تأثیر باکتری‌های محلول کننده فسفات بر رشد و وضعیت تغذیه‌ای نونهال‌های بلوط

مریم تیموری*، محمدحسین صادق‌زاده حلاج، طاهره علیزاده و محمد متینی‌زاده

ایران، تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱

چکیده

در سال‌های اخیر از وسعت رویشگاه‌های بلوط بدلایل مختلف کاسته شده است که نشان‌دهنده لزوم احیای رویشگاه‌های تخریب‌شده آن با استفاده از برنامه‌های نهالکاری می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات باکتری‌های محلول‌کننده فسفات معدنی جدا شده از خاک نواحی رویشی زاگرس بر زنده‌مانی، رشد و وضعیت عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف دو گونه برودار و وی‌ول بوده است. باکتری‌های محلول‌کننده فسفات از خاک منطقه ریزوسفری درختان برودار و وی‌ول در ایستگاه گاران استان کردستان جداسازی و با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی در سطح جنس شناسایی شدند. بذرهای جمع‌آوری شده پس از مایه‌زنی در گلخانه براساس آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل گونه بلوط (در دو سطح) و جنس باکتری (در پنج سطح)، در سه تکرار و ۱۶ بذر در هر تکرار کاشته شدند. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که اثر گونه بلوط و باکتری بر زنده‌مانی گونه‌ها معنی‌دار نیست. نتایج نشان داد اثر گونه بلوط بر رشد طولی، رشد قطری، درصد وزن خشک ساقه و برگ، فسفر ریشه و ساقه و میزان منیزیم، آهن و منگنز در ریشه، ساقه و برگ معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد میزان رشد طولی، رشد قطری، وزن خشک برگ، فسفر ریشه و ساقه، منیزیوم و منگنز ریشه، ساقه و برگ، و آهن در برگ نونهال‌های *وی‌ول* بیش از نونهال‌های *برودار* بود. اما درصد وزن خشک ساقه و میزان آهن در ریشه و ساقه نونهال‌های برودار بیش از وی‌ول بود. اثر باکتری بر رشد طولی، رشد قطری و وزن خشک ریشه، ساقه و برگ معنی‌دار بود به نحوی که مقایسه میانگین‌ها نشان دهنده میزان بالاتر این خصوصیات در نونهال‌های تلقیح شده با *سودوموناس* و *باسیلوس* بود. بعلاوه اثر باکتری-های مایه-زنی شده بر میزان فسفر و آهن در اندام‌های مختلف گیاهی معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد میزان فسفر در ریشه، ساقه و برگ و نیز آهن در ریشه و ساقه نونهال‌هایی بیشتر است که با *سودوموناس* مایه‌زنی شده‌اند. مایه‌زنی با *باسیلوس* نیز باعث افزایش میزان آهن در هر سه اندام گیاهی گردید. کارایی بالاتر *سودوموناس* و *باسیلوس* در افزایش معنی‌دار رشد و بهبود وضعیت تغذیه‌ای در مقایسه با باکتری‌های دیگر و کنترل باعث می‌شود که *سودوموناس* و *باسیلوس* کاندیداهای مناسبی برای احیای رویشگاه‌های تخریب‌یافته بلوط باشند.

واژه‌های کلیدی: باکتری محلول کننده فسفات، بلوط، رشد، عناصر پرمصرف، عناصر کم‌مصرف

* نویسنده مسئول، تلفن: ۹-۴۴۴۷۸۷۲۷۲-۰۲۱، پست الکترونیکی: mteimouri@rifr-ac.ir

مقدمه

جنس بلوط (*Quercus*) ازنظر تعداد گونه، پراکنش جغرافیایی، اهمیت اکولوژیک، جایگاه زیست‌محیطی و اقتصادی یکی از مهم‌ترین جنس‌های خانواده راش (Fagaceae) محسوب می‌شود. ناحیه رویشی زاگرس وسیع‌ترین رویشگاه گونه‌های مختلف بلوط در ایران بوده و بلوط‌ها حدود ۷۰ درصد تیپ گونه‌های جنگلی زاگرس را تشکیل می‌دهند (۵). باتوجه به پراکندگی گونه‌های جنس بلوط در سطح وسیعی از کشور و حضور آنها در اقلیم‌ها و شرایط آب و هوایی مختلف، گونه‌های این جنس از اهمیت خاصی برخوردار هستند. به دلیل رشد جمعیت

در قرن اخیر، نیاز جنگل‌نشینان به سوخت، تأمین منبع غذایی برای دام‌ها، توسعه اراضی زراعی، احداث جاده و راه، خطوط انتقال برق و تلفن، توسعه شهرها، فعالیت‌های صنعتی و نیز آفات و بیماری‌ها مساحت جنگل‌های بلوط در حال کاهش است (۴). از طرف دیگر رشد کم جنس بلوط، تغییر اقلیم و پدیده گرم شدن کره زمین و شیوع ریزگردها نیز به این مشکلات افزوده است و باعث آسیب جدی به درختان بلوط در ناحیه رویشی زاگرس شده است. باتوجه به عوامل فوق، احیا و حفاظت از رویشگاه‌های طبیعی بلوط از اولویت بالایی برخوردار است.

گیاهان جهت تکمیل چرخه زندگی خود و همچنین رشد و نمو مناسب، به حداقل ۱۶ عنصر نیاز دارند. این عناصر به‌عنوان عناصر ضروری برای گیاهان شناخته می‌شوند. عناصر مورد نیاز گیاهان به دو گروه پرمصرف (کربن، هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و گوگرد) و کم‌مصرف (آهن، منگنز، روی، بر، مس، مولیبدن و کلر) تقسیم‌بندی می‌شوند. در اثر کمبود هریک از این عناصر، رشد و نمو گیاه با اختلال مواجه شده و در مورد محصولات کشاورزی کمیت و کیفیت محصول کاهش می‌یابد. از میان این ۱۶عنصر حیاتی، اکسیژن، هیدروژن و کربن به‌طور عمده از طریق هوا جذب می‌گردند. عناصر باقیمانده ازجمله نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی و منگنز، باید از طریق مختلف در اختیار گیاه قرار گیرند. فسفر دومین عنصر پرمصرف مورد نیاز برای رشد گیاهان پس از نیتروژن است و کمبود آن به‌ویژه در مراحل اولیه رشد می‌تواند باعث کاهش رشد کلی گیاه گردد. فسفر به‌عنوان یک عنصر در ساختمان اسیدهای نوکلئیک و نیز پروتئین‌ها وجود دارد. نقش متابولیک فسفر انتقال انرژی در گیاهان بوده و از این طریق به‌طور غیرمستقیم بر رشد و عملکرد گیاهان تأثیر می‌گذارد. کمبود فسفر یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد در خاک‌های اسیدی و قلیایی مناطق معتدله و نیز استوایی است و از طرف دیگر بین میزان فسفر خاک و جذب سایر عناصر توسط گیاهان رابطه وجود دارد (۲۱). ریزوباکترهای افزایش دهنده رشد گیاهان (PGPR= Plant Growth Promoting Rhizobacteria)، گروهی از باکتری‌های مفید خاک هستند که با کلنیزه شدن در اطراف ریشه گیاهان و از طریق مکانیسم‌های مستقیم مانند تثبیت نیتروژن، انحلال مواد معدنی، تولید هورمون‌های گیاهی و مکانیسم‌های غیرمستقیم مانند ممانعت از رشد عوامل بیماری‌زا قادرند رشد گیاهان را افزایش دهند (۲۳). یک گروه مهم از این باکتری‌ها، باکتری‌های محلول کننده فسفات نام دارند که به انحلال فسفات نامحلول خاک و جذب آن توسط گیاهان کمک می‌کنند. استفاده از این باکتری‌ها در کشاورزی و نیز جنگل‌کاری در حال افزایش است زیرا باعث می‌شود که کاربرد کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و مواد شیمیایی کاهش یابد. باکتری‌های افزایش دهنده رشد قادرند باعث بهبود کیفیت خاک و بهره‌وری جنگل‌ها و درختان کاشته‌شده در نهالستان‌ها شوند (۲۰). مطالعات زیادی در زمینه بهبود شرایط تغذیه‌ای نونهال‌ها بدنبال تلقیح PGPR در برنامه‌های جنگل‌کاری وجود ندارد. تلقیح PGPR همراه با کوددهی باعث افزایش وزن خشک و جذب عناصر در نونهال‌های*Fraxinus americana* در نهالستان گردیده است (۲۵). آهنگر و همکارانش (۶) نیز افزایش رشد و جذب عناصر (N, P, K) را در نهال‌های *Pinus wallichiana* بدنبال تلقیح با PGPR گزارش کرده‌اند. دومنیک و همکارانش (۱۹) افزایش رشد مشاهده شده در نونهال‌های *Q. ilex* بدنبال تلقیح باPGPR را ناشی از بهبود جذب مواد غذایی می‌دانند. ثابت شده است تلقیح PGPR و بهبود جذب عناصر غذایی باعث افزایش مقاومت به تنش آبی و در نتیجه منجر به افزایش استقرار و زنده‌مانی نهال‌های *Q. coccifera* در نواحی مدیترانه‌ای شده است (۲۹).

باتوجه به اهمیت فسفر در رشد گیاهان، دراین پژوهش اثرات باکتری‌های محلول کننده فسفات بر زنده‌مانی، رشد

طولی و قطری، وزن خشک و میزان فسفر، آهن، منیزیوم و منگنز دو گونه بلوط ایرانی و وی‌ول در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد.

مواد و روشها

منطقه مورد مطالعه: مساحت ایستگاه گاران ۱۲۸ هکتار بوده و در استان کردستان، شهرستان مریوان (کیلومتر ۸ جاده مریوان–سقز)، در طول ´۱۷ °۴۶ شمالی و عرض ´۳۲ °۳۵ شرقی قراردارد. میانگین بارندگی سالانه منطقه ۸۶۱/۵ میلی‌متر است. متوسط دمای سالانه از ۰/۳– در دی‌ماه تا ۲۵/۶ درجه سانتی‌گراد در مردادماه نوسان دارد. اقلیم منطقه نیز براساس روش دومارتن (با ضریب خشکی ۳۸) مرطوب می‌باشد (۳).

نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی باکتری‌های محلول-کننده فسفات: نمونه‌برداری از خاک ریزوسفری درختان برودار (*Q. brantii* Lindl) و وی‌ول (*Q. libanii* Oliv) در ایستگاه تحقیقاتی گاران در فصل بهار انجام و نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های خاک ریزوسفری مربوط به دو گونه برودار و وی‌ول بطور جداگانه باهم مخلوط شدند و در آزمایشات بعدی به‌عنوان نمونه خاک شاخص هرگونه مورد استفاده قرارگرفتند. جداسازی باکتری‌های محلول کننده فسفات پس از رقیق‌سازی نمونه‌های خاک، در محیط کشت حاوی تری‌فسفات کلسیم (۳۲) صورت گرفت. باکتری‌های محلول کننده فسفات در محیط کشت نوترینت آگار (MERCK) خالص‌سازی و با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های بیوشیمیایی (کاتالاز، اکسیداز،OF glucose، حرکت،MR-VP، سیترات، احیای نیترات و تولید ایندول) شناسایی شدند (۲۷).

فراهم کردن تیمارها: از باکتری‌های جداشده زادمایه دارای ۳×۱۰^{۸} CFU/ml باکتری با استفاده از استاندارد شماره ۱ مک‌فارلند تهیه شد (۲۷). بذرهای سالم از ۵ پایه برودار و وی‌ول در ایستگاه تحقیقاتی گاران جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل و تا زمان کاشت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بذرهای سالم استریل شده با زادمایه آماده شده از باکتری‌های *Pseudomonas*، *Azotobacter*، *Bacillus* و *Actinobacillus* به مدت یک شب مایه‌زنی شدند. بذرهای شاهد با بافر فسفات نمکی استریل تیمار شدند. بذرهای تیمار شده در گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۳۰×۱۵ سانتی‌متر، پرشده با خاک استریل (۲/۵ کیلوگرم) متشکل از خاک‌برگ کاملاً پوسیده سرند شده، ماسه و خاک زراعی (به نسبت مساوی) کاشته شدند. برای هر تیمار باکتریایی چهل‌وهشت بذر در قالب سه تکرار شانزده تایی کاشته شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل گونه بلوط (برودار و وی‌ول) و جنس باکتری (*ازتوباکتر*، *اکتینوباسیلوس*، *باسیلوس*، *سودوموناس* و کنترل) انجام شد. در پایان فصل رویش نونهال‌های زنده‌مانده شمارش شدند. قطر یقه و طول ساقه نونهال‌ها پس از برداشت به ترتیب بوسیله کولیس دیجیتال و خط‌کش اندازه‌گیری شد. درصد وزن خشک اندام‌ها پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، محاسبه شد (۱). برای استخراج و اندازه‌گیری عناصر پرمصرف (فسفر و منیزیوم) و کم‌مصرف (آهن و منگنز) از روش سوزاندن خشک (Dry Ashing) و ترکیب با اسیدکلریدریک ۲ مولار استفاده شد (۱). مقدار فسفر موجود در اندام‌های گیاهی با روش وانادات–مولیبدات (روش زرد) و با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. دراین روش غلظت کمپلکس زرد رنگ تولید شده توسط یون‌های ارتوفسفات، پس از اضافه کردن محلول مولیبدات و وانادات در محیط اسیدی در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. مقادیر عناصر منیزیوم، منگنز و آهن با کمک دستگاه جذب اتمی (Phoenix-896) اندازه‌گیری شدند (۱).

آنالیز آماری داده‌ها: پس از بررسی‌های اولیه و استخراج آمارهای توصیفی، بازسازی و یا حذف داده‌های پرت، کلیه

متغیرها بوسیله تجزیه واریانس دوطرفه مورد بررسی قرارگرفته و باقی‌مانده‌های مدل بوسیله آزمون اندرسون دارلینگ به‌منظور تبعیت از توزیع نرمال مورد آزمون قرارگرفته و همگنی واریانس‌ها نیز بوسیله آزمون لون بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها بوسیله آزمون Tukey در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. کلیه مراحل تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار Minitab ۱۷.۳ انجام و هیستوگرام‌ها بوسیله Excel رسم شدند.

نتایج

در جدول۱، نتایج تجزیه واریانس زنده‌مانی، رشد طولی و قطری نونهال‌های دو گونه برودار و وی‌ول آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اثر عامل‌های گونه بلوط، جنس باکتری و اثر متقابل آنها بر زنده‌مانی نونهال‌ها معنی‌دار نبوده است. در حالیکه اثر عامل گونه بلوط و جنس باکتری به ترتیب در سطح ۱ درصد و ۵ درصد بر رشد طولی و قطری نونهال‌ها معنی‌دار بوده است (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس (مقدار F) اثر گونه بلوط و جنس باکتری بر خصوصیات رشدی و وزن خشک اندام‌های مختلف

منبع تغییرات	درجه آزادی	زنده‌مانی	رشد طولی	رشد قطری	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ
گونه بلوط	۱	۰/۱۴ ^{ns}	۱۷/۳۳ **	۶۴/۴۷۲ **	۰/۳ ^{ns}	۱۸۰۳/۹۶ **	۶۳۵۳/۴۰ **
جنس باکتری	۴	۰/۷ ^{ns}	۵/۲۴ *	۱۷/۳ **	۴۵۲۴/۸۸ **	۳۶۷۲/۰۸ **	۱۳۳۴/۵۱ **
گونه بلوط× جنس باکتری	۴	۰/۶۷ ^{ns}	۰/۸۴ ^{ns}	۳/۲۶۸ *	۱/۷۳ ^{ns}	۴۳/۰۱ **	۳۷۲/۴۸ **

** و * به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۹۹ و ۹۵ درصد اطمینان و ^{ns} نشان‌دهنده عدم معنی‌داری

اثر واکنش متقابل گونه بلوط و جنس باکتری فقط بر رشد قطری نونهال‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین داده‌های مربوط به رشد طولی و قطری نشان داد که رشد طولی و قطری نونهال‌های وی‌ول بیش از نونهال‌های برودار و اثر افزایشی باکتری *سودوموناس* در رشد طولی و قطری بیش از سایر تیمارهای میکروبی و کنترل بوده است (جداول ۲و ۳). بیشترین میزان رویش قطری در نونهال‌های وی‌ول تیمار شده با باکتری‌های *سودوموناس* مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر گونه بلوط بر متغیرهای رشد طولی و قطری نونهال‌ها*

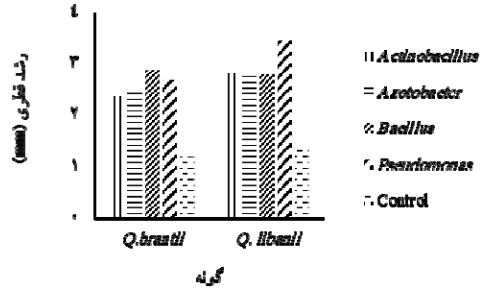
گونه بلوط	رشد طولی (سانتی‌متر)	رشد قطری (میلی‌متر)
برودار	۶/۷۵ ^{b}	۲/۴۷ ^{b}
وی‌ول	۸/۵۴ ^{a}	۳/۹۲ ^{a}

*حروف متفاوت نشان‌دهنده قرارگرفتن در گروه‌های متفاوت است.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثر جنس باکتری بر متغیرهای رشد طولی و قطری نونهال‌های بلوط*

تیمار باکتری	رشد طولی (سانتی‌متر)	رشد قطری (میلی‌متر)
Azotobacter spp.	۷/۵۴ ^{b}	۲/۷۴ ^{b}
Actinobacillus spp.	۷/۱ ^{b}	۲/۷۲ ^{b}
Bacillus spp.	۷/۷ ^{b}	۲/۷۵ ^{b}
Pseudomonas spp.	۸/۲۲ ^{a}	۳/۰۲ ^{a}
شاهد	۶/۳۷ ^{c}	۲/۱۲ ^{c}

*حروف متفاوت نشان‌دهنده قرارگرفتن در گروه‌های متفاوت است.



شکل ۱- اثر متقابل گونه بلوط و جنس باکتری بر رشد قطری نونهال‌های برودار و وی‌ول در گلخانه

آنالیز واریانس داده‌های مربوط به وزن خشک ریشه، ساقه و برگ نشان داد که اثر گونه بلوط بر وزن خشک ساقه و

برگ در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است در حالی که اثر جنس باکتری و نیز اثر متقابل گونه بلوط و جنس باکتری بر وزن خشک ریشه، ساقه و برگ در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است (جدول۱). مقایسه میانگین داده‌های مربوط به وزن خشک نشان داد که ریشه، ساقه و برگ نونهال‌های تلقیح شده با *باسیلوس* و *سودوموناس* وزن خشک بیشتری داشتند (جدول ۴). بعلاوه وزن خشک برگ و ساقه به ترتیب در گونه برودار و وی‌ول بالاتر است (جدول ۴). اثر متقابل گونه بلوط و جنس باکتری نیز باعث شد که بیشترین وزن خشک ساقه و برگ به ترتیب در گونه برودار و وی‌ول مایه‌زنی شده با *باسیلوس* و *سودوموناس* مشاهده شود (شکل ۲).

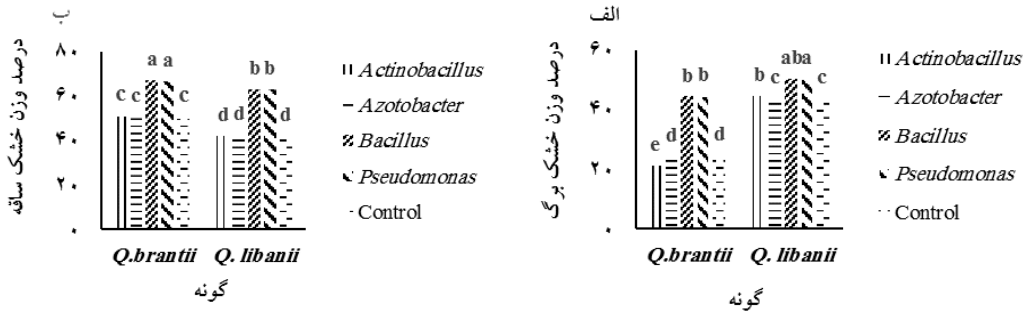
در جدول ۵ آنالیز واریانس داده‌های مربوط به عناصر فسفر، منیزیوم، آهن و منگنز در اندام‌های مختلف گیاهی آورده شده است. اثر نوع گونه بلوط، جنس باکتری و اثرات متقابل آن دو بر میزان عناصر مختلف در اندام‌های مختلف گیاهی متفاوت است. مقایسه میانگین عناصر در دو گونه بلوط نشان داد که میزان فسفر و آهن در ریشه برودار و نیز میزان آهن در ساقه برودار بیش از مقادیر آنها در وی‌ول است اما میزان فسفر در ساقه، آهن موجود در برگ و نیز میزان منیزیوم و منگنز در هر سه اندام گیاهی گونه وی‌ول بیش از گونه برودار است (جدول ۶). عملکرد باکتری *سودوموناس* باعث افزایش میزان فسفر در هر سه اندام گیاهی و نیز آهن در ریشه و ساقه در مقایسه با سایر باکتری‌ها و کنترل شده است.

اما باسیلوس عملکرد افزایشی بهتری در مورد آهن برگ خود از نشان داده است (جدول ۷). واکنش متقابل بین گونه بلوط و جنس باکتری نیز سبب شد که میزان فسفر در ریشه و ساقه گونه وی‌ول مایه‌زنی شده با سودوموناس بیشتر باشد (شکل۳).

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثر گونه بلوط و جنس باکتری بر درصد وزن خشک اندام‌های مختلف گیاهی

تیمار		ریشه	ساقه	برگ
گونه بلوط	برودار	۶۳/۵۵^{a}	۵۶/۹۸ ^{a}	۳۲/۴۳^{b}
	وی‌ول	۶۴/۲۱^{a}	۵۰/۵۹^{b}	۴۶/۵۶^{a}
جنس باکتری	*Actinobacillus spp.*	۴۲/۷۰^{b}	۴۶/۳۹^{b}	۳۴/۳۱^{b}
	Azotobacter spp.	۴۲/۷۲^{b}	۴۶/۵۴^{b}	۳۳/۹۸^{b}
	Bacillus spp.	۷۴/۹۳^{a}	۶۵/۱۱^{a}	۴۷/۲۹^{a}
	Pseudomonas spp.	۷۴/۹۵^{a}	۶۴/۷۹^{a}	۴۷/۵۵^{a}
	Control	۴۲/۸۷^{b}	۴۶/۰۹^{b}	۳۴/۳۳^{b}

حروف متفاوت نشان‌دهنده قرار گرفتن در گروه‌بندی متفاوت است



شکل ۲- اثر متقابل گونه بلوط و جنس باکتری بر درصد وزن خشک برگ (الف) و ساقه (ب) نونهال‌های برودار و وی‌ول

جدول ۵- نتایج آنالیز واریانس (مقادیر F) اثر گونه بلوط و جنس باکتری بر مقادیر عناصر پرمصرف (فسفر و منیزیوم) و عناصر کم‌مصرف (آهن و منگنز) در نونهال‌های برودار و وی‌ول

تیمار	درجه آزادی	فسفر			منیزیوم			آهن			منگنز		
		ریشه	ساقه	برگ	ریشه	ساقه	برگ	ریشه	ساقه	برگ	ریشه	ساقه	برگ
گونه بلوط	۱	۱۵۶/۲۵**	۹/۶۷**	۰/۵۱^{ns}	۱۰۳/۹۰**	۸۶/۸۳**	۷۶۹/۳۰**	۵/۷۳*	۷/۴۰*	۷/۰۹*	۸۷/۳۹**	۶۵/۴۷۰**	۷۲/۰۳*
جنس باکتری	۴	۱۶۳/۲۴**	۶۰/۲۷**	۷۵/۹۸**	۴/۱۴^{ns}	۲/۶^{ns}	۴/۷۱^{ns}	۸۷۷/۵۰**	۵۰۷/۸۹**	۳۳۲/۴۸**	۹/۴۵^{ns}	۷/۵۹^{ns}	۳/۱۸۰^{ns}
گونه بلوط× جنس باکتری	۴	۳/۴۸*	۲/۵۷^{ns}	۳/۸۲*	۰/۴۱^{ns}	۰/۲۸^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۱۸^{ns}	۰/۳۳^{ns}	۱/۳۳^{ns}	۰^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۰/۱^{ns}

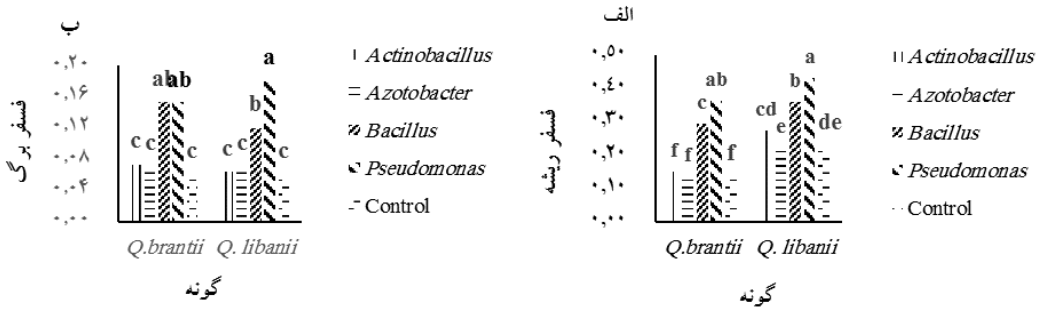
جدول ۶- مقایسه میانگین‌های اثر گونه بلوط بر مقدار عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در نونهال‌های برودار و وی‌ول

گونه بلوط	فسفر (g/100)		منیزیوم (g/100)			آهن (mg/kg)			منگنز (mg/kg)		
	ریشه	ساقه	ریشه	ساقه	برگ	ریشه	ساقه	برگ	ریشه	ساقه	برگ
برودار	۰/۲۱^{b}	۰/۱۳^{b}	۷/۸۲^{b}	۵/۸۷^{b}	۴/۱۲^{b}	۲۹۰۷/۳۳^{a}	۱۷۹۲^{a}	۱۲۶۲/۸۷^{b}	۲۵۰/۵۳^{b}	۲۳۰/۷۳^{b}	۱۱۷/۱۳^{b}
وی‌ول	۰/۲۹^{a}	۰/۱۵^{a}	۱۱/۴۲^{a}	۸/۹۷^{a}	۶/۹۲^{a}	۲۷۸۷/۰۸^{b}	۱۷۰۸/۰۷^{b}	۱۳۶۲/۶۷^{a}	۲۷۳/۵۳^{a}	۲۴۸/۷۳^{a}	۱۳۷/۱۳^{a}

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های اثر جنس باکتری بر مقدار عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در نونهال‌های برودار و وی‌ول

جنس باکتری	فسفر (g/100)			آهن (mg/kg)		
	ریشه	ساقه	برگ	ریشه	ساقه	برگ
Actinobacillus spp.	۰/۲۱^{c}	۰/۱۱^{b}	۰/۰۶^{c}	۱۶۶۵^{c}	۱۱۱۱/۵^{c}	۹۷۳/۳۳^{c}
Azotobacter spp.	۰/۱۷^{d}	۰/۱۰^{b}	۰/۰۷^{c}	۱۸۲۵^{b}	۱۲۶۸^{b}	۵۵۴/۶۷^{e}
Bacillus spp.	۰/۳۲^{b}	۰/۱۹^{a}	۰/۱۳^{b}	۴۶۰۰^{a}	۲۷۸۰^{a}	۲۲۶۵^{a}
Pseudomonas spp.	۰/۳۸^{a}	۰/۲۱^{a}	۰/۱۶^{a}	۴۶۸۳/۳۳^{a}	۲۸۰۰^{a}	۱۹۸۸/۳۳^{b}
Control	۰/۱۸^{d}	۰/۱۰^{b}	۰/۰۶^{c}	۱۴۶۷^{c}	۱۰۵۱/۶۶^{c}	۷۸۲/۵۰^{d}

حروف متفاوت نشان دهنده قرار گرفتن در گروه‌بندی متفاوت است



شکل ۳- اثر متقابل گونه بلوط و جنس باکتری بر میزان فسفر (mg/100) ریشه (الف) و برگ (ب) در نونهال‌های برودار و وی‌ول

بحث و نتیجه‌گیری

با بهره‌برداری‌های بی‌رویه به‌تدریج از مساحت جنگل‌های مناطق رویشی مختلف کاسته شده و تجدید حیات دراین جنگل‌ها به مخاطره افتاده است که اهمیت لزوم تولید نهال-هایی باکیفیت و سرعت رشد بالاتر را به‌منظور استفاده در برنامه‌های احیای مناطق تخریب شده نشان می‌دهد. دراین مطالعه باتوجه به اهمیت فسفر در رشد گیاهان (دومین عنصر مورد نیاز برای رشد پس از نیتروژن) اثر باکتری‌های محلول کننده فسفات بر زنده‌مانی، رشد و وضعیت تغذیه-ای نونهال‌های دو گونه بلوط ایرانی و وی‌ول در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که تأثیر حاصل از باکتری‌های مایه‌زنی شده به غیر از زنده‌مانی (فاقد اثر معنی‌دار) به گونه بلوط مورد مطالعه و نیز جنس باکتری مایه‌زنی شده بستگی دارد. محققان مختلف هم بر اساس یافته‌های خود به این نتیجه رسیده‌اند که اثر باکتری-های محرک رشد به سویه باکتریایی و جمعیت آنها، ژنوتیپ گیاه، ترکیب گیاه–باکتری، نوع پارامترهای بررسی شده و شرایط محیطی بستگی دارد (۸، ۱۱و ۳۱). افزایش ارتفاع و قطر یقه بدنبال مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد در بسیاری گونه‌ها توسط محققان مختلف گزارش‌شده است (۱۳ و ۲۶) که با یافته‌های ما در مورد افزایش ارتفاع و قطر مطابقت دارد. اگرچه مواردی نیز گزارش‌شده است که بدنبال مایه‌زنی با باکتری‌های محرک رشد افزایشی در رشد طولی و یا قطر یقه مشاهده نشده است که بستگی به خصوصیات گونه گیاهی و نیز سویه باکتری مورد استفاده دارد (۱۰، ۱۶و ۱۸). به نظر می‌رسد که افزایش رشد طولی و قطری در ارتباط با مکانیسم‌های مستقیم افزایش رشد توسط ریزوباکترها است که با تولید هورمون‌های گیاهی و جذب توسط ریشه، باعث افزایش رشد طولی و یا قطری می‌شوند (۱۴). پاسخ دو گونه برودار و بلوط ایرانی به مایه‌زنی‌های انجام شده متفاوت بود به نحوی که رشد طولی، رشد قطری و وزن خشک برگ گونه وی‌ول بیش از گونه برودار بود. این امر می‌تواند ناشی از تفاوت در ساختار ریشه‌ای، قدرت بالاتر جذب مواد غذایی و یا سرعت رشد ذاتی بالاتر گونه وی‌ول باشد. اما وزن خشک ساقه‌ها در گونه برودار بیشتر بود. بهبودی مصمم و همکاران (۲) در ارتباط با مقایسه اثرات نتایج همزیستی میکوریزی بر سه گونه بلوط به نتایج جالبی دست یافتند که با برخی از یافته‌های ما به‌ویژه در مورد بالاتر بودن وزن خشک ساقه‌ها در گونه برودار مطابقت دارد. مطالعه انجام شده توسط گارسیا و همکارانش (۲۲) نیز نشان‌دهنده افزایش برخی از خصوصیات رشدی مانند افزایش وزن خشک ساقه در *Quercus ilex* و *Pinus pinea* بود که با یافته‌های ما در مورد افزایش درصد وزن خشک برودار مطابقت دارد.

تأثیر متفاوت باکتری‌ها نیز بر عناصر تغذیه‌ای می‌تواند ناشی از توانایی‌های متفاوت آنها باشد. غربالگری اولیه

باکتری‌ها براساس توانایی آنها در انحلال فسفات بوده است، نتایج نشان دهنده افزایش فسفر در ریشه و ساقه در نونهال‌ها بود که با توجه به توانایی انحلال فسفات قابل پیش‌بینی بود. گزارش‌های متعددی از افزایش میزان فسفر بدنبال مایه‌زنی بذر گونه‌های مختلف گیاهی با باکتری‌های محلول کننده فسفات وجود دارد (۱۷و ۳۳). یو و همکاران (۳۵) در سال ۲۰۱۱ با تلقیح باکتری‌های محلول‌کننده فسفات رابطه مثبتی بین مایه‌زنی این باکتری‌ها و فسفر ریشه در گردو گزارش کرده‌اند. اما توانایی باکتری‌ها در انحلال فسفات متفاوت است و احتمال دارد در شرایط آزمایشگاهی توانایی آنها در انحلال فسفات تغییر کرده، کاهش یا افزایش یابد (۱۵). تفاوت مشاهده شده در بین گونه‌ها و کارایی بالاتر *سودوموناس* ممکن است در ارتباط با تفاوت در میزان تولید اسیدهای آلی و کارایی انحلال فسفات باشد (۱۲).

عملکرد بهتر *سودوموناس* و *باسیلوس* بر میزان آهن با یافته‌های بنیزری و همکارانش (۹)، علی پور و سبحانی‌پور (۷) و دلشادی و همکاران (۱۶) مطابقت دارد. *سودوموناس‌ها* ازجمله باکتری‌های شناخته شده مفید در خاک هستند که قادرند با تولید سیدروفور به قابل‌جذب شدن آهن موجود در خاک و در نتیجه جذب آن توسط گیاهان کمک نمایند و مانع از کمبود آهن که می‌تواند بر رشد گیاهان در مراحل اولیه رشد تأثیر منفی داشته باشند، شود (۳۴). گزارش‌هایی از اثر افزایشی *باسیلوس* در قابل‌جذب کردن آهن نیز وجود دارد (۳۴). مطالعات انجام شده توسط دومینگز- نونز و همکاران (۲۰) نیز نشان‌دهنده افزایش میزان عناصر غذایی از جمله منیزیم بدنبال مایه‌زنی با *Pseudomonas fluorescens* در *Pinus halepensis* است که با یافته‌های ما مطابقت دارد. افزایش منیزیم بدلیل نقش‌های متعدد آن در فیزیولوژی گیاه و به‌ویژه ساختمان کلروفیل می‌تواند در سرسبزی و شادابی نونهال‌ها مؤثر باشد. برخی از تفاوت‌های مشاهده شده در میزان عناصر غذایی می‌تواند به غلظت سایر عناصر خاک نیز ارتباط داشته باشد. لیو و همکاران (۲۴) نشان داده‌اند که میزان عناصر غذایی موجود در نهال‌های میکوریزی ازجمله روی، منگنز و آهن به غلظت فسفر بستگی دارد بنابراین ممکن است دلیل بالا بودن غلظت برخی عناصر کم‌مصرف عملکرد بهتر باکتری محلول کننده فسفات در محیط باشد که با افزایش غلظت فسفر به جذب بهتر سایر عناصر نیز کمک کرده است. توانایی متفاوت باکتری‌ها در تولید اسیدهای آلی به هنگام متابولیسم و نیز وجود منابع آلی حاوی عناصر غذایی در خاک در تعیین میزان عناصر در اندام گیاهی نقش دارد.

با توجه به اثرات مختلف باکتری‌های استفاده شده و نتایج بدست آمده، به نظر می‌رسد که باکتری‌های *سودوموناس* و *باسیلوس* عملکرد بهتری در مقایسه با دو باکتری دیگر یعنی *ازتوباکتر* و *اکتینوباسیلوس* در افزایش رشد داشته‌اند. *سودوموناس‌ها* ازجمله باکتری‌های شناخته شده مفید در خاک هستند و گزارش‌های متعددی در مورد عملکرد مثبت آنها در افزایش رشد گونه‌های مختلف گیاهی وجود دارد (۳۳). کارایی بالاتر *سودوموناس* و *باسیلوس* این احتمال را مطرح می‌کند که برای رسیدن به نتیجه مطلوب بهتر است مخلوطی از باکتری‌ها برای مایه‌زنی گونه‌های بلوط استفاده شوند تا شرایط ازنظر تأمین همه عناصر پرمصرف و کم-مصرف مورد نیاز نونهال‌ها برای رشد و استقرار، مناسب باشد. در مورد استفاده از مایه‌زنی همزمان مخلوطی از دو یا چند باکتری باید بااحتیاط بیشتری عمل کرد زیرا باوجود اثبات اثرات هم‌افزایی در مایه‌زنی گیاهان در بسیاری از مطالعات، بدلیل وجود نتایج متضاد امکان دارد نتایج حاصله با پیش‌بینی‌ها متناسب نباشد.

منابع

۱- امامی، ع.، ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه، انتشارات موسسه تحقیقات خاک و آب، ۱۲۸ ص.

۲- بهبودی مصمم، س. ز.، ذوالفقاری، ر. و سی‌سخت‌نژاد، م.، ۱۳۹۳. بررسی تاثیر قارچ میکوریز بر میزان جذب عناصر غذایی اندام-های مختلف سه گونه بلوط زاگرس، دومین همایش ملی منابع طبیعی ایران با محوریت علوم جنگل، ۲۷-۲۸ فروردین، دانشگاه کردستان، سنندج.

۳- پور هاشمی، م.، ۱۳۹۵. مطالعه و بهبود ساختار جنگل‌های شاخه‌زاد بلوط در مریوان، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۹۴ ص.

۴- عابدینی، ر.، پورطهماسی، ک.، غضنفری، ه.، و کریمی، ع. ن.، ۱۳۸۹. تأثیر شاخه‌بری‌های شدید در قالب گلازنی بر رویش شعاعی درختان وی‌ول (*Quercus libanii* Oliv.) در جنگل‌های اطراف بانه، تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۸(۴)، صفحات ۵۶۸-۵۵۶.

۵- نادری شهاب، م.، ۱۳۹۱. بلوط‌های ایران، انتشارات آزاد پیما، تهران.

6- Ahangar, M. A., Dar, G. H., and Bhat, Z. A., 2012. Growth response and nutrient uptake of blue Pine (*Pinus wallichiana*) seedlings inoculated with rhizosphere microorganisms under temperate nursery conditions. Annals of Forest Research, 55, PP: 217–222.

7- Alipour, Z. T., and Sobhanipour, A., 2012. The effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescent* inoculation on maize growth and Fe uptake. Annals of Biological Research, 3, PP: 1661-1666.

8- Aslantas¸ R., Cakmakc, R., and Sahin, F., 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions, Scientia Horticulturae, 111, PP: 371–377.

9- Benizri, E., baudoin, E., and Guckert, A., 2001. Root colonization by inoculated plant growth promoting rhizobacteria, Biocontrol Science and Technology, 11, PP: 557-574.

10- Bianco, C., and Defez, R., 2010. Improvement of phosphate solubilization and Medicago plant yield by an indole-3-acetic acid-overproducing strain of *Sinorhizobium meliloti*, Applied and Environmental Microbiology, 76, PP: 4626–4632.

11- Çakmakç, R., Erat, M., Erdoğan, U., and Dönmez, M. F., 2007. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 170, PP: 288-295.

12- Chen, W., Yang, F., Zhang. L., and Wang, J. 2016. Organic acid secretion and phosphate solubilizing efficiency of *Pseudomonas* sp. PSB12: Effects of phosphorus forms and carbon sources. Geomicrobiology Journal, 33: 870-877.

13- Chanway, C. P., 1997. Inoculation of tree roots with PGPR soil bacteria: an emerging technology for reforestation. Forest Science, 43, PP: 99-112.

14- Cook, N. C., Bellstedt, D. U., and Jacobs, G., 2001. Endogenous cytokinin distribution patterns at budburst in Granny Smith and Braeburn apple shoots in relation to bud growth. Scientia Horticulturae, 87, PP: 53–63.

15- De Freitas, J. R., Banerjee, M. R., and Germida, J. J., 1997. Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L). Biology and Fertility of Soils, 24, PP: 358-364.

16- Delshadi, S., Ebrahimi, M., and Shirmohammadi, E., 2017. Influence of plant-growth-promoting bacteria on germination, growth and nutrients' uptake of *Onobrychis sativa* L. under drought stress, Journal of Plant Interactions, 12, PP: 200-208.

17- Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M., and Chauhan, S. M., 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological Research, 159, PP: 371-394.

18- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., and Okon, Y., 2003. Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences, 22, PP: 107-149.

19- Domenech, J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Lucas-Garcia, J. A., Colo, J. J., and Gutiérrez -

Man˜ero, F. J., 2004. *Bacillus* spp, and *Pisolithus tinctorius* effects on *Quercus ilex* ssp, ballota: a study on tree growth, rhizosphere community structure and mycorrhizal infection. Forest Ecology and Management, 194, PP: 293–303.

20- Domínguez-Núñez, J. A., Muñóz, D., Cruz, A., and Saiz de Omeñaca, J. A., 2013. Effects of *Pseudomonas fluorescens* on the water parameters of mycorrhizal and non-mycorrhizal seedlings of *Pinus halepensis*. Agronomy, 3, PP: 571-582.

21- Fageria, V. D., 2001. Nutrient interactions in crop plants. Journal of Plant Nutrition, 24, 8, PP: 1269-1290.

22- Garcia, J. A. L., Domenech, J., Santamaria, C., Camacho, M., Daza, A., and Manero, F. J. G., 2004. Growth of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with rhizobacteria: Relationship with microbial community structure and biological activity of its rhizosphere. Environmental and Experimental Botany, 52, PP: 239-251.

23- Glick, B. R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41, PP: 109-117.

24- Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R. I., Ma, B. L., and Smith, D. L., 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L) grown in soil at different P and micronutrient levels. Mycorrhiza, 9, PP: 331-336.

25- Liu, F., Xing, S., Ma, H., Du, Z., and Ma, B., 2013. Plant growth promoting rhizobacteria affect the growth and nutrient uptake of *Fraxinus americana* container seedlings. Applied Microbial Biotechnology, 97, PP: 4617–4625.

26- Mafia, R. G., Alfenas, A. C., Ferreira, E. M., Binoti, D. H. B., Mafia, G. M. V., and Mounteer, A. H. 2009. Root colonization and interaction among growth promoting rhizobacteria isolates and eucalypts species. Revista Árvore, 33, PP: 1-9.

27- MacFadine, J. F., 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Second edition. Warley Press, Inc, U.S.A.

28- Rincón, A., Valladares, F., Gimeno, T. E., and Pueyo, J. J., 2008. Water stress responses of two Mediterranean tree species influenced by native soil microorganisms and inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium. Tree Physiology, 28, PP: 1693–1701.

29-Rodríguez, H, and Fraga, R., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, 17, PP: 319-339.

30- Şahin, F., Çakmakçı, R., and Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N_2-fixing and phosphate solubilizing bacteria, Plant and Soil, 265, PP: 123- 129.

31- Sperber, J. I., 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research, 9, PP: 778–781.

32- Walpola, B. C., and Yoon, M. H., 2013. Phosphate solubilizing bacteria: Assessment of their effect on growth promotion and phosphorous uptake of mung bean (*Vigna radiata* [L.] R. Wilczek), Chilean Journal of Agricultural Research, 73, PP: 275-281.

33- Wei, C. J., Quan, Y. Y., and Zheng S. J., 2014. An underground tale: contribution of microbial activity to plant iron acquisition via ecological processes. Annals Botany, 113, PP: 7–18.

34- Yu, X., Liu, X., Zhu, T. H., Liu, G. H., and Mao, C., 2011. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization. Biology and Fertility of Soils, 47, PP: 437-446.

The effect of phosphate solubilizing bacteria on growth and nutritional status of oak seedlings

Teimouri M., Sadegzadeh Hallaj M.H., Alizadeh T. and Matinizadeh M.

Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

The area of oak forest in Zagros area has decreased because of different reasons. This situation shows the necessity of reclamation of disturbed oak habitats by reforestation programs. The aim of this study was to determine the effect of phosphate solubilizing bacteria on survival, growth and nutritional status of macro and micro elements in *Quercus brantii* Lindl. and *Q. libanii* Oliv. Phosphate solubilizing bacteria were isolated by screening methods from rhizosphere of oak trees at Garan research station in Kurdistan province, and identified at genus level by microbiological methods. The collected seeds were sowed after inoculation by isolated bacteria in plastic pots in greenhouse condition. The experiment was conducted in a factorial based on randomized complete block design with two main factor including oak species (two levels) and bacteria (five levels) with three replication and sixteen seeds for each replication. The statistical analysis indicated that the effect of oak species and bacteria was not significant on seedling survival. The results indicated the significant effect of oak species on height growth, collar diameter, shoot and leaves dry matter percentage, amount of phosphorous in root and shoot and also magnesium, iron and manganese in root, shoot and leaves. Mean comparison showed the higher value of height growth, collar diameter, leaves dry matter, phosphorous in root and shoot, magnesium and manganese in root, shoot and leaves, and iron in leaves of *Q. libanii* seedlings. However, *Q. brantii* seedlings had more shoot dry matter and iron amount in root and shoots in compared to *Q. libanii* seedlings. The effect of bacteria was significant on height growth, collar diameter, and root, shoot and leaves dry matter as mean comparison showed the highest value of these characters in seedlings which inoculated by *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates. In addition, the effect of bacteria was significant on phosphorous and iron amount in different plant organs. Mean comparison showed the more value of phosphorous in root, shoot and leaves , and iron of root and shoot in seedlings which inoculated by *Pseudomonas* isolates. Inoculation by *Bacillus* isolated increased iron amount in root, shoot and leaves, too. The *Pseudomonas* and *Bacillus* had better efficiency in compared to other bacteria and control in improving growth and nutritional status of oak seedling makes them suitable candidates in rehabilitation of degraded oak habitats.

Key words: Phosphate Solubilizing Bacteria, Oak, Macroelements, Microelements