بررسی تأثیر کاربرد سویه‌های سودوموناس فلورسنت بر رشد و جذب عناصر غذایی توسط نهال‌های پسته

گلنار حسنی[1]، عبدالرضا اخگر[2]، احمد تاج‌آبادی‌پور[3]، نازنین خاکی‌پور[4]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد خاک‌شناسی دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان
2- استادیار گروه خاک‌شناسی دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان
3- دانشیار گروه خاک‌شناسی دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان
4- استادیار گروه خاک‌شناسی دانشگاه آزاد واحد سوادکوه

hasanigolnar@gmail.com

چکیده

در این تحقیق از ریزوسفر نهال‌های پسته، تعداد 52 جدایه سودوموناس فلورسنت جداسازی گردید. سپس جدایه‌ها از نظر برخی خصوصیات محرک رشد مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس خصوصیات اندازه‌گیری شده تعداد 7 جدایه انتخاب و در یک آزمون گلخانه‌ای، تأثیر سویه‌ها بر رشد و جذب عناصر غذایی نهال‌های پسته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اکثر سویه‌ها توانستند سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و وزن خشک اندام هوایی را افزایش دهند. هم‌چنین نتایج نشان داد که اکثرسویه‌ها باعث افزایش جذب عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن، منگنز و روی اندام هوایی شدند.

کلمات کلیدی:پسته، رشد، سودوموناس فلورسنت، عناصر غذایی

مقدمه

با توجه به سیاست‌های کلان اقتصادی کشور در قطع وابستگی به درآمدهای ناشی از صدور نفت و رونق صادرات غیرنفتی، افزایش تولید و صادرات محصولات کشاورزی و صنعتی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به اهمیت اقتصادی پسته که از محصولات درآمدزای کشور محسوب می‌شود، نقش و اهمیت تحقیق در راه افزایش راندمان تولید این محصول، بیش از پیش مشخص می‌گردد. به منظور افزایش میزان تولید، اقدامات زیادی از جمله مصرف کودهای شیمیایی و سموم صورت گرفته است لیکن مشکلات زیست محیطی ناشی از کاربرد بی‌رویه کودهای شیمیایی، انرژی و هزینه‌های تولید و مصرف آنها و اثرات سویی که بر چرخه‌های زیستی و پایداری نظام‌های زارعی دارند باعث شده که توجهات به کاربرد کودهای زیستی معطوف گردد. انواع کودهای زیستی شامل باکتری‌های همزیست، قارچ‌های میکروریزی، ... و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) می‌باشند (Zahiret al., 2004). اصطلاح PGPR برای باکتری‌های آزادزی خاک که از طریق مکانیسم‌های همیاری با گیاه باعث بهبود رشد و سلامت گیاه می‌شوند به‌کار می‌رود (Kloepper *et al.*, 1989). باکتری‌های جنس سودوموناس و به‌ویژه گروه سودوموناس‌های فلورسنت از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌باشند که مطالعات زیادی در مورد صفات PGP و اثرات مثبت ناشی از تلقیح آنها بر رشد گیاه صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور جداسازی باکترهای سودوموناس فلورسنت ریزوسفری10 گرم از خاک ریزوسفر نهال‌های پسته به همراه ریشه به آزمایشگاه منتقل گردید. برای تشخیص و جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت پس از تهیه سری رقت، از هر یک از رقت‌ها درون پلیت‌های حاوی King B پخش گردید. پلیت‌های حاوی کلنی‌های رشد یافته در محیط کشت King B در معرض نور UV قرار داده شدند و از کلنی‌های دارای خاصیت فلورسنت در رقت‌های بالا و به طور تصادفی تعداد 52 جدایه انتخاب و پس از اطمینان کامل از خلوص جدایه‌ها، تا زمان استفاده بر روی محیط کشت شیبدار و درون یخچال نگه‌داری شدند. پس از جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌ها، باکتری‌ها از نظر برخی خصوصیات محرک رشد شامل توانایی تولید IAA، توانایی در استفاده از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن، توان حل فسفات‌های معدنی و توانایی تولید سیدروفور مورد ارزیابی قرار گرفتند. توانایی تولید IAA جدایه‌ها با استفاده از روش Benet و همکاران (2001) با کمی تغییرات انجام گرفت. در ارزیابی توان حل فسفات‌های معدنی جدایه‌ها از محیط کشت Sperber (1958) استفاده شد. جهت بررسی توان جدایه‌ها در تولید سیدروفور از محیط CAS Blue Agar استفاده گردید (Alexander & Zuberer, 1991). و به منظور بررسی توانایی جدایه‌ها در استفاده از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن، از روش Dell'Amico (2005) با کمی تغییرات استفاده شد.

بر اساس توان جدایه‌ها در مصرف ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن، انحلال فسفات‌های معدنی، تولید سیدروفور و تولید مقادیر مختلف IAA، تعداد 7 جدایه از میان 52 جدایه سودوموناس فلورسنت انتخاب و در یک آزمون گلخانه‌ای در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با 10 سطح باکتری شامل 7 باکتری سودوموناس فلورسنت P6، P9، P15، P16، P31، P40 و P52 و تیمار Pmix (شامل مخلوطی از باکتری‌هایP16، P40وP52) و 2 تیمار بدون باکتری یکی به عنوان شاهد مثبت (B^+) و دیگری به عنوان شاهد منفی (B^-)، مورد استفاده قرار گرفتند. در این آزمون گلدان‌های پلاستیکی 5 کیلوگرمی با یک خاک غیر شور با بافت لوم پر گردید و بر اساس نتایج آزمون خاک، 50 میلی‌گرم نیتروژن از منبع اوره و 30 میلی‌گرم پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم در کیلوگرم خاک به تمامی گلدان‌ها افزوده شد. به علاوه 30 میلی‌گرم فسفر از منبع منوکلسیم فسفات و 9 میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک از منبع سکوسترین آهن به گلدان‌های شاهد مثبت اضافه گردید.پس از گذشت 4 ماه، نهال‌های پسته از گلدان‌ها خارج و شاخص‌های رشد شامل سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه اندازه‌گیری گردید. هم‌چنین غلظت عناصر فسفر، آهن، مس، منگنز و روی اندام هوایی و ریشه نهال‌های پسته نیز اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

جدول1 نتایج حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات محرک رشد جدایه‌های مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود جدایه‌های مورد آزمایش طوری انتخاب شده‌اند که دارای توان حل تری کلسیم فسفات بالا و تقریباً یکسانی بوده (429/29 تا 505/75 میکروگرم در میلی‌لیتر) لیکن از نظر سایر خصوصیات (توان جدایه‌ها در مصرف ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن، تولید سیدروفور و تولید IAA) با یکدیگر متفاوت می‌باشند. توان تولید IAA جدایه‌ها از 0/68 تا 7/63 میکروگرم در میلی‌لیتر، دانسیته نوری سوسپانسیون جدایه‌ها در محیط DF+ACC از 0/187 تا 1/818 و قطر هاله به قطر کلنی به عنوان معیاری از توان تولید سیدروفور از 1/63 تا 2/32 تغییر می‌کرد.

جدول 1- برخی خصوصیات محرک رشد جدایه‌های مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای

جدایه	IAA ($\mu g\ ml^{-1}$)	دانسیته نوری در محیط DF +ACC	فسفر حل شده ($\mu g\ ml^{-1}$)	تولید سیدروفور (قطر هاله به کلنی)
P6	3/14	0/816	503/17	1/67
P9	2/56	0/912	486/54	1/63
P15	0/68	0/187	429/29	2/32
P16	4/57	0/156	459/71	2/32
P31	2/70	1/818	459/87	1/75
P40	7/63	0/814	499/38	1/68
P52	3/01	1/731	505/75	1/83

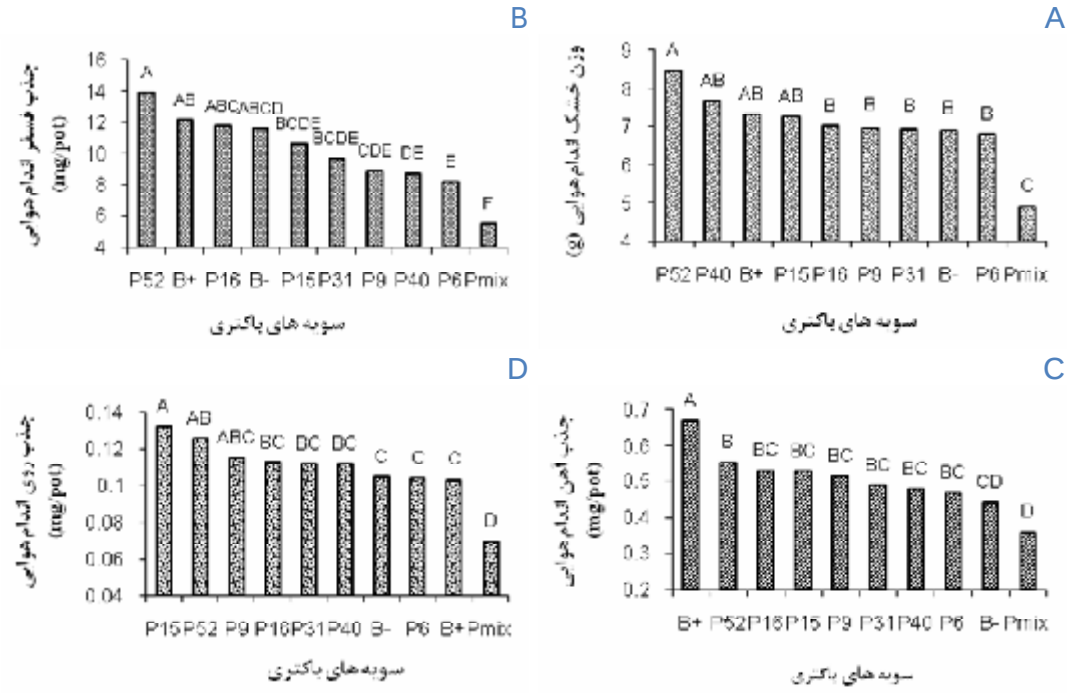
نتایج آزمون گلخانه‌ای نشان داد که اکثر سویه‌های مورد آزمایش باعث افزایش شاخص‌های رشد نهال‌های پسته از جمله سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و وزن خشک اندام هوایی شدند. در بین سویه‌های مورد آزمایش جدایه P52 با دارا بودن خصوصیات PGPRی مناسب، بیشترین تأثیر را بر شاخص‌های رشد نهال‌های پسته داشت به‌طوری که این جدایه توانست سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و در نهایت وزن خشک اندام هوایی را به ترتیب به مقدار 17/46%، 23/78%، 21/13% و 22/69% نسبت به شاهد منفی (B-) افزایش دهد (شکل1). در بین شاخص‌های رشد، وزن خشک اندام هوایی نهال‌های پسته تلقیح شده با جدایه P52 اختلاف معنی‌داری با شاهد منفی داشت (شکل1).

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) از طریق تثبیت نیتروژن، حل کردن فسفات‌های معدنی، تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها، تولید هورمون‌های گیاهی چون اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین و کم کردن اتیلن باعث بهبود و افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند. باکتری‌های جنس *سودوموناس*، *ازتوباکتر* و *آزوسپریلوم* از مهم‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشند (Banerjee *et al.*, 2006).

نتایج آزمون گلخانه‌ای هم‌چنین نشان داد که اکثر سویه‌های مورد آزمایش باعث افزایش در جذب عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن، منگنز و روی اندام هوایی نهال‌های پسته شدند. در بین سویه‌های مورد آزمایش سویه P52 بیشترین تأثیر را بر جذب عناصر غذایی داشت به‌طوری‌که این جدایه توانست جذب آهن و روی را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد منفی مورد آزمون افزایش دهد (شکل1).

توانایی سودوموناس‌ها در تولید اسیدهای آلی و انحلال منابع فسفر نامحلول از قبیل تری‌کلسیم فسفات در خاک می‌تواند در افزایش فسفر قابل استفاده برای گیاه و در نتیجه افزایش رشد گیاه سودمند باشد (Dey *et al.*, 2004). Kloepper و همکاران (1980) گزارش کردند که سیدروفورهای میکروبی می‌توانند با افزایش فراهمی آهن در خاک اطراف ریشه‌های گیاهان، جذب آهن توسط گیاه را افزایش دهند. Lynch و Ed (1990) گزارش کرد که باکتری‌ها می‌توانند مواد آلی کلات کننده مانند اسیدهای آلی را در ریزوسفر ترشح کنند و از این طریق، بر قابلیت عناصر غذایی مانند آهن و فسفر تأثیر بگذارند. بنابراین علاوه بر تولید سیدروفور، احتمالاً اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌های مورد آزمایش نیز از طریق کاهش pH ریزوسفر گیاه و افزایش حلالیت آهن باعث افزایش جذب آهن توسط نهال‌های پسته شده باشند. هم‌چنین به نظر می‌رسد تولید اسیدهای آلی و ترشح کلات کننده‌ها توسط باکتری‌های مورد آزمون عامل افزایش حلالیت منگنز و روی و در نتیجه افزایش جذب این دو عنصر توسط نهال‌های پسته نیز باشند. در مجموع با توجه به نتایج حاصل، جدایه P52 را می‌توان در بین جدایه‌های مورد آزمون به عنوان جدایه برتر معرفی کرد. و از

آنجائیکه این باکتری‌ها به صورت غیر اختصاصی عمل می‌کنند لذا امید است که با به‌کارگیری این جدایه به شکل کود زیستی در سایر گیاهان به ویژه گیاهان زراعی بتوان شاهد افزایش رشد و محصول این‌گونه گیاهان نیز باشیم.



شکل1 - تأثیر کاربرد تیمارهای مختلف باکتری بر وزن خشک اندام هوایی (A)، جذب فسفر اندام هوایی (B)، جذب آهن اندام هوایی (C) و جذب روی اندام هوایی (D) نهال‌های پسته

منابع

Alexander, DB and ZubererDA, 1991.Use of chrome azurol s reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol. Fert. Soils 12:39-45.

Banerjee M, YesminRL andVessey JK, 2006.Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides.pp.137-187*In*: Rai, M. K. Handbook of microbial biofertilizers. (ed.), Food production press.USA.

Benet E,Tuzan S,Chanway CP and EnebakS, 2001. Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. Can. J. Microbiol. 47:793-800.

Dey R,Pal KK, Bhatt DMandChauhanSM, 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Archishypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria, microbiol Res. 159: 371-394.

Dell'Amico E, Cavalca Land Andreoni V, 2005.Analysis of rhizobacterial communities in perennial *Graminaceae* from polluted water medow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiol* 52: 153-162.

Kloepper JW, LifshitzR and ZablotowiczRM, 1989.free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. Trends Biotech. 7:39-43.

KloepperJW,leongJ, TteintzeM and SchrothMN, 1980 *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soils. Curr microbial. 4:317-320.

Lynch JM and Ed, 1990. The rhizosphere, John wiley.Chichester, 458 p.

Sperber JI, 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizospher. Aust. J. Agric. Res 9:778-781.

Zahir ZA, ArshadM and FrankenbergerWT, 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspectives in agriculture. Adv. Agron. 81:97-167.