

پایش علی انسان، محیط زیست و توسعه پایدار
باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد بهران

۱۳۸۸/۱۲/۱۹

کاهش آلودگی محیط زیست از طریق استفاده از کودهای بیولوژیک جهت افزایش محصول برنج (رقم خزر) زهرا رجب زاده*، محمد علی رضایی^۱، محمود رضا رمضان پور^۲

چکیده:

امروزه استفاده از کودهای شیمیایی مشکلات عدیده ای را در صنعت کشاورزی ایجاد کرده و آسیب های جبران ناپذیری را به محیط زیست وارد نموده است. این مواد شیمیایی تاثیرات مخرب بسیاری بر خاک، محصولات کشاورزی، آب های سطحی و زیرزمینی و در نهایت انسان و جانوران وارد می کند. از این رو در پژوهش حاضر از کودهای بیولوژیک جهت کاهش آلودگی محیط زیست و سلامت محصولات کشاورزی استفاده شد. این کودها شامل باکتری های محرک رشد می باشند که از آن جمله سودوموناس ها هستند. سودوموناس های به کار گرفته شده در این آزمایش ترشح کننده ی سیدروفور می باشند که موجب تسهیل جذب آهن و سایر عناصر می شوند. طی آزمایشاتی شامل ۵ تیمار باکتریایی و ۱ تیمار شاهد در ۴ تکرار به صورت Control, PP1, PP2, PF1, PF2, PF3، تاثیر این باکتری ها بر روی غلظت برخی از عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر، آهن و مس دانه بررسی شد و در نهایت تاثیر این عناصر جذب شده بر روی عملکرد دانه در گیاه برنج (رقم خزر) مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس به روش دانکن نشان می دهد که این باکتری ها افزایش مثبت و معنی داری را در میزان نیتروژن، فسفر، آهن و مس دانه ایجاد کرده اند. همچنین این تیمارها از طریق تاثیر بر عوامل فیزیولوژیکی ذکر شده موجب افزایش معنی داری در میزان عملکرد دانه شده اند.

کلمات کلیدی: باکتری های محرک رشد گیاه، سودوموناس، سیدروفور، عناصر غذایی، عملکرد دانه.

۱- دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، عضو باشگاه پژوهشگران جوان

۲- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۳- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی استان مازندران

مقدمه:

امروزه هشدارهای جهانی در مورد استفاده از مواد شیمیایی و خطرهای و مشکلاتی که آن‌ها برای محیط زیست و انسان ایجاد می‌نمایند در سراسر دنیا از جمله ایران قابل توجه است. این مواد تأثیرات مخرب بسیاری دارند، که به برخی از آنها اشاره می‌نماییم: این کودها باعث سفت شدن خاک، تغییر کیفیت خاک (شور شدن و آلودگی خاک)، کاهش کیفیت محصولات (جذب عناصر غیر ضروری)، کاهش مقدار محصولات و آلودگی آب‌های سطحی و کشاورزی، ایجاد بیماری‌های صعب‌العلاج در انسان (انواع سرطان‌ها خصوصاً شایع‌ترین آن در ایران یعنی سرطان معده و بیماری‌های حاصل از جهش سلولی) می‌شوند. از این رو ماندگاری آن‌ها در محصولات و محیط زیست برای انسان، دام، طیور، ماهی‌ها و حشرات مفیدی مانند زنبور عسل خطرناک است. همچنین این مواد چرخه‌ی محیط زیست را بر هم زده، باعث اختلال در آن می‌گردند. قیمت بالایی نیز دارند. انتقال این مواد شیمیایی به آب‌های سطحی و زیرزمینی مشکلات متعددی را در پی دارد. از آن جمله می‌توان به انقراض سمور در رودخانه‌های غرب مازندران و کاهش جمعیت ماهی‌ها در رودخانه‌های شمال کشور اشاره کرد. کاربرد نامتعادل کودهای ازته ممکن است موجب کاهش قابلیت دسترسی گیاهان به فسفر و عناصر کم مصرف مانند روی، آهن، مس و منگنز شود که بر روی سلامت گیاهان، جانوران و انسان تأثیر خواهد گذاشت. در کشور ما سالانه بیش از ۲/۵ میلیون تن اوره جهت تامین نیاز ازت گیاهان در صنعت کشاورزی استفاده می‌شود. این مسئله هزینه‌های بالایی حدود ۶۵۰ میلیون دلار را به دنبال دارد. راه حلی که ما در این تحقیق در پیش گرفته ایم استفاده از کودهای بیولوژیک مانند باکتری‌های محرک رشد جهت تامین نیاز نیتروژن، فسفر و سایر عناصر کم مصرف گیاه می‌باشد. با استفاده از کودهای بیولوژیک هم مصرف سالانه‌ی کشور تا حد بالایی کاهش می‌یابد و هم بهره‌وری و عمر مفید زمین‌های کشاورزی افزایش خواهد یافت. همچنین باعث افزایش راندمان محصولات کشاورزی، بهبود کیفی خصوصیات خاک، جلوگیری از آلودگی آب‌ها و کاهش مصرف اوره نیز می‌گردند.

گردند. (<http://akhlaghy.blogfa.com/post-12.aspx>)

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) گروهی از باکتری‌های ریزوسفری هستند که از یک یا چند مکانیزم خاص جهت بهبود شاخص‌های رشد و نمو گیاه استفاده می‌کنند (Kloepper و همکاران، ۱۹۸۹). یکی از انواع این باکتری‌ها، باکتری‌های خانواده‌ی سودوموناسه هستند. این باکتری‌ها متحرک، اکسیداز مثبت، گرم منفی، هوازی و شیمیوارگانوتروف می‌باشند (Palleroni، ۱۹۸۴). همچنین ترشحات متعددی دارند که از آن جمله می‌توان سیدروفور را نام برد. سیدروفورها ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین (اکثراً کمتر از ۱۵۰۰ دالتون) و خاصیت بالای جذب آهن هستند که به وسیله‌ی بسیاری از میکروارگانیزم‌های خاکزی در شرایط کمبود آهن فریک ترشح می‌شوند (Neiland، ۱۹۸۱).

از آن جایی که استفاده از کودهای بیولوژیکی به جای کودهای شیمیایی هم از لحاظ کیفیت محصولات کشاورزی و هم از لحاظ کاهش آلودگی محیط زیست حائز اهمیت است از این باکتری‌ها جهت تامین برخی از نیازهای گیاه برنج استفاده نمودیم. از لحاظ گیاه‌شناسی برنج گیاهی است یک ساله از جنس *Oryza sativa L.* (خانواده‌ی گندمیان) دارای چند نوع و گونه‌های بسیار. برنج دومین منبع غذایی بشر بعد از گندم می‌باشد که در بیش از ۶۰ کشور دنیا و در سطح ۱۵۰ میلیون هکتار مورد کشت قرار می‌گیرد. بیش از ۹۰ درصد برنج در آسیا کشت می‌گردد و حدود ۶۰ درصد مصرف جهان از آن مناطق بدست می‌آید (www.berenge.com). در پژوهش حاضر بررسی می‌شود که آیا تیمار با این باکتری‌ها می‌تواند بر غلظت برخی از عناصر غذایی و عملکرد گیاهان تیمار شده نسبت به تیمار شاهد تأثیر مثبتی بگذارد یا خیر؟

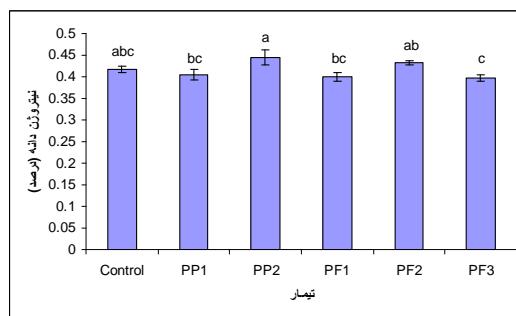
مواد و روش ها:

این آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی در قالب ۵ تیمار باکتریایی و یک تیمار شاهد بدون تلقیح در ۴ تکرار به صورت (Control, PP1, PP2, PF1, PF2, PF3) اجرا می شود. بذرهای رقم خزر را در رطوبت مناسب ریشه دار کرده و ۷۲ ساعت بعد از ظهور ریشه چه ها به مدت ۲۴ ساعت قبل از کاشت در محیط کشت (مایه تلقیح) تیمارهای باکتریایی قرار داده و پس از آن برای کاشت در گلدان های حاوی خاک شنی - لومی استفاده کردیم. اندازه گیری میزان نیتروژن به روش (Kjeltec, Fao, ۲۰۰۳)، اندازه گیری فسفر به روش (Chapman and Pratt, ۱۹۶۱؛ Jackson ۱۹۶۷) و اندازه گیری آهن و مس به روش (Perkin, ۱۹۸۲) انجام شد. برای اندازه گیری عملکرد بوته های مورد نظر پس از برداشت به آزمایشگاه منتقل شد و دانه ها جدا شدند. بذرهای هر گلدان به صورت جداگانه در پاکت های مجزا ریخته شده و توزین شدند. مقایسه میانگین داده ها با استفاده از روش دانکن و مراحل تنظیم متن و رسم نمودارها به ترتیب با استفاده از نرم افزار Word، Spss و Excell انجام شد.

نتایج:

- نیتروژن دانه

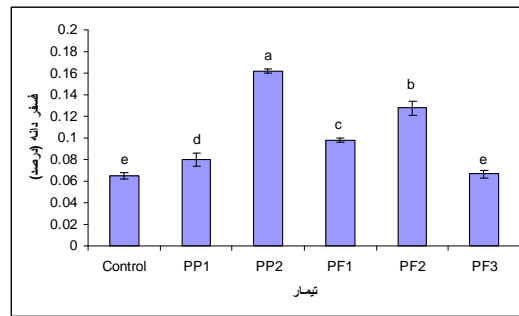
نمودار ۱، تغییرات میزان نیتروژن دانه ی برنج را تحت اثر تلقیح بذر آن با دو سویه از باکتری سودوموناس فلورسنس و سودوموناس پوتیدا نشان می دهد. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری را در سطح ۰.۰۵٪ در میزان آن نشان داده است. تلقیح بذر برنج با باکتری سودوموناس موجب افزایش میزان نیتروژن دانه در تیمارهای PP2 و PF2 نسبت به تیمار Control گردیده است.



نمودار ۱- تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان نیتروژن دانه ی برنج (رقم خزر)

- فسفر دانه

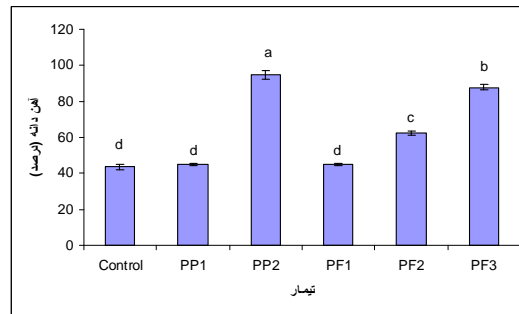
نمودار ۲، تغییرات میزان فسفر دانه ی برنج را تحت اثر تلقیح بذر آن با دو سویه از باکتری سودوموناس فلورسنس و سودوموناس پوتیدا نشان می دهد. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی داری را در سطح ۰.۰۵٪ در میزان آن نشان داده است. به صورتی که بیشترین و کمترین میزان فسفر مربوط به تیمارهای PP2 و PF3 می باشد.



نمودار ۲- تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان فسفر در دانه‌ی برنج (رقم خزر)

- آهن دانه

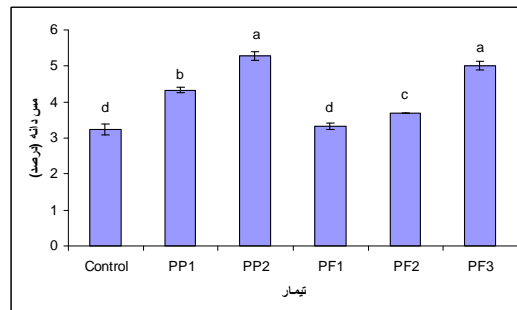
نمودار ۳، تغییرات میزان آهن در دانه‌ی برنج را تحت اثر تلقیح بذر آن با دو سویه از باکتری سودوموناس فلورسنس و سودوموناس پوتیدا نشان می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ در میزان آن نشان داده است. چنان‌که در برگ مشاهده شد در اینجا هم تیمار PP2 و PF3 نسبت به سایر تیمارهای باکتریایی میزان بالاتری دارند.



نمودار ۳- تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان آهن در دانه‌ی برنج (رقم خزر)

- مس دانه

نمودار ۴، تغییرات میزان مس دانه‌ی برنج را تحت اثر تلقیح بذر آن با دو سویه از باکتری سودوموناس فلورسنس و سودوموناس پوتیدا نشان می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ در میزان آن نشان داده است. به صورتی که بیشترین میزان مس مربوط به تیمارهای PP2 و PF3 و کمترین میزان آن مربوط به تیمار PF1 می‌باشد.

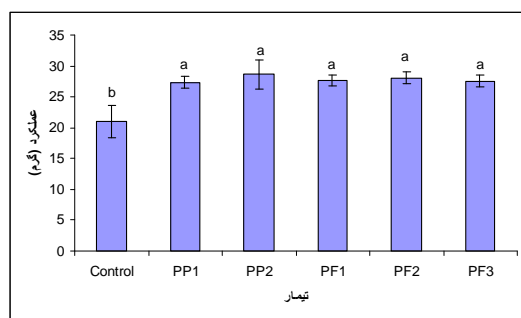


نمودار ۴- تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان مس در دانه‌ی برنج (رقم خزر)

- عملکرد

نمودار ۵ تغییرات عملکرد را در گیاه برنج تحت تاثیر تلقیح با سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس و سودوموناس پوتیدا نشان می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ در میزان عملکرد آن‌ها نشان

می‌دهد. تمامی تیمارها نسبت به Control افزایش معنی‌دار داشته‌اند، به طوری که تیمارها به ترتیب نسبت به شاهد ۳۰/۱۹، ۳۱/۵۲، ۳۳/۵۷، ۳۶/۳۳، ۳۱/۰۵ درصد افزایش عملکرد داشته‌اند.



نمودار ۵- تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان عملکرد در گیاه برنج (رقم خزر)

بحث:

طبق نتایج بدست آمده در این تحقیق میزان نیتروژن دانه‌ی برنج در تیمارهای PP2 و PF2 افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشته‌اند (نمودار ۱). Biswass و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که تلقیح گیاه برنج با ریزوبیوم‌ها به طور معنی‌داری جذب N و فسفر را به میزان ۱۰ تا ۲۸٪ نسبت به شاهد افزایش داده است. برهم کنش میان ریشه‌ی گیاه و ارگانیزم‌ها در ریزوسفر سبب جذب مواد مغذی ضروری مانند نیتروژن و مانع تجمع مواد سمی می‌شود. (White, ۲۰۰۳).

نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد که میزان فسفر دانه در تمامی تیمارها به جز PF3 نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (نمودار ۲). فسفات در تنظیم فتوسنتز نقش داشته و از این طریق موجب افزایش رشد و نمو گیاه می‌گردد (غلامی و کوچکی، ۱۳۸۰). دانشی و همکاران (۱۳۸۴) در تحقیق خود بر روی نخود اظهار داشته‌اند که جذب فسفر در تیمارهای تلقیحی ریزوبیوم بیشتر از سایر تیمارها مشاهده می‌شود. تلقیح با باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات موجب افزایش جذب فسفر توسط گیاه و افزایش عملکرد می‌شود. گونه‌های سودوموناس قوی‌ترین حلال‌های فسفات هستند. مکانیزم اصلی حلالیت زائی فسفات معدنی، تولید اسیدهای آلی است و اسید فسفاتاز، نقشی اصلی در معدنی‌سازی فسفر آلی در خاک بازی می‌کند (Rodriguez and Frage, ۲۰۰۰). نتایج بدست آمده از تاثیر کودهای بیولوژیک بر برگ‌های گندم حاکی از آن است که تلقیح با باکتری‌های سودوموناس بیشترین تاثیر را در میزان فسفر برگ داشته است که البته این امر در مورد باکتری‌های سودوموناس حل‌کننده‌ی فسفات کاملاً مشخص است (زکی زاد، ۱۳۸۶). در مورد باکتری سودوموناس مورد تحقیق ما که تولیدکننده‌ی سیدروفور هستند، میزان فسفر دانه در تمامی تیمارها به جز PF3 نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (نمودار ۲).

سیدروفورهای میکروبی می‌توانند در بهبود جذب عناصر کم مصرف به ویژه آهن مفید باشند، زیرا ریشه‌های گندمیان سیدروفور آزاد می‌کنند و با کمک همین سیدروفورها (استراتژی I)، آهن مورد نیاز خود را در حد رفع نیاز جذب می‌کنند. سیدروفور، تعدادی از ترکیبات معدنی آهن مثل اکسید و هیدروکسید آهن سه ظرفیتی را به شکل محلول و قابل جذب برای گیاهان تبدیل می‌کند (Romheld, ۱۹۹۱). بررسی آماری نتایج نشان می‌دهد که میزان آهن دانه در اکثریت تیمارها افزایش یافته و بیشترین مقدار آهن در تیمار PP2 دیده می‌شود که بیشترین میزان ترشح سیدروفور را دارد (نمودار ۴).

مس یک ترکیب مهم پروتئین‌های یافت شده در آنزیم‌ها است که سرعت بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی را افزایش می‌دهد. گیاهان بدون حضور این آنزیم‌های مهم قادر به رشد نیستند. تحقیقات نشان می‌دهد که مس: (۱) تشکیل و تولید دانه را آغاز

می‌کند. ۲) نقش اساسی در تشکیل کلروفیل بازی می‌کند. ۳) جهت تکمیل فعالیت‌های آنزیمی ضروری است (Rehm and Schmitt, ۲۰۰۲). کمبود مس موجب کاهش تعداد دانه‌ی برنج، کاهش وزن گیاه و زردشدن نوک برگ می‌شود.

تلقیح بذر سویا با باکتری‌های برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم توسط مهدی پور (۱۳۸۷) موجب افزایش معنی‌دار مس در برگ و دانه‌ی گیاهان شامل تیمارهای باکتریایی نسبت به تیمار شاهد شده است. نتایج به دست آمده طی این آزمایش نشان می‌دهد که میزان مس دانه به جز در تیمار PF1، در سایر تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. از آن جایی که مس جزو فلزات شلات شونده است، احتمالاً باکتری با ایجاد سیدروفور شلات شونده با مس موجب افزایش میزان مس شده است. جالب است که بیشترین میزان مس در تیمار PP2 که بیشترین تولید سیدروفور را دارد دیده شده است. چنان‌که گفته شد، میزان مس موجب افزایش تعداد دانه‌ی برنج می‌شود، در این تحقیق دیده می‌شود که میزان عملکرد افزایش داشته است. در نتیجه می‌توان گفت که افزایش میزان مس از طریق افزایش تعداد دانه موجب افزایش عملکرد شده است.

نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس نشان می‌دهد که عملکرد گیاه برنج در تلقیح با باکتریهای سودوموناس فلورسنس و سودوموناس پوتیدا افزایش معنی‌داری داشته است (نمودار ۵). زمانی که صحبت از صفات کمی می‌شود مهم‌ترین عامل در این رابطه عملکرد گیاه است. عوامل متعددی می‌توانند بر روی عملکرد تاثیر داشته باشند که مهم‌ترین این عوامل شرایط محیطی و نوع تغذیه می‌باشند (Takagi, ۱۹۹۰؛ White, ۱۹۷۵). افزایش عملکرد دانه‌ی گندم به میزان ۱/۱ تا ۲/۷ برابر در اثر کاربرد باکتری آروسپریلوم گزارش شده است (Lambert and Weidensaul, ۱۹۹۱). Biswas و همکاران (۲۰۰۰) افزایش رشد و بهبود عملکرد گیاه برنج تلقیح شده با ریزوبیوم‌ها را مشاهده نمودند. تیمارهای PF3, PP2, PF2, PF1, PP1 به ترتیب نسبت به شاهد ۳۰/۱۹، ۳۱/۵۲، ۳۳/۵۷، ۳۶/۳۳، ۳۱/۰۵ درصد افزایش عملکرد داشته‌اند.

نتیجه گیری:

همان‌طور که در پژوهش حاضر ملاحظه شد، استفاده از کودهای بیولوژیک نظیر باکتری محرک رشد از جمله سودوموناس موجب افزایش غلظت نیتروژن، فسفر، آهن و مس دانه و همچنین عملکرد در گیاه برنج (رقم خزر) شده است. افزایش عملکرد در نهایت نشان دهنده‌ی افزایش محصول می‌باشد. از این رو می‌توان به جای استفاده از کودهای شیمیایی نظیر کودهای ازته که اثرات سوئی هم بر کیفیت محصولات و هم بر سلامت محیط زیست و در نهایت انسان دارند از تلقیح با انواع باکتری‌های محرک رشد از جمله باکتری سودوموناس استفاده کرد.

منابع و مأخذ:

- ۱- زکی زاد. ر. (۱۳۸۶). اثر بیوفرتیلازرهای قارچی - باکتریایی بر فیزیولوژی، مورفولوژی و عملکرد گندم (رقم میلان). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، گروه زیست‌شناسی. ۱۴۹ صفحه.
- ۲- دانشی، ن.، اصغرزاده. ا. و افشاری. م. (۱۳۸۴). بررسی تاثیر مایه تلقیح ریزوبیومی در افزایش جذب عناصر غذایی کم مصرف در زراعت نخود. مجموعه مقالات نهمین کنگره خاک ایران. جلد دوم. صفحه ۶۷-۶۴.
- ۳- غلامی، ا. و کوچکی، ع. (۱۳۸۰). میکوریزا در کشاورزی پایدار (ترجمه). انتشارات دانشگاه شاهرود. ۲۱۲ صفحه.
- ۴- مهدی پور. آ. (۱۳۸۷). بررسی اثر سویه‌های مختلف باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه سویا (*Glycine max L.*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، گروه زیست‌شناسی. ۲۱۵ صفحه.

5. Biswas J.C., Ladha J.K., and Dazz, F.B. (2000). Rhizobia Inoculation Improves Nutrient Uptake and Growth of lowland Rice Soil Sci. Soc. Am.J., Vol. 64, September-October.1644-1650
6. <http://akhlaghy.blogfa.com/post-12.aspx>
7. Kloepper, J.W., Lifshitz, R., and Zablotticz, R.M. (1989). Free-living Bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7: 39-43.
8. Lambert, D.H. and Weidensaul, T.C. (1991). Element uptake by mycorrhizal soybean from sewage sludge treated soil. *Journal of soil science of America.* 55:393-398.
9. Neilands, J.B. (1981a). Iron absorption and transport in microorganism. *Annu. Rev. nut.* 1: 27-46.
10. Palleroni, N.J (1984). Gram- negative aerobic rods and cocci : Family I pseudomonads, in : Krieg N. R., Holt, J.G. (Eds.) *Bergeys manual of bacteriology*, William and Wilkins, Baltimore. PP: 141-168.
11. Rehm, G., and Schmitt, M. (2002). *Cooper for crop production*. University of Minnesota.
12. Rodriguez, H., and Fraga, R. (2000). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Department of Microbiology*, vol.17, no. 4-5, Page 319-339.
13. Romheld, V. (1991). Effect of zinc deficiency in Wheat on the release of zinc and iron mobilizing root exudates. 152:205-210.
14. Takagi, H. (1990). Garlic *Allium sativum*. L. in onion and Allied crops. *CRC. Press Vol:3.* chape:6.
15. White, J.W. (1975). Relative significance of dietary Sources of nitrate and nitrite. *J. Agric. Food hem.* Vol. 23, no.5.
16. White, P.J. (2003). Ion Transport. In: Thomas B, Murphy DJ, Murray BG, eds. *Encyclopaedia of applied plant science*. London: Academic Press, 625-634.
17. www.berenge.com
18. www.kavinco.com

Abstract:

Nowadays use of the chemical fertilizers are made abundant difficults and marred the living environment. These chemical materials have very devastating influences on earth, Agricultural products, Subterranean and superficial waters, and humans and animals. Therefore, in present research were used from biofertilizers for decrease pollution of living environment and health of agricultural products. These biofertilizers including plant growth promoting bacteria (or rhizobacteria) that one of them are *Pseudomonases*. Applied *Pseudomonases* in this research secreting siderophore that facilitate the uptake of iron and elements. During experiments including five bacterial treatments and one control treatment in four repeats in form of (control, PP1, PP2, PF1, PF2, PF3) are conducted and the effect of these bacteria on concentration of some of the elements such as seed's N, P, Fe and Cu were studied and finally influence of these absorbed elements on grain yield in rice plant (variety Khazar) were studied. the results of the variance analyze in form of Duncan shows that applying of these bacteria has had positive and significant effect on concentration of N, P, Fe and Cu. These treatments increased significantly grain yield from influence on Physiological characteristics too.

Key words: Plant growth promoting bacteria, Pseudomonas, siderophore, elements, grain yield.