بهبود تغذیه فسفر گیاه گندم در حضور باکتریهای حل‌کننده فسفات

محمدرضا ساریخانی [1*]، محمدعلی ملبوبی [2]، ناصر علی‌اصغرزاد [3]

1 و 3- به ترتیب استادیار و استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

2- دانشیار بخش بیوتکنولوژی گیاهی، پژوهشکده بیوتکنولوژی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

(rsarikhani@yahoo.com)

چکیده

فسفر بعد از نیتروژن معمولاً به عنوان دومین عامل محدودکننده رشد گیاه شناخته می‌شود. یکی از راههای تامین فسفر مورد نیاز گیاهان بهره‌گیری از توان زیستی خاک و استفاده از ریزسازواره‌های حل‌کننده فسفات می‌باشد. بدین منظور آزمایش گلخانه‌ای با گیاه گندم بهاره (رقم روشن) و با سه گونه باکتری حل‌کننده فسفات شامل: *Pseudomonas putida* P13 (P13) و *Pantoea agglomerans* P5 (P5) و *Pseudomonas fluorescence* CHAO (CHAO) در یک خاک استریل انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار (*Pseudomonas putida* P13 (P13)، *Pantoea agglomerans* P5 (P5)، *Pseudomonas fluorescence* CHAO (CHAO) بعلاوه ترکیب دو باکتری *P. putida* P13 و *P. agglomerans* P5 (P13+P5) و یک تیمار شاهد بدون استفاده از باکتری) در 3 تکرار به اجرا در آمد. نتایج نشان داد که تیمارهای باکتریای بر روی وزن خشک بخش هوایی تاثیری نداشتند هر چند که وزن دانه یا عملکرد دانه در تیمارهای CHAO و P5 افزایش معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. بررسی غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی نیز افزایش معنی‌دار تیمارهای باکتریایی را به همراه داشت. صرفنظر از سایر پارامترهای اندازه‌گیری شده تلقیح گیاه با باکتریهای حل کننده فسفات باعث افزایش غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی گیاه شد و بیشترین افزایش میانگین از ترکیب تیماری P13 بعلاوه P5 به دست آمد.

کلمات کلیدی: **باکتری حل‌کننده فسفات، فسفر، گندم**

مقدمه

اغلب خاک‌های کشاورزی منابع بزرگی از فسفر را به شکل آلی و معدنی (مقدار کل آن در خاک $mg\ kg^{-1}$ 400-1200) دارا می‌باشند ولی غالب‌ترین شکل جذبی آن برای گیاهان $H_2PO_4^-$ یا HPO_4^{2-} می‌باشد که غلظت آن در خاک معمولاً خیلی پایین بوده و در حدود $1\ mg\ kg^{-1}$ یا کمتر می‌باشد. بخش قابل ملاحظه‌ای از فسفر موجود در خاک در نتیجه تجمع حاصل از کاربرد منظم کودهای فسفره است. زیرا بخش زیادی از فسفات معدنی محلول که به شکل کود شیمیایی به خاک اضافه می‌شود تثبیت شده (نزدیک 80 درصد) و برای گیاهان غیرقابل استفاده می‌گردد (Rodriguez and Fraga 1999). گزارش‌های متعددی از توانایی گونه‌های مختلف باکتری در انحلال فسفات معدنی کم محلول و همچنین معدنی نمودن فسفات آلی وجود دارد. در بین باکتری‌هایی با این قابلیت، جنس‌های *Pseudomonas* و *Pantoea* (Malboobi et al. 2009)، *Bacillus* (Oliveira et al. 2009)، *Burkholderia*، *Rhizobium* (Oliveira et al. 2009)، *Agrobacterium*، *Achromobacter* و *Flavobacterium* (Rodriguez and Fraga 1999) مشاهده می‌شود. ضرورت یافتن جایگزینی مناسب برای رهاسازی فسفات های تجمع یافته در خاک زمانی بیشتر احساس می شود که بر این امر واقف گردیم که منابع فسفاته موجود در خاک قابلیت تامین فسفات مورد نیاز گیاهان برای تولید بهینه آنها را تا 100 سال دارا می باشد (Goldstein et al. 1993). در این تحقیق با به‌کارگیری سه گونه باکتری حل‌کننده فسفات (دو باکتری بومی خاکهای ایران و یک باکتری غیر بومی) و رقم بهاره گندم، به بررسی کارایی تلقیح گونه‌های فوق بر روی خواص کمی و تغذیه‌ای گیاه (به ویژه فسفر) پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت گلخانه‌ای در خاک استریل با حضور سه 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 قالب طرح کاملاً تصادفی (5 تیمار و 3 تکرار) به اجرا در آمد. تیمارهای اعمال شده به ترتیب شامل (P13)، (P5)، (CHAO) بعلاوه ترکیب دو باکتری (P13+P5) و یک تیمار شاهد بدون استفاده از باکتری بود. باکتریهای P5 و P13 از شرکت زیست فناور سبز و باکتری CHAO از آزمایشگاه میکروبیولوژی خاک دانشگاه تبریز دریافت شدند. بعد از استریل نمودن خاک تعداد 20 بذر گندم ضدعفونی شده در گلدانها کشت شد. تلقیح میکروبی به صورت استفاده مستقیم زادمایه میکروبی با بذر (0/5 میلی‌لیتر) و همچنین تلقیح مجدد گلدان (1 میلی‌لیتر) بعد از یک هفته انجام پذیرفت. گلدان‌ها در شرایط کنترل شدهٔ اتاقک رشد با مدت زمان روشنایی 14 ساعت (در اواخر دوره رشد 16 ساعت) با دمای روز و شب به ترتیب 2 ± 25 و 2 ± 15 درجه سانتیگراد قرار گرفتند. رطوبت گلدانها در طول آزمایش در محدوده FC 0/8 نگهداری شد. با توجه به میزان ماده آلی خاک (جدول 1) و با توجه به توصیه کودی بر اساس آزمون خاک ازت مورد نیاز از طریق کود اوره به مقدار لازم به هر گلدان اضافه شد. بعد از جوانه زنی بذور تعداد آنها در هر گلدان به 8 عدد کاهش یافت. نیمی از بوته‌ها (4 عدد) بعد از 1/5 ماه از کشت گیاه تماماً برداشت و به منظور تعیین وزن خشک و فسفر کل آن نگهداری شدند. با تکمیل رشد گیاه و کامل شدن خوشه‌بندی گندم (حدود 4 ماه) تمام بخش هوایی گیاه برداشت شد، وزن تر (منظور نیمه خشک) و خشک بخش هوایی، تعداد خوشه و تعداد دانه و وزن دانه در هر گلدان برداشت شد. فسفر بخش هوایی و فسفر دانه مطابق با روش آمز (Ames 1966) اندازه‌گیری شد. تجزیه‌های آماری یا در قالب طرح کاملاً تصادفی یا به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد.

جدول1- برخی از خصوصیات اندازه گیری شده خاک مورد استفاده در آزمایش.

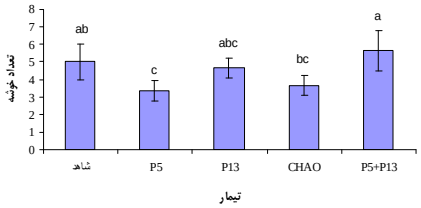
کربن آلی (%)	فسفرقابل استفاده (mg/Kg)	پتاسیم قابل استفاده (mg/Kg)	درصد رس	درصد سیلت	درصد شن	pH (گل اشباع)
۱/۲	۱۵	۳۱۰	۳۰	۳۲	۳۸	۷/۳

نتایج و بحث

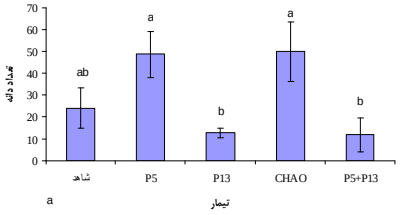
آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که وزن تر و خشک گیاه تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده نبود. اما تعدادخوشه، تعداد دانه و وزن دانه، همچنین غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی و دانه متاثر از تیمارهای مورد استفاده بود. تجزیه واریانس صفت تعداد خوشه به ازاء هر واحد آزمایشی (گلدان) نشان داد که اثر تیمارهای باکتریایی معنی‌دار است ($p < 0/05$)، و بیشترین میانگین مربوط به تیمار ترکیب دو باکتری حل‌کننده فسفات P5 و P13 و کمترین میانگین مربوط به تیمار باکتری P5 می باشد (شکل1). مقایسه میانگین تعدا دانه در هر گلدان (شکل 2) نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین هیچ یک از تیمارهای باکتریایی اعمال شده با شاهد (بدون تلقیح باکتریایی) وجود ندارد. گرچه مقدار میانگین تیمارهای باکتری P5 و CHAO نسبت به بقیه بیشتر بود. نتایج نشان داد که صفت کمی وزن دانه در هر واحد آزمایشی (گلدان) که یکی از پارامترهای اندازه‌گیری شده بسیار مهم می‌باشد، در سطح 10 درصد تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده بود و با مقایسه میانگین‌ها (شکل3) مشخص شد که بیشترین وزن دانه مربوط به تیمارهای P5 وCHAO می‌باشد و با سایر تیمارهای باکتریایی و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند، هر چند بین بقیه تیمارهای میکروبی و شاهد تفاوتی دیده نشد. با توجه به اینکه تاثیر اصلی باکتری‌های حل‌کننده فسفات در بهبود تغذیه فسفر گیاه می‌باشد،

اندازه گیری فسفر موجود در بخش هوایی و دانه گیاه مورد توجه بود. نتایج تجزیه واریانس غلظت و مقدار فسفر بخش هوایی نشان داد که اثر تیمار به ترتیب در سطح 1 درصد و 5 درصد معنی دار بوده است. چنان‌که در شکل 4 دیده می‌شود بیشترین غلظت فسفر در بخش هوایی مربوط به ترکیب تیماری P13 بعلاوه P5 می‌باشد و همه تیمارهای باکتری اعمال شده با شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داده‌اند هر چند بین تیمارهای باکتریایی اختلاف از نظر آماری معنی-دار نمی‌باشد. Esitken و همکاران (2009) با استفاده از 3 باکتری PGPB به نام‌های *Pseudomonas* BA-8، *Bacillus* OSU-142 و *Bacillus* M-3 به بررسی اثر آن‌ها بر روی رشد و عملکرد محصول و سطح عناصر غذایی توت فرنگی پرداختند. نتایج نشان داد که عملکرد محصول و میزان فسفر و روی در برگ گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند.

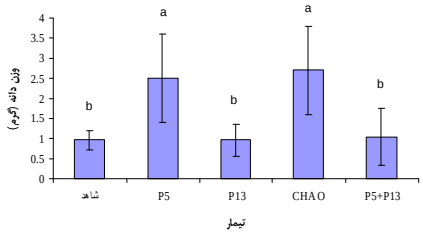
آنالیز واریانس این صفت نشان داد که بین تیمارها اختلاف در سطح 5% وجود دارد و همانند غلظت فسفر در بخش هوایی، مقدار فسفر نیز در مورد تیمارهای باکتریایی نسبت به تیمار شاهد دارای میانگین بالاتری است. مقایسه میانگین تیمارهای اعمال شده بر روی صفت مقدار فسفر بخش هوایی در شکل 5 مشاهده می‌شود. نتایج آن با غلظت فسفر بخش هوایی منطبق بوده و نشان می‌دهد که بین همه باکتری‌های استفاده شده و شاهد از نظر مقدار فسفر بخش هوایی گیاه، اختلاف معنی‌دار دیده می‌شود و بیشترین مقدار فسفر گزارش شده مربوط به ترکیب تیماری دو باکتری P13 و P5 است. Hameeda و همکارانش (2006) پنج سویه برتر حل‌کننده فسفات از جمله *Serratia marcescens* و *Pseudomonas* sp. را که علاوه بر حل‌کنندگی فسفات دارای سایر ویژگی‌های PGPRی بودند را در یک آزمایش حوله کاغذی بر روی رشد گیاه ذرت بررسی کرده و افزایش 20 تا 40 درصدی بیوماس گیاهی را گزارش دادند. آنها در ادامه اثر باکتری‌های فوق را در آزمایش گلخانه‌ای و مزرعه‌ای مورد بررسی قرار دادند و افزایش معنی‌دار برخی از پارامترهای اندازه‌گیری شده از قبیل بیوماس خشک گیاهی، طول ساقه و وزن دانه (عملکرد) را در حضور مشاهده کردند. همچنین بررسی میزان جذب فسفر در نمونه‌های ذرت تلقیح شده با این دو باکتری در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. اندازه‌گیری صفت درصد فسفر دانه (غلظت فسفر) نشان داد که بین تیمارهای باکتریایی اختلافی وجود ندارد. همچنین فسفر بخش هوایی در میان دوره نیز تفاوتی در بین تیمارهای اعمال شده نشان نداد.



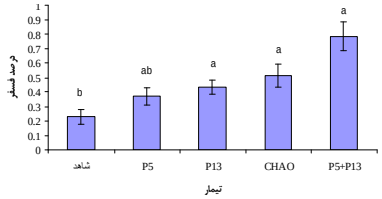
شکل1- مقایسه میانگین تیمارهای اعمال شده بر روی تعداد خوشه در هر گلدان.



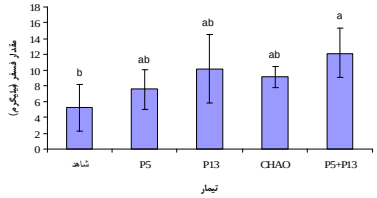
شکل2- مقایسه میانگین تیمارهای اعمال شده بر روی تعداد دانه در هر گلدان.



شکل3- مقایسه میانگین تیمارهای اعمال شده بر روی وزن دانه در هر گلدان.



شکل4- مقایسه میانگین تیمارهای اعمال شده بر روی درصد فسفر بخش هوایی.



شکل5- مقایسه میانگین تیمارهای اعمال شده بر روی مقدار فسفر بخش هوایی.

نتیجه‌گیری

1) رفتار این دسته از باکتریها تحت تاثیر شرایط خاک (از قبیل سطح فسفر خاک)، شرایط آزمایش و نوع گیاه می‌باشد و پاسخ گیاهان مختلف به تلقیح میکروبی یکسان نبوده و همه این عوامل در نوع پاسخ گیاه به تلقیح میکروبی نقش دارند.

2) بهبود تغذیه فسفری گیاه در بخش‌های اندام هوایی (برگ) کاملاً بارز و مشخص می‌باشد ولی انتقال آن از برگ به اندامهای ذخیره‌ای گیاه (دانه) شاید تحت عوامل دیگری بوده باشد.

3) در این آزمایش استفاده از باکتری CHAO که در سایر آزمایشات اثرات مثبت آن تائید شده بود به همراه سویه‌های بومی مورد استفاده قرار گرفت تا مقایسه‌ای بین نمونه‌های بومی و غیر بومی صورت پذیرد.

4) به نظر ترکیب تیماری باکتری P13 و P5 که به عنوان کود زیستی بارور2 به تولید تجاری رسیده می‌تواند در تامین فسفات گیاه نقش ایفا کند چرا که بالاترین میزان فسفر موجود در بخش هوایی گیاه از ترکیب این دو باکتری به دست آمد.

منابع

Ames BN, 1966. Assay of Inorganic Phosphate, Total Phosphate and Phosphatases. In: Methods in Enzymology, Vol. VIII: Complex Carbohydrates. In: Neufeld E and Ginsburg V (eds). Academic Press, New York, pp. 115-118.

Esitken A, Yildiz HE, 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.

Goldstein AH, Rogers RD and Mead G, 1993. Mining by microbe, Biology and Technology, 11: 1250–1254.

Hameeda B, Harini G, Rupela OP, Wani SP and Reddy G, 2008. Growth promotion of maize by phosphatesolubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. Microbiological Research. 163: 234-242.

Rodrıguez H and Fraga R, 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances. 17: 319–339.

Malboobi MA, Owlia P, Behbahani M, Sarokhani E, Moradi S, Yakhchali B, Deljou A and Morabbi Heravi K, 2009. Solubilization of organic and inorganic phosphates by three highly efficient soil bacterial isolates. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 25: 1471–1477.

Oliveira CA, Alves VMC, Marriel IE, Gomes EA, Scotti MR, Carneiro NP, Guimaraes CT, Schaffert RE and Sa NMH, 2009. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. Soil Biology and Biotechnology. 41: 1782-1787.