



بررسی اثر باکتری های *Azotobacter*، *Pseudomonas* و *Azospirillum* بر فرایند تثبیت نیتروژن در گیاه یاس هلندی (*ligustrum texanum*) در شرایط گلخانه

محمد رضا غلامیان کیسمی^{۱*}، مریم جلالی^۲، افشین بهروز^۳

۱- رئیس اداره فضای سبز شهرداری منطقه ۱۱ mohammadreza.gholamian362@gmail.com

۲- مسئول مرکز تحقیقات، آموزش و مشاوره فضای سبز شهرداری منطقه ۱۱ mrs. Maryam.jalali@gmail.com

۳- کارشناس مرکز تحقیقات، آموزش و مشاوره فضای سبز شهرداری منطقه ۱۱ Afshinbehrooz1989@gmail.com

خلاصه

باکتری‌های محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria - PGPR) گروهی از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی هستند که در ناحیه ریزوسفر یا اطراف ریشه زندگی می‌کنند و از طریق مکانیسم‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سبب بهبود رشد، عملکرد و مقاومت گیاهان می‌شوند. این باکتری‌ها با کاهش نیاز به نهاده‌های شیمیایی، به حفظ پایداری محیط زیست و توسعه کشاورزی پایدار کمک شایانی می‌کنند. تثبیت نیتروژن یکی از فرایندهای مهم در چرخه نیتروژن است که طی آن گاز نیتروژن به آمونیاک، نیترات یا نیتريت تبدیل می‌شود. با وجود اینکه ۷۸٪ حجم هوا از مولکول نیتروژن تشکیل شده است، منبع مناسبی برای تامین نیتروژن لازم در سنتز ترکیبات آلی به وسیله گیاه نمی‌باشد. بدین جهت طرح تحقیقاتی در مرکز تحقیقات، آموزش و مشاوره شهرداری منطقه ۱۱ با استفاده از سویه های *Azotobacter*، *Pseudomonas* و *Azospirillum* از باکتری های تثبیت کننده نیتروژن در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار بر روی درختچه یاس هلندی در شرایط گلخانه ای طراحی و اجرا گردید. بمنظور بررسی غلظت نیتروژن تثبیت شده در بستر خاکی و برگ ها، درختچه ها تا ۹۰ روز تحت مطالعه بودند. اندازه گیری نیتروژن نمونه های برگ و خاک به روش کج‌دال، محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS و آزمون مقایسه میانگین ها با استفاده از روش LSD انجام گرفت. نتایج حاصل از آنالیز آماری داده ها نشان داد مقادیر نیتروژن در بین نمونه های خاک و نیز در بین نمونه های برگ در سطح ۱ درصد اختلاف معنی دار داشته و روند تغییرات نیتروژن در نمونه های خاک کلیه تیمارها با افزایش میزان مایع تلقیح به صورت کاهشی بوده در صورتی که در نمونه های برگ این روند افزایشی می باشد که نشان دهنده تبدیل نیتروژن در خاک به فرم قابل دسترس و افزایش جذب توسط گیاه می باشد. همچنین مقایسات میانگین داده ها نشان داد روند تغییرات نیتروژن کل در نمونه خاکی و نمونه برگی در بین تیمارهای t1 (حاوی ۱۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) و تیمار t4 (شاهد بدون مایع تلقیح) اختلاف معنی داری وجود ندارد به این معنا که استفاده از مایه تلقیح به میزان ۱۰۰ میلی لیتر اثر چندانی در جذب نیتروژن در نمونه های برگی نداشته است. در حالی که وجود اختلاف معنی دار بین تیمار t2 (حاوی ۲۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) و تیمار t3 (حاوی ۳۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) با شاهد بیانگر تاثیر قابل توجه باکتری های مذکور در فرایند تثبیت و جذب نیتروژن می باشد. همچنین عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای t2 و t3 حاکی از آن است که با افزایش مایه تلقیح از ۲۰۰ میلی لیتر به ۳۰۰ میلی لیتر افزایش چندانی در افزایش غلظت نیتروژن برگ نداشته و استفاده از مقادیر بالاتر از ۲۰۰ میلی لیتر مایه تلقیح صرفه اقتصادی ندارد.

کلمات کلیدی: ازتوباکتر، سودوموناس، آزوسپیریلیوم، تثبیت نیتروژن، PGPR



۱. مقدمه

ظرف چند دهه اخیر تلاش برای افزایش تولید در واحد سطح پیامدهایی از جمله مصرف زیاد و نامتعادل کودهای شیمیایی را به همراه داشته است که علاوه بر افزایش هزینه تولید اثرات زیست محیطی مخربی را به همراه دارد که این مهم، ضرورت تجدیدنظر در شیوه های افزایش تولید محصول را گوشزد می کند. جایگزینی تدریجی کودهای شیمیایی خصوصاً کودهای نیتروژنه، فسفات و پتاسه با کودهای زیستی به دلیل مزایای نسبی این کودها می تواند بار سنگین یارانه را از دوش دولت برداشته و گامی موثر در جهت شکوفایی اقتصاد کشور به حساب آید. بنابراین درک عمیق سازوکارها و پتانسیل بیوتکنولوژیک باکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) برای فرموله کردن کودهای زیستی مؤثر و جایگزینی عملی کودهای شیمیایی ضروری است.

مصرف کودهای زیستی بدون نگرانی از اثرات سوء زیست محیطی غالباً موجب بهبود شرایط فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک ها شده و افزایش حاصلخیزی و باروری اراضی و نهایتاً توسعه کشاورزی پایدار به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک را بدنبال خواهد داشت [آروند و سهرابی، ۱۴۰۱]، [Anli. et al., 2020; Mathur and Roy, 2021]. باکتری های محرک رشد گیاه که در ناحیه ریزوسفر (فضای اطراف ریشه که تحت تأثیر ترشحات ریشه قرار دارد) سکونت دارند، نقش محوری در اکوسیستم خاک ایفا می کنند. این میکروارگانیسم ها علاوه بر کمک به جذب عنصری خاص موجب جذب سایر عناصر غذایی، کاهش بیماری ها و بهبود ساختمان خاک و در نتیجه تحریک بیشتر رشد گیاهان و افزایش کمی و کیفی محصول می شوند [نظارت و غلامی، ۱۳۹۰].

[Meena et al., 2017; Anli et al., 2020; Moradzadeh. et al., 2021]

تنوع ژنتیکی در میان PGPR ها بسیار زیاد است و شامل گونه های گرم مثبت و گرم منفی می شود. برخی از مهم ترین جنس ها که در کشاورزی تجاری و تحقیقاتی مورد استفاده قرار می گیرند *Pseudomonas*، *Azotobacter* و *Azospirillum* می باشد. ازتوباکتر و آزوسپریلیوم از موثرترین باکتری های تثبیت کننده نیتروژن و جزو میکروارگانیسم های همزیست با ریشه محسوب می گردند. این باکتری ها، ازت (Symbiosis) موجود در اتمسفر را که به طور مستقیم برای گیاهان قابل استفاده نمی باشد، احیا کرده و به صورت آمونیوم در اختیار گیاه قرار می دهند. همچنین سودوموناس به عنوان مهمترین باکتری حل کننده فسفات، از طریق تولید و ترشح اسیدهای آلی به ویژه اسید اگزالیک و اسید سیتریک، در حلالیت فسفات های معدنی کم محلول و با تولید آنزیم های فسفاتاز در آزاد شدن فسفر از ترکیبات آلی فسفره نقش مهمی ایفا میکنند [پژوهان، جعفر؛ بینالی چوماکلی و سادات سوراوغلو و زهرا بادامچی، ۱۳۹۷]، [کریمی سرنوایی، مریم؛ عبدالحسین رضایی نژاد و صادق موسوی فرد و حسین میرزایی نجف قلی و فرهاد بیرانوند، ۱۴۰۳].

2. مواد و روش ها

این تحقیق به منظور بررسی اثر باکتری های ازتوباکتر، سودوموناس و آزوسپریلیوم بر مولفه های رشد از جمله وضعیت ظاهری (رشد شاخساره و تراکم ریشه) و بررسی غلظت نیتروژن جذب شده در برگ درختچه یاس هلندی و غلظت نیتروژن در خاک در گلخانه مرکز تحقیقات، آموزش و مشاوره فضای سبز شهرداری منطقه ۱۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار به اجرا درآمد. در آزمایشگاه مرکز تحقیقات باکتری ها کشت داده شد و به نسبت مساوی با هم ترکیب و مایع تلقیح به دست آمد. تلقیح تیمارها در ۴ سطح، سطح اول (t1) : حاوی ۱۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح، سطح دوم (t2) : حاوی ۲۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح، سطح سوم (t3) : حاوی ۳۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح و سطح چهارم (t4) : بدون تلقیح (شاهد) در نظر گرفته شد. تعداد ۱۲ گلدان درختچه یاس هلندی ۲ ساله به صورت تصادفی با صفات ظاهری مشابه از خزانه گلخانه



انتخاب و باکتری ها به خاک گلدان ها تلقیح شد. بعد از گذشت ۹۰ روز از خاک محیط ریزوسفر ریشه و برگ درختچه ها جهت اندازه گیری نیتروژن نمونه تهیه و نیتروژن خاک و برگ به روش کج‌لدال اندازه گیری شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS و آزمون مقایسه میانگین ها با استفاده از روش LSD انجام گرفت.

۳. نتایج و بحث

براساس نتایج حاصل از آنالیز آماری داده ها میزان سنجش نیتروژن در بین نمونه های خاک و نیز در بین نمونه های برگ در سطح ۱ درصد معنی دار شده است (جدول ۱)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس

مجموع مربعات		
منابع تغییر	نمونه خاک	نمونه برگ
درصد نیتروژن کل	۰/۰۲۲**	۰/۲۸۶**
خطا	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶
ضریب تغییرات (%)	۳/۲	۴/۱
**معنی داری در سطح ۱ درصد *معنی داری در سطح ۵ درصد		

با توجه به جدول شماره ۲ و بررسی مقایسات میانگین نیتروژن کل، مشاهده می گردد روند تغییرات نیتروژن در نمونه های خاک کلیه تیمارها با افزایش میزان مایع تلقیح از ۱۰۰ میلی لیتر در تیمار t1 تا ۳۰۰ میلی لیتر در تیمار t3 نسبت به شاهد به صورت کاهشی بوده در صورتی که در نمونه های برگ این روند افزایشی می باشد که با مقایسه این دو روند می توان نتیجه گرفت در اثر فعالیت این باکتری ها نیتروژن در خاک به فرم قابل دسترس تبدیل شده و غلظت آن در نمونه خاکی کاهش پیدا کرده و در مقابل جذب نیتروژن در نمونه های برگ افزایش یافته است.

با انجام مقایسات میانگین به روش LSD مشاهده شد روند تغییرات نیتروژن کل در نمونه خاکی و نمونه برگ در بین تیمارهای t1 (حاوی ۱۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) و تیمار t4 (شاهد بدون مایع تلقیح) اختلاف معنی داری وجود ندارد به این معنا که استفاده از مایه تلقیح به میزان ۱۰۰ میلی لیتر اثر چندانی در جذب نیتروژن در نمونه های برگ نداشت. در حالیکه وجود اختلاف معنی دار بین تیمار t2 (حاوی ۲۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) و تیمار t3 (حاوی ۳۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) با شاهد بیانگر تاثیر قابل توجه باکتری های مذکور در فرایند تثبیت و جذب نیتروژن می باشد.

با مقایسه روند تغییرات نیتروژن در تیمار t2 (حاوی ۲۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) و تیمار t3 (حاوی ۳۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) اختلاف معنی داری مشاهده نشد که این موضوع بیانگر آن است که افزایش مایه تلقیح در تیمارها از ۲۰۰ میلی لیتر به ۳۰۰ میلی لیتر باعث افزایش چندانی در غلظت نیتروژن برگ نشده است و استفاده از مقادیر بالاتر از ۲۰۰ میلی لیتر مایه تلقیح صرفه اقتصادی ندارد.



جدول ۲ - نتایج مقایسات میانگین نیتروژن کل در نمونه خاک و برگ گیاه یاس هلندی، حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است.

تیمارها	Nt1 %	Nt2 %	Nt3 %	Nt4 %
نمونه خاک	۰/۳۵ ^d	۰/۲۷ ^c	۰/۲۵ ^c	۰/۳۴ ^d
نمونه برگ	۰/۴۵ ^b	۰/۷۷ ^a	۰/۸۲ ^a	۰/۵۴ ^b

با بررسی ظاهری گلدان های مورد آزمایش و مقایسه تیمارهای تلقیح شده با تیمار شاهد در اثر فعالیت این باکتری ها حجم قابل توجهی ریشه در گلدان مشاهده شد. در تصویر زیر ریشه دوانی در تیمار t3 (حاوی ۳۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) با تیمار t4 (شاهد بدون تلقیح) مقایسه شده است. بیشترین حجم ریشه دوانی در تیمار t3 مشاهده شد.



شاهد



t2

تصویر ۱ - نمایش و مقایسه گسترش ریشه در تیمار شماره ۲ (حاوی ۲۰۰ میلی لیتر مایع تلقیح) و تیمار شاهد (بدون تلقیح)



مراجع

۱. آروند، مونا و سهرابی، یوسف، ۱۴۰۱، تاثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر برخی پاسخ های فیزیولوژیک و عملکرد سیاهدانه تحت سطوح مختلف آبیاری، <https://civilica.com/doc/1570920>
۲. Anli, M., Baslam, M., Tahiri, A., Raklami, A., Symanczik, S., Boutasknit, A. and Meddich, A. (2020) Biofertilizers as strategies to improve photosynthetic apparatus, growth, and drought stress tolerance in the date palm. *Frontiers in Plant Science* 11.
۳. Mathur, P. and Roy, S. (2021) Insights into the plant responses to drought and decoding the potential of root associated microbiome for inducing drought tolerance. *Physiologia Plantarum* 172 : 1016 -1029.
۴. نظارت، سمیه، و غلامی، احمد. (۱۳۹۰). بررسی تاثیر باکتری های محرک رشد گیاه (*Pseudomonas Azospirillum*) بر رشد و عملکرد گیاه ذرت (*Zea mays L.*). پژوهش های کاربردی زراعی (پژوهش و سازندگی)، ۲۴ (پیاپی ۹۱)، ۴۴-۵۱. [SID. https://sid.ir/paper/214778/fa](https://sid.ir/paper/214778/fa)
۵. Meena, V. S., Meena, S. K., Verma, J. P., Kumar, A., Aeron, A., Mishra, P. K. and Dotaniya, M. L. (2017) Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: A review. *Ecological Engineering* 107: 8-32.
۶. پژوهان، جعفر و چوماکلی، بینالی و سوراوغلو، سادات و بادامچی، زهرا، ۱۳۹۷، بررسی تاثیر باکتری های *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas* بر صفات مورفولوژیکی و کیفی برخی از گیاهان داروئی مهم ایران، سومین همایش ملی کشت ارگانیک و ازدیاد گیاهان داروئی، ارومیه، <https://civilica.com/doc/922648>
۷. کریمی سرنوویی، مریم و رضایی نژاد، عبدالحسین و موسوی فرد، صادق و میرزایی نجفقلی، حسین و بیرانوند، فرهاد، ۱۴۰۳، تاثیر باکتری های محرک رشد *Pseudomonas putida* و *Curtobacterium sp. Strain wlu* بر رشد و اسانس گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita L.*) تحت شرایط تنش کم آبیاری، <https://civilica.com/doc/2162631>
۸. Moradzadeh, S., Siavash Moghaddam, S., Rahimi, A., Pourakbar, L., El Enshasy, H. A. and Sayyed, R. Z. (2021) Biochemical fertilizer improves the oil yield, fatty acid compositions, and macro-nutrient contents in *Nigella sativa L.* *Horticulturae* 7: 345.