بهبود رشد گیاهچه برنج با استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات و پتاسیم

اسماعیل بخشنده[1*]، همت‌اله پیردشتی[2] و خدیجه شهسوارپورلنده[3]

۱ و *- نویسنده مسوول: استادیار پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. ۲- دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

(آدرس پست الکترونیک: bakhshandehesmail@gmail.com و e.bakhshandeh@sanru.ac.ir)

چکیده

به منظور ارزیابی باکتری‌های حل‌کننده فسفات و پتاسیم بر رشد رویشی گیاهچه برنج (رقم 'طارم هاشمی') آزمایشی گلدانی به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. تیمارها شامل سه ایزوله باکتری به نام‌های *Pantoea ananatis*, *Rahnella aquatilis* و *Enterobacter* sp. بودند. نتایج نشان داد که حضور این باکتری‌ها باعث افزایش ۴/۱ تا ۱۰/۸ درصدی ارتفاع بوته، ۲/۶۲ تا ۳/۶۳ درصدی تعداد برگ در بوته، ۴/۰۷ تا ۱۰/۴ درصدی قطر ساقه، ۸/۰ تا ۱۳/۱ درصدی طول ریشه، ۱۹/۸ تا ۲۱/۴ درصدی سطح برگ بوته و ۷/۵۳ تا ۱۵/۷ درصدی وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد گردید. در بین تیمارها، کاربرد باکتری *P. ananatis* موجب بهبود بهتر تمامی صفات نسبت به کاربرد دو باکتری *R. aquatilis* و *Enterobacter* sp. شد. بنابراین، از این ایزوله‌های به‌خوبی می‌توان به‌عنوان نماینده‌های مناسب جهت تولید کود زیستی در زراعت برنج استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: باکتری افزاینده رشد، برنج، صفات رویشی.

مقدمه

گزارشات حاکی از آن است که میزان جمعیت کره زمین در سال ۲۰۱۵ میلادی از مرز ۶ میلیارد نفر عبور کرده، به طوری که تا سال ۲۰۵۰ به حدود ۱۱ میلیارد نفر خواهد رسید. امنیت غذایی یکی از حقوق اولیه بشر می‌باشد. بنابراین برای تأمین این امنیت، علاوه بر افزایش دو برابری میزان تولید محصولات غذایی باید تولید محصول سالم (ارگانیک) مد نظر قرار گیرد. امروز برنج بعد از گندم غذای اصلی بسیاری از مردم جهان بوده (حدود ۲/۴ میلیارد نفر) که ۲۰ درصد نیاز کالری بدن آن‌ها را تأمین می‌کند. ایران به‌عنوان یکی از کشورهای آسیای اگرچه سطح زیر کشت برنج قابل توجهی در مقایسه با کشوری بزرگی مانند هند و چین ندارد اما ۶۰۰ هزار هکتار از اراضی شالیزار که حدود ۸۵ درصد آن در استان‌های شمالی می‌باشد نقش تعیین‌کننده در امنیت غذایی ایفا می‌کند (FAO, 2014). امروزه استفاده از روش‌های متداول کشاورزی به‌همراه کاربرد بی‌سابقه سموم و کودهای شیمیایی به منظور افزایش تولید موجب مشکلات زیست‌محیطی زیادی از جمله کاهش باروری خاک و کیفیت محصولات کشاورزی، افزایش آلودگی منابع آب و ایجاد اکوسیستم‌های ناپایدار شده است (Roberts, 2008). در نتیجه استفاده از ریزجانداران افزاینده رشد در قالب کودها و آفت‌کش‌های زیستی جایگزین مناسبی برای تولید عملکردهای بالاتر به‌همراه کاهش مخاطرات زیست‌محیطی می‌باشد (Bakhshandeh "et al.," 2015). استفاده از ریزجانداران در برخی موارد به‌عنوان جایگزین و در برخی موارد به‌عنوان مکمل کودهای شیمیایی، پایداری تولید و کاهش خطرات زیست‌محیطی را به دنبال خواهد داشت (Kizilkaya, 2008). امروزه بسیاری از مطالعات اثرات مثبت کاربرد این قبیل ریزجانداران را جهت بهبود رشد و افزایش عملکرد گیاهان زراعی مختلف به اثبات رسانده است. به‌عنوان مثال، احتشامی و همکاران (۱۳۸۹) نیز افزایش عملکرد دانه برنج را از طریق افزایش تعداد پنجه بارور در زمان تلقیح بذر با باکتری *Psuedomonas* گزارش نمودند. آن‌ها اظهار داشتند که این باکتری از طریق افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر می‌تواند منجر به افزایش وزن خشک و عملکرد دانه برنج گردد. در پژوهشی مشابه، حضور باکتری حل‌کننده فسفات موجب افزایش وزن خشک ریشه، برگ و ساقه برنج شد (Bakhshandeh "et al.," 2015). گیاهچه‌های تلقیح‌شده تنباکو با *Frateuria aurantia* باعث افزایش وزن خشک، جذب پتاسیم و نیتروژن گردید (Subhashini 2015). در بادام‌زمینی نیز افزایش وزن خشک گیاه و مقدار روغن در زمان کاربرد *Bacillus*

mucilaginosus نسبت به شاهد گزارش شد (Sugumaran and Janarthanam 2007). کاربرد *Enterobacter hormoechei* نیز به طور قابل توجهی رشد خیار را افزایش داد (Prajapati and Modi 2016). بنابراین، مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی ریزجانداران افزاینده رشد جهت بهبود برخی ویژگی‌های رویشی برنج (رقم 'طارم هاشمی') در اوایل دوره رشد اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی باکتری‌های حل‌کننده فسفات و پتاسیم بر رشد گیاهچه برنج (رقم 'طارم هاشمی') آزمایشی گلدانی به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. تیمارها شامل سه ایزوله باکتری به نام‌های *Pantoea ananatis* (KM977993), *Rahnella aquatilis* (KM977991) و *Enterobacter* sp. (KM977992) بود که از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تهیه شدند. ویژگی‌های افزاینده رشد این ایزوله‌ها به خوبی اثبات شده است (Bakhshandeh "et al.," 2014 and 2015). برای کشت و تهیه سوسپانسیون باکتری‌ها از محیط‌کشت نیترینت‌براث به روش پیشنهادی توسط (Bakhshandeh "et al.," 2015) استفاده گردید. تلقیح بذور جوانه‌زده برنج (با طول ریشه‌چه سه میلی‌متر) به روش غوطه‌وری در محلول سوسپانسیون هر یک از ایزوله‌های با جمعیت حدود 10^6 سلول زنده در هر میلی‌لیتر به مدت پنج ساعت انجام شد. در تیمار شاهد تنها از محیط کشت بدون باکتری استفاده گردید. ترکیب خاکی استفاده شده در این مطالعه شامل، ۳۳۳ گرم بقایای چوبی کاملا پوسیده شده، ۶۷ گرم پرلیت، ۳۳ گرم پیت‌ماس و ۵۶۷ گرم ماسه در هر کیلوگرم بود. قبل از شروع آزمایش خاک دو مرتبه در اتوکلاو به مدت ۶۰ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل گردید. در پایان، دو بذر تلقیح‌شده با هر یک از سوسپانسیون‌های باکتری در هر گلدان حاوی ۷۰۰ گرم خاک استریل‌شده کشت شد. آزمایش در شرایط مطلوب مدیریتی یعنی با مدیریت‌های زراعی یکسان برای همه گلدان‌ها به‌صورت یکنواخت انجام شد. آبیاری به صورت روزانه طوری انجام شد که ارتفاع آب آبیاری در طول دوره آزمایش در هر گلدان حدود یک سانتی‌متر بود. سی و دو روز بعد از کشت، گیاهچه‌های برنج برداشت شده و صفاتی همچون ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، طول ریشه (سانتی‌متر)، وزن خشک گیاهچه (گرم)، تعداد برگ در بوته، قطر ساقه (میلی‌متر)، سطح برگ بوته (سانتی‌مترمربع) اندازه‌گیری شدند. جهت تعیین وزن خشک از آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده گردید. سطح برگ بوته نیز به روش پیشنهاد شده توسط (Palaniswamy and Gomez 1974) تخمین‌زده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام و میانگین‌ها نیز به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج مطالعه نشان داد که حضور باکتری‌های افزاینده رشد باعث افزایش معنی‌دار تمامی صفات مورد مطالعه به جزء تعداد برگ در بوته (غیر معنی‌دار) نسبت به شرایط شاهد شد (جدول ۱). به طوری که، تلقیح جداگانه هر یک از باکتری‌ها موجب افزایش ۴/۱ تا ۱۰/۸ درصدی ارتفاع بوته، ۲/۶۲ تا ۳/۶۳ درصدی تعداد برگ در بوته، ۴/۰۷ تا ۱۰/۴ درصدی قطر ساقه، ۸/۰ تا ۱۳/۱ درصدی طول ریشه، ۱۹/۸ تا ۲۱/۴ درصدی سطح برگ بوته و ۷/۵۳ تا ۱۵/۷ درصدی وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد گردید (جدول ۱). در بین تیمارها، حضور باکتری *P. ananatis* موجب بهبود بهتر تمامی صفات نسبت به حضور دو باکتری *R. aquatilis* و *Enterobacter* sp. شد. اگرچه اختلافات بین این تیمارها از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند، اما کاربرد آن‌ها باعث افزایش معنی‌دار صفات نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه تحت تأثیر باکتری‌های افزاینده رشد.

صفات	منابع تغییرات		مقایسه میانگین‌ها				
	تیمار	ضریب تغییر (٪)	شاهد	*P. ananatis*	*Enterobacter* sp.	*R. aquatilis*	LSD
درجه آزادی	۳						
ارتفاع بوته	*	٦/٦٣	۳۹/٥b	۴۳/۸ (+۱۰/۸)a	۴۲/۶ (+۷/۷۱)a	۴۱/۲ (+۴/۰۹)ab	۲/۷۱
تعداد برگ در بوته	ns	۳/۹۳	٥/۷۲a	٥/۹۲ (+۳/۴۹)a	٥/۸۷ (+۲/۶۲)a	٥/۹٥ (+۳/۹۳)a	۰/۲۳۰
قطر ساقه	*	۸/۷٦	٤/۳۰b	۴/۷٥ (+۱۰/۴)a	۴/۴۷ (+۴/۰۷)ab	۴/۶۲ (+۷/٥۶)ab	۰/۳۸
طول ریشه	*	۱۱/۹	۱٥/٦b	۱۷/۶ (+۱۳/۱)a	۱۶/۸ (+۸/۰۰)a	۱۷/۰ (+۸/۸۳)a	۲/۰۱
سطح برگ بوته	**	۱۰/۲	٥٦/٤b	۳۲/۱ (+۲۱/۴)a	۳۱/۷ (+۱۹/۸)a	۳۲/۱ (+۲۱/۲)a	۳/۰۷
وزن خشک بوته	*	۹/۲٥	۰/۱٤٦b	۰/۱۶۹ (+۱٥/۷)a	۰/۱٥۷ (+۷/٥۳)a	۰/۱۶۶ (+۱۳/۷)a	۰/۱۸۰

† اعداد داخل پرانتز بیانگر درصد افزایش (+) هر یک از صفات نسبت به شرایط شاهد می‌باشد. **، * و ns به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۲ درصد و عدم معنی‌داری به روش LSD می‌باشند.

به طور مشابه در آزمایشی دیگر روی برنج (رقم 'طارم محلی') افزایش ۸/۵، ۹/۲، ۲۵، ۱۷/۶ و ۱۳/۳ درصدی صفات رنگدانه کلروفیل کل، کاروتنوئید، وزن خشک ریشه، ساقه و برگ در زمان کاربرد *Enterobacter* sp. نسبت به شاهد گزارش گردید (Bakhshandeh "et al.," 2015). در تنباکو، گیاهچه‌های تلقیح‌شده با *Frateuria aurantia* به عنوان باکتری حل‌کننده پتاسیم باعث افزایش وزن خشک و جذب پتاسیم و نیتروژن در این گیاه شد (Subhashini 2015). در بادام‌زمینی نیز افزایش ۱/۲۵ درصدی وزن خشک گیاه و ۳۵/۴ درصدی مقدار روغن در زمان کاربرد Bacillus mucilaginosus نسبت به شاهد گزارش گردید (Sugumaran and Janarthanam 2007). کاربرد *Enterobacter hormoechei* به طور قابل توجهی طول ریشه، رسیدگی میوه، مقدار کلروفیل و جذب پتاسیم را در خیار افزایش داد (Prajapati and Modi 2016). علاوه بر این، حضور باکتری *Bacillus edaphicus* موجب افزایش وزن خشک و مقدار جذب عناصر غذایی توسط گیاه پنبه و کلزا شد (Sheng 2005). در مجموع، با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه از این ایزوله‌های به دلیل داشتن هر دو قابلیت حل‌کنندگی فسفات و پتاسیم به خوبی می‌توان به‌عنوان نماینده‌های مناسب جهت تولید کود زیستی در زراعت برنج استفاده نمود.

منابع

احتشامی، س. م.ر.، ز. امین‌دلدار و. خاوازی، ک. ۱۳۸۹. اثر محلولپاشی باکتری‌های جنس سودوموناس بر صفات کمی و اجزای عملکرد ارقام برنج. یازدهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات. پژوهشکده علوم محیطی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. صفحه‌های ۹۹ تا ۱۰۶.

Bakhshandeh E., Rahimian H., Pirdashti H. and Nematzadeh G.A. 2015. Evaluation of phosphate solubilizing bacteria on the growth and grain yield of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in northern Iran. Journal of Applied Microbiology, 119:1371-1382.

Bakhshandeh E., Rahimian H., Pirdashti H. and Nematzadeh G.A. 2014. Phosphate solubilization potential and modeling of stress tolerance of rhizobacteria from rice paddy soil in northern Iran. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 30:2437-2447.

FAO (2014) FAOSTAT/ Productionstat/ Crops [Online]. Available at http://Faostat.Fao.Org/Site/567/Default.aspx. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Kizilkaya R. 2008.Yield response and nitrogen concentration of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. Ecological Engineering, 33:150-156.

Palaniswamy, K. and Gomez, K. 1974. Length-width method for estimating leaf area of rice. Agronomy Journal, 66: 430–433.

Prajapati, K. and Modi, H. 2016. Growth promoting effect of potassium solubilizing *Enterobacter hormaechei* (KSB-8) on cucumber (*Cucumis sativus*) under hydroponic conditions. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences, 3: 168–173.

Roberts T. L. 2008. Improving nutrient use efficiency. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32:177-182.

Sheng, X. 2005. Growth promotion and increased potassium uptake of cotton and rape by a potassium releasing strain of *Bacillus edaphicus*. Soil Biology and Biochemistry, 37: 1918–1922.

Subhashini, D. 2015. Growth promotion and increased potassium uptake of tobacco by potassium-mobilizing bacterium *Frateuria aurantia* grown at different potassium levels in vertisols. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 46: 210–220.

Sugumaran, P. and Janarthanam, B. 2007. Solubilization of potassium containing minerals by bacteria and their effect on plant growth. World Journal of Agricultural Sciences, 3: 350–355.

Improving of rice seedling growth using phosphate- and potassium-solubilizing bacteria

E. Bakhshandeh[1*], H. Pirdashti[2]and Kh. Shahsavarpour Lendeh[3]

[1, 2] Assistant and Associate Professor, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan & Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. [3] MSc Student of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

[*]Email: *bakhshandehesmail@gmail.com* & *e.bakhshandeh@sanru.ac.ir*

Abstract

In order to evaluation of phosphate- and potassium-solubilizing bacteria on the growth of seedling rice (cv. 'Tarom Hashemi'), a pot experiment was performed as a complete randomized block design with four replications at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University in 2016. Three isolates including *Rahnella aquatilis*, *Pantoea ananatis* and *Enterobacter* sp. were tested in this study. The results indicated that the presence of these bacteria increased plant height by 4.1 to 10.8%, total number of leaves in plant by 2.62 to 3.63%, stem diameter by 4.07 to 10.4%, root length by 8.0 to 13.1%, plant leaf area by 19.8 to 21.4% and biomass dry weight by 7.53 to 15.7 compared to the control. Among of isolates, rice seeds treated with *P. ananatis* had a better growth relative to both *R. aquatilis* and *Enterobacter* sp. Therefore, these isolates can be used as appropriate candidates for biofertilizer production in rice.

Keywords: Plant growth promoting bacteria, rice, vegetative characteristics.