توان انحلال فسفات و کارایی همزیستی باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه دارویی سنبل‌الطیب

بهنوش سادات قدس علوی[۱*]، محسن سلیمانی[۲]، مسعود احمد زاده[۱] و سحر سلیمانی[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۲۸)

چکیده

فسفر و نیتروژن از عناصر غذایی ضروری برای رشد گیاه محسوب می‌شوند. کمبود این عناصر خسارت قابل ملاحظه‌ای را به محصولات کشاورزی وارد می‌کند. امروزه استفاده از کودهای بیولوژیک در کشت محصولات استراتژیک، از جمله محصولات گلخانه‌ای، برای رفع نیاز به فسفر و نیتروژن از اهمیت زیادی برخوردار است. این پژوهش با هدف شناسایی باکتری‌های با بیشترین توان انحلال فسفات، تثبیت‌کنندگی نیتروژن و تحمل شوری در محیط ریشه گیاه دارویی سنبل‌الطیب به‌صورت آزمایشگاهی انجام گرفت. بدین منظور، ۴۰ جدایه باکتریایی از ریزوسفر گیاه سنبل‌الطیب جداسازی گردید و توانایی انحلال فسفات معدنی آنها در محیط‌های کشت جامد و مایع اسپربر و هم‌چنین توانایی تثبیت نیتروژن جدایه‌های تلقیح شده به گندم در شرایط گلخانه بررسی شد. نتایج نشان داد که ۷۷/۵ درصد جدایه‌ها توانایی انحلال فسفات معدنی را دارا بودند، که از این بین، دو جدایه متعلق به جنس‌های *Pseudomonas* و *Xanthomonas* و دو جدایه متعلق به جنس *Pseudomonas* بیشترین توان حل فسفات معدنی را به‌ترتیب در محیط‌های کشت جامد و مایع داشتند. در بین جدایه‌ها، یک جدایه که از جنس *Pseudomonas* بود با ۱۳۲ درصد بیشترین کارایی همزیستی را نشان داد. هم‌چنین نتایج آزمون میزان تحمل شوری باکتری‌ها نشان داد که تمامی جدایه‌ها قادر به تحمل غلظت ۵۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم و دو جدایه (متعلق به جنس *Pseudomonas*) قادر به تحمل شوری ۱۰۰۰ میلی‌مولار بودند. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان‌دهنده توانمندی بالای باکتری‌های ریزوسفر سنبل‌الطیب به‌عنوان کود زیستی است.

واژه‌های کلیدی: حلالیت فسفات، باکتری‌های ریزوسفر، کود زیستی، شوری

۱. گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۲. گروه محیط زیست، دانشکده مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳. گروه خاک‌شناسی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: beh_ghodsalavi@yahoo.com

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

مقدمه

یکی از مهم‌ترین راهکارهای افزایش عملکرد محصولات کشاورزی، به‌ویژه محصولات گلخانه‌ای، فراهم کردن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه به شکل قابل جذب در محیط کشت است. فسفر یکی از عناصر غذایی ضروری برای رشد و توسعه گیاه محسوب می‌شود که به‌صورت فسفات معدنی محلول به خاک اضافه می‌شود و بخش بزرگی از آن به‌صورت نامحلول در می‌آید و از دسترس گیاه خارج می‌شود. افزایش انحلال فسفر به‌وسیله برخی باکتری‌های محیط ریزوسفر می‌تواند سبب افزایش رشد گیاه گردد (۱۱). باکتری‌های حل‌کننده فسفات نقش عمده‌ای در انحلال شکل غیرقابل دسترس فسفر در خاک ایفا می‌کنند (۱۳ و ۱۵). بسیاری از باکتری‌های ریزوسفر با تولید اسیدهای آلی قادر به انحلال فسفات هستند. گزارش شده است که باکتری‌های مختلف (مانند *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Rhizobium*، *Burkholderia*، *Achromobacere* و *Agrobacterium*) دارای توانایی حل فسفات معدنی نامحلول هستند (۱۶). دو باکتری معروف در این زمینه *Bacillus sp.* و *Pseudomonas flourescens* هستند (۲).

چونگ و همکاران (۷) موفق به جداسازی باکتری‌های *Enterobacter*، *Klebsiella* و *Pantoe* از محیط ریشه گیاهان پیاز، فلفل و برنج شدند. علیخانی و همکاران (۳) با مطالعه ۴۴۶ باکتری جدا شده از خاک‌های ایران گزارش کردند که در خاک‌های کشور باکتری‌های با پتانسیل زیاد وجود دارند که قابلیت حل کردن فسفر از منابع آلی و معدنی را دارا هستند و توانایی آنها در حل کردن فسفر و تأمین نیاز فسفر گیاهان زراعی باید بررسی گردد. تخمین نیمه‌کمی توانایی انحلال فسفات توسط میکروارگانیسم‌ها به روش غربالگری در تشتک پتری انجام می‌گیرد، که هاله شفاف اطراف کلنی باکتری در محیط حاوی فسفات معدنی، نمایانگر این توانایی است (۱۹). اخیراً با توجه به مشکلات زیست‌محیطی استفاده از کودهای فسفره، به‌ویژه مسأله به‌پروردگی (Eutrofication) آب رودخانه‌ها در اثر ازدیاد فسفر و متعاقب آن رشد بی‌رویه جلبک‌ها در این آب‌ها و کمبود اکسیژن آب که منجر به خطر افتادن زندگی موجودات آبزی در این اکوسیستم‌ها شده است، علاقه به استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات به‌عنوان جایگزین کودهای فسفره جهت افزایش فسفر قابل دسترس گیاه افزایش یافته است (۱۸). ممکن است استفاده از باکتری‌های مذکور در کشت‌های زراعی و گلخانه‌ای نیز به کاهش هدررفت فسفر کمک کند، که از جنبه اقتصادی مهم است.

شرایط و ویژگی‌های خاک بر قابلیت جذب فسفر و نیز حلالیت آن در محیط تأثیرگذار هستند. شوری خاک به‌عنوان یکی از تنش‌های مهم محدودکننده کارایی تولید محصول گیاه، جذب مواد غذایی مخصوصاً جذب فسفر به‌وسیله گیاه را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. زیرا در خاک‌های تحت تنش شوری، یون‌های فسفات به سرعت با یون‌های کلسیم رسوب می‌کنند (۴). بنابراین برای استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات در خاک‌های شور، توانایی آنها در تحمل شوری محیط نیز باید بررسی شود. نیتروژن نیز همانند فسفر یکی از عناصر غذایی ضروری برای گیاه می‌باشد. تثبیت بیولوژیک نیتروژن فرآیندی است که در آن نیتروژن مولکولی به شکل قابل استفاده برای گیاه تبدیل می‌شود. این فرآیند در طبیعت فقط توسط باکتری‌ها انجام می‌شود (۱۴). پروکاریوت‌هایی که دارای فعالیت نیتروژناز بوده و قادر به تثبیت نیتروژن هستند اغلب همراه با گیاه یافت می‌شوند (۱۰). تیلاک و همکاران (۲۰) گزارش کردند که ۸۰ درصد تثبیت بیولوژیک نیتروژن توسط باکتری‌های همزیست و ۲۰ درصد باقی‌مانده توسط باکتری‌های همیار و آزادزی صورت می‌گیرد. بنابراین در صورتی‌که باکتری‌های حل‌کننده فسفر، توانایی تثبیت نیتروژن را نیز دارا باشند، استفاده عملی از آنها اقتصادی‌تر خواهد بود. تاکنون مطالعه‌ای در مورد باکتری‌های محیط ریشه گیاه دارویی سنبل‌الطیب و توانایی آنها در افزایش رشد گیاه انجام نشده است. لذا هدف از این مطالعه، بررسی توان حل‌کنندگی فسفات، تثبیت کنندگی نیتروژن و تحمل شوری باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه دارویی سنبل‌الطیب است.

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

مواد و روش‌ها

جداسازی باکتری‌ها از ریزوسفر سنبل‌الطیب

به منظور جداسازی ریزوباکتری‌ها از ریشه، بوته‌های سنبل‌الطیب از نقاط مختلف مزرعه سنبل‌الطیب پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در هلجرد کرج نمونه‌برداری شد. سپس خاک چسبیده به ریشه‌ها با دقت زدوده و ریشه‌های گیاه به‌مدت ۲ دقیقه با آب مقطر شسته شد. پس از جدا شدن خاک‌های اضافی روی ریشه، مقدار یک گرم ریشه جدا و به‌مدت ۵ دقیقه در سرم فیزیولوژیک (کلرید سدیم ۹ گرم در لیتر) ورتکس و سری رقت تهیه شد. هم‌چنین جهت جداسازی باکتری‌های اندوریزوسفر، یک گرم ریشه به‌مدت ۲ دقیقه در هیپوکلریت سدیم قرار داده شد و سپس در هاون به‌طور کامل له گردید و همراه با تکه‌های ریز شیشه ورتکس شد تا باکتری‌های اندوریزوسفر به‌خوبی خارج شوند و مجدداً سری رقت تهیه و روی محیط‌های کشت مختلف تلقیح گردید. جهت جداسازی باکتری‌های گرم منفی از محیط کشت CVA (کریستال ویوله آگار) و برای جداسازی باکتری‌های گرم مثبت از محیط کشت MRA (متیل رد آگار) استفاده شد. محیط کشت King B جهت جداسازی سودوموناس‌های فلورسنت استفاده گردید (۱۲).

آزمون‌های بیوشیمیایی تشخیص جنس جدایه‌ها

آزمون‌های بیوشیمیایی براساس اصول شاد (۱۷) انجام شد که به شرح زیر می‌باشد: رنگ‌آمیزی گرم، رشد هوازی و بی‌هوازی، اکسیداز، تولید رنگدانه فلورسنت روی محیط کشت KB (حاوی ۲۰ گرم پپتون پروتئوز، ۱/۵ گرم فسفات هیدروژن پتاسیم، ۱/۵ گرم سولفات منیزیم، ۱۵ گرم آگار و ۱۵ میلی‌لیتر گلیسرول)، ایجاد کلنی مخاطی روی YDC (حاوی ۱۰ گرم عصاره مخمر، ۲۰ گرم دکستروز، ۲۰ گرم کربنات کلسیم و ۱۵ گرم آگار) با رشد در دمای ۳۰ درجه سلسیوس، ایجاد کلنی زرد یا نارنجی روی YDC با رشد در دمای ۴۰ درجه سلسیوس، اوره‌آز، رشد در DIM (حاوی ۵ گرم سلوبیوز، ۱ گرم کلرید آمونیوم، ۱ گرم فسفات دی‌هیدروژن سدیم، ۱ گرم فسفات هیدروژن پتاسیم، ۳ گرم سولفات منیزیم، ۱۰ میلی‌گرم مالاشیت گرین و ۱۵ گرم آگار)، کاتالاز، لسیتیناز.

بررسی انحلال فسفات معدنی

استفاده از محیط کشت جامد اسپربر آگار

آزمون فعالیت حل‌کنندگی فسفات معدنی تمامی جدایه‌ها روی محیط کشت اسپربر (Sperber agar) جامد انجام شد (۱۹). هر باکتری روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت اسپربر به‌صورت لکه‌ای کشت داده شد و تشتک‌ها در دمای ۲۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۷ روز در انکوباتور نگهداری شدند. هاله شفاف اطراف کلنی باکتری‌ها به‌عنوان فعالیت مثبت باکتری در حل فسفات معدنی محسوب می‌شود. قطر این هاله پس از یک هفته اندازه‌گیری گردید. این آزمون در ۳ تکرار برای هر جدایه باکتریایی انجام شد.

استفاده از محیط کشت اسپربر مایع

سوسپانسیون‌های هر یک از باکتری‌ها با غلظت 10^9 واحد کلونی در هر میلی‌لیتر تهیه و مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی ذکر شده به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت اسپربر مایع اضافه و نمونه‌ها به‌مدت ۵ روز در دمای ۲۷ درجه سلسیوس انکوبه و با سرعت ۱۳۸ دور در دقیقه تکان داده شدند. پس از ۵ روز، سوسپانسیون باکتری به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شده و سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط گردید. پس از ۲۰ دقیقه، شدت جذب نور با استفاده از روش طیف‌سنجی در طول موج ۴۳۰ نانومتر قرائت شد. مقدار فسفر محلول در محیط کشت در مقایسه با منحنی استاندارد محاسبه شد (۱۹).

بررسی کارایی همزیستی جدایه‌ها

برای انجام این آزمون از روش وینسنت (۲۱) استفاده شد. در

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

این آزمون، بستر کشت گیاه فاقد هرگونه ماده غذایی جهت رشد گیاه می‌باشد و چنانچه باکتری تلقیح شده به گیاه قادر به تثبیت نیتروژن آزاد محیط باشد، ماده غذایی مورد نیاز جهت رشد گیاه فراهم شده و باکتری مورد نظر به‌عنوان تثبیت‌کننده نیتروژن در نظر گرفته می‌شود. در این آزمون، مقدار مساوی از پرلیت و شن تهیه شد. شن الک گردید تا ذرات رس و مواد آلی آنها حذف شوند. سپس جهت حذف پوشش کربناتی، شن به‌مدت یک شبانه روز در اسید کلریدریک ۲ نرمال قرار داده شد. این مخلوط با آب مقطر استریل شسته (تا اسید موجود در خاک مانع رشد گیاه و باکتری نشود) و پس از استریل، در گلدان‌های ۱/۵ کیلویی ریخته شد. بذرهای جوانه‌دار شده گندم (بذرها قبلاً در هیپوکلریت سدیم ۳ درصد به‌مدت ۲ دقیقه استریل و سپس با آب مقطر استریل شسته شده بودند) با ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری به غلظت 10^9 واحد کلونی در هر میلی‌لیتر تلقیح و تعداد ۴ گلدان نیز با نیتروژن محلول (نیترات آمونیوم) به میزان ۷۰ میلی‌گرم نیتروژن در لیتر تیمار شد. این گلدان‌ها در دمای ۲۶ تا ۲۸ درجه سلسیوس و شدت روشنایی تقریبی ۱۰۰۰ لوکس نگهداری و پس از گذشت ۳ هفته، طول بوته‌های گندم و میزان وزن خشک آنها اندازه‌گیری گردید. کارایی سیستم (SE) در جدایه‌های مختلف با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$SE = (Wi - Wu)/(Wn - Wu) \times 100 \qquad [1]$$

که در آن W_i وزن خشک شاخساره گیاه تلقیح شده با هر جدایه، W_u وزن خشک شاخساره گیاه در تیمار شاهد (بدون اضافه کردن کود نیتروژن) و W_n وزن خشک شاخساره گیاه در تیمار کود نیتروژن است. اگر SE کوچک‌تر یا مساوی ۵۰ درصد باشد، باکتری غیر مؤثر، بین ۷۵-۵۰ درصد نسبتاً مؤثر، بین ۱۰۰- ۷۵ درصد مؤثر و بزرگ‌تر از ۱۰۰ باشد خیلی مؤثر است. با توجه به شاخص SE، باکتری‌ها گروه‌بندی شدند.

آزمون تحمل شوری

این آزمون با توجه به اهمیت تحمل فشار اسمزی در باکتری‌ها انجام شد. بدین منظور، از محیط کشت آگار غذایی حاوی ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم استفاده گردید. محیط کشت استریل شده در تشتک‌های پتری ریخته و باکتری‌ها به‌صورت لکه‌ای روی آنها تلقیح و در دمای ۲۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. رشد باکتری‌ها پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت در غلظت‌های مختلف نمک با شمارش جمعیت آنها به روش رقیق‌سازی مرحله‌ای مورد بررسی قرار گرفت (۳).

طرح آزمایش و تحلیل نتایج

تمامی آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در هر تیمار انجام گرفت. پس از ثبت و جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل نهایی با استفاده از رویه GLM (مدل خطی) و به‌وسیله نرم‌افزار SAS انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

باکتری‌های جداسازی شده

تعداد ۴۰ جدایه از محیط ریزوسفر گیاه سنبل‌الطیب خالص‌سازی و جداسازی شد. باکتری‌های جنس *Pseudomonas*، *Agrobacterium*، *Xanthomonas*، *Erwinia* و *Bacillus* در ریزوپلان و اندوریزوسفر سنبل‌الطیب وجود داشتند که بیشترین فراوانی (۵۷ درصد) مربوط به جنس *Pseudomonas* و کمترین فراوانی (۱درصد) مربوط به جنس *Agrobacterium* بود. به‌طور متوسط، فراوانی جنس‌های *Xanthomonas*، *Erwinia* و *Bacillus* به‌ترتیب ۱۰، ۸ و ۲۲ درصد بود. با توجه به محدودیت آزمون‌های شناسایی، حدود ۲ درصد از باکتری‌ها ناشناخته ماندند.

انحلال فسفات معدنی

نتایج نشان داد که ۷۷/۵ درصد جدایه‌ها در محیط کشت جامد توان انحلال فسفات معدنی را داشتند و بیشترین میزان تولید هاله حل‌کنندگی فسفات ۱/۸۶، ۱/۶۶ و ۱/۶۳ سانتی‌متر و

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

به‌ترتیب متعلق به جدایه‌های ۱۵، ۹ و ۲۵ (جنس‌های *Xanthomonas* و *Pseudomonas*) بود. از بین سویه‌های باکتریایی مورد آزمایش روی اسپربر جامد، ۱۰ باکتری که دارای توانایی انحلال فسفات معدنی بیشتری نسبت به سایر سویه‌ها بودند انتخاب شدند و توان انحلال فسفات آنها در محیط مایع مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر ۱۰ جدایه انتخاب شده قادر به حل فسفات معدنی در محیط کشت مایع بودند و جدایه‌های ۱۱، ۶ و ۳ با ۵۲۲/۲۷۰، ۵۳۳/۴۹۸ و ۴۴۹/۳۴۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر فسفر بیشترین و جدایه ۳۷ با ۴۷/۸۶۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر فسفر کمترین میزان حل‌کنندگی فسفات را در محیط مایع نشان دادند. نتایج حاصل از ارزیابی انحلال فسفات در جدول ۱ آمده است.

کارایی همزیستی جدایه‌ها با گندم

از بین ۳۰ جدایه مورد آزمایش، جدایه ۳۲ (جنس *Pseudomonas*) با ۱۱۳ درصد و جدایه ۴۰ (جنس *Pseudomonas*) با ۱۳۲ درصد بیشترین کارایی همزیستی را نشان دادند (جدول ۲). در مجموع، در بین جدایه‌هایی که میزان کارایی همزیستی آنها مناسب بود، جدایه‌های ۱، ۳، ۶ و ۱۰ (مربوط به جنس *Pseudomonas*) از نظر دیگر خصوصیات محرک رشد گیاهی نیز از توانایی قابل ملاحظه‌ای برخوردار بودند. نتایج بررسی کارایی همزیستی در جدول ۲ آورده شده است.

طول شاخساره گندم

پس از آغشته‌سازی بذرها با سوسپانسیون هر یک از جدایه‌ها و کاشت این بذرها در محیط کشت استریل، میزان افزایش طول بوته پس از ۳ هفته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که جدایه‌های ۳، ۱۱ و ۹ منجر به بیشترین افزایش طول بوته نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان طول بوته (۲۲/۴۲ سانتی‌متر) متعلق به شاهد (بدون تلقیح با باکتری و کود نیتروژن) بود. نتایج مربوط به طول شاخساره گندم در جدول ۳ آورده شده است.

تحمل شوری

نتایج نشان داد که تمامی جدایه‌ها قادر به تحمل غلظت ۵۰۰ میلی‌مولاری کلرید سدیم بوده و تنها دو جدایه ۶ و ۱۱ (جنس *Pseudomonas*) قادر به تحمل کلرید سدیم ۱۰۰۰ میلی‌مولاری بودند. این دو جدایه در انحلال فسفات در محیط مایع نیز کاراترین نمونه‌ها بودند.

بحث

تحقیقات زیادی در زمینه باکتری‌های حل کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن انجام شده است. بسیاری از این مطالعات نشان می‌دهند که استفاده از این باکتری‌ها می‌تواند سبب افزایش کارایی محصولات مختلف گردند (۶ و ۸). پژوهش‌های انجام گرفته در کشور نیز به پتانسیل بالای باکتری جنس *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* در حل کردن فسفر به میزان ۱۹۷ میلی‌گرم در لیتر طی ۳۶۰ ساعت اشاره دارند (۱ و ۲). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش حاکی از آن است که ریزوباکتری‌های گیاه دارویی سنبل‌الطیب از توانایی زیادی در انحلال فسفات معدنی برخوردارند. به‌طوری‌که ۷۷/۵ درصد جدایه‌ها قادر به انحلال فسفات معدنی در محیط کشت اسپربر جامد بودند. بیشترین مقدار فسفر محلول در اسپربر مایع ۵۳۳/۴۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد شد و کارایی همزیستی از ۴۹ تا ۱۳۲ درصد متفاوت بود. درحالی‌که در تحقیقات انجام شده روی جدایه‌های باکتریایی ایرانی در محیط کشت اسپربر مایع، میزان انحلال فسفات معدنی ۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کارایی همزیستی روی باقلا از ۵ تا ۵۰۰ درصد متغیر بود (۱). همان‌گونه‌که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، کاربرد جدایه‌های جنس *Pseudomonas* تأثیر به‌سزایی بر ارتفاع بوته در مقایسه با شاهد داشتند. البته چن و همکاران (۶) گزارش کردند که استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات تأثیر معنی‌داری بر افزایش ارتفاع گیاه گندم نداشت، ولی منجر به افزایش زیست‌توده و فسفر کل گیاه گردید. جدایه‌های استفاده شده در این پژوهش نیز توانستند

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

جدول ۸. ارزیابی توانایی انحلال فسفات جدایه‌های باکتریایی در محیط‌های کشت اسپربر جامد و اسپربر مایع

شماره جدایه	جنس جدایه	نسبت قطر هاله انحلال فسفات به قطر کلنی (سانتی‌متر)	میزان فسفر محلول موجود در اسپربر مایع (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۱	*Pseudomonas*	۱/۳۰۰ bcdefg	۳٤٥/۲۸۸ d
۲	*Pseudomonas*	۰/۷۳۳ jkl	
۳	*Pseudomonas*	۱/۱٦٦ defgh	٤٤۹/۳٤۳ b
٤	*Pseudomonas*	۰/۰۰۰ n	
٥	*Erwinia*	۰/۰۰۰ n	
٦	*Pseudomonas*	۰/۸۳۳ hijk	٥۳۳/٤۹۸ a
۷	*Pseudomonas*	۱/۲٦٦ cdefg	
۸	*Pseudomonas*	۱/۲٦٦ cdefg	
۹	*Pseudomonas*	۱/٦٦٦ ab	
۱۰	*Pseudomonas*	۱/۲۰۰ defgh	
۱۱	*Pseudomonas*	۱/۲۰۰ defgh	٥۲۲/۲۷۰ a
۱۲	*Erwinia*	۰/۸۳۳ hijk	
۱۳	*Bacillus*	۰/۱٦٦ mn	
۱٤	*Xanthomonas*	۰/۰۰۰ n	
۱٥	*Xanthomonas*	۱/۸٦٦ a	
۱٦	*Pseudomonas*	۱/۱۳۳ efghi	
۱۷	*Xanthomonas*	۰/۲۳۳ mn	
۱۸	ناشناخته	۰/۰۰۰ n	
۱۹	*Bacillus*	۰/۰۰۰ n	

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

ادامه جدول ۱

۲۰	*Pseudomonas*	۱/۱۳۳ efghi
۲۱	*Bacillus*	۱/۱۳۳ efghi
۲۲	*Bacillus*	۱/۱۶۶ defgh
۲۳	*Xanthomonas*	۰/۰۰۰ n
۲۴	*Pseudomonas*	۱/۳۶۶ cdefg
۲۵	*Pseudomonas*	۱/۶۳۳ abc
۲۶	*Pseudomonas*	۰/۰۰۰ n
۲۷	*Pseudomonas*	۱/۴۳۳ bcdef
۲۸	*Pseudomonas*	۰/۹۳۳ ghij
۲۹	*Agrobacterium*	۱/۰۶۶ fghij
۳۰	ناشناخته	۱/۱۳۳ efghi
۳۱	*Erwinia*	۰/۹۶۶ ijkl
۳۲	*Pseudomonas*	۰/۷۰۰ jkl
۳۳	*Bacillus*	۰/۰۰۰ n
۳۴	*Pseudomonas*	۱/۵۰۰ abcde
۳۵	*Bacillus*	۰/۰۰۰ n
۳۶	*Pseudomonas*	۱/۵۳۳ abcd
۳۷	*Pseudomonas*	۰/۴۳۳ lm
۳۸	*Bacillus*	۰/۲۰۰ mn
۳۹	*Bacillus*	۰/۴۶۶ klm
۴۰	*Pseudomonas*	۰/۵۰۰ klm

در هر ستون، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ آزمون دانکن است.

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

جدول ۲. تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر طول شاخساره و وزن خشک گندم در شرایط گلخانه پس از تلقیح بذر با سوسپانسیون هر یک از جدایه‌های باکتریایی

شماره جدایه	جنس جدایه	وزن خشک شاخساره (گرم)	ارتفاع شاخساره (سانتی‌متر)
۱	*Pseudomonas*	۰/۵۸۲ n	۳۵/۲۸۶ ab
۲	*Pseudomonas*	۰/۵۳۱ s	۳۷/۸۵۷ ab
۳	*Pseudomonas*	۰/۶۱۶ k	۴۲/۴۲۹ a
۴	*Pseudomonas*	۰/۵۰۵ t	۳۷/۸۵۷ ab
۵	*Erwinia*	۰/۶۲۲ j	۳۹/۴۲۹ ab
۶	*Pseudomonas*	۰/۵۴۳ q	۴۱/۰۰۰ a
۸	*Pseudomonas*	۰/۶۶۱ e	۴۰/۰۰۰ ab
۹	*Pseudomonas*	۰/۵۴۱ r	۴۲/۴۲۹ a
۱۰	*Pseudomonas*	۰/۶۰۱ m	۳۷/۸۵۷ ab
۱۱	*Pseudomonas*	۰/۶۷۴ c	۴۲/۴۲۹ a
۱۳	*Bacillus*	۰/۶۶۲ d	۴۱/۱۴۳ a
۱۸	ناشناخته	۰/۵۵۰ p	۳۸/۰۰۰ ab
۲۵	*Pseudomonas*	۰/۶۲۶ i	۴۰/۸۵۷ a
۲۷	*Pseudomonas*	۰/۶۵۰ g	۳۸/۷۱۴ ab
۲۹	*Agrobacterium*	۰/۵۴۱ r	۳۶/۲۸۶ ab
۳۰	ناشناخته	۰/۶۳۱ h	۳۷/۷۱۴ ab
۳۲	*Pseudomonas*	۰/۷۱۶ b	۴۱/۴۲۹ a
۳۳	*Bacillus*	۰/۶۲۶ i	۳۷/۰۰۰ ab
۳۵	*Bacillus*	۰/۶۶۰ f	۳۲/۲۸۶ b
۳۶	*Pseudomonas*	۰/۵۵۳ o	۳۸/۸۵۷ ab
۳۷	*Pseudomonas*	۰/۶۱۱ l	۳۹/۰۰۰ ab
۳۹	*Bacillus*	۰/۵۵۳o	۳۵/۷۱۴ ab
۴۰	*Pseudomonas*	۰/۷۸۰ a	۳۶/۵۷۱ ab
شاهد	بدون تلقیح با باکتری	۰/۳۳۹ u	۲۲/۴۲ c

در هر ستون، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد آزمون دانکن است.

عملکرد وزن خشک بوته گندم را در حد معنـی‌داری ($P<0.05$) نسبت به شاهد افزایش دهند.

مواد ترشح شده به‌وسیله باکتری‌ها و قارچ‌هـای حـل‌کننـده فسفات مانند اگزالات، لاکتات، سیترات، سوکسینات، آنیون‌های کربوکسیلیک و پروتون‌ها که منجر به کاهش پ- هاش محـیط می‌شوند در افزایش حلالیت ترکیبات فسفات کلسیم نقش دارند (۸). افزایش رشد و ترشحات ریشه گیاه، افزایش تحرک فسـفر پیوند شده با عناصر آهن و آلومینیوم، آزادسازی فسـفر از منـابع آلی و معدنی و نیـز افـزایش پخشـیدگی فسـفر از راهکارهـای دیگری است که در حضور بـاکتری‌هـای حـل‌کننـده فسـفر در

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

جدول ۳. کارایی سیستم همزیستی هر یک از جدایه‌های تلقیح شده به بذرهای گندم

شماره جدایه	جنس جدایه	کارایی همزیستی (درصد)
۱	*Pseudomonas*	۷۲
۲	*Pseudomonas*	۵۷
۳	*Pseudomonas*	۸۳
۴	*Pseudomonas*	۴۹
۵	*Erwinia*	۸۶
۶	*Pseudomonas*	۶۱
۸	*Pseudomonas*	۹۸
۹	*Pseudomonas*	۵۴
۱۰	*Pseudomonas*	۷۸
۱۱	*Pseudomonas*	۱۰۰
۱۳	*Bacillus*	۹۶
۱۸	ناشناخته	۶۳
۲۵	*Pseudomonas*	۸۶
۲۷	*Pseudomonas*	۹۵
۲۹	*Agrobacterium*	۱۳۲
۳۰	ناشناخته	۸۷
۳۲	*Pseudomonas*	۱۱۳
۳۳	*Bacillus*	۸۶
۳۵	*Bacillus*	۹۶
۳۶	*Pseudomonas*	۶۴
۳۷	*Pseudomonas*	۸۶
۳۹	*Bacillus*	۶۴
۴۰	*Pseudomonas*	۱۳۲

محیط منجر به افزایش حلالیت و قابلیت جذب این عنصر می‌گردند (۸ و ۱۵). با توجه به این‌که اکثر محیط‌های کشت مورد استفاده در آزمایشگاه حالت بافری ندارند، تعمیم نتایج حاصل از این پژوهش‌ها برای استفاده در شرایط طبیعی (که خاک با ظرفیت بافری زیاد وجود دارد) باید با احتیاط صورت گیرد. باید در نظر داشت که در خاک‌های قلیایی که حالت بافر دارند فقط آزاد شدن پروتون به‌وسیله باکتری‌ها و تثبیت نیتروژن است که در کاهش پ-هاش و افزایش حلالیت فسفر نقش دارد (۸). بنابراین انجام پژوهش‌های بیشتر در مزرعه برای بررسی تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات در شرایط واقعی توصیه می‌شود. استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات در خاک‌های شور از اهمیت خاصی برخوردار است. بدین منظور باکتری‌های مورد استفاده باید توانایی رشد و فعالیت در شرایط شور را نیز دارا باشند. چن و همکاران (۵) گزارش کردند که

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

بیشترین میزان تحمل شوری باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر چند گیاه زراعی ۵۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بوده است. در تحقیق حاضر، تمامی جدایه‌ها قادر به تحمل این میزان از شوری بوده و جدایه‌های ۶ و ۱۱، که هر دو متعلق به جنس *Pseudomonas* بودند، غلظت ۱۰۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم را نیز تحمل کردند.

نتیجه‌گیری

استفاده از باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاه دارویی سنبل‌الطیب از طریق بهبود قابلیت جذب فسفر و نیتروژن و به‌دنبال آن افزایش رشد گیاه، می‌تواند سبب افزایش عملکرد گیاه گندم شود. لذا با توجه به لزوم استفاده از نظام‌های کم‌نهاده، به‌نظر می‌رسد کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌تواند جایگزین مناسبی برای استفاده از کودهای شیمیایی فسفره باشد. با این وجود، انجام پژوهش بیشتر در زمینه تأثیر باکتری‌های مذکور بر عملکرد دانه گیاه گندم و سایر گیاهان زراعی و نیز در شرایط مزرعه قبل از استفاده عملی از آنها لازم و ضروری است. بررسی تأثیر باکتری‌های مذکور بر عملکرد محصولات گلخانه‌ای، به‌ویژه در شرایط بدون خاک یا هیدروپونیک به‌منظور کاهش مصرف مواد شیمیایی نیز توصیه می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. غزائیان، م.، ح. علیخانی، ا. لکزیان و غ. حق‌نیا. ۱۳۸۳. مطالعه توان همزیستی و حل فسفات باکتری‌های *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. پژوهش‌های زراعی ایران ۲(۱): ۵۳-۴۳.

2. Alikhani, H. A., N. Saleh-Rastin and H. Antoun. 2006. Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. Plant Soil 287: 35-41.
3. Appunu, C., D. Sen and M. K. Singh. 2007. Variation in symbiotic performance of *Bradyrhizobium japonicum* strains and soybean cultivars under field conditions. J. Cent. Eur. Agric. 9(1): 185-190.
4. Bano, A. and F. Mussarat. 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. Biol. Fertil. Soil 45: 405-413.
5. Chen, L. S., A. Figueredo, H. Villani, J. Michajluk and M. Hungria. 2002. Diversity and symbiotic effectiveness of *rhizobia* isolated from field-grown soybean nodules in Paraguay. Biol. Fertil. Soil 35: 448-457.
6. Chen, Z., Sh. Ma and L. Liu. 2008. Studies on phosphorus solubilizing activity of a strain of phosphobacteria isolated from chestnut type soil in China. Bioresour. Technol. 99: 6702-6707.
7. Chung, H., M. Park, M. Madhaiyan, S. Seshadri, J. Song, H. Chob and T. Sa. 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. Soil Biol. Biochem. 37: 1970-1974.
8. Deubel, A. and W. Merbach. 2005. Influence of microorganisms on phosphorus bioavailability in soils. *In:* Buscot, F. and A. Varma (Eds.), Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions, Soil Biology, Volume 3, Springer-Verlag, Berlin.
9. Dey, K. B. 1988. Phosphate solubilizing organisms in improving fertility status. PP. 237-248. *In:* Sen, S. P. and P. Palit (Eds.), Biofertilizers: Potentialities and Problems, Plant Physiology Forum, Naya Prokash, Calcutta.
10. Evans, H. J. and R. H. Burris. 1992. Highlights in biological nitrogen fixation during the last 50 years. PP. 1-42. *In:* Stacey, G., R. H. Burris and H. J. Evans (Eds.), Biological Nitrogen Fixation, Chapman and Hall, New York, USA.
11. Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109-117.
12. Hagedorn, C., W. D. Gould and T. R. Bardinelli. 1989. Rhizobacteria of cotton and their repression of seedling disease pathogens. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2793-2797.
13. Khan, M. S., A. Zaidi and P. A. Wani. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - A review. Agron. Sustain. Dev. 27: 29-43.
14. Lindemann, W. C. and C. R. Glover. 2003. Nitrogen Fixation by Legumes. Cooperative Extension Service, New Mexico State University, 129: 1-4.
15. Richardson, A. E. and R. J. Simpson. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. Plant Physiol. 156: 989-996.
16. Rodríguez, H. and R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnol. Adv. 17: 319-339.

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]

17. Schaad, N. W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd Ed., APS Press, London.
18. Son, H. J., G. T. Park, M. S. Cha and M. S. Heo. 2006. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt-and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. Bioresour. Technol. 97: 204-210.
19. Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Aust. J. Agric. Res. 9: 778-781.
20. Tilak, K. V. B. R., N. Ranganayaki, K. K. Pal, R. De, A. K. Saxena, C. Shekhar Nautiyal, Sh. Mittal, A. K. Tripathi and B. N. Johri. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Sci. 89: 136-150.
21. Vincent, J. M. 1970. A Manual for the Practical Study of the Root-Nodule Bacteria. IBP Handbook, No. 15. Oxford: Blackwell Sci. 1-166 pp.

[Downloaded from jspi.iut.ac.ir on 2026-06-30]

[DOR: 20.1001.1.20089082.1392.4.1.6.1]