تأثیر تلقیح بذر با باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) در مقادیر مختلف کودهای نیتروژن و فسفر بر زمان ظهور و رشد برگ جو (*Hordeum vulgar* L.)

سعید حکم علی پور[۱]*، بهرام میرشکاری، رئوف سید شریفی، فرهاد فرح وش و علی عبادی خزینه قدیم

دانشجوی دکتری تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز؛ hokmalipour@yahoo.com

استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز؛ Mirshekari@iaui.ac.ir

استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی؛ Raouf_ssharifi@yahoo.com

استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز؛ f.farahvash@iaut.ac.ir

استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی؛ ebadi_ali2000@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر فیلوکرون و سرعت ظهور برگ جو در سطوح مختلف کودهای نیتروژن و فسفر، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۸۸ در مزرعه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل انجام شد. کرت‌های اصلی شامل دو عامل نیتروژن در سه سطح (صفر، ۴۰ و۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع اوره) و کود فسفر (صفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به‌صورت P_2O_5) و کرت‌های فرعی به تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد گیاه در ۴ سطح (بدون تلقیح، تلقیح با *ازتوباکتر کروکوکوم* استرین ۵، *آزوسپریلوم لیپوفرم* استرینOF و مخلوط دو باکتری) اختصاص داده شدند. نتایج نشان داد فیلوکرون، سرعت ظهور برگ، تعداد برگ در بوته، وزن خشک برگ و شاخص سطح برگ تحت تأثیر تیمارهای مورد آزمایش قرار داشتند. به این ترتیب که با افزایش سطوح کود نیتروژن و فسفر سرعت ظهور برگ افزایش و فیلوکرون کاهش یافت. سرعت ظهور برگ در تلقیح توأم بذور با باکتری‌های *ازتوباکتر کروکوکوم* استرین ۵ و *آزوسپریلوم لیپوفرم* استرین OF، بیشتر از تلقیح انفرادی با باکتری‌های مورد مطالعه بود. اثر ترکیب تیماری باکتری‌های محرک رشد گیاه× سطوح کود فسفر× کود نیتروژن برای صفت وزن خشک برگ معنی‌دار شد. بیشترین ماده خشک برگ در به کارگیری بالاترین سطح نیتروژن و فسفر به همراه تلقیح بذر با باکتری *آزوسپریلوم لیپوفرم* استرین OF، در مقایسه با سطوح شاهد برآورد گردید. بیش‌ترین تعداد برگ و شاخص سطح برگ در تلقیح توأم با ازتوباکتر و آزوسپریلوم و کمترین آن در عدم پرایمنیگ مشاهده شد. بیشترین تعداد برگ و شاخص سطح برگ در بالاترین سطح نیتروژن و فسفر و کمترین آن‌ها در سطوح شاهد این دو فاکتور به‌دست آمد. تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه در تمامی مراحل یادداشت برداری در مقایسه با شاهد از شاخص سطح برگ بالاتری برخوردار بود. بنابراین به منظور افزایش سرعت ظهور برگ، تعداد برگ در بوته و شاخص سطح برگ آن می‌توان پیشنهاد کرد که تلقیح بذر به طور توام با باکتری‌های ازتوباکتر و آزسپریلوم در بالاترین سطح از کودهای نیتروژن (۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص) و فسفر (۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به‌صورت P_2O_5) به کار برده شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، تلقیح بذر، جو بهاره، فسفر، فیلوکرون و نیتروژن

---

[۱] نویسنده مسئول، آدرس: اردبیل- خیابان ۲۰ متری لاله – کوچه لاله ۸ – پلاک ۸.

* دریافت: آبان ۱۳۸۹و پذیرش: شهریور ۱۳۹۱

مقدمه

دوره‌ی رشد رویشی در گیاهان رشد محدود، از جمله مهم‌ترین مراحل فنولوژیکی محسوب می‌شود، چرا که رشد و توسعه برگ‌ها که از مهم‌ترین اندام های دخیل در عملکرد گیاهان می‌باشد در این مرحله اتفاق می‌افتد. برگ به خاطر داشتن ساختمان به خصوص، نقش بسیار مهمی در فتوسنتز گیاه بر عهده دارد. سرعت ظهور و توسعه برگ در گیاه تحت تأثیر عوامل مختلف قرار می‌گیرد. در غلات، سرعت ظهور برگ اغلب توسط فیلوکرون برآورد می‌شود (ریچ و نسمیس، ۱۹۹۱[1]). فیلوکرون به‌عنوان یک پدیده‌ی فنولوژیکی به فاصله زمانی بین ظهور برگ‌های متوالی اطلاق می‌گردد (امام و نیک نژاد، ۱۳۷۳). مطالعه فیلوکرون روش مناسبی برای بررسی بهتر دوره رشد رویشی گیاه بوده و به شبیه‌سازی رشد گیاه کمک می‌کند (رفیعی و کریمی، ۱۳۷۷). علاوه بر آن، در پیش‌بینی تعداد کل برگ‌های گیاه یک پارامتر اساسی به حساب می‌آید. تولنار و همکاران (۱۹۹۴)[2] سرعت ظهور برگ را به‌صورت عکس فیلوکرون تعریف کرده است. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که کمبود عناصری مانند نیتروژن (حکم‌علی‌پور و همکاران، ۱۳۸۶؛ لانکنیگر و رابسون، ۱۹۹۴[3]) و فسفر (پیسل، ۱۹۷۷[4])، به دلیل کاهش سرعت ظهور برگ و افزایش طول دوره رشد رویشی، منجربه تأخیر در رسیدگی گیاه می‌شوند. لانگنکر و رابسون (۱۹۹۴) نشان دادند که کمبود نیتروژن می‌تواند سرعت ظهور برگ غلات را کاهش دهد. تولنار و همکاران (۱۹۹۴) اظهار داشتند که تعداد برگ ظاهر شده با کاهش نیتروژن در دسترس کاهش می‌یابد.

تأمین نیتروژن و فسفر از طریق کودهای شیمیایی علاوه بر افزایش هزینه‌های تولید و حمل و نقل، آسیب‌های زیست محیطی بسیار وسیعی نیز به دنبال دارند. لذا کشاورزی مدرن ناگزیر به جایگزین کردن بخشی از کودهای شیمیایی با کودهای زیستی است. به عبارتی استفاده از کودهای زیستی می‌تواند مانع از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی شود (کاماکسی و همکاران، ۲۰۰۷ b[5]). در این راستا کاربرد کودهای زیستی به ویژه باکتری‌های محرک رشد گیاه(PGPR)[6] به صورت تلفیق با کودهای شیمیایی، مهم‌ترین راهبرد برای مدیریت پایدار بوم نظام های کشاورزی و افزایش تولید در سیستم کشاورزی پایدار می‌باشد (شارما، ۲۰۰۳[7]). این باکتری‌ها به طور طبیعی در خاک‌ها وجود دارند. ولی تعداد و تراکم آن‌ها در خاک پایین است، بنابراین تلقیح بذر گیاهان با این باکتری‌ها می‌تواند جمعیت آن‌ها را به حد مطلوب رسانده و در نتیجه منجربه بروز اثر مفید آن ها در خاک گردد (کاماکسی و همکاران، ۲۰۰۷a). ازتوباکتر و آزوسپریلوم از جمله باکتری‌های مفید خاکزی می‌باشند و پاسخ غلات به این باکتری‌ها بر حسب سویه باکتری، شرایط آب و هوایی منطقه متفاوت گزارش شده است. در مواردی افزایش محصول حدود ۱۲ تا ۳۹ درصد گزارش شده است (خاوازی و ملکوتی، ۱۳۸۰). این باکتری‌ها علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک، با تولید مقادیر قابل توجهی از هورمون‌های تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین، رشد و نمو گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (زهیر و همکاران، ۲۰۰۴[8]). از آن‌جایی که قدرت حل ترکیبات معدنی موجود در خاک، توسط ریشه‌های جو در مقایسه با سایر غلات به‌خصوص گندم، چاودار و یولاف کمتر می‌باشد (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۸۰)، لذا به نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد گیاه با افزایش حلالیت ترکیبات معدنی موجود در خاک بتوانند در افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه جو نقش مهمی ایفا کرده و رشد و نمو آن را تحت تأثیر قرار دهند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که تلقیح گیاهان توسط آزوسپیریلوم موجب تغییرات معنی‌داری در شاخص‌های مختلف رشدی از قبیل افزایش در ماده خشک گیاه و اندازه برگ در غلات می‌شود (باشان و همکارن، ۲۰۰۴[9]). یافته‌های غلامی و همکارن (۲۰۰۹)[10] نیز حاکی از آن است که بسیاری از پارامتری‌های رشدی گیاه ذرت از جمله وزن خشک اندام‌های هوایی و سطح برگ تحت تأثیر باکتری‌های محرک رشد افزایش می‌یابند. آنان افزایش سطح برگ را در پاسخ به تلقیح با ازتوباکتر برازیلنس دی- اس- ام، ۱۶۹۰[11] در حدود ۶۵ درصد گزارش نمودند.

دی فریتاز و جرمیدا (۱۹۹۰)[12] افزایش در سرعت ظهور برگ را به واسطه استفاده از باکتری‌های آزوسپریلوم و سودوموناس گزارش نمودند. نتایج مشابهی نیز توسط فالیک و اوکان (۱۹۹۶)[13]؛ ری بادو و

1. Ritchie and NeSmith (1991).
2. Tollenaar et al. (1994).
3. Longnecker and Robson (1994).
4. Peaslee (1977).
5. Cakmakci et al (2007b).
6. Plant Growth Promoting Rhizobacteria.
7. Sharma (2003).
8. Zahir et al (2004).
9. Bashan et al (2004).
10. Gholami et al (2009).
11. *Azotobacter brasilense DSM 1690*
12. De Freitas and Germida (1990).
13. Fallik and Okon (1996).

همکاران (۲۰۰۱)[1] گزارش شده است. همچنین بررسی-های ساریج و همکاران (۱۹۹۰)[2] نشان داد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه با کاهش فیلوکرون منجربه افزایش سرعت ظهور برگ می‌شود. افزایش وزن تر بخش‌های هوایی بوته و تعداد برگ در ذرت (هرناندز و همکاران، ۱۹۹۵)[3] و جو (کاماکسی و همکاران،۲۰۰۷) و نیز گسترش سطح برگ و تأخیر در پیری برگ در گیاه جو، در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد توسط محققین مختلفی گزارش شده است (دوبلییر و همکاران، ۲۰۰۳[4]؛ کاماکسی و همکاران ۲۰۰۵a و ۲۰۰۵b). کاپولینگ کاپولینگ و همکاران (۱۹۸۲)[5] نیز اظهار داشتند که وزن تر و خشک برگ در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های جنس آزوسپریلوم افزایش می‌یابد.

جو یکی از گیاهانی است که در شرایط آب و هوایی کاملاً متفاوتی رشد کرده و دارای فرم‌هایی است که نسبت به شرایط مختلف سازگاری دارند جو، بیشتر در زمین‌هایی که برای سایر غلات چندان مناسب نیست، کشت می‌شود (سیدشریفی و حکم علی پور، ۱۳۸۹). در گیاهان زراعی دو منظوره همچون جو کاهش در فیلوکرون و افزایش در سرعت ظهور برگ به دلیل تسریع در گسترش سطح برگ و انباشتگی بیشتر ماده خشک از اهمیت زیادی برخوردار است در این راستا آزمایشی به-منظور ارزیابی تأثیر تلقیح بذر جو بهاره با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر فیلوکرون و سرعت ظهور برگ متأثر از سطوح مختلف کودهای نیتروژن و فسفر در شرایط اقلیمی اردبیل اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل با مختصات جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۰ دقیقه طول شرقی، ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا انجام شد. بافت خاک منطقه از نوع سیلتی لوم می‌باشد. pH خاک۸/۲ (جدول ۱) و عمق خاک زراعی ۷۰ سانتیمتر می‌باشد. سایر مشخصات خاک در جدول شماره یک ارائه شده است.

محل آزمایش از نظر آب و هوا و تقسیمات اقلیمی جزء مناطق نیمه خشک سرد محسوب می‌شود. آزمایش به‌صورت فاکتوریل اسپلیت پلات با سه تکرار اجرا شد. کرتهای اصلی شامل فاکتورهای کود نیتروژن در ۳ سطح (صفر، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع اوره) و کود فسفر (صفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوکرم فسفر در هکتار به‌صورت P2O5) و کرت‌های فرعی به تلقیح بذر با باکتری، در ۴ سطح (بدون تلقیح، تلقیح با آزتوباکتر کروکوکوم استرین ۵[6]، آزوسپریلوم لیپوفرم استرین OF[7] و و مخلوط دو باکتری) اختصاص داده شد. هر دوی این باکتری‌ها بومی خاک‌های ایران بوده و مایه تلقیح آن از بخش تحقیقات بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. هر کرت فرعی دارای ۶ خط کاشت به طول ۵ متر با فاصله بین ردیفی ۱۸ سانتی متر بود. تراکم مورد استفاده برای همه کرت‌های آزمایشی ثابت و در حد ۴۰۰ بذر در متر مربع در نظر گرفته شد. برای تلقیح بذر با باکتری‌ها، میزان هفت گرم مایه تلقیح از هر باکتری که هر گرم آن دارای 10^7 سلول باکتری زنده و فعال بود استفاده گردید. به منظور تلقیح بذر با باکتری‌ها و ایجاد چسبندگی مناسب از محلول صمغ عربی استفاده شد (غلامی و همکاران، ۲۰۰۹). آبیاری مزرعه به صورت کرتی و با توجه به شرایط محیطی، به طور متوسط هر ۷ روز یکبار و بر اساس مشاهده وضعیت رطوبتی خاک انجام و در طول دوره رشد به منظور مبارزه با علف‌های هرز وجین دستی اعمال گردید.

به منظور اندازه گیری فیلوکرون، بعد از مرحله چهار برگی (زیرا تا مرحله چهار برگی ظهور برگ‌ها بیشتر تابع دمای خاک است) هر ۳ روز یک بار تعداد برگ‌های موجود در ۶ بوته مشابه در خطوط اصلی هر کرت که قبلاً با نخ رنگی علامتگذاری شده بود شمارش می‌گردید و هر برگ زمانی در شمارش منظور می‌شد که حداقل یک سانتیمتر طول داشت. برگ‌های هر بوته بعد از شمارش با ماژیک رنگی علامت گذاری می‌شدند. رفیعی و کریمی (۱۳۷۷) نیز در بررسی فیلوکرون چغندرقند چنین روشی را به کار بردند. سرعت ظهور برگ نیز با استفاده از رابطه زیر برآورد گردید (وارینگتون و کانموسو، ۱۹۸۳[8]):

فیلوکرون/۱= سرعت ظهور هر برگ

برای بررسی روند تغییر شاخص سطح برگ در تیمارهای مختلف، نمونه برداری پس از سبز شدن کامل از سه خط اصلی هر کرت فرعی انجام می‌شد. به این صورت که هر ۱۰ روز یک بار ۱۵-۱۰ سانتیمتر از سه خط اصلی هر کرت و از بین بوته‌های رقابت کننده به

1. Ribaudo et al (2001).
2. Sarig et al (1990).
3. Hernandez et al (1995).
4. Dobbelaere et al (2003).
5. Kapulnik et al (1982).
6. *Azotobacter chroococcum* strain5.
7. *Azospirillum lipoferum* strain of.
8. Warrington and Kanemasu (1983).

تصادف و با در نظر گرفتن اثر حاشیه انتخاب و در هر مرحله بعد از قرار دادن در آون الکتریکی در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت تا زمان ثابت شدن وزن، وزن خشک آنها توزین و با استفاده از فرمول زیر نسبت به محاسبه شاخص سطح برگ اقدام شد (نقل از کریمی و سدیک، ۱۹۹۱[1]).

$$LAI = e^{(a+bt+ct^2)}$$ [2]

برای تجزیه دادهها و رسم نمودارها از نرم افزارهای SAS وExcel استفاده گردید. مقایسات میانگین نیز توسط آزمون LSD انجام گرفت.

نتایج و بحث

فیلوکرون و سرعت ظهور برگ

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تلقیح بذر با باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلوم منجر به کاهش فیلوکرون و افزایش سرعت ظهور برگ‌ها شد (شکل‌های ۱ و ۲). بررسی روند تغییرات سرعت ظهور برگ و فیلوکرون متأثر از تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه نشان‌گر تأثیر افزایشی کاربرد توأم باکتری‌های مورد مطالعه می‌باشد. به این صورت که کاربرد توأم این باکتری‌ها در مقایسه با کاربرد انفرادی منجربه افزایش بیشتر سرعت ظهور برگ و کاهش شدیدتر فیلوکرون در تمام مراحل یادداشت‌برداری شده است. این در حالی است که تیمار شاهد در تمامی مراحل یادداشت‌برداری بیشترین فیلوکرون و کمترین میزان سرعت ظهور برگ را به خود اختصاص داد. دی فریتاز و جرمیدا (۱۹۹۰) افزایش در سرعت ظهور برگ گندم را به واسطه استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه گزارش کردند. بررسی-های ساریج و همکاران (۱۹۹۰) نشان داد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه با کاهش فیلوکرون منجربه افزایش سرعت ظهور برگ می‌شود. نتایج مشابهی نیز توسط ری بادو و همکاران (۲۰۰۱)؛ فالیک و اوکان (۱۹۹۶) گزارش شده است. نگاه اجمالی به روند تغییرات فیلوکرون و سرعت ظهور برگ متأثر از تلقیح بذر با باکتری‌های مورد مطالعه در مراحل مختلف نمونه‌برداری نشان داد که در مراحل نهایی نمونه‌برداری سرعت ظهور برگ‌ها کاهش و فیلوکرون افزایش می‌یافت، زیرا در مراحل اولیه رشد، اغلب برگ‌ها در معرض تابش نور هستند در نتیجه سرعت جذب خالص به حداکثر خود می‌رسد، پس از آن به دلیل افزایش سطح برگ و سایه-اندازی برگ‌های بالایی روی برگ‌های پایینی، میزان فتوسنتز کاهش و در نتیجه سرعت رشد کمتر می‌شود. نتایج تحقیقات بسیاری از محققین از جمله کوکس (۱۹۹۶)[3]؛ تامینسون و همکاران (۱۹۹۵) ؛ حکم‌علی‌پور و همکاران (۱۳۸۶) حاکی از این است که با افزایش سطح برگ و سایه‌اندازی برگ‌ها روی همدیگر، به دلیل کاهش سرعت جذب خالص، فیلوکرون افزایش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد که افزایش سطوح کود نیتروژن و فسفر روندی مشابه با تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه دارد. به‌طوری که با افزایش کاربرد کودهای فسفر و نیتروژن سرعت ظهور برگ افزایش و فیلوکرون کاهش یافت. بررسی‌های مختلفی نشان داده است که کمبود عناصر غذایی مانند نیتروژن (حکم‌علی‌پور و همکاران ، ۲۰۱۰[4]؛ لانگنکر و رابسون، ۱۹۹۴) و فسفر (پیسل، ۱۹۷۷) ۱۹۷۷) سرعت ظهور برگ را کاهش می‌دهد. بررسی روند تغییرات فیلوکرون و سرعت ظهور برگ متأثر از سطوح کودهای نیتروژن و فسفر در مراحل مختلف یادداشت‌برداری نشان داد با افزایش سطوح کودهای نیتروژن و فسفر فاصله زمانی بین ظهور دو برگ متوالی، کمتر و سرعت ظهور برگ‌ها بیشتر می‌شود که این روند به‌ویژه با گذشت زمان و در مراحل نزدیک به انتهای دوره رشد رویشی متمایزتر از مراحل قبلی بود (شکل‌های ۳، ۴، ۵ و ۶).

تعداد برگ

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر نیتروژن، فسفر و باکتری‌های محرک رشد گیاه و اثر ترکیب تیماری نیتروژن × فسفر برای صفت تعداد برگ در بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). به این ترتیب که تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب افزایش تعداد برگ در بوته گردید. بیشترین تعداد برگ در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه در به کارگیری توأم ازتوباکتر و آزوسپریلوم و کمترین آن در عدم پرایمنیگ مشاهده شد. ضمن این که افزایش تعداد برگ در اثر تلقیح با باکتری ازوسپریلوم در مقایسه با ازتوباکتر مشهودتر بود (شکل۷). بررسی نتایج به دست آمده از فیلوکرون و سرعت ظهور برگ و مقایسه آنها با صفت تعداد برگ در بوته نشان‌گر وجود یک رابطه منطقی بین این صفات می‌باشد. به این صورت که تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه با افزایش سرعت ظهور برگ منجربه افزایش تعداد برگ در بوته گردید. همچنین نمودار اثر ترکیب تیماری نیتروژن × فسفر بر تعداد برگ در بوته نشان داد که بیشترین تعداد در بالاترین سطح کاربرد نیتروژن و فسفر و کمترین آن در عدم به کارگیری کود

1. Karimi and Siddiqe (1991).
2. Leaf Area Index
3. Cox (1996).
4. Hokmalipour et al (2010).

برآورد گردید (شکل ۸). محققان مختلفی نشان دادند که کاربرد عناصری مانند نیتروژن (لانکنیگر و رابسون، ۱۹۹۴) و فسفر (پیسل، ۱۹۷۷)، به دلیل افزایش سرعت ظهور برگ منجربه افزایش تعداد برگ در بوته می‌شود.

وزن خشک برگ

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده و متقابل فاکتورهای مورد بررسی (نیتروژن، فسفر و تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه) بر وزن خشک برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر ترکیب تیماری کود نیتروژن × کود فسفر × باکتری‌های محرک رشد گیاه برای وزن خشک برگ (جدول۳) مشخص کرد که در بالاترین سطح کاربرد کود نیتروژن (۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) و فسفر (۶۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به فرم P2O5) به همراه تلقیح بذر با باکتری آزوسپریلوم لیپوفرم استرین OF بیشترین ماده خشک برگ (۹۰/۲ گرم در متر مربع) و در سطوح شاهد تیمارهای مورد مطالعه کمترین ماده خشک برگ (۴۶/۲ گرم در متر مربع) برآورد گردید. به عبارت دیگر این ترکیب تیماری در مقایسه با سطوح شاهد تیمارهای مورد مطالعه منجربه افزایش ۴۸/۷۸ درصدی در ماده خشک برگ گردید. همچنین جدول مقایسه میانگین اثر ساده تیمارها (جدول ۴) نشان داد که به کارگیری ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در مقایسه با شاهد به ترتیب موجب افزایش ۶/۲۲ و ۱۹/۳۳ درصدی وزن خشک برگ می‌شود. این در حالی بود که کاربرد ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم P2O5 در هکتار به‌ترتیب منجربه افزایش ۴/۳۱ و ۸/۲۹ درصدی این صفت شد. از طرفی مقایسه میانگین اثر ساده تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد گیاه نشان داد که به کارگیری توأم باکتری‌های مورد مطالعه تأثیر بیشتری نسبت به کاربرد انفرادی باکتری‌ها بر روی وزن خشک برگ دارد. به‌طوری که کاربرد توأم این باکتری‌ها منجربه افزایش ۲۵/۶۶ درصدی وزن خشک برگ شد. این در حالی است که کاربرد انفرادی ازتوباکتر و آزسپریلوم به ترتیب منجربه افزایش ۲۲/۱۶ و ۲۵/۲۶ درصدی وزن خشک برگ شد. کاپولینک و همکاران (۱۹۸۲) ؛ هرناندز و همکارن (۱۹۹۵) نیز در بررسی‌های جداگانه افزایش وزن‌تر و خشک برگ‌های بوته ذرت را در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش کرده‌اند. افزایش وزن خشک برگ به دنبال تلقیح بذر با باکتری آزوسپریلوم توسط باسیلیو و همکاران (۲۰۰۴) در گندم نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد نتایج به دست آمده برای صفت وزن خشک برگ در این مطالعه با نتایج مربوط به فیلوکرون و سرعت ظهور برگ مرتبط باشد. به عبارتی می‌توان اظهار داشت که تیمارهای مورد مطالعه و به خصوص تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه با کاهش فیلوکرون و افزایش سرعت ظهور برگ منجر به افزایش معنی‌داری در تعداد برگ در بوته و در نتیجه افزایش ماده خشک برگ شده است.

شاخص سطح برگ

روند تغییرات شاخص سطح برگ متأثر از تیمارهای مورد بررسی نشان داد که تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه و نیز کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر باعث افزایش شاخص سطح برگ جو می‌شود (شکل۹). به این ترتیب که تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه در تمامی مراحل یادداشت‌برداری در مقایسه با شاهد از شاخص سطح برگ بالاتری برخوردار بود. همچنین تلقیح بذر با ازتوباکتر همراه با آزوسپریلوم در مقایسه با کاربرد انفرادی آنها منجربه افزایش بیشتر شاخص سطح برگ می‌شود. این در حالی است که در کاربرد انفرادی دو باکتری، افزایش در شاخص سطح برگ در تلقیح بذر با آزوسپریلوم در مقایسه با ازتوباکتر بیشتر مشهود بود. تأثیر کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر بر روی شاخص سطح برگ نیز روندی مشابه کاربرد باکتری‌های محرک رشد داشت. به این صورت که با افزایش کاربرد سطوح هر دو کود، شاخص سطح برگ افزایش.یافت. بررسی روند تغییرات شاخص سطح برگ در مراحل مختلف یادداشت‌برداری در تمامی تیمارهای مورد آزمایش نشان‌دهنده روند رشد صعودی در مراحل ابتدایی توسعه برگ و روند نزولی در مراحل نهایی گسترش سطح برگ بود. کاهش شاخص سطح برگ در مراحل انتهایی به دلیل افزایش ریزش برگها در اثر پیری می‌باشد. افزایش در شاخص سطح برگ به همراه کاربرد کود نیتروژن توسط حکم‌علی‌پور و همکاران (۱۳۸۶) نیز گزارش شده است.

جمع‌بندی و نتیجه‌گیری

با افزایش سطوح کود نیتروژن و فسفر سرعت ظهور برگ افزایش و فیلوکرون کاهش یافت. سرعت ظهور برگ در تلقیح توأم بذور با باکتری‌های *ازتوباکتر کروکوکوم* استرین ۵ و *آزوسپریلوم لیپوفرم* استرین OF، بیشتر از تلقیح انفرادی با باکتری‌های مورد مطالعه بود. بیشترین ماده خشک برگ در به کارگیری بالاترین سطح نیتروژن و فسفر به همراه تلقیح بذر با باکتری *آزوسپریلوم لیپوفرم* استرین OF، در مقایسه با سطوح شاهد به دست آمد. بیشترین تعداد برگ و شاخص سطح برگ در تلقیح توأم با ازتوباکتر و آزوسپریلوم و کمترین آن در عدم پرایمنیگ مشاهده شد. بیشترین تعداد برگ و شاخص سطح برگ در بالاترین سطح نیتروژن و فسفر و کمترین

آنها در سطوح شاهد این دو فاکتور به دست آمد. از آنجا که شاخص‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و کودهای شیمیایی در کنار باکتری‌های محرک رشد موجب بروز اثرات مفید شدند بنابراین به منظور افزایش سرعت ظهور برگ، تعداد برگ در بوته و شاخص سطح برگ پیشنهاد کرد می‌شود که تلقیح بذر به طور توأم با باکتری‌های ازتوباکتر وآزسپریلوم در بالاترین سطح از کودهای نیتروژن و فسفر به کار برده شود.

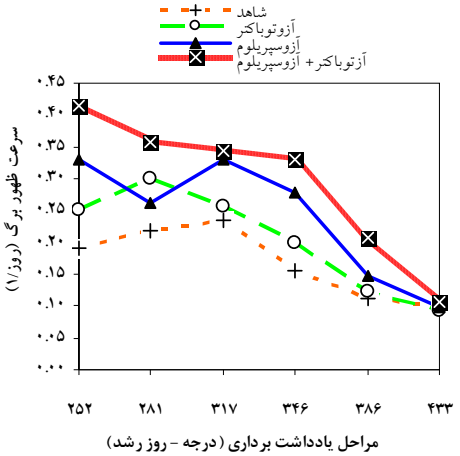
جدول ۱ – خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

عمق نمونه برداری (cm)	پ-هاش	عصاره اشباع (٪)	رس (٪)	لوم (٪)	شن (٪)	بافت (٪)	کربن آلی (٪)	نیتروژن کل (٪)	فسفر قابل جذب ($mg.kg^{-1}$)
۰-۳۵	۸/۲	۴۶	۵	۷۲	۲۳	سیلتی لوم	۰/۷۸	۰/۱۶	۱۶

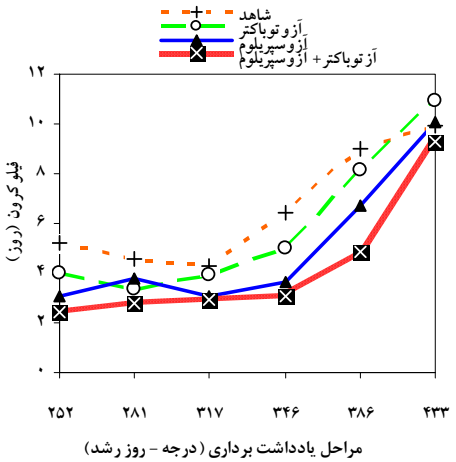
جدول۲ – تجزیه واریانس وزن خشک برگ و تعداد برگ در بوته متأثر از سطوح کود نیتروژن، فسفر و باکتری‌های محرک رشد گیاه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		وزن خشک برگ	تعداد برگ در بوته
تکرار	۲	۱۲/۵۸**	۰/۲۵۷**
نیتروژن	۲	۲۱۶۴**	۵/۹۶۶**
فسفر	۲	۳۲۷/۵**	۲/۱۱۰**
نیتروژن × فسفر	۴	۲۰/۵**	۰/۵۳۵**
خطای اول	۱۶	۰/۰۶۶۳	۰/۰۴۶۹
باکتری محرک رشد	۳	۲۲۷۲/۷**	۲/۰۱۹**
نیتروژن × باکتری محرک رشد	۶	۱۷/۰۵**	۰/۰۱۱۸
فسفر × باکتری محرک رشد	۶	۱/۶۱۶۷**	۰/۰۵۲۷
نیتروژن × فسفر× باکتری محرک رشد	۱۲	۷/۴۱۶**	۰/۰۲۴۸
خطای دوم	۵۳	۲۲۸/۵*	۰/۰۴۸۸
ضریب تغییرات	–	۰/۳۸	۲/۸۳

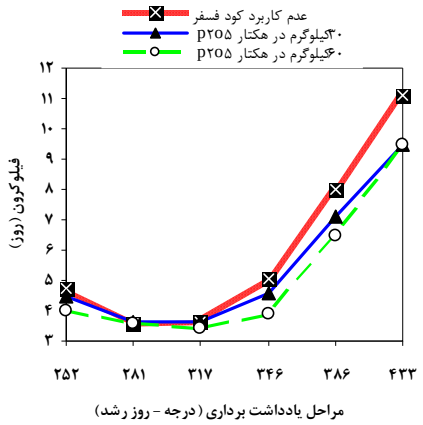
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد



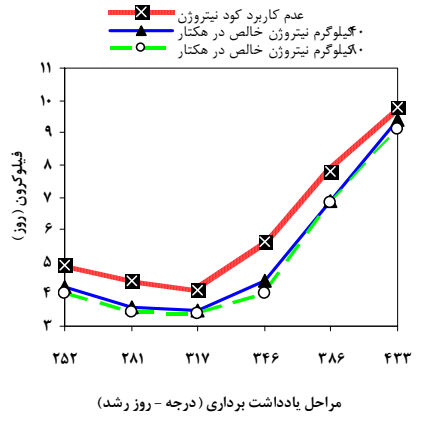
شکل ۱- روند تغییرات سرعت ظهور برگ متأثر از کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه



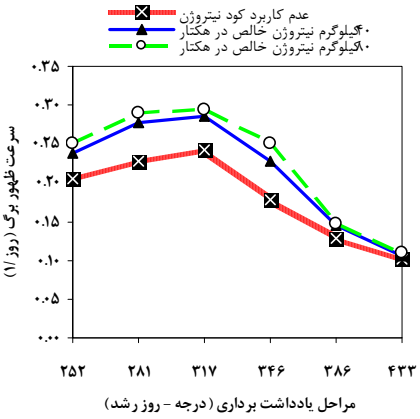
شکل ۲- روند تغییرات فیلوکرون متأثر از کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه



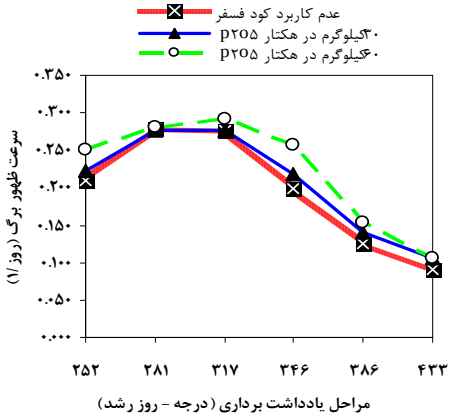
شکل ۳- روند تغییرات فیلوکرون متأثر از کاربرد کود نیتروژن



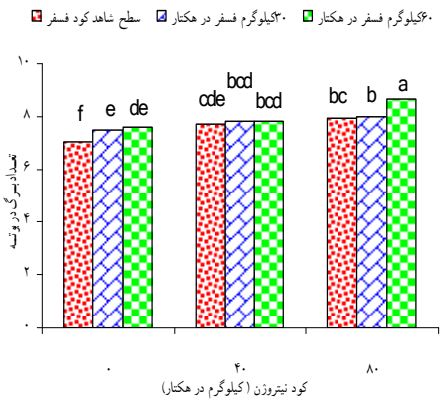
شکل ۴- روند تغییرات فیلوکرون متأثر از کاربرد کود فسفر



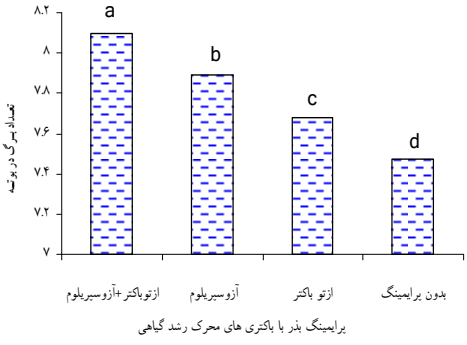
شکل ۵- روند تغییرات سرعت ظهور برگ متأثر از کاربرد کود نیتروژن



شکل ۶- روند تغییرات سرعت ظهور برگ متأثر از کاربرد کود فسفر



۷- نمودار اثر متقابل نیتروژن در فسفر بر تعداد برگ در بوته



۸- نمودار اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر تعداد برگ در بوته

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ساده هر یک از فاکتورهای مورد بررسی بر وزن خشک برگ

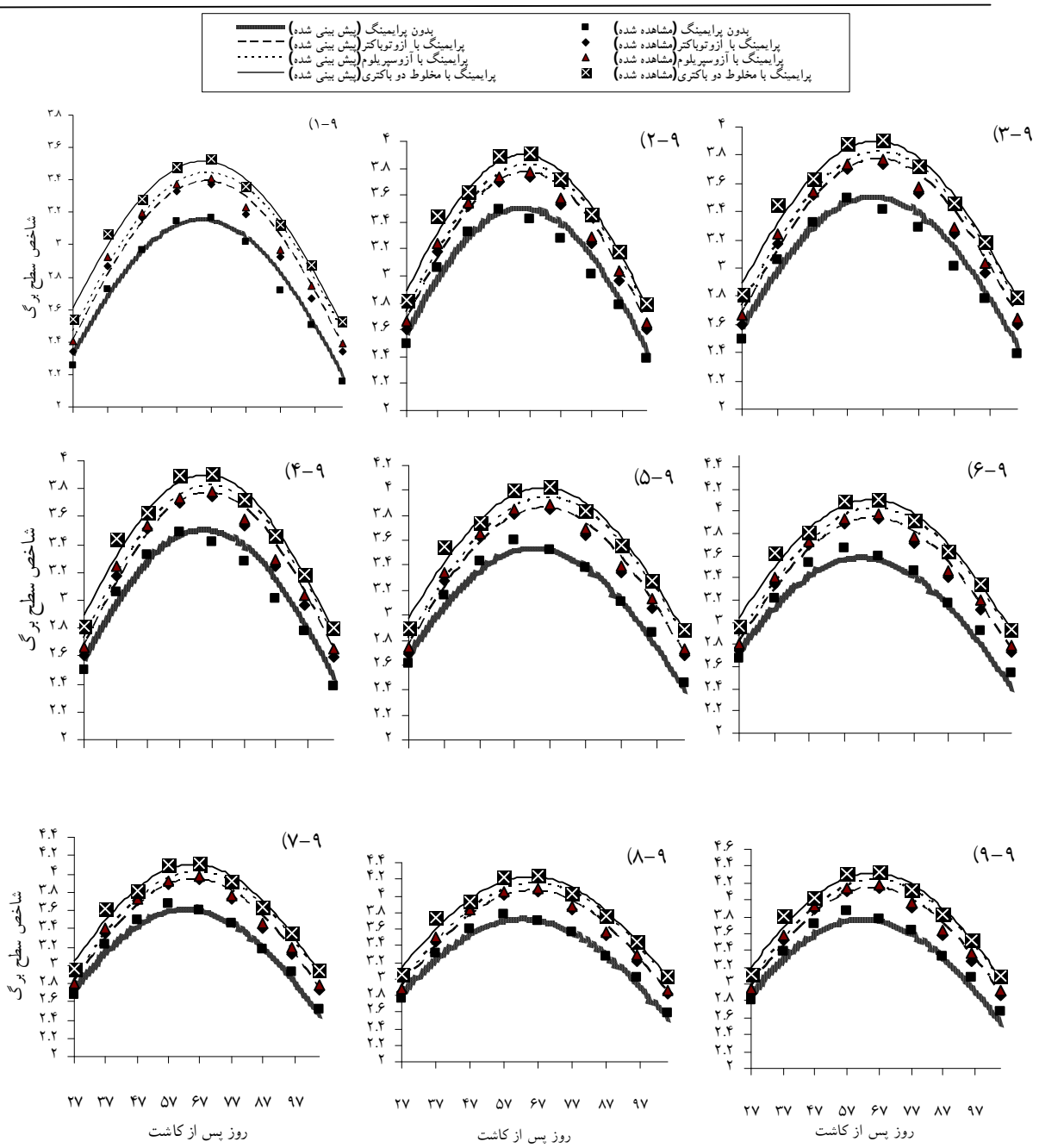
ترکیب تیماری	میانگین وزن خشک برگ (گرم در متر مربع)
سطح شاهد کود نیتروژن	۶۳/۴c
۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار	۶۷/۶b (۶/۲۲)
۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار	۷۸/۴a (۱۹/۱۳)
سطح شاهد کود فسفر	۶۶/۷۷c
۳۰ کیلو گرم P_2O_5 در هکتار	۶۹/۷۸ b (۴/۳۱)
۶۰ کیلو گرم P_2O_5 در هکتار	۷۲/۸۱ a (۸/۲۹)
عدم تلقیح بذر با باکتری	۵۶/۲d
تلقیح بذر با ازتوباکتر	۷۲/۲c (۲۲/۱۶)
تلقیح بذر با ازوسپریلوم	۷۵/۲ b (۲۵/۲۶)
تلقیح بذر با مخلوط باکتری	۷۵/۶a (۲۵/۶۶)

* میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون برای سطوح هر یک از فاکتورهای مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری با هم دارند. در ضمن اعداد داخل پارانتز درصد افزایش وزن خشک برگ نسبت به شاهد را نشان می‌دهند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ترکیب‌های تیماری نیتروژن، فسفر و باکتری‌های محرک رشد گیاه روی وزن خشک برگ در بوته (گرم)

سطوح کود نیتروژن (کیلوگرم در هکتار)	بدون باکتری			ازتوباکتر			آزوسپریلوم			ازتوباکتر+آزوسپریلوم		
	سطوح فسفر (کیلوگرم P_2O_5 در هکتار)			سطوح فسفر (کیلوگرم P_2O_5 در هکتار)			سطوح فسفر (کیلوگرم P_2O_5 در هکتار)			سطوح فسفر (کیلوگرم P_2O_5 در هکتار)		
	صفر	۳۰	۶۰	صفر	۳۰	۶۰	صفر	۳۰	۶۰	صفر	۳۰	۶۰
صفر	۴۶/۲۱u	۵۳/۲۶t	۵۴/۴۰s	۶۳/۳۱p	۶۴/۳۷ o	۶۶/۴۳n	۶۸/۴۹ml	۶۸/۳۳m	۶۹/۴۶ l	۶۶/۳۳ n	۶۸/۴۶ml	۷۱/۴۶j
۴۰	۵۳/۲۳t	۵۳/۲۳t	۵۶/۳۹r	۶۸/۲۶m	۷۱/۱۹kj	۷۳/۲۷i	l۶۹/۲۹	۷۱/۲۱kj	۷۶/۲۸ h	۷۰/۷۳ k	۷۲/۰۰ j	۷۵/۶۰h
۸۰	۵۸/۲۵q	۶۲/۳۳P	۶۸/۳۳m	۷۷/۳۵g	۸۱/۱۹e	۸۴/۴۷d	۸۰/۱۸ef	۸۶/۴۰bc	۹۰/۲۷a	f۷۹/۴۲	۸۵/۳۵cd	۸۷/۳۲b

* اعداد دارای حروف غیر مشابه اختلاف آماری معنی‌داری دارند.



شکل ۹- روند تغییرات شاخص سطح برگ جو متأثر از باکتری‌های محرک رشد گیاه در ترکیب تیماری ۹-۱)N0PO ۹-۲) N0P1 ۹-۳) N0P2 ۹-۴) N1PO ۹-۵) N1P1 ۹-۶) N1P2 ۹-۷) N2PO ۹-۸) N2P1 ۹-۹) N2P2 .

*** N0، N1 و N2 به ترتیب سطح شاهد کود نیتروژن، ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار.P0، P1 و P2 به ترتیب سطح شاهد کود فسفر، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم فسفر (به فرم P2O5) در هکتار**

فهرست منابع:

۱. امام، ی. و نیک نژاد، م. ۱۳۷۴. مقدمه ای بر فیزیولوژیکی عملکرد گیاهان زراعی (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز.

۲. حکم‌علی‌پور، س.، سید شریفی. ر.، قدیم زاده. م. و جماعتی ثمرین، ش. ۱۳۸۶. ارزیابی تراکم بوته و سطوح کود ازته بر فیلوکرون و سرعت ظهور برگ ذرت. مجله علوم خاک و آب. جلد ۲۱ شماره ۲.

۳. خاوازی، ن.، و ملکوتی، م. ج. ۱۳۸۰. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. وزارت جهاد کشاورزی. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. موسسه تحقیقات آب و خاک. ۲۵۶ صفحه.

۴. رفیعی، م. و کریمی، م. ۱۳۷۷. اثر شوری بر فیلوکرون و شدت ظهور برگ چغندر قند. پنجمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه صنعتی اصفهان. ۲۶۲ صفحه.

۵. سیدشریفی، ر.، و حکم‌علی‌پور، س. ۱۳۸۹. زراعت گیاهان علوفه ای، دانشگاه محقق اردبیلی. انتشارات عمیدی. ۵۸۵ صفحه.

۶. نورمحمدی، ق.، سیادت، ع. ا.، و کاشانی، ع.۱۳۸۰. زراعت غلات (جلد اول). انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز.

7. Bacilio, M., Rodriguez, H., Moreno, M., Hernandez J.P., and Y. Bashan. 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a *gfp-tagged Azospirillum lipoferum*. Biol. Fertil. Soils. 40:188-193.
8. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., and Y. Yaacov Okon. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Rev. Plant Sci. 22: 107-149.
9. Bashan Y., Holguin, G., and L.E. de-Bashan. 2004. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances. Can. J. Microbiol. 50: 521–577.
10. Cakmakci, R., Donmez, M.F., and U. Erdogan. 2007a. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts. Turk. J. Agric. 31: 189-199.
11. Cakmakci, R., Erat, M., Erdoman, U.G., and M.F. Donmez. 2007b. The influence of PGPR on growth parameters, antioxidant and pentose phosphate oxidative cycle enzymes in wheat and spinach plants. J. Plant Nutr. Soil Sci. 170: 288-295.
12. Cox, W.J. 1996 .Whole plant physiological and yield response of maize to plant density. Agron. J. 88: 489 - 496.
13. De Freitas, J.R., and J.J. Germida. 1990. Plant growth promoting rhizobacteria for winter wheat. Can. J. Microbiol. 36: 265-272.
14. Fallik E., and Y. Okon., 1996. The response of maize (*Zea mays* L.) to Azospirillum inoculation in various types of soils in the field. World J. Microbiol. Biotechnol. 12: 511-515.
15. Gholami, A., Shahsavani, S., and S. Nezarat. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. Proceedings of World Academy of Science. Engin and Techno. 37: 2070-3740
16. Hernandez, A.N., Hernandez, A., and M. Heydrich. 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. Cultivos Tropicales. 6: 5-8.
17. Hokmalipour, S., R., Seyedsharifi, S., Jamaati-e-Somarin, M., Hassanzadeh, M., Shiri-e-Janagard and R., Zabihi-e-Mahmoodabad .2010. Evaluation of Plant Density and Nitrogen Fertilizer on Yield, Yield Components and Growth of Maize. World Applied Sci J. 8: 1157-1162.
18. Kapulnik, Y., Sarig, S., Nur, A., Okon, Y., and Y. Henis. 1982. The effect of Azospirillum inoculation on growth and yield of corn. Isr J. Bot. 31: 247-255.
19. Karimi, M.M., and K.H.M. Siddiqe. 1991. Crop growth and relative growth rate of old and modern wheat cultivars. Aust. J. Agric. Res. 42: 13-20.
20. Longnecker, N., and A. Robson. 1994. Leaf emergence of spring wheat receiving varying nitrogen supply at different stage of development. Ann of Bot. 74: 1-7.
21. Peaslee, DE. 1977. Effects of nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition on yield, rates of kernel growth and grain filling periods of two corn hybrids. Communications in soil science and plant Analysis. 8: 373 - 389.

22. Ribaudo, C.M., Rondanini, D.P., Cura, J.A. and A.A. Fraschina. 2001. Response of *Zea mays* to the inoculation with *Azospirillum* on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. Biol. Plant. 44: 631-634.
23. Ritchie, J.T., and D.S. NeSmith. 1991. Temperature and crop development. In: Hanks, R.J., Ritchie, J.T. (Eds.), Modeling Plant and Soil Systems. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. pp: 5-28.
24. Sarig, S., Okon, Y., and A. Blum. 1990. Promotion of leaf area development and yield in Sorghum bicolor inoculated with *Azospirillum brasilense*. Symbiosis. 9: 235-245.
25. Sharma, A. K. 2003. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agro bios, India.
26. Tollenaar, M., Dibo, A., Weise, S.f., and C.J. Swanton. 1994. Effect of crop density on weed interference in maize. Agron Jou. 86: 591-595.
27. Warrington, I.J., and E.T. Kanemasu.1983. Corn growth response to temperature and photoperiod, Leaf initiation and leaf appearance rates. Agron Jour. 75: 755- 761.
28. Zahir, A.Z., M., Arshad, and W.F. Frankenberger. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria. Application and perspectives in agriculture. Adva in Agron. 81: 97-168.