

پایش علی انان، محیط زیست و توسعه پایدار
بانگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد بهران

۱۳۸۸ و ۱۳۹۱ شمسه

بررسی مصرف کودهای بیولوژیکی سودوموناسه محرک رشد در برنج گامی در راستای افزایش

محصول و حفظ محیط زیست

فرزانه بنی هاشم*^۱، محمودرضا رمضانپور^۲، محمدعلی رضائی^۳، کاظم خاوازی^۴

چکیده:

مطالعات نشان داده است که مصرف کودهای شیمیایی از جمله کود ازته که باعث افزایش رشد گیاه می شود، اثرات زیست محیطی خطرناکی در پی دارد. بنابراین استفاده از باکتری های محرک رشد به ویژه آنهایی که اکسین بالایی تولید می کنند، می توانند در بهبود خصوصیات مورفولوژیکی، افزایش رشد گیاه و حفظ محیط زیست موثر باشند. در این تحقیق، دانه رست های برنج واریته ندا با ۵ جدایه از سودوموناس های شناسایی شده با خاصیت تولید اکسین (PF1, PF2, PP1, PP2, PP3) و یک تیمار به عنوان شاهد در ۴ تکرار تلقیح شد. سپس بذرها در گلدان هایی که خاک آن به روش استاندارد بررسی شده بود، کاشته شدند. بعد از پنجه زنی در هر گلدان فقط ۳ بوته جهت انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد. در مرحله گلدهی، از یک بوته جهت سنجش ارتفاع ریشه، وزن تر ریشه و میزان عناصر غذایی برگ نمونه برداری شد. همچنین در زمان رسیدگی فیزیولوژی بوته ها کفبر شده و خصوصیات مورفولوژیکی، وزن هزار دانه و عملکرد برای هر تیمار محاسبه شد. در این مرحله غلظت عناصر غذایی دانه نیز اندازه گیری شد. بررسی نتایج، مشخص کرد که در اثر تلقیح این باکتری ها با دانه رست های برنج فاکتورهای مورفولوژی مانند ارتفاع ریشه، وزن تر ریشه، عملکرد و میزان عناصر غذایی نیتروژن، آهن و روی در برگ ها و دانه ها در اکثر تیمارها به طور معنی داری افزایش داشت. سایر فاکتورها در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نشان ندادند. به طور کلی این باکتری ها به صورت مستقیم، یعنی تحریک رشد گیاه از طریق مکانیسم های تغذیه ای و فیزیولوژیکی مانند تولید هورمون های گیاهی از جمله اکسین به رشد بهتر گیاه کمک می کنند.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۲- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی ساری

۳- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۴- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب کشور

مقدمه:

امروزه گیاه برنج از لحاظ مصرف بعد از گندم در درجه دوم اهمیت قرار دارد. به موازات افزایش روز افزون جمعیت و نیاز انسان به غذا، تامین مقدار کافی این گیاه لازم بود. با توجه به اینکه کودهای شیمیایی، سموم و آفت کشها مهمترین منابع آلودگی در طبیعت هستند و مصرف آنها منجر به مسمومیت انسان، دام و حتی آبزیان می شود، استفاده از کودهای بیولوژیک مورد توجه و بررسی قرار گرفت. استفاده از باکتریهای محرک رشد به ویژه آنهایی که اکسین بالایی تولید می کنند، در بهبود خصوصیات مورفولوژیکی و افزایش رشد گیاه و غنی سازی آن موثرتر خواهند بود و امکان استفاده از کودهای شیمیایی را کمتر خواهند کرد.

بعضی مکانیسمهای توسعهی رشد باکتریهای ریزوسفری ثابت شده اند. توانایی تثبیت نیتروژن اتمسفری در گونه های مختلف باکتری که یا زندگی آزاد در خاک دارند و یا به طور همزیست با ریشه های گیاه بسر می برند، وجود دارد. مواد غذایی معدنی محلول که در حد معینی برای رشد مورد نیاز هستند از طریق عمل حل کنندگی سیدروفورهای باکتری یا ترشح اسیدهای آلی در دسترس قرار می گیرند. تراکم بالای جمعیت باکتریها در ریزوسفر، دریافت و جذب مواد غذایی از طریق ریشه های گیاه را تحریک می کند، همچنین تعدیل مکانیسمهای تنظیمی با تولید هورمونها، یا ترکیبات دیگری که رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می دهند. بسیاری از گونه های باکتری استعداد تولید اکسین یا اتیلن و سنتز ژیرلین و سیتوکینین را نیز دارند (Van Loon, 2007).

روش های کشاورزی مدرن تا حد زیادی برای رسیدن به محصول بیشتر به استعمال آفت کش های شیمیایی در مقابل پاتوژن ها و آفات تکیه می کنند اما بررسی ها، پی آمدهای محیطی ناشی از استفاده بیش از حد آنها را نشان داد به طوری که استعمال کودهای معدنی به ویژه نیتروژن باعث آلودگی آب های زیرزمینی با نترات های شسته شده توسط آب از خاک می شود و در شرایط خاکی معین، نیتروژن دهی باعث ورود ترکیبات بخار نیتروژنی از خاک به اتمسفر می گردد که در اثر گلخانه ای شرکت دارد (Bellis and Ercolani, 2001).

نقش این باکتریها در حفظ سلامت ریشه، جذب مواد غذایی و تحمل استرس های محیطی، به شناخته شدن این میکروارگانیسمها بعنوان جزء مهمی از شیوه های مدیریتی در جهت رسیدن به محصول نهایی منجر شد و پتانسیل فواید محیطی این شیوه باعث کاهش در مصرف کودهای شیمیایی و تحریک این تکنولوژی گردید (Nelson, 2004).

در میان باکتریهای محرک رشد گیاه، باکتریهای جنس سودوموناس به دلیل توزیع گسترده در خاک، توانایی کلونیزاسیون ریزوسفر بسیاری از گیاهان و تولید طیف متنوعی از متابولیتها از اهمیت زیادی برخوردارند (سلطانی، ۱۳۸۵).

یکی از مکانیسمهای مورد استفاده توسط باکتریهای محرک رشد گیاه، ترشح تنظیم کننده های رشد گیاهی PGRs یا فیتوهورمونها می باشد. تنظیم کننده های رشد، مواد آلی طبیعی یا سنتزی هستند که در غلظت های خیلی کم، فرایندهای فیزیولوژیک گیاهان را تحت تاثیر قرار می دهند (Glick, 1995). تخمین زده شده است که ۸۰ درصد میکروارگانیسمهای جدا شده از ریزوسفر گیاهان مختلف، توانایی تولید اکسین به عنوان یک متابولیت ثانویه را دارند (سلطانی، ۱۳۸۵).

اثرات هورمون اکسین بر گیاه عبارتند از: توسعه سلولی، تقسیم سلولی، جوانه زنی ریشه، تسریع رشد گیاه، فتوتروپیسم و ژئوتروپیسم (Frankenberger and Arshad, 1995). اثر هورمون اکسین روی رشد گیاه به غلظت آن

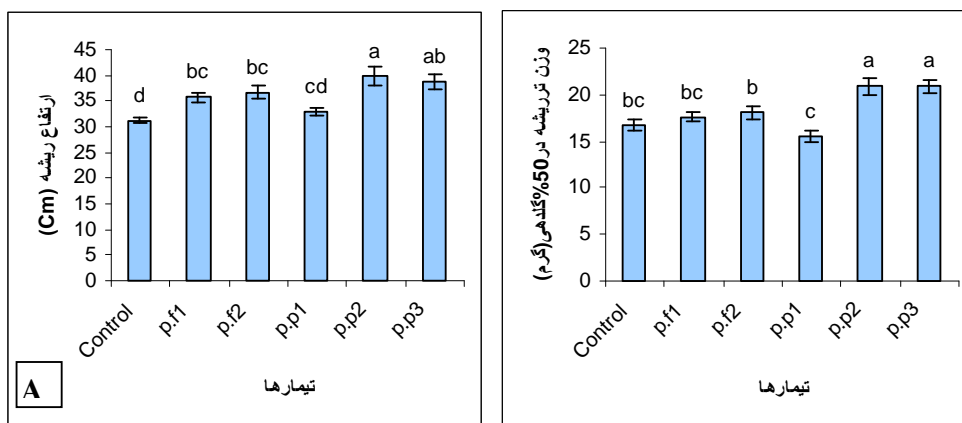
بستگی دارد، به طوری که در غلظت‌های کم می‌تواند موجب تحریک رشد گیاه و در غلظت‌های زیاد منجر به بازدارندگی از رشد گردد.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش در گلدان‌هایی در قالب ۵ تیمار باکتریایی (سویه‌هایی از باکتری جنس سودوموناس) و یک تیمار شاهد بدون تلقیح در چهار تکرار اجرا شد. قبل از کاشت تجزیه‌ی خاک از طریق استاندارد صورت گرفت و میزان عناصر غذایی در خاک بررسی شد. سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس را با بذر ریشه دار شده‌ی برنج رقم ندا، به مدت ۲۴ ساعت تلقیح کرده و سپس داخل گلدان‌ها، عملیات کاشت بذرها را با بذرها انجام دادند. پس از رشد نسبی بذرها درون گلدان، تعداد ۳ بوته برای انجام آزمایش‌های مختلف نگهداری شد و بعد از مراقبت‌های ویژه از گیاه نمونه برداری صورت گرفت و اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و میزان عناصر برگ اندازه‌گیری شد. بعد از رسیدگی فیزیولوژیکی، گیاه به طور کامل برداشت شد و خصوصیات مورفولوژیکی مانند وزن هزار دانه و عملکرد و میزان عناصر غذایی دانه مورد اندازه‌گیری دقیق واقع شد. در این تحقیق سنجش نیتروژن به روش تیتراسیون بعد از تقطیر با استفاده از سیستم اتوماتیک (کجل تک اتو آنالیز) انجام شد (Faو، ۲۰۰۳)، همچنین میزان آهن و روی به روش جذب اتمی محاسبه شد (Perkin، ۱۹۸۲).

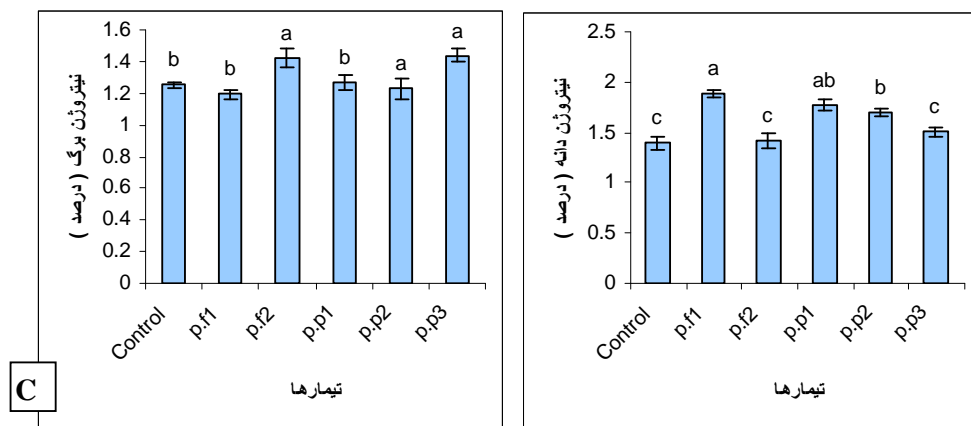
نتایج:

همان‌طور که دیده می‌شود اثر تلقیح سودوموناس پوتیدا ۲ و سودوموناس پوتیدا ۳ بیشترین افزایش را در وزن تر ریشه گیاه برنج نشان می‌دهند که این افزایش در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۲۴ درصد و ۲۵ درصد می‌باشد. از طرفی سایر تیمارها نیز در مقدار وزن تر ریشه گیاه برنج نسبت به شاهد اختلاف دارند، ولی این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نیست. اما همه‌ی تیمارها وزن خشک ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داده‌اند.



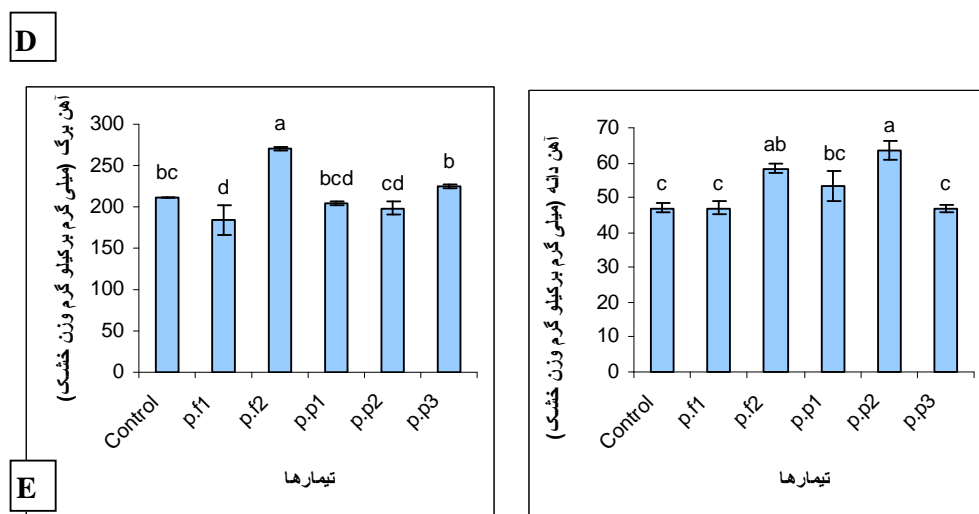
شکل ۱: A تغییرات ارتفاع ریشه. B تغییرات وزن تر ریشه در گیاه برنج رقم ندا تحت تاثیر کودهای بیولوژیک

به طوری که نتایج نشان می دهند، اثر تلقیح کودهای بیولوژیک بر میزان نیتروژن برگ و دانه در گیاه برنج در سطح ۵٪ معنی دار می باشد. نتایج نشان می دهند که بیشترین میزان نیتروژن برگ مربوط به تلقیح با سودوموناس فلورسنس ۲ و سودوموناس پوتیدا ۳ می باشد که به ترتیب نسبت به تیمار شاهد ۱۱/۷ درصد، و ۱۲/۷ درصد افزایش نشان می دهند، همچنین تیمارهای تلقیح یافته با باکتری های سودوموناس فلورسنس ۱ و سودوموناس پوتیدا ۱ و ۲ بیشترین مقدار نیتروژن را در دانه دارا می باشند.

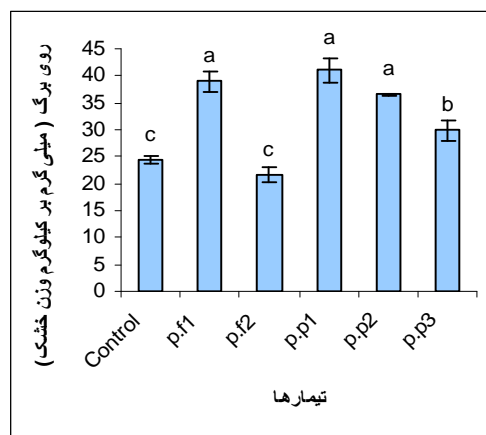
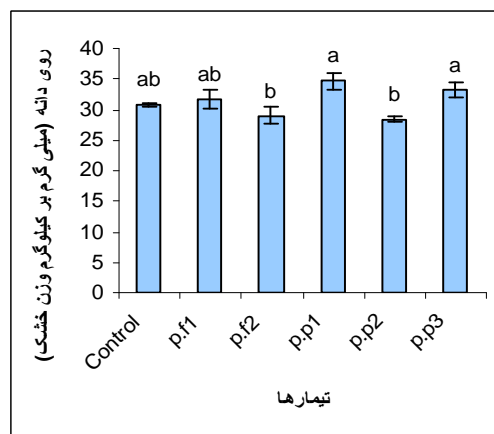


شکل ۲: تغییرات نیتروژن برگ. D تغییرات نیتروژن دانه در گیاه برنج رقم ندا تحت تاثیر کودهای بیولوژیک

همان طور که مشاهده می شود اثر تلقیح کودهای بیولوژیک بر میزان آهن و روی برگ و دانه گیاه برنج در سطح ۵٪ معنی دار می باشد. نتایج نشان می دهد که تیمارهای تلقیح یافته با باکتری های سودوموناس فلورسنس ۲ بیشترین تاثیر را در میزان آهن برگ و دانه گیاه برنج داشت. همچنین سودوموناس پوتیدا نقش موثرتری نسبت به سودوموناس فلورسنس بر میزان روی در برگ و دانه گیاه برنج دارا می باشد.



شکل ۳: تغییرات آهن برگ. F تغییرات آهن دانه در گیاه برنج رقم ندا تحت تاثیر کودهای بیولوژیک

G**H**

شکل ۴ : G. تغییرات روی برگ. H تغییرات روی دانه در گیاه برنج رقم ندا تحت تاثیر کودهای بیولوژیک

اثر تلقیح کودهای بیولوژیک بر میزان وزن هزار دانه در سطح ۰.۵٪ معنی دار نمی باشد. در حالی که مشاهده می شود، میزان عملکرد در همه ی تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد از لحاظ آماری اختلاف معنی داری دارد. بیشترین تاثیر بر میزان عملکرد گیاه برنج مربوط به تلقیح سودوموناس پوتیدا ۲ می باشد که حدود ۵۷/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد میزان عملکرد را افزایش داده است.

بحث:

تحقیقات نشان داده که تلفات ازت در برنج توسط آب های زیرزمینی، روان آب سطحی، نیترات شویی و عمدتاً از طریق تصعید نیترات اتفاق می افتد و این امر موجب کاهش راندمان مصرف کود ازته در برنج می شود به طوری که راندمان مصرف به ۴۰٪ می رسد. با توجه به این که این عنصر در رشد سریع گیاه، تعداد دانه در خوشه، وزن هزار دانه و عملکرد موثر خواهد بود، به این دلیل مدیریت در به کار گیری باکتری هایی با توانایی تثبیت ازت در همه محصولات زراعی گامی در جهت کاهش آلودگی محیط زیست و افزایش میزان تولید محصول می باشد (میرنیا و محمدیان، ۱۳۸۴).

بر اساس نتایج تیمارهای تلقیح یافته با سودوموناس پوتیدا ۲ و ۳ که توانایی تولید اکسین بالایی دارند نسبت به شاهد ارتفاع ریشه را بیشتر افزایش می دهند به طوری که مشاهده شد در این تیمارها سیستم ریشه ای گسترده تر

بوده است که با توجه به نتایج به دست آمده در مورد میزان عناصر جذب شده مشخص شد که میزان عناصر غذایی نیز در این تیمارها بالا بوده است. با مشارکت باکتری‌های تحریک کننده رشد گیاه، تحریک رشد ریشه به واسطه ی تولید فیتوهورمون‌ها صورت می‌گیرد. افزایش طول ریشه به افزایش رشد سلول از طریق هورمون رشد بعد از تلقیح با کود بیولوژیک نسبت داده می‌شود (Egamberdiyeva, 2007).

نیترژن در گیاهان بالاترین غلظت را داشته و عامل رشد است و نقش مهمی در افزایش عملکرد دارد به طوری که کمبود آن بیش از سایر عناصر غذایی عملکرد را محدود می‌کند (Hillel, 2005).

همان طور که قبلاً بیان شد، گیاهان از آهن در تشکیل سیتوکروم‌ها و پروتئین‌های غیر هم آهن دار در فتو سنتز، تثبیت نیترژن و تنفس استفاده می‌کنند (تایزو زایگر، ۱۳۸۵). از طرفی در بین عناصر میکرو برنج به کمبود روی حساسیت بیشتری نشان می‌دهد. نتایج بررسی عناصر کم مصرف در شالیزارهای شمال کشور موبد آن است که غلظت عناصر غذایی آهن و منگنز بیشتر از حد بحرانی و میزان روی در برخی مزارع کمتر از حد بحرانی است. تحت چنین شرایطی مصرف کودهای بیولوژیکی تامین کننده ی روی در افزایش عملکرد و کیفیت برنج موثر خواهد بود (ملکوتی، ۱۳۷۸). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهند که بین میزان آهن و روی در برگ و دانه ارتباط نزدیکی وجود دارد بالا رفتن مقدار عناصر میکرو در برگ و دانه نیز به تاثیر باکتری های PGPR در توسعه ی سیستم ریشه ای با واسطه ی حضور اکسین ارتباط داده می‌شود.

در آزمایش تلقیح گیاه برنج با باکتری‌های ریزوبیوم در گلدان‌هایی که خاک آن دارای مقادیر مختلف نیترژن معدنی بود، نشان داده شد که جذب آهن در برنج ۱۵ تا ۶۴ درصد افزایش داشت. نتایج تعیین کرد، استرین‌های معین ریزوبیا از طریق مکانیسم‌های تغییر فیزیولوژی رشد و مورفولوژی ریشه بیشتر از تثبیت بیولوژیکی نیترژن، رشد و عملکرد گیاه برنج را افزایش می‌دهند (Gothwal و همکاران، ۲۰۰۷).

وزن دانه بیشتر تحت تاثیر ژنوتیپ می‌باشد اما شرایط محیطی به ویژه شرایط پس از مرحله تشکیل دانه تاثیر زیادی بر روی وزن هزار دانه می‌گذارد (Mertens and Hess, 1984).

منابع و مأخذ:

۱. تایزو زایگر. (۱۳۸۵). فیزیولوژی گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۷۹ صفحه.
۲. سلطانی طولارود، ع. ا. (۱۳۸۵). جداسازی، شناسایی و بررسی صفات PGP باکتری‌های فلاوباکتریوم و سودوموناس‌های فلورسنت بومی خاک‌های ایران و بررسی تاثیر آنها بر رشد و نمو و عملکرد گندم. دانشکده علوم مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران. گروه مهندسی آب و خاک.
۳. ملکوتی، م. ج. (۱۳۷۸). ضرورت مصرف بهینه کود برای افزایش عملکرد ارقام برنج پرمحصول (قسمت دوم). نشریه شماره ۱۷. شورای عالی سیاستگذاری کاهش مصرف سموم و استفاده بهینه از کودهای شیمیایی وزارت کشاورزی.
۴. میرنیا، خ. و م. محمدیان. (۱۳۸۴). برنج. اختلالات عناصر غذایی مدیریت عناصر غذایی (ترجمه) انتشارات دانشگاه مازندران. ۴۳۶ صفحه.

5. Bellis, P., and Ercolani. (2001). Growth Interactions during Bacterial Colonization of Seedling Rootlets. Vol:67.no.4.p: 1945- 1948.

6. Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *APPLIED SOIL ECOLOGY*. 39: 184 – 189.
7. FAO, (2003). Food Energy: Methods of analysis and conversion factors. Food and agriculture organization of the united nations, Rome, Italy. Pp.82.
6. Frankenberger, W. T., and M. Arshad. 1995. Phytohormones in soils—microbial production and function. New York: Marcel Dekker.
7. Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109-117.
8. Gothwal, R. K., V. K. Nigam, M. K. Mohan, D. Sasmal and P. Ghosh. 2007. Screening of nitrogen fixers from rhizospheric bacterial isolates associated with important desert plants. *APPLIED ECOLOGY AND ENVIRONMENT RESEARCH* 6 (2):101-109..
9. Hillel, D., J. L. Hatfield, D. S. Powlson, C. Rosenzweig, K. M. Scow, M. J. Singer and D. Sparks. 2005. *Encyclopedia of soils in the environment*. Vol: 1- 4. Elsevier Academic press, Oxford, UK.
10. Mertens, T. and D. Hess. 1984. Yield increase in spring Wheat (*T. aestivum*) inoculated with *Azospirillum lipoferum* under greenhouse and field conditions of a temperate region. *Plant and Soil*. 82:87 – 99.
11. Nelson, L. M. 2004. plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) prospects for new inoculants.
12. Perkin, E. 1982. Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry.
13. Van Loon, L. C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur J Plant Pathol* (2007) 119:243–254.

Abstract:

Studies have shown use of chemical fertilizers such as N fertilizer which cause to increase growth plant but damaged in the environment.

So use of plant growth promoting rhizobacteria these produce high auxin can be effective in improve morphology characteristics , increase growth and environment preservation.

In the research , rice seedling of Neda variety inoculated with 5 isolates the *Pseudomonas* producing auxin properties and 1 treatment as control in 4 replication that had been PF1 . PF2 . PP1 . PP2 . PP3.

Seedlings in pots the soil sample was assessed to planting post of tillering , in per pot three plant for experimental protect.

at the stage of flowering , was assayed , weight fresh root, length root and amount of N,Fe, Zn at plant.

After physiological evaluation which was taken from plants and morphological characteristics including the thousand grain weight and yield of rice and amount of nutrients at seeds for every treatment were calculated.

The results showed following seedlings inoculation with bacteria, factors such as root height, weight fresh root, yield and amount of nutrient uptake N, Fe, Zn in leaves and seeds significantly were increased in most treatment. Other factors had no significant difference with control treatment.

Generally , these bacteria with directly stimulating plant growth through nutritional and physiology mechanisms such as plant hormone production , acceleration in mineralization process cause plant growth promotion .

Keyword: *Pseudomonas* , *Azospirillum* , *Rhizobium* , Auxin and rice.