نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد 1، شماره 1، پاییز 1388، ص. 32-25

Journal of Agroecology
Vol. 1, No. 1, Fall 2009, p. 25-32

نقش تلقیح مضاعف باکتری‌های آزوسپریلوم و سودوموناس در بهبود جذب عناصر غذایی در ذرت

سمیه نظارت[1] و احمد غلامی[*2]

تاریخ دریافت: 88/9/25
تاریخ پذیرش: 88/10/30

چکیده

باکتری‌های محرک رشد گیاه به عنوان مکمل و جایگزین کودهای شیمیایی شناخته می‌شوند که می‌توانند سبب افزایش حاصلخیزی خاک و تولید محصول شوند. این مطالعه با هدف بررسی اثرات منفرد و دو گانه سویه‌های باکتری آزوسپیریلوم و سودوموناس بر رشد گیاه و جذب عناصر غذایی ذرت به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب بلوک‌های کامل تصادفی اجرا گردید. عامل اول سویه‌های مختلف باکتری *Azospirillum* شامل سه سطح A_1: شاهد (بدون تلقیح)، A_2: *A.lipoferum*DSM1691 و A_3 : *A.brasilense*DSM1690 و عامل دوم سویه‌های مختلف باکتری *Pseudomonas* شامل پنج سطح P_1 : شاهد (بدون تلقیح) ، P_2: *P.putida* strain R-168، P_3: *P. fluorescens* strain R-93، P_4: *P.fluorescens* DSM 50090 و P_5: *P.putida* DSM 291 بود. نتایج نشان داد تیمارهای آزمایش وزن خشک کل بوته، وزن خشک بلال، وزن خشک دانه، وزن صد دانه و تعداد دانه در هر بوته ذرت را در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش داد. میزان جذب عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی و مس نیز به طور معنی داری با کاربرد باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که تلقیح توأم باکتری‌ها در مقایسه با کاربرد منفرد هر یک از آنها موثرتر بود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، کود بیولوژیک، همزیستی

مقدمه

در اکوسیستم‌های طبیعی و کشاورزی وجود رابطه‌ی متقابل میان گیاهان و ریزموجودات خاک تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر ساختار خاک، چرخه زیست زمین شیمیایی عناصر غذایی، رشد گیاه و سازگاری آن با تغییرات محیط دارد (Bashan et al., 2004). در بین ریزجانداران خاک به آن دسته از باکتری‌های ریزوسفری که فعالیت آنها بر رشد و تغذیه گیاه تأثیر مثبتی داشته و می‌توانند تضمین کننده سلامت گیاه و حاصلخیزی خاک باشند باکتری‌های محرک رشد گیاه[3] اطلاق می‌گردد (Wue et al., 2005). عمده باکتری‌های محرک رشد گیاه که استفاده از آنها در تحقیقات سال‌های اخیر مورد توجه بوده به جنس‌های *Pseudomonas*، *Azospirillum*، *Azotobacter* و *Bacillus* مربوط می‌باشند (Yasari and ardhan, 2007) .

هرچند چگونگی ارتباط و تحریک رشد گیاهان توسط این باکتری‌ها به طور کامل شناخته شده نیست اما اثرات سودمند آنها می‌تواند در نتیجه عواملی همچون سنتز آنتی بیوتیک‌ها و سیدروفورها، هورمون‌های گیاهی، تثبیت زیستی N_2، کاهش پتانسیل الکتریکی غشاء ریشه ها، تولید انواع آنزیم‌ها مانند Acc deaminas و افزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی باشد (Egamberdiyeva, 2007., Bashan et al., 2004). Glick et al. (2001) نشان دادند که باکتری‌های PGPR از طریق تولید هورمون‌ها باعث افزایش رشد گیاهان، درصد جوانه زنی بذور وگسترش ریشه می‌شوند. در ذرت تلقیح بذر با سویه هایی از آزوسپیریلوم سبب افزایش سطح ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی و در نهایت عملکرد گردید (Fulchieri & Frioni, 1994). Saatovich (2006) با بررسی تأثیر سویه‌های مختلف آزوسپیریلوم نشان داد که این باکتری‌ها می‌توانند مقاومت گندم را به شوری افزایش داده و عملکرد گیاه را تا 63/4 درصد نسبت به شاهد افزایش دهند. بررسی‌ها نشان دادندکه کاربرد سویه‌های باکتری سودوموناس می‌تواند سبب افزایش طول ریشه و اندام‌های هوایی در کلزا، کاهو و گوجه فرنگی گردد (Glick et al., 1997). در بسیاری از مطالعات مشخص شده است که تلقیح توأم باکتری‌های

1 و 2 - به‌ترتیب کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی شاهرود و عضو هیأت علمی دانشگاه صنعتی شاهرود
(* - نویسنده مسئول: (Email: gholami@shahroodut.ac.ir

3- Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

محرک رشد اثرات بیشتر و سودمندتری بر رشد و عملکرد گیاهان در مقایسه با کاربرد منفرد آنها دارد (Bashan & Holguin, 1997). Piao et al. (2005) نیز گزارش کردند که در نتیجه تلقیح توأم دو باکتری *Azotobacter armeniacus* و *Azotobacter nigricans* ، عملکرد برنج در مقایسه با شاهد و تلقیح هر یک از سویه ها، افزایش معنی داری یافت. Sharaan & El-Samie (1999) گزارش کردند که کاربرد توأم باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم، سبب افزایش تعداد و طول سنبله، تعداد و وزن دانه در هر سنبله و عملکرد گندم شد. بررسی‌ها نشان داده اند که تلقیح همزمان دو یا چند سویه از باکتری‌های سودوموناس نیز سبب افزایش تحریک رشد گیاه در مقایسه با تلقیح هر یک از آنها می‌شود (Siddiqui & Shaukat, 2002). براساس نتایج تحقیقات پیشین به نظر می‌رسد ترکیب انواع باکتری‌های محرک رشد می‌تواند امکان برقراری رابطه‌ای سینرژیست و تشدید کننده را فراهم نماید که نتیجه آن افزایش اثرات مفید باکتری‌ها بر رشد گیاه و در نهایت تولید بیشتر محصول در گیاه باشد. برهمین اساس تحقیق حاضر به منظور ارزیابی تأثیر سویه‌های مختلفی از آزوسپیریلوم و سودوموناس و تلقیح توأم آنها بر رشد و جذب عناصر غذایی در گیاه ذرت اجرا شد.

مواد و روش ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی شاهرود، به صورت فاکتوریل با دو عامل در قالب طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی و با سه تکرار انجام شد. عامل اول سویه‌های باکتری *Azospirillum* شامل سه سطح A_1 : شاهد (بدون تلقیح)، A_2: *A.lipoferumDSM1691* و A_3 : *A.brasilenseDSM1690* و عامل دوم سویه‌های باکتری *Pseudomonas* شامل پنج سطح P_1: شاهد، P_2: *P.putida* strain R-168، P_3: *P. fluorescens* strain R-93، P_4: *P.fluorescens* DSM 50090 و P_5: *P.putida* DSM 291 بود.

پیش از اقدام به کاشت بذور ذرت رقم 647، برای اطمینان از عدم آغشته بودن بذور به هر گونه آلودگی، چندین بار شستشو و ضدعفونی شدند. ضدعفونی سطحی بذرها به مدت 10 دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم 2 درصد انجام شد. سپس مایه تلقیح هر باکتری (با جمعیت تقریبی 10^8 cfu) به بذور افزوده و با استفاده از صمغ عربی 20 درصد بطور کامل با بذور مخلوط شدند. به منظور جلوگیری از کاهش جمعیت باکتری‌ها بلافاصله پس از تلقیح نسبت به کشت بذور اقدام شد. در این آزمایش هر کرت شامل 4 ردیف کاشت به طول 9 متر و با فواصل 0/7 متر از یکدیگر بود. فاصله بذور روی ردیفها 20 سانتی متر و عمق کشت 5 سانتی متر در نظر گرفته شد. برای جلوگیری از عمل تداخل و آلودگی باکتری‌ها یک خط به صورت نکاشت به عنوان محافظ بین کرت‌های اصلی قرار گرفت. بعلاوه جوی‌های آبیاری به نحوی تعبیه شد که آب آبیاری اضافی هر کرت توسط یک جوی خروجی در انتهای هرکرت از مزرعه خارج شود. در زمان تهیه بستر بذر بر اساس نتایج حاصل از آزمون خاک، کودهای سوپر فسفات تریپل، سولفات پتاسیم و اوره به ترتیب هر کدام 150 ، 50 و130 کیلوگرم در هکتار به خاک اضافه و 170 کیلو گرم از اوره باقیمانده نیز در آغاز رشد زایشی به زمین اضافه شد. آبیاری مزرعه با فواصل 10 روز یکبار بصورت نشتی انجام شد. در انتهای دوره رشد برای اندازه گیری عملکرد و اجزای عملکرد بوته‌های ذرت از دو خط وسط با حذف نیم متر از طرفین هر خط برداشت شدند. به منظور تعیین مقدار عناصر موجود در بذر نمونه آسیاب شده بذور به آزمایشگاه موسسه تحقیقات آب و خاک تهران ارسال شد. به این منظور نیتروژن با روش کجلدال، پتاسیم و فسفر با روش اسپکتروفوتومتری و همچنین مقدار آهن، منگنز، روی و مس با دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد. برای تجزیه واریانس اعداد خام از نرم افزار SAS استفاده و مقایسات میانگین داده‌ها با استفاده از روش دانکن، با سطح احتمال 0/05 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات رشدی ذرت : در جدول 1 نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از صفات رشدی ذرت در زمان برداشت آورده شده است. نتایج نشان داد که اثر کاربرد باکتری‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس بر وزن خشک کل بوته و وزن خشک بلال معنی دار ($p<0/01$) بود (جدول1). تلقیح توأم سویه‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس نیز به طور معنی داری ($p<0/01$) این دو صفت را افزایش دادند. مطابق مقایسه میانگین صفات در جدول 2، تلقیح با تیمارهای مختلف باکتری، وزن خشک کل بوته را از 66/5 درصد در ترکیب A.lipoferumDSM1691× P.fluorescens strainR-93 (تیمار A2P3) تا 129/4 درصد در ترکیب *A.lipoferum*DSM1691× *P.putida* strain R-168 (تیمار A_2P_2) در مقایسه با شاهد افزایش داد. نتایج این بررسی نشان داد که تمام سویه‌های باکتری وزن خشک بلال را در مقایسه با شاهد افزایش دادند. بیشترین وزن خشک بلال از تلقیح همزمان *A.brasilenseDSM1690* و *P.fluorescens* DSM 50090 (A_3P_4) به میزان 323/3 گرم در بوته و کمترین مقدار از شاهد به مقدار 133/7 گرم در بوته بدست آمد. براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر باکتری‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس و اثر تلقیح توأم سویه‌های باکتری‌ها بر وزن خشک دانه و وزن صد دانه معنی دار بود (جدول1). بررسی مقایسات میانگین کاربرد همزمان باکتری‌ها نشان داد که ترکیب *A.brasilenseDSM1690* و *P.fluorescens* DSM

50090 (تیمار A_3P_4) بیشترین و شاهد کمترین مقدار وزن خشک دانه را تولید نمودند (به ترتیب 271 و 109 گرم در بوته). نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار A_1P_4 بیشترین تأثیر را بر وزن صد دانه در بوته‌های ذرت داشت و مقدار این صفت را 44/8 درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد (جدول2). براساس نتایج این آزمایش مشخص شد که اثرکاربرد منفرد دو باکتری بر تعداد دانه در بوته معنی دار نبود (جدول1). اما این صفت به طور معنی داری تحت تأثیر کاربرد توأم باکتری‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس قرار گرفت ($p<0/01$). بیشترین تعداد دانه از ترکیب *P.putida* strain R-168 و *A.lipoferum*DSM1691 (تیمار A_2P_2) بدست آمد (81/4 درصد افزایش در مقایسه با شاهد - جدول2). Carlier et al. (2008) نشان دادند که تلقیح گندم با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند سبب افزایش 6 درصدی وزن هزار دانه، 13 درصدی تعداد سنبله و 30 درصدی تعداد دانه در هر سنبله شود. مطالعات محققین دیگر نیز نشان دادکه باکتری‌های ریزوسفری سبب افزایش رشد و عملکرد ذرت می‌شود (Egamberdiyeva, 2007). Zaied et al. (2007) اظهار داشتند که سویه‌های آزوسپیریلوم می‌توانند با ترشح هورمون‌های گیاهی شرایط مناسبی برای رشد ذرت فراهم آورند. Shaharoona et al. (2006) با مطالعه اثر سویه‌های مختلف سودوموناس بر رشد ذرت و در شرایط مختلف کودی نشان دادند که سویه‌های مختلف این باکتری می‌توانند وزن خشک بلال را با توجه به میزان کود نیتروژن بین 15/2 تا 19/7 درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهند. افزایش میزان تولید در گیاهان می‌تواند در نتیجه توانایی باکتری‌ها در حذف عوامل بیماریزای خاکزی، تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مانند جیبرلینها، سیتوکینین‌ها و اکسین، افزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی و توسعه سیستم ریشه‌ای به منظور دستیابی بیشتر به منابع آب و مواد غذایی باشد Rudresha et al., 2005).

جذب عناصر غذایی : نتایج تجزیه واریانس عناصر غذایی در دانه ذرت در جدول 3 آمده است. نتایج نشان داد که تأثیر سطوح آزوسپیریلوم و سودوموناس بر مقدار نیتروژن در دانه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بیشترین میزان نیتروژن در دانه از تلقیح با سویه‌های *A.brasilense* DSM1690 (به میزان 5/78 گرم در کیلوگرم دانه) بدست آمد که 35/8 درصد بیشتر از مقدار نیتروژن در بوته‌های شاهد بود (جدول4). بیشترین مقدار نیتروژن در دانه در بین سویه‌های سودوموناس از تلقیح با باکتری *P.putida* strainR-168 و کمترین مقدار از شاهد بدست آمد (به ترتیب به میزان 6/46 و 3/97 گرم در کیلوگرم). تلقیح توأم باکتری‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس بر مقدار نیتروژن در دانه ذرت معنی دار نبود (جدول3). Baldani et al. (1987) در سه آزمایش مزرعه‌ای نشان دادند که بیشترین میزان نیتروژن در اندامهای هوایی و دانه از تلقیح گندم با باکتری *A. brasilense* Sp245 حاصل شد. برخی محققین معتقدند افزایش میزان نیتروژن و عملکرد دانه به سه دلیل عمده شامل ترشح انواع هورمون‌ها که سبب افزایش رشد ریشه و جذب نیتروژن از خاک می‌شود (De Salomone&Dobereiner,1996)، تأثیر بر جذب NO_3^- با احیاء این ترکیب توسط باکتری‌ها در ناحیه ریشه (Ferreira et al,1987) و در نهایت از طریق تثبیت N_2 (Okon *et al*,1983) صورت می‌گیرد.

اثر تلقیح با سویه‌های آزوسپیریلوم بر مقدار فسفر دانه معنی دار نبود (جدول3). اما سویه‌های سودوموناس مقدار فسفر دانه را به طور معنی داری ($p<0/01$) افزایش دادند. در بین سویه‌های سودوموناس بیشترین مقدار فسفر دانه از تلقیح با *P. putida* strain R-168 حاصل شد که 54/3 درصد بیشتر از مقدار آن در شاهد بود (جدول4). اثر کاربرد توأم سویه‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس بر مقدار فسفر دانه معنی دار بود (جدول 3). بیشترین میزان فسفر دانه به میزان 0/98 گرم در کیلوگرم وزن خشک دانه از کاربرد همزمان *P.fluorescens* DSM 50090 × A. brasilense DSM 1690 (تیمار A_3P_4) و کمترین مقدار (0/31 گرم در کیلوگرم وزن خشک در دانه) از شاهد بدست آمد (جدول4). تأثیر مثبت تلقیح با باکتری بر مقدار فسفر و وزن خشک دانه می‌تواند در نتیجه توانایی سویه‌های مورد بررسی در این آزمایش بر انحلال فسفات‌های غیرمحلول و یا تولید انواع مختلفی از هورمون‌های گیاهی باشد. مطالعات نشان داده‌اند باکتری‌های PGPR می‌توانند با استفاده از روش‌هایی چون اسیدیفیکاسیون، تشکیل کلات و انواع واکنش‌های تبادلی، فسفات نامحلول را به فرم محلول درآورند(Bhattacharya, 1986).

مقدار پتاسیم در دانه به طور معنی داری ($p<0/01$) تحت تأثیر سویه‌های آزوسپیریلوم قرار گرفت. میزان پتاسیم در سویه‌های *A.brasilense* DSM1690 و *A. lipoferum* DSM1691 با مقدار 0/73 گرم در کیلوگرم با مقدار این عنصر در شاهد(0/59 گرم در کیلوگرم) اختلاف معنی دار نشان داد (جدول4). اثر باکتری سودوموناس بر مقدار پتاسیم در دانه معنی دار نبود (جدول3). مقدار پتاسیم در دانه به طور معنی داری تحت تأثیر تلقیح توأم دو باکتری قرار گرفت (جدول3). تأثیر سطوح مختلف تیمارهای تلقیحی بر میزان پتاسیم دانه ذرت سبب شد تا میزان این عنصر 106 تا 178 درصد در مقایسه با شاهد افزایش یابد (جدول4). نتایج تجزیه واریانس آزمایش نشان داد اثر عامل آزوسپیریلوم بر مقدار آهن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار بود(جدول 3). بیشترین مقدار آهن در دانه به میزان 13/29 میلی گرم در کیلوگرم از تلقیح توسط سویه‌های *A.brasilense* DSM1690 وکمترین مقدار از شاهد (10/24 میلی‌گرم در کیلوگرم) بدست آمد (جدول 4). تأثیر کاربرد سو یه‌های سودوموناس بر مقدار آهن در دانه معنی دار بود ($p<0/01$). مقایسات میانگین نشان داد که بیشترین مقدار آهن دانه از تلقیح با باکتری

P. putida strain R-168 و کمترین میزان از بوته‌های شاهد بدست آمد (به ترتیب با مقادیر 14/36 و 9/61 میلی گرم در کیلوگرم). نتایج نشان داد اثر تلقیح توأم سویه‌های سودوموناس و آزوسپیریلوم بر مقدار آهن در دانه ذرت در سطح 5 درصد معنی دار بود(جدول3). براساس مقایسات میانگین در جدول 4 به جز تیمار A_1P_3 سایر تیمارهای تلقیحی مقدار آهن دانه را در مقایسه با شاهد به طور معنی‌دار افزایش دادند. محققین نشان دادند سویه هایی از *Azotobacter*، *Pseudomonas* و *Bacillus* توانایی تولید ترکیبی به نام سیدروفور دارند. سیدروفورها کلاتها یا ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین و با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای کمپلکس شدن با برخی کاتیونها از جمله آهن هستند. گیاهان می‌توانند از سیدروفورهای تولید شده توسط باکتری‌ها به عنوان عاملی برای تأمین آهن مورد نیاز خود استفاده کنند(Ahmad et al, 2006).

هرچند سویه‌های باکتری آزوسپیریلوم مقدار روی در دانه را در مقایسه با شاهد افزایش دادند ولی این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود و مقدار این عنصر تحت تأثیر تلقیح با سویه‌های آزوسپیریلوم قرار نگرفت (جدول3). اثر تلقیح با باکتری سودوموناس بر مقدار روی دانه در سطح احتمال 5 درصد معنی دار بود (جدول 3). مقایسات میانگین نشان داد بیشترین مقدار روی از تلقیح بذور ذرت با سویه *P.putida* strain R-168 (به میزان 7/67 میلی گرم در کیلوگرم) و کمترین مقدار از شاهد (به مقدار 5/17 میلی گرم در کیلوگرم) بدست آمد (جدول4). مطالعه اثر تلقیح منفرد و توأم *Azotobacter* و قارچ *Glomus* بر رشد و غلظت عناصر در گوجه فرنگی نشان داد که غلظت روی در گیاه تنها درترکیب *Azotobacter + Glomus* در مقایسه با شاهد افزایش یافت. اثر سینرژیستی این دو میکروارگانیسم سبب شد تا علاوه بر میزان روی، بیشترین وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه حاصل شود (Bagyaraj et al, 1987).

نتایج تجزیه واریانس آزمایش نشان داد اثر باکتری آزوسپیریلوم بر مقدار مس در دانه در سطح احتمال 5 درصد معنی دار بود (جدول 3). براساس مقایسات میانگین در جدول 4 بیشترین مقدار مس در دانه از تلقیح بذور با سویه‌های *A.brasilense* DSM1690 (به مقدار2/52 میلی گرم در کیلوگرم) بدست آمد که با شاهد (به میزان 1/62 میلی گرم در کیلوگرم دانه) اختلاف معنی دار نشان داد. اثر تلقیح توسط باکتری سودوموناس بر مقدار مس دانه معنی دار بود (جدول3). بیشترین مقدار مس در دانه از کاربرد باکتری *P.fluorescens* DSM 50090 و کمترین میزان از شاهد حاصل شد (به ترتیب با مقادیر 2/70 و 1/55 میلی گرم در کیلوگرم). مطالعه اثر سویه‌های مختلف آزوسپیریلوم بر مقدار یونهای موجود در بافت‌های گندم و سویا نشان داد که سویه‌های *A.brasilense* قادرند مقادیر یون‌های مختلف را در بافت‌های گیاهان تغییر داده و بر تعادل موجود بین یونها موثر باشند. بر این اساس باکتری‌ها بر مقدار یون‌هایی مانند K^+ , Mg^{2+}, P, Ca^{2+} Fe^{2+}, S, B تأثیر مثبت داشته ولی بر مقدار یون‌های Na^+ ، Mn^{2+}، Cu^{2+} و Zn^{+2} تأثیری نداشتند(Bashan et al., 1990).

در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش رشد ومیزان عناصر غذایی در دانه شد. این افزایش عمدتا به دلیل تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آنها بر رشد ریشه بوده که جذب آب و مواد غذایی را از خاک بهبود می‌بخشد (Egamberdiyevaa *et al*, 2003). بنظر می‌رسد که افزایش در میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه می‌تواند منجر به افزایش تجمع ماده خشک و مواد معدنی در ساقه‌ها و برگهای گیاه شود. به این ترتیب در طول دوره زایشی مواد معدنی تجمع یافته می‌توانند به اندامهای زایشی منتقل و در نهایت منجر به افزایش عملکرد شوند.

جدول 1- تجزیه واریانس صفات زراعی در ذرت

Table1- Analysis of variance of agronomic traits for maize

		میانگین مربعات (MS)				
منابع تغییر SOV	درجه آزادی Df	وزن خشک کل بوته TDM	وزن خشک بلال EDM	وزن خشک دانه SDM	وزن 1000 دانه 100DM	تعداد دانه در بوته Number of seed per plant
بلوک (R)	2	1838.3 ^{ns}	814.23 ^{ns}	797.07 ^{ns}	4.793 ^{ns}	6609.37 ^{ns}
آزوسپیریلوم (A)	2	20157.4**	11887.9**	7789.10**	22.743*	29941.63 ^{ns}
سودوموناس (P)	4	9129.49**	5139.99*	3283.78*	17.014*	27697.80 ^{ns}
A×P	8	7328.99**	5.12.12**	4120.21**	24.156**	45899.9**
خطا (E)	28	2176.15	1487.41	1206.43	5.891	10265.24

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

** : P<0.01, * : P<0.05, ns: non-significan

جدول2- میانگین اثرات متقابل سطوح آزوسپیریلوم و سودوموناس بر صفات زراعی در ذرت

Table2- Interaction effects of *Azospirillum* and *Pseudomonas* on agronomic traits.

تیمار Treatment	وزن خشک کل بوته TDM (g per plant)	وزن خشک بلال EDM (g per plant)	وزن خشک دانه SDM (g per plant)	وزن 1000 دانه 100DM (g)	تعداد دانه در بوته Number of seed per plant
A_1P_1	193.0b	1333.7b	109.0b	21.41c	209.6d
A_2P_1	389.0a	281.0a	231.1a	28.41ab	814.8abc
A_3P_1	356.0a	259.6a	205.0a	29.99ab	685.5abcd
A_1P_2	340.7a	241.4a	195.2a	25.84abc	761.4abcd
A_1P_3	351.9a	267.2a	226.4a	2435.abc	867.4abc
A_1P_4	355.5a	258.3a	203.6a	31.00a	769.6abc
A_1P_5	331.2a	235.2a	190.6ab	30.31ab	616.9cd
A_2P_2	442.7a	321.7a	264.2a	28.67ab	924.4a
A_2P_3	321.4a	229.8a	186.9ab	26.35ab	707.6abcd
A_2P_4	345.7a	241.7a	187.3ab	28.74ab	652.0bcd
A_2P_5	352.6a	261.1a	221.2a	26.90abc	826.4abc
A_3P_2	404.4a	298.2a	239.5a	30.55ab	784.4abc
A_3P_3	360.8a	252.3a	202.8a	29.22ab	694.8abcd
A_3P_4	428.7a	323.3a	271.3a	29.97ab	905.1ab
A_3P_5	367.6a	271.6a	224.7a	25.51abc	826.3ab

حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن می‌باشد

A_1 :Control ،A_2: *A. lipoferum* DSM 1691 ،A_3: *A. brasilense* DSM 1690 و P_1: شاهد، P_2:*P. putida* strain R-168 ،P_3: *P. fluorescens* strain R-93 ، P_4 : *P. fluorescens* 50090، P_5 : *P. putida* DSM 291

جدول 3- تجزیه واریانس مقدار عناصر غذایی در دانه ذرت تحت تأثیر عوامل آزمایش

Table3: Analysis of variance of seed nutrient content of maize.

منابع تغییر SOV	درجه آزادی Df	میانگین مربعات					
		نیتروژن (N)	فسفر (P)	پتاسیم (K)	آهن (Fe)	روی (Zn)	مس (Cu)
بلوک (R)	2	2.215^{ns}	0.015^{ns}	0.036^{ns}	4.291^{ns}	0.287^{ns}	0.203^{ns}
آزوسپیریلوم (A)	2	10.167^{**}	0.071^{ns}	0.101^{**}	45.423^{*}	6.428^{ns}	3.192^{*}
سودوموناس (P)	4	7.464^{**}	0.104^{**}	0.034^{ns}	41.948^{**}	7.702^{*}	2.010^{*}
A×P	8	3.183^{ns}	0.069^{*}	0.064^{**}	22.857^{*}	3.241^{ns}	1.484^{ns}
خطا (E)	28	1.608	0.024	0.017	9.968	2.567	0.695

**، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی دار ** : P<0.01, * : P<0.05, ns: non-significan

جدول4- میانگین سطوح آزوسپیریلوم و سودوموناس و اثرات متقابل آنها برعناصر غذایی در دانه ذرت

Table4- Interaction effects of *Azospirillum* and *Pseudomonas* on seed nutrient content.

مس Cu ($g.kg^{-1}$)	روی Zn ($g.kg^{-1}$)	آهن ($g.kg^{-1}$) Fe	پتاسیم K ($g.kg^{-1}$)	فسفر P ($g.kg^{-1}$)	نیتروژن N ($g.kg^{-1}$)	تیمار Treatment
						Azospirillum
1.62b	5.49	10.24b	0.59b	0.58	4.25b	A_1
2.25a	6.53	13.22a	0.73a	0.65	5.55a	A_2
2.52a	6.70	13.29a	0.73a	0.72	5.78a	A_3
						Pseudomonas
1.55c	5.17b	9.61b	0.59	0.52b	3.97b	P_1
2.45ab	7.67a	14.36a	0.76	0.80a	6.46a	P_2
2.16abc	5.76b	10.29ab	0.70	0.65ab	4.81ab	P_3
2.70a	6.37ab	13.84ab	0.71	0.71ab	5.39.ab	P_4
1.78bc	6.23ab	13.15ab	0.65	0.59ab	5.36ab	P_5
1.08	3.03	3.75c	0.33b	0.31d	2.44	A_1P_1
1.43	6.08	11.91ab	0.80a	0.67bc	5.27	A_2P_1
2.13	6.41	13.15a	0.64ab	0.57cd	4.19	A_3P_1
1.71	6.86	12.47ab	0.60ab	0.74abc	5.22	A_1P_2
1.86	5.83	6.72bc	0.80a	0.75abc	5.04	A_1P_3
2.11	6.60	13.66a	0.62ab	0.62bc	5.17	A_1P_4
1.32	5.12	13.60a	0.60ab	0.49cd	3.40	A_1P_5
3.81	8.48	17.14a	0.92a	0.89ab	7.79	A_2P_2
2.30	5.93	12.72ab	0.58ab	0.58cd	4.15	A_2P_3
2.18	5.13	12.39ab	0.66ab	0.53cd	4.49	A_2P_4
1.52	7.04	11.93ab	0.68a	0.58cd	6.37	A_2P_5
1.83	7.67	12.47ab	0.74a	0.75abc	6.66	A_3P_2
2.33	5.51	11.42ab	0.72a	0.61bc	5.23	A_3P_3
3.80	7.36	15.47a	0.87a	0.98a	6.50	A_3P_4
2.49	6.53	13.91a	0.68a	0.69bc	6.32	A_3P_5

حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن می‌باشد

Similar letters at each column explain non significancy based on Duncan examination.

A_1 :control ،A_2: *A. lipoferum* DSM 1691 ،A_3: *A. brasilense* DSM 1690 و P_1: شاهد، P_2:*P. putida* strain R-168 ،P_3: *P. fluorescens* strain R-93 ، P_4 : *P. fluorescens* 50090، P_5 : *P. putida* DSM 291

منابع

1- Ahmad, F., Ahmad, I., Khan, M.S., 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbial. Res. 36:1-9.

2- Bagyaraj, D.J., Menge, J.A., 1978. Interaction between a VA mycorrhiza and *Azotobacter* and their effects on rhizosohere microflora and plant growth. New Phytol. 80: 567-573.

3- Baldani, V.L.D., Alvarez, M.A.B., 1987.Establishment inoculated *Azospirillum* Spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. Plant Soil. 90: 35-45.

4- Bashan, Y., Holguin, G., 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances. Can. J. Microbiol. 43: 103-121.

5- Bashan, Y., Holguin, G., de-Bashan, L., 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances. Can. J. Microbiol. 50: 521–577.

6- Bashan, Y., Harrison, S.K., Whitmoyer, R.E., 1990. Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with *Azospirillum brasilense* is not necessarily due to general enhancement of mineral uptake. Appl. Environ. Microbiol. 56(3): 769-775.

7- Carlier**,** E**.**, Rovera, M., Jaume, A. R., Rosas, S. B., 2008. Improvement of growth, under field conditions, of wheat inoculated with *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *Aurantiaca*. World. J. Microbiol. Biotech. 24(11): 2653-2658.

8- De Salomone, G., Dobereiner, J., 1996. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. Biol. Fertil. Soils. 21: 193-196.

9- Egamberdiyeva, D., 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. Appl. Soil. Eco. 36: 184-189.

10- Egamberdiyevaa, D., Hoflich. G., 2003. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. Soil Biol. Biochem. 35: 973–978.

11- Ferreira, M.C.B., Fernandes, M.S., Dobereiner, J., 1987. Role of *Azospirillum brasilense* nitrate reductase in nitrate assimilation by wheat plants. Biol. Fertil. Soils. 4: 47-53.
12- Fulchieri, M., Frioni,L., 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays*): effect on yield in a field experiment in central Argentina. Soil biol. biochem.26: 921-923.
13- Glick, B.R., Penrose, D., Wendo, M., 2001. Bacterial promotion of plant growth. Biotech. adv. 19:135-138.
14- Glick, B. R., Liu ,C., Ghosh, S., Dumbroff, E. B., 1997. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Soil Biol. Biochem. 29: 1233–1239.
15- Okon, Y., Heytler, P.G., Hardy, R.W.F., 1983. N_2 fixation by *Azospirillum brasilense* and its incorporation into host *Setaria italica.* Appl.Environ. Microbiol. 46: 694-697.
16- Piao, Z., Cui, Z., Yin, B., Hu, J., Zhou, C., Xie, G., Su, B., Yin, S., 2005. Changes in acetylene reduction activities and effects of inoculated rhizosphere nitrogen-fixing bacteria on rice. Biol. Fertil. Soils.41: 371–378.
17- Rudresha, D.L., Shivaprakasha, M.K., Prasad, R.D., 2005. Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.).Appl. Soil. Eco. 28:139–146.
18- Saatovich, S.Z., 2006. *Azospirilli* of Uzbekistan soils and their influence on growth and development of wheat plants. Plant & Soil. 283:137-145.
19- Sharaan, A. N., El-Samie, F.S.A., 1999. Response of wheat varieties to some environmental influences. 1. Effect of seeding rates and N fertilization levels on growth and yield of two wheat varieties (*Triticum aestivum* L.). Ann. Agric. Sci. 44: 589–601.
20- Siddiqui,I. A., Shaukat, S. S., 2002. Mixtures of plant disease suppressive bacteria enhance biological control of multiple tomato pathogens. Biol. Fertil. Soil. 36: 260–268.
21- Wue, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., Wong, M. H., 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125: 155–166.
22- Yasari, E., Patwardhan, A.M., 2007. Effects of *Aztobacter* and *Azospirillium* inoculations and chemical fertilizers on growth and productivity of Canola. Asi. J. Plant. Sci. 6:77-82.
23- Zaied, K.A., Abd El-Hady, A.H., Sharief, A.E., Ashour, E.H., Nassef, M.A., 2007. Effect of Horizontal DNA Transfer in *Azospirillum* and *Azotobacter* Strains on Biological and Biochemical Traits of Non-legume Plants. J. Appl. Sci. Res. 3(1): 73-86.

Journal of Agroecology
Vol. 1, No. 1, Fall 2009, p. 25-32

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد 1، شماره 1، پاییز 1388، ص. 32-25

The effects of co-inoculation of *Azospirillum* and *Pseudomonas* rhizobacteria on nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.)

S. Nezarat[*] and A. Gholami[1]

Abstract

Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) has been identified as an alternative to chemical fertilizer to increase soil fertility and crop production in sustainable agriculture. The objective of this study was to investigate the effects of single and co-inoculation of *Azospirillum* and *Pseudomonas* strains on plant growth and nutrient uptake of maize as a factorial experiment. Treatments included control, *Azospirillum lipoferum* DSM 1691, *A.brasilense* DSM 1690, *Pseudomonas putida* strain R-168, *P.fluorescens* strain R-93, *P.fluorescens* DSM 50090 and *P.putida* DSM291. Bacterial treatment significantly increased shoot, ear and seed dry weight, 100 seed weight and number of seeds per ear. Plants nutrient uptake of N, P, K, Fe and Cu were also significantly influenced by application of PGPR(s). Also, the experimental results show that inoculation consortia apparently work better when different bacteria were combined with each other.

Keywords: Maize, PGPR, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, Nutrient uptake.

1- A Contribution from Agricultural Research station of Shahrood and Industrial University of Shahrood
(* - Corresponding author Email: gholami@shahroodut.ac.ir)