیدهای آلی، اسیدهای غیر آلی، کیلیت کردن و ترشح فسفاتازهای برون سلولی برای معدنی کردن فسفات‌های آلی فسفر قابل جذب خاک را افزایش می‌دهند.

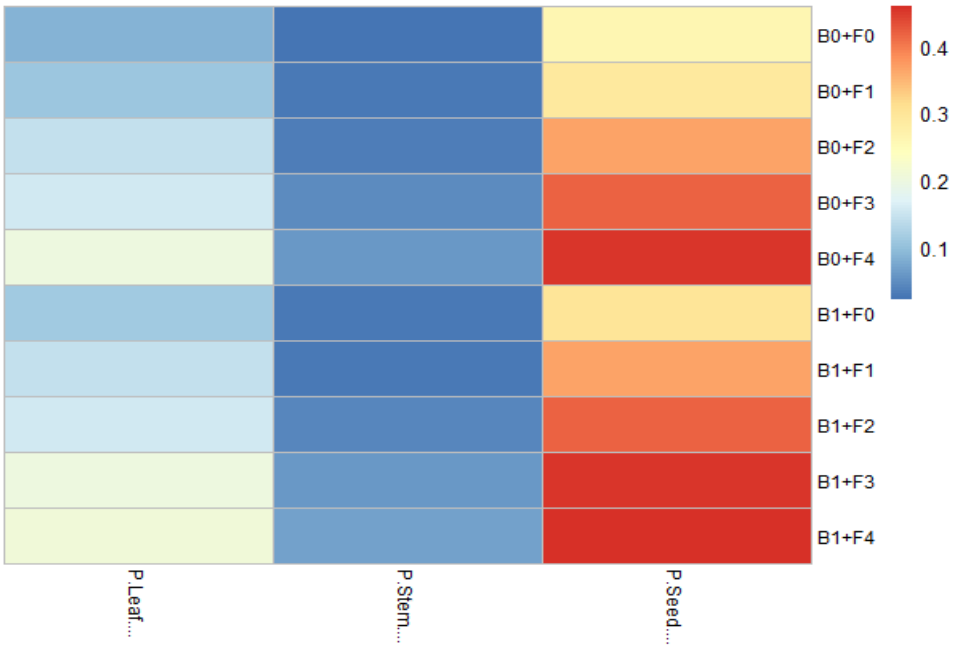
جدول ۲- بررسی اثرات متقابل کودهای شیمیایی و زیستی بر میزان فسفر گیاه گندم

	درصد فسفر برگ	درصد فسفر ساقه	درصد فسفر دانه
B0+F0	۰/۰۶۰۰۰^{d}	۰/۰۱۵۰۰^{d}	۰/۱۹۸۳^{e}
B0+F1	۰/۰۷۸۳۳^{c}	۰/۰۲۰۰۰^{cd}	۰/۲۲۵۰^{d}
B0+F2	۰/۱۰۱۷^{b}	۰/۰۲۱۶۷^{cd}	۰/۲۸۶۷^{c}
B0+F3	۰/۱۱۳۳^{b}	۰/۰۳۱۶۷^{abc}	۰/۳۳۵۰^{b}
B0+F4	۰/۱۴۸۳^{a}	۰/۰۴۰۰۰^{ab}	۰/۳۷۰۰^{a}
B1+F0	۰/۰۸۰۰۰^{c}	۰/۰۲۰۰۰^{cd}	۰/۲۳۰۰^{d}
B1+F1	۰/۱۰۳۳^{b}	۰/۰۲۰۰۰^{cd}	۰/۲۸۶۷^{c}
B1+F2	۰/۱۱۵۰^{b}	۰/۰۳۰۰۰^{bcd}	۰/۳۳۵۰^{b}
B1+F3	۰/۱۴۸۳^{a}	۰/۰۴۰۰۰^{ab}	۰/۳۶۸۳^{a}
B1+F4	۰/۱۵۳۳^{a}	۰/۰۴۶۶۷^{a}	۰/۳۷۵۰^{a}

* اعدادی که در هر ستون دارای یک حرف مشترک کوچک هستند، از لحاظ آماری در سطح پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش تعداد ۲۵۰ جدایه باکتری از خاک فراریشه و ۱۵۰ جدایه از ریشه گندم جداسازی و خالص‌سازی شد. نتایج حاصل از آزمون تولید IAA در محیط رشدی حاوی یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ال-تریپتوفان نشان داد که ۸۸ درصد باکتری‌های ریزوسفری و ۷۲ درصد باکتری‌های اندوفیت دارای توان تولید IAA بودند. نتایج حاصل از اثر زادمایه میکروبی برتر و کود فسفری برای دستیابی به حداکثر رشد و عملکرد گیاه گندم طی دو سال کشت متوالی در مزرعه نشان داد که درصد فسفر بافت‌های گیاه از نظر آماری برای تیمار ۱۰۰٪ کودهی فسفره بدون زادمایه و تیمار ۷۵٪ کود همراه با زادمایه باکتری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت. نتایج حاصل از ارزیابی کاهش مقادیر مختلف کودی در طی دو سال کشت نشان داد که ۷۵٪ کود فسفره، کمترین مقدار کودی بود که می‌تواند همراه با زادمایه، رشدی برابر ۱۰۰٪ کود فسفره و بدون استفاده از زادمایه باکتری ایجاد کند؛ وقتی ۵۰٪ کود فسفره یا کمتر همراه با زادمایه باکتری اضافه شد، رشد کمتری از گیاه گندم یا رشد ناپایداری در مقایسه با تیمار شاهد مثبت (۱۰۰٪ نیاز کودی و بدون زادمایه باکتری) مشاهده شد. بر اساس این نتایج، پیشنهاد می‌شود این زادمایه می‌تواند به عنوان مکمل با کودهای شیمیایی به منظور کاهش سطح مصرف کودهای شیمیایی استفاده شود اما نمی‌تواند جایگزینی برای کود فسفر باشد. بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده، باکتری‌های محرک رشد فراریشه‌ای R185 و درون‌رست E240 کاندیداهای مناسبی برای توسعه رشد ریشه، جذب بیشتر فسفر و در نتیجه افزایش عملکرد گندم هستند و می‌توانند به عنوان زادمایه‌هایی برای بهبود سلامت و عملکرد گندم استفاده شوند.



شکل ۳- نقشه‌ی حرارتی (هیت مپ) تغییرات میزان فسفر در برگ، ساقه و دانه گندم در اثر تیمارهای باکتریایی و سطوح مختلف کود فسفری

منابع

آمارنامه کشاورزی، (۱۳۹۶). جلد اول: محصولات زراعی سال زراعی ۹۵-۹۴. چاپ اول انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، تهران.

Antoun, H., Beauchamp, C. J., Goussard, N., Chabot, R., & Lalande, R. (1998). Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). In Molecular microbial ecology of the soil (pp. 57-67): Springer.

Bric, J. M., Bostock, R. M., & Silverstone, S. E. (1991). Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. Applied and environmental Microbiology, 57(2), 535-538.

Cui, X., Zhang, Y., Gao, J., Peng, F., & Gao, P. (2018). Long-term combined application of manure and chemical fertilizer sustained higher nutrient status and rhizospheric bacterial diversity in reddish paddy soil of Central South China. Scientific Reports, 8(1), 16554.

Curtis, B. C., Rajaram, S., & Gómez, M. (2002). Bread wheat: improvement and production: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Defez, R., Andreozzi, A., & Bianco, C. (2017). The overproduction of indole-3-acetic acid (IAA) in endophytes upregulates nitrogen fixation in both bacterial cultures and inoculated rice plants. Microbial ecology, 74(2), 441-452.

Emami, S., Alikhani, H. A., Pourbabaei, A. A., Etesami, H., Sarmadian, F., & Motessharezadeh, B. (2019). Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. Environmental Science and Pollution Research, 1-10.

Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica, 2012.

Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., & Patra, J. K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological research, 206, 131-140.

Hart, M. R., Quin, B. F., & Nguyen, M. (2004). Phosphorus runoff from agricultural land and direct fertilizer effects. Journal of Environmental Quality, 33(6), 1954-1972.

Jeshni, M. G., Mousavinik, M., Khammari, I., & Rahimi, M. (2017). The changes of yield and essential oil components of German Chamomile (*Matricaria recutita* L.) under application of phosphorus and zinc fertilizers and drought stress conditions. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 16(1), 60-65.

Naher, U. A., Panhwar, Q. A., Othman, R., Ismail, M. R., & Berahim, Z. (2016). Biofertilizer as a Supplement of Chemical Fertilizer for Yield Maximization of Rice. Journal of Agriculture Food and Development, 2, 16-22.

Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T., & Bashan, Y. (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. Plant and soil, 287(1-2), 15-21.

Satyaprakash, M., Nikitha, T., Reddi, E., Sadhana, B., & Vani, S. S. (2017). Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(4), 2133-2144.

Schwyn, B., & Neilands, J. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical biochemistry, 160(1), 47-56.

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus, 2(1), 587.

Sperber, J. I. (1958). The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research, 9(6), 778-781.

Suresh, A., Pallavi, P., Srinivas, P., Kumar, V. P., & Reddy, S. R. (2010). Plant growth promoting activities of fluorescent pseudomonads associated with some crop plants. African Journal of Microbiology Research, 4(14), 1491-1494.

Syers, J., Johnston, A., & Curtin, D. (2008). Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use. FAO Fertilizer and plant nutrition bulletin, 18(108).

Tahmasbi, F., Lakzian, A., Khavazi, K., & Pakdin, P. A. (2014). Isolation, identification and evaluation of sidrophore production in *Pseudomonas* bacteria and its effect on hydroponically grown corn.

Ulrich, A. E. (2019). Cadmium governance in Europe's phosphate fertilizers: Not so fast? Science of the total environment, 650, 541-545.

Verma, S. C., Ladha, J. K., & Tripathi, A. K. (2001). Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. Journal of Biotechnology, 91(2-3), 127-141.

Westerman, R. L. (1991). Soil testing and plant analysis. In: LWW. Soil Science Society of America book series

Topic for submission: Soil Biology and Bio fertilizer

Study of potential application of wheat growth promoting rhizosphere and endophytic bacteria as a biofertilizer (chemical-biological fertilizer) package

Somayeh Emami[1]*, Hossein Ali Alikhani[2], Ahmad Ali Pourbabaee[3], Hassan Etesami[4], Fereydoon Sarmadian[2], Babak Motesshare zadeh[3]

[1] PhD. student of soil Biology and Biotechnology , Department of soil science, College of agriculture and natural resource, University of Tehran

[2] Full professor, Department of soil science, College of agriculture and natural resource, University of Tehran

[3] Associate Professor, Department of soil science, College of agriculture and natural resource, University of Tehran

[4] Assistant Professor, Department of soil science, College of agriculture and natural resource, University of Tehran

Abstract

In this study, the bacteria were isolated from the rhizosphere (250 isolates) and from the roots (150 isolates) of wheat plant. The production of siderophore, hydrogen cyanide, indole acetic acid, organic and inorganic phosphate solubilization and the ability to colonize the roots were evaluated by 400 isolates and compared with each other. According to the results, 88 and 72% of rhizosphere and endophytic isolates were positive for production of IAA, respectively. In addition, 38 and 24% of rhizosphere bacteria and 34.66 and 28% of endophytic bacteria were able to mineralize organic phosphate and solubilize insoluble inorganic phosphate, respectively, in Sperber culture medium and modified Sperber culture medium.The result of two-year field study (2017 and 2018) of effect of rates of chemical P-fertilizer (0, 25, 50, and 75, 100% of the full recommended fertilizer rate) coupled with R185 and E240 as co-inoculation showed an increase in wheat plant growth indices and yield.The results of this assay also indicated that supplementing 75% of the recommended P-fertilizer rate with bacterial isolates resulted in increase of P content, which were statistically equivalent to the full fertilizer rate without these strains. Generally, the results of this study showed that the native PGPB can be used as a supplement to chemical fertilizers in order to reduce the level of fertilizer application.

Keywords: Bacteria – plant interaction, Rhizospheric and endophytic bacteria, Phosphorus, Wheat.