مجله مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد سوم، شماره اول، ۱۳۹۲
http://ejsms.gau.ac.ir

بهبود تغذیه فسفر در گیاه گندم با تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات

*محمدرضا ساریخانی[۱]، ناصر علی‌اصغرزاد[۲] و محمدعلی ملبوبی[۳]
[۱]استادیار گروه خاک‌شناسی، دانشگاه تبریز، [۲]استاد گروه خاک‌شناسی، دانشگاه تبریز،
[۳]دانشیار بخش بیوتکنولوژی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری
تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۲۵

چکیده

فسفر بعد از نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد گیاهان به‌شمار می‌آید. یکی از روش‌های تامین فسفر مورد نیاز گیاهان بهره‌گیری از توان زیستی خاک و استفاده از ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات می‌باشد. به این منظور آزمایش گلخانه‌ای با گیاه گندم بهاره (رقم روشن) و با ۳ گونه باکتری حل‌کننده فسفات شامل: (P13) *Pseudomonas putida* P13، (P5) *Pantoea agglomerans P5* و *Pseudomonas fluorescence* CHAO (CHAO) در یک خاک استریل انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار (P13، P5، CHAO، P13+P5 و تیمار شاهد بدون استفاده از باکتری) در ۳ تکرار به اجرا در آمد. وزن تر و خشک بخش هوایی (در میان‌دوره و انتهای دوره رشد)، تعداد سنبله و دانه در هر گلدان، وزن دانه، غلظت و مقدار فسفر در بخش هوایی و در دانه اندازه‌گیری شدند. پارامترهای اندازه‌گیری شده در میان‌دوره رشد (وزن تر و خشک بخش هوایی، همچنین غلظت و مقدار فسفر موجود در آن) در هیچ‌یک از تیمارهای اعمال شده تفاوتی با هم نشان ندادند. نتایج نشان داد که تیمارهای باکتریایی بر وزن خشک بخش هوایی تأثیری نداشتند هر چند که وزن هزاردانه در تیمار P13+P5 افزایش معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهای باکتری به‌جز تیمار P13 نشان داد. بیش‌ترین تعداد دانه و سنبله در تیمار P5 و CHAO مشاهده شد. بررسی غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی نیز افزایش معنی‌دار تیمارهای باکتریایی را به همراه داشت و بیش‌ترین افزایش غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی (به‌ترتیب ۱/۸ و

* مسئول مکاتبه: rsarikhani@yahoo.com

۱/۱٤ برابر نسبت به شاهد) از ترکیب تیماری P13+P5 به‌دست آمد. براساس نتایج این آزمایش باید انتظار داشت که اثر تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات را در پایان دوره رشد گیاه مشاهده نمود و در اوسط رشد گیاه شاید نتایج معنی‌داری از حضور آن‌ها در کنار گیاه به‌دست نیاید.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل‌کننده فسفات، فسفر، گندم، عملکرد دانه، رشد رویشی

مقدمه

فسفر یکی از عناصر غذایی پرمصرف اصلی برای رشد و نمو گیاهان است و مقدار کل آن در خاک ۱۲۰۰–٤۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹). گرچه فسفر به مقدار فراوانی در خاک‌ها به دو شکل آلی و معدنی یافت می‌شود (خان و همکاران، ۲۰۰۷)، اما در مقایسه با سایر عناصر غذایی، فسفر در بیش‌تر خاک‌ها تحرک و قابلیت جذب کمی دارد. غلظت فسفر محلول در خاک معمولاً خیلی‌پایین است و در حدود ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم یا کم‌تر می‌باشد (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹؛ خان و همکاران، ۲۰۰۷). از بین اشکال قابل‌جذب فسفر غالب‌ترین شکل جذبی آن $H_2PO_4^-$ یا HPO_4^{2-} می‌باشد. اشکال معدنی فسفر در خاک به شکل کانی‌های اولیه مانند آپاتیت، هیدروکسی آپاتیت یا اُکسی آپاتیت یافت می‌شود (پائول، ۲۰۰۷). بیش‌تر خاک‌های کشاورزی منابع بزرگی از فسفر را دارا می‌باشند که بخش قابل‌ملاحظه‌ای از آن در نتیجه تجمع به‌دست آمده از کاربرد منظم کودهای فسفره است. زیرا بخش زیادی از فسفات معدنی محلول که به شکل کود شیمیایی به خاک اضافه می‌شود تثبیت شده و برای گیاهان غیرقابل استفاده می‌گردد (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹). بنابراین نزدیک به ۸۰ درصد فسفر اضافه شده به خاک ممکن است بر اثر تثبیت به‌صورت آلی و معدنی و یا حتی فیزیکی برای گیاهان غیرقابل استفاده گردد (راگوتاما و کارتیکیان، ۲۰۰۵). دومین منبع مهم فسفر در خاک ماده آلی است. اشکال آلی فسفر ۵۰–۳۰ درصد کل فسفر را در بیش‌تر خاک‌ها به خود اختصاص می‌دهند، اما مقدار آن ممکن است از ۹۵–۵ درصد در نوسان باشد (پائول، ۲۰۰۷). فسفر آلی در خاک بیش‌تر به فرم فیتات یا اینوزیتول هگزا فسفات می‌باشد. خیلی از ترکیبات فسفر آلی موادی با وزن مولکولی بالا می‌باشند که ابتدا باید به فسفات معدنی محلول ($H_2PO_4^-$ یا HPO_4^{2-}) یا فسفات آلی با وزن مولکولی کم‌تر تبدیل شوند تا توسط سلول جذب گردند (پائول، ۲۰۰۷). گزارش‌های متعددی از توانایی گونه‌های مختلف باکتری در انحلال فسفات معدنی کم محلول مانند

تری‌کلسیم فسفات، دی‌کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و سنگ فسفات وجود دارد و همچنین معدنی شدن فسفات آلی و تبدیل آن به شکل قابل‌جذب نیز از طریق تولید آنزیم‌های فسفاتاز و فیتاز گزارش شده است (ساریخانی و ملبوبی، ۲۰۰۸؛ ملبوبی و همکاران، ۲۰۰۹a؛ رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹؛ الیویرا و همکاران، ۲۰۰۹). در بین باکتری‌هایی با این توانایی، جنس‌های *Pseudomonas* (راثی‌پور و علی‌اصغرزاد، ۲۰۰۵؛ قادری و همکاران، ۲۰۰۸؛ ملبوبی و همکاران، ۲۰۰۹a)، *Bacillus* (الیویرا و همکاران، ۲۰۰۹)، *Rhizobium* (علیخانی و همکاران، ۲۰۰٦)، *Pantoea* (جونگ و همکاران، ۲۰۰۲؛ ملبوبی و همکاران، ۲۰۰۹a)، *Burkholderia* (الیویرا و همکاران، ۲۰۰۹)، *Agrobacterium*، *Achromobacter* و *Flavobacterium* (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹) دارای اهمیت هستند. براساس این گزارش‌ها، جمعیت‌های متنوعی از باکتری‌های حل‌کننده فسفات در خاک و در ریزوسفر گیاه وجود دارد که شامل گونه‌های هوازی و بی‌هوازی با غالبیت گونه‌های هوازی است. همچنین جمعیت آن‌ها در ریزوسفر در مقایسه با خاک غیرریزوسفری به مراتب بیش‌تر می‌باشد (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹).

طبق آمار، سطح زیر کشت گندم در کشور ۷/۰۳ میلیون هکتار برآورد گردیده است که حدود ٦٤ درصد آن دیم و ۳٦ درصد آن (۲/۵۷ میلیون هکتار) آبی است. میزان تولید گندم کشور در سال ۱۳۸۹ حدود ۱۵ میلیون تن بوده است (بی‌نام، ۲۰۱۱). با توجه به این‌که گندم یکی از محصولات زراعی راهبردی کشور می‌باشد و تامین فسفر برای رشد مطلوب آن یکی از نیازهای اساسی این گیاه راهبردی است. در تامین فسفر مورد نیاز استفاده از توان زیستی خاک به‌نظر قابل‌قبول می‌رسد زیرا که بخش اعظم کودهای فسفره در خاک تثبیت شده و از دسترس گیاه خارج می‌شود (رودریگز و فراگا، ۱۹۹۹). برای این منظور کافی است که سویه‌های باکتری توانمند از نظر انحلال فسفات را از خاک جداسازی و با تلقیح آن‌ها در خاک از کارایی آن‌ها استفاده نمود. ضرورت یافتن جایگزینی مناسب برای انحلال و رهاسازی فسفات‌های تجمع‌یافته در خاک زمانی بیش‌تر احساس می‌شود که بدانیم منابع فسفاته موجود در خاک قابلیت تامین فسفات مورد نیاز گیاهان برای تولید بهینه آنها را تا ۱۰۰ سال دارا می‌باشد (گلدستاین و همکاران، ۱۹۹۳) و کافی است که این منبع عظیم فسفر را به‌صورتی برای گیاه قابل‌جذب و استفاده نمود. فراهمی زیستی فسفر قابل‌جذب در خاک به نوع گیاه، شرایط و سطح تغذیه‌ای و فلور میکروبی خاک بستگی دارد (خان و همکاران، ۲۰۰۷). گرچه تاکنون آزمایش‌های زیادی در مورد باکتری‌های حل‌کننده فسفات در سرتاسر جهان انجام گرفته است (گور و استوال، ۱۹۷۲؛ هالدر و همکاران، ۱۹۹۰؛ ریچاردسون و هادوباس، ۱۹۹۷؛ چابوت و همکاران، ۱۹۹٦؛ الگاوادی

و گور، ۱۹۹۲؛ افضل و همکاران، ۲۰۰۵؛ هان و همکاران، ۲۰۰٦) ولی بررسی توان ریزسازوارههای بومی در حضور گیاهان مختلف و شرایط متفاوت خاکها نیاز به انجام آزمایشهای بیشتری دارد. چنانکه میکانوا و همکاران (۱۹۹۷) و میکانوا و نواکوا (۲۰۰۲) نشان دادند میزان رهاسازی فسفات از منابع معدنی توسط باکتریهای حلکننده فسفات در حضور فسفات محلول کاهش مییابد. بنابراین در این پژوهش با بهکارگیری سه گونه باکتری حلکننده فسفات شامل دو باکتری بومی خاکهای ایران یعنی P13 و P5 (ملبوبی و همکاران، ۲۰۰۹a) و یک باکتری غیربومی CHAO (قادری و همکاران، ۲۰۰۸)، به بررسی کارایی تلقیح گونههای بالا بر خواص کمی و تغذیه فسفر گیاه گندم بهاره رقم "روشن" پرداخته شد، تا تأثیر تلقیح باکتریهای بالا بر گیاه گندم در دو مرحله قبل از به سنبله رفتن (۱/۵ ماه بعد از کاشت) و در انتهای دوره رشد (٤ ماده بعد از کاشت) مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین اثر تلقیح جداگانه و همزمان دو باکتری بومی نیز مشخص شود.

مواد و روشها

آزمایش بهصورت گلخانهای در خاک استریل با حضور ۳ گونه باکتری حلکننده فسفات شامل: *Pseudomonas putida* P13 (P13) و *Pantoea agglomerans* P5 (P5) و *Pseudomonas fluorescence* CHAO (CHAO) و با استفاده از گیاه گندم رقم روشن در اتاق کشت پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری به اجرا در آمد. باکتریهای P5 و P13 از شرکت زیست فناور سبز و باکتری CHAO از آزمایشگاه میکروبیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت شدند. برای استریل نمودن خاک مورد استفاده که خصوصیات آن در جدول ۱ موجود میباشد، خاک بهمدت ٤٥ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱ اتمسفر در اتوکلاو استریل شد. بعد از ضدعفونی گلدانها (ابعاد گلدان ۲۰×۱۵ سانتیمتر) در هر گلدان ۱/۵ کیلوگرم خاک استریل استفاده شد (ساریخانی و علیاصغرزاد، ۲۰۱۲). بعد از آبیاری گلدانها تعداد ۲۰ عدد بذر گندم ضدعفونی شده در گلدانها کشت شد، ضدعفونی بذر بهترتیب زیر انجام پذیرفت: شستشو با آب، تیمار با اتانول ۷۰ درصد بهمدت ۱ دقیقه، شستشو با آب مقطر استریل، تیمار با محلول وایتکس ۱۰ درصد بهمدت ۳ دقیقه و در نهایت شستن با آب مقطر استریل تا رفع بوی ماده ضدعفونیکننده (علیاصغرزاد و همکاران، ۲۰۰۹). بذرها قبل از کشت در عمق ۱ سانتیمتری از سطح خاک گلدان با زادمایههای میکروبی (۱ میلیلیتر بهازای هر بذر) مطابق طرح آزمایشی بهکار رفته تلقیح شدند. تلقیح میکروبی بهصورت استفاده مستقیم زادمایه میکروبی با بذر و همچنین تلقیح دوباره گلدان (۱ میلیلیتر بهازای هر بذر) بعد از ۱ هفته انجام

پذیرفت. برای آماده‌سازی مایه تلقیح، باکتری‌ها در محیط LB[1] (۱۰ گرم پپتون، ۱۰ گرم کلرید سدیم و ۵ گرم عصاره مخمر به‌ازای هر لیتر محیط کشت) مایع کشت شدند و بعد از رسیدن بـه OD_{600nm}=۱ ($۱۰^{۹}$ CFU/mL) مورد استفاده قرار گرفتند. قابل ذکر است که در مورد تیمار شـاهد بـه مقـدار برابـر محیط LB استریل افزوده شد. گلدان‌ها در شرایط کنترل شده اتاقک رشد با مدت زمان روشـنایی ١٤ ساعت (در اواخر دوره رشد ١٦ ساعت) با دمای روز و شب به‌ترتیب ۲±۲۵ و ۲±۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. رطوبت گلدان‌ها در طول آزمایش در محدوده FC ۰/۸ نگهداری شد. با توجه بـه میـزان ماده آلی خاک (جدول ۱) و با توجه به توصیه کودی براساس آزمون خاک (ملکوتی و غیبـی، ۲۰۰۰) نیتروژن مورد نیاز به مقدار ۱۷۳ میلی‌گرم اوره در ابتدای کشت به هر گلدان (معادل ۳۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار) اضافه شد. بعد از جوانه‌زنی بذور تعداد آن‌ها در هر گلدان به ۸ عدد کاهش یافت. نیمـی از بوته‌ها (٤ عدد) بعد از ۱/۵ ماه از کشت گیاه به‌طور کامل برداشت و بـه‌منظـور تعیـین وزن خـشک و فسفر کل آن نگهداری شدند. با تکمیل رشد گیاه و کامل شدن سنبله‌بندی گندم (حـدود ٤ مـاه) تمـام بخش هوایی گیاه برداشت شد، وزن تر (منظور نیمه‌خشک) و خشک بخـش هـوایی، تعـداد سـنبله و تعداد دانه و وزن دانه در هر گلدان اندازه‌گیری شد. بعد از تعیین وزن تـر بـرای بـه‌دسـت آوردن وزن خشک نمونه‌ها، نمونه‌های گیاهی به‌مدت ۷۲ سـاعت در درون آون بـا دمـای ٦٥ درجـه سـانتی‌گـراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری فسفر، بخش‌های مربوطه با آسیاب برقی و هاون چینی، آسیاب شدند و از الک ۱ میلی‌متری عبور داده شدند. تعیین فسفر بخش هوایی و فسفر دانه مطابق با روش آمز (آمز، ۱۹٦٦) با کمی تغییرات بود. برای این منظور به شیوه زیر اقدام شد. بـه‌ازای ۰/۵ گـرم نمونـه گیـاهی ۱ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ درصد نیترات منیزیم محلول در اتانول استفاده شد و درون لول‌های پیـرکس بر روی شعله سوزانده شد، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر $HClO_4$ مطلق به آن افزوده شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در آب جوشانده شد تا نمونه کاملاً هضم شود. ۱۰-۵ میکرولیتر از محلول صاف و رقیق شده بـالا بـرای اندازه‌گیری فسفر با استفاده از معرف Mix استفاده شد (معـرف Mix شـامل آمـونیم مولیبـدات ۰/٤۲ درصد تهیه شده در اسید سولفوریک ۱ نرمال و اسید آسکوربیک ۱۰ درصد مـی‌باشـد کـه بـه نـسبت حجمی ٦ به ۱ مخلوط شده‌اند). ترکیب بالا به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا رنگ آبی پدیدار شود سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۸۲۰ نانومتر قرائت شد. با استفاده از محلول‌های استاندارد میزان فسفر موجود در بافت گیاهی به‌دست آمد.

1- Luria-Bertani

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و در ۳ تکرار به اجرا در آمد. تیمارهای اعمال شده بـه‌ترتیـب شـامل *Pseudomonas putida* P13 (P13)، *Pantoea agglomerans* P5 (P5)، *Pseudomonas fluorescence* CHAO (CHAO) به‌علاوه ترکیب دو بـاکتری *P. putida* P13 و *P. agglomerans* P5 (P13+P5) و یک تیمار شاهد بدون استفاده از باکتری بود. در تیمار بـاکتری P13+P5 از جمعیت برابر دو باکتری استفاده شد که بعد از مخلوط نمودن آن‌هـا جمعیتـی معـادل بـا سایر تیمارها (10^9 CFU/mL) داشته باشد. تجزیه آماری یا در قالب طرح کاملاً تصادفی یا به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افـزار MSTATC صـورت پـذیرفت. بـا ایـن توضیح که پارامترهایی که در دو زمان مختلف نمونه‌برداری شده بودند مانند فسفر بخش هـوایی، وزن تر و خشک بخش هوایی (قبل از به سنبله رفتن و در پایان دوره) به‌صورت فاکتوریل در قالـب طـرح کاملاً تصادفی آنالیز شد و پارامترهایی که تنها در انتهای دوره رشد اندازه‌گیری شدند (مانند فسفر بذر) در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز گردید. ابتدا توزیع نرمال داده‌ها بررسی شد و در مواردی که نیاز به تبدیل داده بود از تبدیل داده مناسب (تبدیل Ln) استفاده شد (علیـزاده و تـاری‌نـژاد، ۲۰۰۲). مقایـسه میانگین‌ها به روش LSD انجام پذیرفت و از نرم‌افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده شد. در تمام شکل‌های مربوط به مقایسه میانگین، انحراف معیارها نیز آورده شده است.

جدول ۱- برخی از خصوصیات اندازه‌گیری شده خاک مورد استفاده در آزمایش.

کربن آلی (درصد)	فسفر قابل استفاده (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم قابل استفاده (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	رس	سیلت	شن	کربنات کلسیم	pH	EC (دسی‌زیمنس بر متر)
			(درصد)					
۱/۲	۱۵	۳۱۰	۳۰	۳۲	۳۸	۸/۱۵	۷/۲	۱/۲

نتایج و بحث

وزن تر و خشک بخش هوایی: بررسی اثر تیمارها بر وزن تر و خشک بخـش هـوایی (در میـان‌دوره و پایان‌دوره رشد) نشان داد که تفاوتی بین تیمارهای استفاده شده و شاهد وجـود نـدارد (جـدول ۲). امیری و همکاران (۲۰۰۹) در استفاده از کود زیستی حل‌کننده فسفات روی سـه رقـم گنـدم چمـران،

سایونز و گاسکوژن تفاوت معنی‌داری در تیمارهای تلقیحی خود با نمونه شاهد در مورد وزن خشک گیاه مشاهده نکردند. این در حالی است که تلقیح نیشکر با حل‌کننده‌های فسفات باعث افزایش ۱۲/٦ درصدی عملکرد گیاه شد (سوندارا و همکاران، ۲۰۰۲). نتایج ضد و نقیض در مورد تأثیر افزایشی یا تأثیر نداشتن باکتری‌های حل‌کننده فسفات در نتایج پژوهش‌های پژوهشگران دیگر نیز مشاهده می‌شود به‌عنوان نمونه افضل و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی دو سویه باکتری سودوموناس و باسیلوس به‌عنوان حل‌کنندگان فسفات مشاهده نمودند که عملکرد بیولوژیک گیاه گندم در تیمار تلقیحی هر چند روند افزایشی داشت اما با نمونه شاهد از نظر آماری تفاوتی نشان نداد. ذبیحی و همکاران (۲۰۰۹) نیز نتیجه مشابهی را در آزمایش گلدانی کاشت گندم و در حضور باکتری *P. fluorescence* سویه ۱۵۳ در شرایط بدون استفاده از کود فسفره مشاهده نمودند این در حالی بود که همین سویه در آزمایش مزرعه‌ای در مقایسه با نمونه شاهد دارای عملکرد بیولوژیک بالاتری بود. محمدی و همکاران (۲۰۱۱) در استفاده هم‌زمان کود زیستی بارور ۲ در سطوح مختلف فسفر (۰، ۲۵ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار) در کشت مزرعه‌ای گیاه نخود رقم هاشم عنوان نمودند که وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک غلاف با افزایش سطوح فسفر گرچه افزایش می‌یابد اما فراهمی بیش‌تر فسفر از اثر باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌کاهد به شکلی که در سطح کودی ۵۰ کیلوگرم در هکتار پارامترهای بالا با تلقیح کود بارور ۲ کاهش معنی‌داری نسبت به نبود تلقیح باکتری نشان داد. میراحمدی و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه گل‌خانه‌ای روی گیاه ذرت و با دو سویه حل‌کننده فسفات به‌نام‌های *Azotobacter chroococcum* Strain 5 و *P. fluoresces* Strain 187 نتایج متفاوتی را گزارش کردند. آن‌ها عنوان داشتند که در تیمار تلفیقی سوپرفسفات تریپل (۵۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) به‌علاوه باکتری‌های حل‌کننده فسفات در مقایسه با تیمار ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم و شاهد بیش‌ترین وزن خشک گیاه به‌دست آمد.

با توجه به نتایج بالا به‌نظر می‌رسد نوع گیاه مورد استفاده، سویه باکتری حل‌کننده فسفات و همچنین شرایط آزمایش در نتایج به‌دست آمده تأثیرگذار بوده‌اند.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تلقیح میکروبی باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر میزان وزن تر، وزن خشک و غلظت و مقدار فسفر قبل از سنبله رفتن (در میان‌دوره رشد گیاه) و پایان‌دوره رشد گیاه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر در هر گلدان	وزن خشک در هر گلدان	غلظت فسفر بخش هوایی	مقدار فسفر بخش هوایی
زمان	۱	۸۵/۱۷۷**	۱۷/۷۵**	۲۰/۵**	۰/۳۸۹*
تیمارهای میکروبی	٤	۵/۵۹ns	۰/۰۵۱ns	۰/۷۹۷**	۰/۷٤*
تیمارهای میکروبی × زمان	٤	۱۰/۸۰ns	۰/۰٤۳ns	۰/۱۲۱ns	۰/۱٤۵ns
خطا	۲۰	۱۳/٤٤	۰/۱۲۹	۰/۱۵۷	۰/۲۰٤
ضریب تغییرات		۱۷/۱٤	٤۳/۸٤	٤٦/۷۹	٤۵/۳۸

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار.

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر تلقیح میکروبی باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر برخی خصوصیات مرتبط با عملکرد گیاه گندم و فسفر دانه (پارامترهای اندازه‌گیری شده در پایان دوره رشد گیاه).

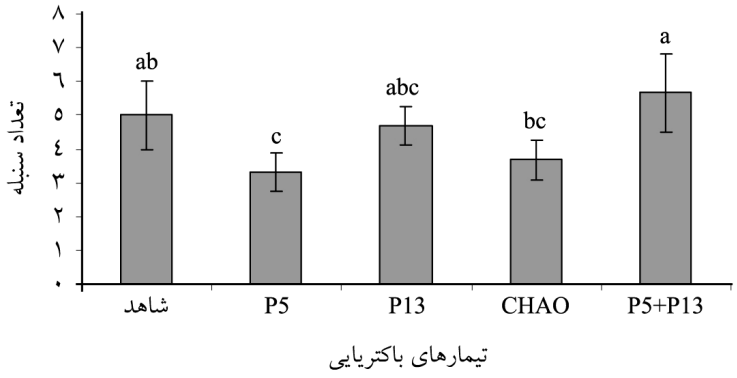
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		تعداد سنبله در هر گلدان	تعداد دانه در هر گلدان	وزن دانه در هر گلدان	وزن هزاردانه در هر گلدان	غلظت فسفر دانه
تیمارهای میکروبی	٤	۲/۷٦*	۱۰۵۵/٦*	۲/۳۳۸	۹۰۲/۱۳۸**	۰/۰۷٤ns
خطا	۱۰	۰/٦٦	۲۵٤/۱۳	۰/۷۸۷	۱۳۰/٦۲۹	۰/۰۲۸
ضریب تغییرات		۱۱/۲۹	۵٤/٦٤	۲۰/۵۹	۲٤/٤۷	۳۷/۹۹

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار.

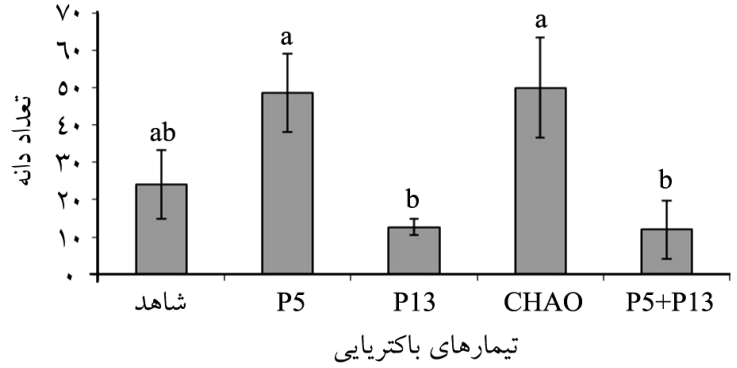
تعداد سنبله و دانه در هر گلدان: تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر تیمارهای باکتریایی بر تعداد سنبله و تعداد دانه در هر گلدان معنی‌دار است (P<۰/۰۵). در مورد صفت تعداد سنبله در گلدان، بیش‌ترین میانگین مربوط به تیمار ترکیب دو باکتری حل‌کننده فسفات P5 و P13 و کم‌ترین میانگین مربوط به تیمار باکتری P5 بود (شکل ۱). گرچه بیش‌ترین تعداد سنبله مربوط به ترکیب تیماری P13+P5 می‌باشد اما با نمونه شاهد بدون تلقیح باکتری تفاوت آماری نشان نداد. مقایسه میانگین تعداد دانه در هر گلدان نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین هیچ‌یک از تیمارهای باکتریایی اعمال شده با شاهد (بدون تلقیح باکتریایی) وجود نداشت (شکل ۲). جعفرزاده‌ذغالچالی و همکاران (۲۰۱۱) در آزمایشی که روی گیاه برنج و در حضور ۳ سویه باکتری *P. fluorescence* به‌نام‌های ۱٦۹، ۱۷۰ و ٤۲۳ انجام دادند

مشاهده کردند که کاربرد سویه‌های بالا تعداد پنجه و سنبله گیاه را افزایش نداده است. افضل و همکاران (۲۰۰۵) نیز در آزمایش خود افزایشی در پارامترهایی مانند ارتفاع گیاه گندم، تعداد پنجه، تعداد سنبله و تعداد دانه در سنبله مشاهده نکردند. اما افضل و بانو (۲۰۰۸) عنوان کردند که استفاده هم‌زمان باکتری‌های حل‌کننده فسفات به همراه کود فسفره در مقایسه با زمانی‌که کود فسفره به تنهایی به گیاه گندم داده می‌شود باعث افزایش ۴۰-۳۰ درصدی عملکرد دانه می‌شود.

به‌نظر این ویژگی متأثر از نوع گیاه و رقم آن و همچنین سویه‌های استفاده شده در آزمایش‌های مختلف بوده و از طریق ویژگی‌های محرک رشد مانند تولید هورمون‌های مختلف شاید در بهبود این پارامتر مؤثر بوده‌اند.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتریایی بر تعداد سنبله در هر گلدان.



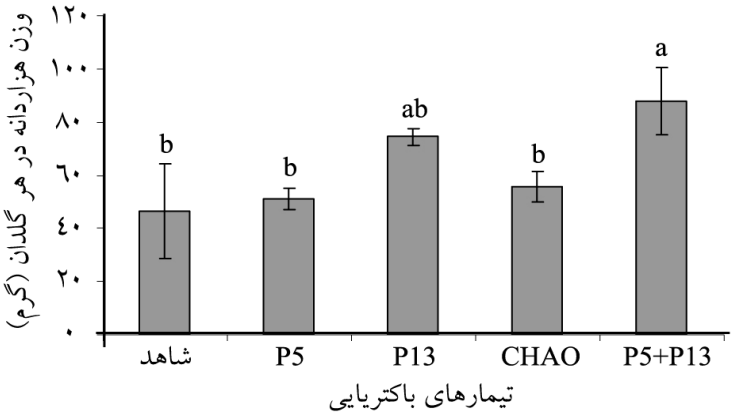
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتریایی بر تعداد دانه در هر گلدان.

وزن دانه در هر گلدان و وزن هزاردانه: نتایج نشان داد که صفت کمی وزن دانه در هر واحد آزمایشی (گلدان) که یکی از پارامترهای اندازه‌گیری شده بسیار مهم می‌باشد، معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین مربوط به وزن هزاردانه (شکل ۳) نشان داد که بیش‌ترین مقدار آن مربوط به ترکیب تیماری P13+P5 است. وزن هزاردانه در تیمار P13+P5 افزایش معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهای باکتری به‌جز تیمار P13 نشان داد. افزایش وزن هزاردانه را می‌توان مربوط به بهبود تغذیه فسفری و سایر اثرات تحریک‌کنندگی رشد گیاه توسط این باکتری‌ها دانست. معمولاً باکتری‌های حل‌کننده فسفات ممکن است از سایر روش‌ها مانند تولید هورمون‌ها، سایدروفورها و... بر رشد گیاه تأثیرگذار باشند (قادری و همکاران، ۲۰۰۸؛ هان و همکاران، ۲۰۰٦).

بهاری‌ساروی و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تأثیر میکروارگانیسم‌های محرک رشد و حل‌کننده فسفات بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم (لاین N80) سه نوع کود زیستی بارور ۲، نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آزمایش آن‌ها نشان داد که کودهای زیستی بر صفات وزن هزاردانه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت تأثیر معنی‌دار داشته‌اند. بیش‌ترین عملکرد در سطح کودی ۷۵ کیلوگرم در هکتار کود اوره برای کود زیستی بارور ۲ (شامل باکتری‌های P13 و P5 مورد استفاده در این آزمایش) و نیتروکسین به‌دست آمد، همچنین وزن هزاردانه با کاربرد هر سه نوع کود زیستی در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد. ملبوبی و همکاران (۲۰۰۹b) در بررسی اثر باکتری‌های حل‌کننده فسفات P13 و P5 در گیاه سیب‌زمینی، عنوان داشتند عمکرد غده سیب‌زمینی تحت‌تأثیر تلقیح دو باکتری بالا بوده و به‌صورت معنی‌دار افزایش یافته است هر چند بین غلظت فسفر موجود در برگ گیاه سیب‌زمینی تفاوت معنی‌داری با شاهد مشاهده نشده است.

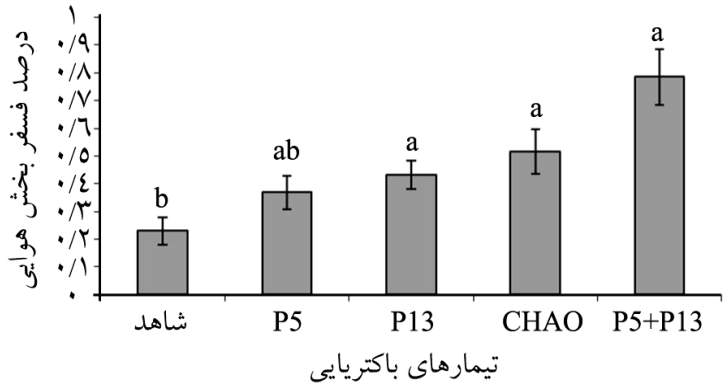
استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات در برخی موارد وقتی به تنهایی در تیمار آزمایشی مورد استفاده قرار گرفته‌اند تأثیری معنی‌داری بر افزایش عملکرد محصول نداشته‌اند اما زمانی‌که با کود دامی یا کود شیمیایی تلفیق شده‌اند افزایش عملکرد محصول گزارش شده است (افضل و همکاران، ۲۰۰۵). حامدا و همکاران (۲۰۰٦) بعد از جداسازی بیش از ۲۰۰ باکتری حل‌کننده فسفات، ۵ سویه برتر را که علاوه‌بر حل‌کنندگی فسفات دارای سایر ویژگی‌های PGPR ای بودند را در یک آزمایش بر روی رشد گیاه ذرت بررسی کرده و افزایش ٤۰-۲۰ درصدی بیوماس گیاهی را گزارش کردند. آن‌ها اثر

باکتری‌های بالا را در آزمایش گل‌خانه‌ای و مزرعه‌ای مورد بررسی قرار دادند و افزایش معنی‌دار برخی از پارامترهای اندازه‌گیری شده مانند بیوماس خشک گیاهی، طول ساقه و وزن دانه (عملکرد) را در حضور *Serratia marcescens* و *Pseudomonas* sp. مشاهده نمودند.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر باکتری‌ها بر وزن هزاردانه.

غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی و دانه: با توجه به این‌که تأثیر اصلی باکتری‌های حل‌کننده فسفات در بهبود تغذیه فسفر گیاه می‌باشد، اندازه‌گیری فسفر موجود در بخش هوایی و دانه گیاه مورد توجه بود. غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی در دو دوره رشد گیاه (اواسط دوره رشد و پایان دوره رشد) اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری نشان داد که غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی در ۱/۵ ماه بعد از کشت گیاه تحت‌تأثیر تیمارهای باکتری‌های حل‌کننده فسفات نبوده است، اما نتایج تجزیه واریانس غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی در پایان دوره نشان داد که اثر تیمارها به‌ترتیب در سطح ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۲). چنان‌که در شکل ٤ دیده می‌شود بیش‌ترین غلظت فسفر در بخش هوایی مربوط به ترکیب تیماری P13 به‌علاوه P5 می‌باشد و همه تیمارهای باکتری اعمال شده (به‌جز تیمار P5) با شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داده‌اند هر چند بین تیمارهای باکتریایی اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

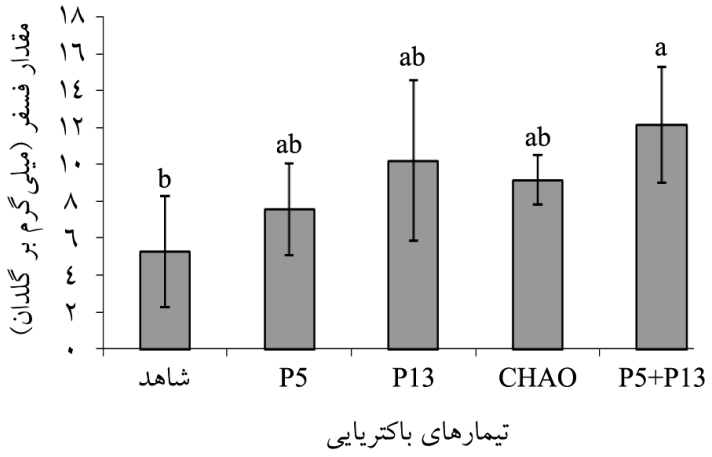


شکل ٤- مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتریایی بر درصد فسفر بخش هوایی.

آنالیز واریانس مقدار فسفر بخش هوایی نشان داد که بین تیمارها اختلاف در سطح ۵ درصد وجود دارد و همانند غلظت فسفر در بخش هوایی، مقدار فسفر نیز در مورد تیمارهای باکتریایی نسبت به تیمار شاهد دارای میانگین بالاتری است. مقایسه میانگین تیمارهای اعمال شده بر روی مقدار فسفر بخش هوایی در شکل ۵ قابل مشاهده است. نتایج آن با غلظت فسفر بخش هوایی منطبق بوده و نشان می‌دهد که بین تیمارهای باکتریایی استفاده شده اختلافی وجود ندارد اما ترکیب تیماری دو باکتری P13 و P5 در مقایسه با شاهد از نظر مقدار فسفر بخش هوایی گیاه، اختلاف معنی‌دار نشان داد و بیش‌ترین مقدار فسفر گزارش شده مربوط به این تیمار بود.

جعفرزاده‌ذغالچالی و همکاران (۲۰۱۱) افزایش میزان غلظت فسفر در برگ و بذر برنج در تیمارهای تلقیح شده با باکتری سودوموناس سویه ۱٦۹ را گزارش نمودند و بیش‌ترین افزایش جذب فسفر نسبت به شاهد را به‌میزان ٤/۷ و ۹/٤ درصد به‌ترتیب در برگ و بذر برنج مشاهده کردند.

اندازه‌گیری درصد فسفر دانه (غلظت فسفر) نشان داد که بین تیمارهای باکتریایی اختلاف آماری وجود ندارد (جدول ۳). این در حالی است که افضل و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایش خود که بر روی گندم و در حضور دو باکتری سودوموناس و باسیلوس به‌عنوان حل‌کنندگان فسفات انجام دادند، هیچ‌گونه افزایشی در درصد فسفر دانه گندم در تیمار میکروبی در مقایسه با شاهد مشاهده نکردند اما زمانی‌که باکتری‌های بالا با مواد آلی به‌میزان ۱۰ تن در هکتار تلفیق شده و به‌عنوان یک تیمار به‌کار گرفته شدند افزایش فسفر موجود در دانه گندم را مشاهده نمودند.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتریایی بر مقدار فسفر بخش هوایی.

در آزمایشی که توسط راثی‌پور و علی‌اصغرزاد (۲۰۰۵) در حضور باکتری‌های حل‌کننده فسفات و باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن انجام گرفت، آن‌ها به رابطه هم‌افزایی باکتری‌ها اشاره داشته و بهبود تغذیه فسفری و جذب بیش‌تر فسفر در گیاه میزبان را در حضور این باکتری‌ها گزارش دادند. آن‌ها همچنین در مطالعه خود به این موضوع اشاره داشتند که در این رابطه سه‌گانه بین گیاه، باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات، فراهمی فسفات از جانب باکتری حل‌کننده فسفات باعث ترغیب هم‌زیستی شده (فسفر عنصری لازم برای تثبیت نیتروژن و شکل‌گیری گره می‌باشد) و شاخص‌هایی چون تعداد گره، وزن گره افزایش یافته است. مشابه این نتایج را زایدی و خان (۲۰۰۶) در مشارکت قارچ *گلوموس فسیکولاتوم*، باکتری *برادی ریزوبیوم* و باکتری محرک رشد گیاه *باسیلوس سابتیلیس* عنوان داشتند و افزایش عملکردی تا ۲٤ درصد مشاهده نمودند.

اسیتکن و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از ۳ باکتری PGPR به‌نام‌های *Pseudomonas* BA-8، *Bacillus* OSU-142 و *Bacillus* M-3 به بررسی اثر آن‌ها بر رشد و عملکرد محصول و سطح عناصر غذایی توت‌فرنگی پرداختند. نتایج نشان داد که عملکرد محصول و میزان فسفر و روی در برگ گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشتند.

در دهه‌های اخیر پژوهش‌های بسیاری در رابطه با استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات انجام گرفته است. نتایج این پژوهش‌ها نشان داده است که مکانیسم‌های زیادی مسئول افزایش رشد و

عملکرد در گیاهان می‌باشند. علاوه‌بر افزایش جذب عناصر غذایی، تولید هورمون‌های گیاهی به‌وسیله ریزجانداران در ریزوسفر گیاه، توان تولید ACC[1] دآمیناز، کنترل پاتوژن‌های گیاهی، قدرت حل‌کنندگی فسفات و تولید سیدروفور از جمله مکانیسم‌های افزایش رشد و عملکرد در گیاهان می‌باشد (گلیک و همکاران، ۱۹۹۵؛ هان و همکاران، ۲۰۰۶). گلیک و همکاران (۱۹۹۵) اعلام نمودند که شواهدی دال بر افزایش فراهمی عناصر غذایی گیاه در ریزوسفر به‌دلیل فعالیت باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و حل‌کننده فسفات وجود دارد. فرآیند عمل در این مورد شامل افزایش انحلال عناصر غذایی و یا تولید مواد کلات‌کننده می‌باشد. تولید اسیدهای آلی باعث افزایش اسیدی شدن محیط اطراف ریشه می‌شود، در نتیجه در اثر جایگزینی پروتون به‌جای کلسیم، فسفر آزاد می‌شود، که اسید گلوکونیک یکی از این اسیدها می‌باشد. مکانیسم‌های دیگری برای انحلال فسفر پیشنهاد شده‌اند که عبارتند از تولید مواد کلات‌کننده، تولید اسیدهای معدنی مانند اسید سولفوریک، اسید نیتریک و اسید کربنیک به‌وسیله ریزجانداران خاک می‌باشد (گیانشوار و همکاران، ۲۰۰۲). تولید آنزیم‌های فسفاتاز نیز راه‌کار دیگری برای رهاسازی فسفات از منابع آلی فسفات می‌باشد (ساریخانی و همکاران، ۲۰۱۰). به‌نظر باکتری‌های استفاده شده در این آزمایش به‌ویژه ترکیب باکتری P13 و P5 که به‌ترتیب دو باکتری دارای فعالیت فسفاتازی و تولید اسیدهای آلی بالایی هستند (ساریخانی و همکاران، ۲۰۱۰؛ ملبوبی و همکاران، ۲۰۰۹a) در انحلال منابع فسفاته موجود در خاک دخالت داشته و همین موضوع باعث بالا رفتن غلظت و مقدار این عنصر در بافت خشک گیاهی در انتهای دوره رشد گیاه شده است. شاید سایر اثرات تحریک‌کنندگی رشد گیاه توسط این باکتری‌ها به افزایش پارامتری چون وزن هزاردانه و بهبود جذب عنصر فسفر کمک نموده است. نبود تأثیرگذاری باکتری‌ها در فاصله ۱/۵ ماه از شروع کشت را شاید بتوان به زمان مربوط دانست و این‌که برای مشاهده اثرات مطلوب این باکتری‌ها نیاز به زمان بیش‌تری می‌باشد.

نتیجه‌گیری

طبیعی است که پاسخ گیاهان مختلف به تلقیح میکروبی یکسان نبوده و علاوه‌بر آن شرایط آزمایش مانند نوع گیاه، رقم گیاه، نوع آزمایش گلدانی یا مزرعه‌ای، حاصل‌خیزی خاک مورد آزمایش و سایر عوامل مانند کاربرد کود یا مواد اصلاحی دیگر در کارایی پاسخ گیاه به تلقیح میکروبی می‌تواند مؤثر

1- Amino Cyclopropanne Carboxylic Acid

باشد. براساس نتایج این آزمایش افزایش وزن هزاردانه در استفاده هم‌زمان دو باکتری *P. putida* P13 و *Pantoea agglomerans* P5 به‌دست آمد. همچنین در حضور باکتری‌های بالا بهبود تغذیه فسفری گیاه در اندام هوایی (برگ) در پایان دوره رشد گیاه کاملاً بارز و مشخص می‌باشد ولی انتقال آن از برگ به اندام‌های ذخیره‌ای گیاه (دانه) شاید تحت عوامل دیگری بوده است که افزایش درصد فسفر دانه در تیمار باکتری مشاهده نشد. به‌علاوه استفاده از باکتری CHAO که در سایر آزمایش‌ها اثرهای مثبت آن تأیید شده بود به‌عنوان محکی در این آزمایش به‌همراه سویه‌های بومی استفاده شد تا مقایسه‌ای بین آن‌ها صورت پذیرد و نتایج به‌دست آمده، قابلیت سویه‌های بومی را تأیید نمود. به‌نظر می‌رسد ترکیب تیماری باکتری P13 و P5 که به‌عنوان کود زیستی بارور ۲ به تولید تجاری رسیده می‌تواند در تامین فسفات گیاه نقش ایفا کند اما تأثیرگذاری آن را در پایان دوره رشدی گیاه باید انتظار داشت چرا که در فاصله ۱/۵ ماه بعد از تلقیح گیاه میزبان با باکتری‌های حل‌کننده فسفات هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در پارامترهای اندازه‌گیری شده مشاهده نشد.

منابع

1. Afzal, A., Ashraf, M., Asad, S.A., and Farooq, M. 2005. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on phosphorus uptake, yield and yield traits of Wheat (*Triticum aestivum* L.) in rainfed area. Inter. J. Agric. Biol. 7: 2. 207-209.
2. Afzal, A., and Bano, A. 2008. *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.). Inter. J. Agric. Biol. 10: 85-88.
3. Alagawadi, A.R., and Gaur, A.C. 1992. Inoculation of *Azospirillum brasilense* and phosphate-solubilizing bacteria on yield of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Moench] in dry land. Trop Agric. 69: 347-50.
4. Aliasgharzad, N., Shirmohamadi, E., and Oustan, S. 2009. Siderophore production by mycorrhizal sorghum roots under micronutrient deficient condition. Soil Environ. 28: 2. 119-123.
5. Alikhani, H.A., Sale-Rastin, N., and Antoun, H. 2006. Phosphate solubilization activity of Rhizobia native to Iranian soils. Plant Soil. 287: 35-41.
6. Alizadeh, B., and Tarinejad, A. 2002. Usage of MSTATC in statistic analysis. Setude Publication, Tabriz, Iran, 26p. (In Persian)
7. Ames, B.N. 1966. Assay of Inorganic Phosphate, Total Phosphate and Phosphatases. In: E. Neufeld and V. Ginsburg (eds.), Methods in Enzymology, Vol. VIII: Complex Carbohydrates. Academic Press, New York, NY, Pp: 115-118.

8.Amiri, M.B., Rezvani Moghaddam, P., Ghorbani, R., Fallahi, J., and Fallah Poor, F. 2009. Effects of biofertilizers on seedling growth of different cultivars of wheat (Chamran, Sayones and Gaskogen). The First National Symposium on Agriculture and Sustainable Development. Opportunities and Future Challenges. Azad University of Shiraz, Shiraz. (In Persian)
9.Anonymous. 2011. Statistical Data of Iran Agriculture. Ministry of Jihad-e-Agriculture. Tehran, Iran, 182p. (In Persian)
10.Bahari Saruei, S.H., Pirdashti, H., Esmaeili, M.A., and Mansuri, A. 2011. Study the effect of plant growth promoting and phosphate solubilizing microorganisms on the yield of wheat (line N80). 12th Iranian Soil Science Congress. University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian)
11.Chabot, R., Hani, A., and Cescas, P.M. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. Plant Soil. 184: 311-21.
12.Esitken, A., Yildiz, H.E., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Turan, M., and Gunes, A. 2009. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. Ecological Engineering, 33: 150-156.
13.Gaur, A.C., and Ostwal, K.P. 1972. Influence of phosphate dissolving Bacilli on yield and phosphate uptake of wheat crop. Indian J. Exp. Biol. 10: 393-4.
14.Ghaderi, A., Aliasgharzad, N., Oustan, S., and Olsson, P.A. 2008. Efficiency of three *Pseudomonas* isolates in releasing phosphate from an artificial variable-charge mineral (iron III hydroxide). Soil Environ. 27: 71-76.
15.Glick, B.R., Karaturovic, D.M., and Newell, P.C. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonads*. Can. J. Microbiol. 41: 533-536.
16.Goldstein, A.H., Rogers, R.D., and Mead, G. 1993. Mining by microbe. Biol. Technol. 11: 1250-1254.
17.Gyaneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L.J., and Poole, P.S. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Plant Soil. 245: 83-93.
18.Halder, A.K., Mishra, A.K., Bhattacharyya, P., and Chakrabartty, P.K. 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. J. Gen. Appl. Microbiol. 36: 81-92.
19.Hameeda, B., Harini, G., Rupela, O.P., Wani, S.P., and Reddy, G. 2008. Growth promotion of maize by phosphate solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. Microbiol. Res. 163: 234-242.
20.Han, H.S., Supanjani, D., and Lee, K.D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant Soil Environ. 52: 3. 130-136.

21.Jafarzadeh Zoghalchi, H., Fallah Nosratabadi, A., Rajabi, C., and Mohammadzadeh Nuri, J. 2011. Study the effect of PGPR with the ability of phosphate solubilizing on decreasing of phosphate chemical fertilizer uses in rice (*Oriza sativa* L.). 12th Iranian Soil Science Congress. University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian)
22.Jung, I., Park, D.H., and Park, K. 2002. A study of the growth condition and solubilization of phosphate from hydroxyapatite by *pantoea agglomerans*. Biotechnol. Bioprocess Engineering, 7: 201-2015.
23.Khan, M.S., Zaidi, A., and Wani, P.A. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture-a review. Agro. Sustain. Develop. 27: 29-43.
24.Malakuti, M.J., and Gheybi, M.N. 2000. Determining of nutrient critical levels in soil, plant and fruits. Nashre Amuzeshe Keshavarzi, Karaj, Iran. 92p. (In Persian)
25.Malboobi, M.A., Owlia, P., Behbahani, M., Sarokhani, E., Moradi, S., Yakhchali, B., Deljou, A., and Morabbi Heravi, K. 2009a. Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates. World J. Microbiol. Biotech. 25: 1471-1477.
26.Malboobi, M.A., Behbahani, M., Madani, H., Owlia, P., Deljou, A., Yakhchali, B., Moradi, M., and Hassanabadi, H. 2009b. Performance evaluation of potent phosphate solubilizing bacteria in potato rhizosphere. World J. Microbiol. Biotech. 25: 1479-1484.
27.Mikanova, O., Kubat, J., Simon, T., Vorisek, K., and Randova, D. 1997. Influence of soluble phosphate on P-solubilizing activity of bacteria. Rostlinna Vyroba-UZPI. 43: 421-4.
28.Mikanova, O., and Novakova, J. 2002. Evaluation of the P-solubilizing activity of soil microorganisms and its sensitivity to soluble phosphate. Rostlinna Vyroba. 48: 9. 397-400.
29.Mirahmadi, M., Malakuti, M.J., and Khavazi, K. 2011. Effect of PSB on P uptake by corn in alkaline soils. 12th Iranian Soil Science Congress. University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian)
30.Mohammadi, A., Asghari, H.R., Abasdokht, H., and Rahimi, M. 2011. Effect of Mycorrhiza and Barvar 2 on root colonization and some features of Pea (Hashem cultivar) at various levels of phosphorus fertilization. 1st National Conference on Modern Agricultural Sciences and Technologies. University of Zanjan, Zanjan, Iran. (In Persian)
31.Oliveira, C.A., Alves, V.M.C., Marriel, I.E., Gomes, E.A., Scotti, M.R., Carneiro, N.P., Guimaraes, C., Schaffert, R.E., and Sa, N.M.H. 2009. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. Soil Biol. Biotech. 41: 1782-1787.
32.Paul, E.A. 2007. Soil Microbiology and Biochemistry. Third edithion. Linacre House, Jordan Hill, Oxford, UK, Pp: 391-400.

33. Raghothama, K.G., and Karthikeyan, A.S. 2005. Phosphate acquisition. Plant Soil. 274: 37-49.
34. Rasi Poor, L., and Aliasgharzad, N. 2005. Interaction of phosphate solubilizing bacteria and *Bradyrhizobium japonicum* on yield and nutrient uptake by Soybean. Agric. Sci. 15: 4. 141-156. (In Persian)
35. Richardson, A.E., and Hadobas, P.A. 1997. Soil isolates of *Pseudomonas* spp. that utilize inositol phosphates. Can. J. Microbiol. 43: 509-16.
36. Rodrıguez, H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnol. Adv. 17: 319-339.
37. Sarikhani, M.R., and Malboobi, M.A. 2008. Phosphate solubilizing bacteria and genetics of phosphate solubilizing. 10th Genetics Congress. Tehran, Iran. (In Persian)
38. Sarikhani, M.R., Malboobi, M.A., Aliasgharzad, N., Greiner, R., and Yakhchali, B. 2010. Functional screening of phosphatase-encoding genes from bacterial sources. Iran. J. Biotech. 8: 4. 275-279.
39. Sarikhani, M.R., and Aliasgharzad, N. 2012. Comparative effects of two Arbuscular Mycorrhizal fungi and K fertilizer on tuber starch and potassium uptake by potato (*Solanum tuberosum* L.). Int. J. Agric: Res. Rev. 2: 3. 125-134.
40. Sundara, B., Natarajan, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane yields. Field Crops Res. 77: 43-49.
41. Zabihi, H.R., Savagebi, G., Khavazi, K., and Ganjali, A. 2009. Response of wheat growth and yield to application of plant growth promoting rhizobacteria at various levels of phosphorus fertilization. J. Agron. Res. 7: 1. 41-51.
42. Zaidi, A., and Khan, M.S. 2006. Co-inoculation effects of phosphate solubilizing microorganisms and *Glomus fasciculatum* on green gram-*Bradyrhizobium* symbiosis. Turk. J. Agric. Forest. 30: 223-230.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 3(1), 2013
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Improvement of wheat phosphorus nutrition using phosphate solubilizing bacteria

***M.R. Sarikhani[1], N. Aliasgharzad[2] and M.A. Malboobi[3]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Tabriz, [2]Professor, Dept. of Soil Science, University of Tabriz, [3]Associate Prof., Dept. of Plant Biotechnology, NIGEB
Received: 11/29/2011; Accepted: 12/15/2012

Abstract

Phosphorus (P) is one of the most important nutrient elements for plant growth and it is usually considered as second limiting factor for growth of plants after nitrogen. Phosphate solubilizing microorganisms (PSM) play major roles for supplying soluble phosphate to plants in a more environmental-friendly and sustainable manner. To evaluate the effect of phosphate solubilizing bacteria inoculation on growth of spring wheat cv. "Roshan" and also phosphorus uptake, a greenhouse experiment was conducted in sterile loamy soil in a completely randomized design with three replications. Four bacterial treatments were *Pseudomonas putida* P13 (P13), *Pantoea agglomerans* P5 (P5), *Pseudomonas fluorescence* CHAO (CHAO) and combination of P13+P5 and without inoculation as control. Data analysis on the fresh and dry weight of shoot (in the middle and end of growth), number of spikes and seed, weight of seed, concentration and content of P in shoot (in the middle and end of growth) and seed showed that bacterial treatments increased P concentration and content of wheat shoot ($P<0.01$), and combination of P13+P5 treatment resulted in highest concentration and content of P. Maximum increase of P concentration and content in shoot (1.8 and 1.14 fold in comparison with control, respectively) were observed in combination of P13+P5 treatment. Application of bacterial treatment did not have any increasing effect on dry matter, even though some parameters such as number of spikes, number of seed and weight of seed in some bacterial treatments (CHAO and P5) had high record compared to the control. Highest record of thousand grain weights was obtained in presence of P13+P5. However, the measured parameters such as fresh and dry weight of wheat and also P concentration and content in the middle of growth were not affected by application of bacterial inoculation. According to the results of this experiment we should expect to see the positive effect of PSM inoculation at the end of wheat growth since in the middle of growth no positive effect of PSM in wheat growth was distinguished.

Keywords: Phosphate solubilizing bacteria, Phosphorus, Wheat, Yield, Vegetative growth

* Corresponding Authors; Email: rsarikhani@yahoo.com