



## تأثیر باکتری باسیلوس کواگلانس و منابع مختلف سنگ فسفات بر گیاه کلزا

عبداللطیف قلی زاده<sup>1</sup>، میثم حیاتی<sup>2</sup>، علیرضا فلاح<sup>3</sup>، محمد رضوانی<sup>4</sup>

1-3- استاد یار دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر

2- دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر

4- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب تهران

آدرس پست الکترونیکی مکاتبه کننده: (lgholizadeh@gmail.com)

### چکیده

باکتریهای حل کننده فسفات قادرند انحلال فسفات را در سنگهای فسفات افزایش دهند. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور باکتری در دو سطح (با و بدون باکتری) و انواع سنگ فسفات و سوپر فسفات تریپل در پنج سطح بر گیاه کلزا انجام گرفت. نتایج نشان داد که ارتفاع و جذب فسفر کل در تیمار سوپرفسفات تریپل با باکتری و در بین سنگ فسفاتها تیمار سنگ فسفات گافسا با باکتری بیشترین مقدار بود. اثربخشی زراعی نسبی بر اساس جذب فسفر کل در تیمار سنگ فسفات گافسا، یزد و یاسوج با باکتری به ترتیب 42، 39 و 25 درصد بود.

کلمات کلیدی: باکتری حل کننده فسفات، سنگ فسفات، فسفر، کلزا

### مقدمه

معایب کودهای شیمیایی و هزینه بالای تولید آنها همچنین صدمات زیست محیطی ناشی از مصرف آنها باعث شده که تولید کودهای زیستی و استفاده از منابع جایگزین در مقایسه با مصرف کودهای شیمیایی از منافع اقتصادی و زیست محیطی فراوانی برخوردار باشد. کودهای بیولوژیک علاوه بر صرفه اقتصادی باعث پایداری منابع خاک، حفظ توان تولید در دراز مدت و جلوگیری از آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی می گردند (قربانی 1386). فراوانی منابع سنگ فسفات در حدود 1298000 تن در جهان و گرانی تولید کودهای شیمیایی و آلودگیهای جبران ناپذیر آنها بر محیط زیست دانشمندان را بر آن داشت تا استفاده مستقیم از سنگ فسفات<sup>1</sup> به عنوان منبع جایگزین کودهای فسفره شیمیایی در اراضی کشاورزی را مورد توجه قرار دهند. وارد کردن باکتریهای حل کننده فسفات که توانایی تولید برخی از اسیدها دارند، با افزایش فسفر قابل جذب سبب افزایش کارایی سنگ فسفات شده و تفکر استفاده از آنها به عنوان یک کود را قوت می بخشد. کاربرد مایه تلقیح های تهیه شده از این کودها ضمن وارد کردن جمعیت انبوهی از ریزجانداران فعال و مؤثر در حوزه فعالیت ریشه توان گیاه برای جذب بیشتر عناصر غذایی را افزایش می دهد (سلیم پور و همکاران 1384). آزکون و همکاران (1976) گزارش نمودند که باکتری های حل کننده فسفات می توانند با سنتز هورمون های گیاهی باعث افزایش رشد گیاهی شوند. از مهمترین انواع باکتری های حل کننده فسفات می توان به *Pseudomonas Straita*، *Bacillus circle* و *Entrobacter* اشاره نمود (صالح راستین 1373). زمانی که برنج با گونه *P. Straita* در حضور سنگ فسفات تلقیح شد عملکرد دانه برنج به طور محسوسی افزایش داشت (آستارایی و کوچکی 1375). ساها و جانا (1997) افزایش فسفر قابل دسترسی را در سنگ فسفات با تلقیح باکتری های حل کننده فسفات *B. Sabtilis* و *B. polymyx* اعلام نمودند. کلزا (*Brassica napus L.*) یکی از محصولات روغنی مهم در اروپا، کانادا و آسیا می-

1. Phosphate Rock



باشد که در سال های اخیر توجه کشاورزان را در شمال کشور به خود جلب کرده است (شهیدی و فروزان 1376). لذا با توجه به اهمیت کلزا از نظر تولید روغن و فراورده های دیگر غذایی به کارگیری شیوه های مناسب کوددهی و تغذیه- ای برای گسترش کشت و افزایش عملکرد آن در کشور با تاکید بر جلوگیری از آلودگیهای زیست محیطی و استفاده از منابع جایگزین کودهای شیمیایی نظیر سنگ فسفات و کودهای بیولوژیک بایستی انجام گیرد. لذا، برای بررسی میزان اثربخشی و کارایی سنگ فسفاتهای داخلی و باکتری باسیلوس کواگلانس<sup>1</sup> بر جذب فسفر توسط کلزا این تحقیق انجام گرفت.

### مواد و روشها

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار در گلخانه انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل فاکتور A با دو سطح (با و بدون باکتری) و فاکتور B با 5 سطح ( تیمار شاهد(بدون کود) ، سنگ فسفات یاسوج، سنگ فسفات یزد ،سنگ فسفات گافسای تونس و کود استاندارد سوپر فسفات تریپل) بود. میزان فسفر اضافه شده از تیمارهای حاوی فسفر 100 میلی گرم فسفر بر کیلوگرم خاک خشک بود. ویژگیهای مختلف سنگ فسفات ها توسط قلی زاده و همکاران (2009) تعیین شده بود. میزان باکتری اضافه شده از گونه باسیلوس کواگلانس به تعداد  $10^6$  عدد در گرم خاک بود. باکتری مذکور از بخش بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران دریافت گردید. ویژگی های شیمیایی و فیزیکی خاک تعیین شد (جدول 1). بذرهای کلزا رقم هایولا 401 به تعداد 7 عدد در هر گلدان کاشته شدند که بعد از استقرار گیاهچه به 2 عدد در هر گلدان کاهش داده شد. به همه گلدان ها نیتروژن ، پتاسیم و عناصر کم مصرف روی، آهن، مس و منگنز بر اساس آزمون خاک داده شد. رطوبت در تمامی فصل کشت در حد 80 درصد ظرفیت مزرعه نگه داشته شد. بعد از گذشت 12 هفته بوته ها به دقت از فاصله 1 سانتیمتری سطح خاک بریده قطر و ارتفاع اندازه گیری و سطح برگ بوته ها نیز به وسیله کاغذ میلیمتری اندازه گیری شد. بعد از شستشو با آب مقطر نمونه ها به مدت 48 ساعت در دمای 70 درجه سانتی گراد در آون خشک شده و وزن خشک یادداشت گردید. غلظت فسفر آنها به روش خشک سوزانی اندازه گیری و جذب فسفر کل به صورت حاصلضرب درصد فسفر در وزن خشک نمونه محاسبه گردید.

برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها از نرم افزار MSTATC و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس آزمایش نشان داد که باکتری باسیلوس کواگلانس (فاکتور a) بر تمامی شاخص های اندازه گیری شده اثر مثبت و معنی دار داشت. و باعث افزایش میزان صفات گردید، اما اثر متقابل همان طور که در جدول 2 آمده است تنها بر ارتفاع گیاه، درصد فسفر و جذب فسفر کل در گیاه معنی دار شده است.



جدول 1- ویژگیهای شیمیایی و فیزیکی خاک مورد آزمایش

(%) SP	CEC (Cmol.kg <sup>-1</sup> )	شن (%)	ریس (%)	(%) ACCE	(%) CCE	نگهداری فسفر ساندرز (%)	کربن آلی (%)	فسفر اولسن mg kg <sup>-1</sup>	کلسیم عصاره (1:1) mg L <sup>-1</sup>	هدایت الکتریکی عصاره (1:1) برحسب dS/m	pH (1:1)	اکسید آهن آزاد (%)
59/4	22/8	12	34	10/3	15/5	58/6	2/0	5/7	4/3	0/5	7/9	0/4

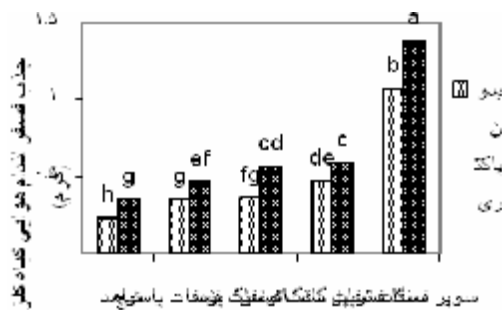
جدول 2 - تجزیه واریانس میانگین صفات مورد بررسی

منبع تغییرات	df	ارتفاع گیاه	قطر ساقه	سطح برگ	وزن خشک اندام	درصد فسفر اندام هوایی	جذب فسفر کل اندام هوایی
فاکتور a	1	418/5**	2/6**	14434821**	1/79**	0/012**	0/298**
فاکتور b	4	1044/9**	9/8**	96117246**	9/02**	0/010**	1/090**
ab	4	40/3**	0/2 <sup>ns</sup>	650577 <sup>ns</sup>	0/11 <sup>ns</sup>	0/005**	0/015*
خطای آزمایشی	30	10/0	0/15	704425	0/05	0/0001	0/005

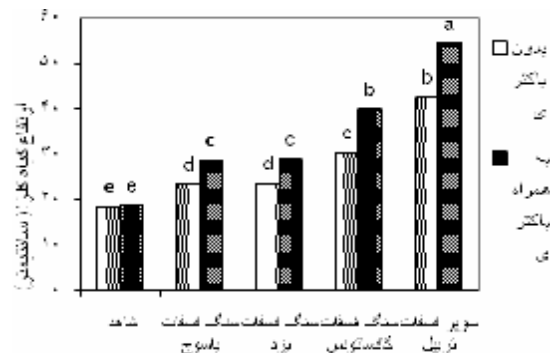
<sup>ns</sup>: عدم معنی داری \* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 5 و 1 درصد

جدول 3 - مقایسه میانگین اثرات اصلی انواع سنگ های فسفات

سنگ فسفات	قطر ساقه (mm)	سطح برگ (mm <sup>2</sup> )	وزن خشک اندام هوایی (g pot <sup>-1</sup> )
شاهد	2/2 D	4200 C	1/0 D
سنگ فسفات یاسوج	3/1 C	9100 B	1/5 C
سنگ فسفات یزد	3/4 BC	10000 B	1/6 C
سنگ فسفات گافسا	3/8 B	12650 A	2/3 B
سوپرفسفات تریپل	5/1 A	13720 A	3/8 A



شکل 5 - مقایسه میانگین اثر متقابل انواع سنگ فسفاتها و باکتری بر جذب فسفر کل کلزا



شکل 6 - مقایسه میانگین اثر متقابل انواع سنگ فسفاتها و باکتری بر ارتفاع گیاه کلزا



جدول 3 مقایسه میانگین اثرات اصلی انواع سنگهای فسفات را نشان می دهد. شکل 6 و 7 اثر متقابل باکتری و سنگ فسفات بر ارتفاع و جذب فسفر اندام هوایی گیاه کلزا را نشان می دهد. به نظر می رسد که باکتری باسیلوس کواگلانس با تولید مواد اسیدی و پایین آوردن pH محیط ریزوسفری گیاه قابلیت جذب و انحلال فسفر را از سنگ فسفات افزایش می دهد. رودریگوئز و همکاران (1999)، کوموتا و همکاران (2004) بیان داشتند که باکتری های حل کننده فسفات قادرند شرایط را برای افزایش راندمان استفاده از کود فراهم کنند. سازوکار اصلی اینگونه ریزجانداران، تولید اسیدهای آلی توسط اکسایش ناقص قندهاست، که باعث کاهش pH و افزایش حلالیت فسفر محیط می شوند. همچنین این باکتری ها سبب کاهش تثبیت فسفر در خاک می شوند که این امر موجب افزایش فسفر در دسترس گیاه می شود (مهناز و لازورویت 2006). آنتون (2002)، نیز در تحقیقی که روی ریزجانداران حل کننده فسفات انجام داد گزارش نمود که این ریزجانداران با تولید اسید قابلیت حل فسفر را از منابع فسفات غیر قابل انحلال نظیر سنگ فسفات افزایش می دهند. قابلیت انحلال در میان سنگ فسفات متفاوت بوده و سنگ فسفات گافسا حلالیت بیشتری را نسبت به سنگ فسفاتهای داخلی داشته است. سنگ فسفات گافسا از نوع رسوبی و دارای حلالیت بالا می باشد که از آن به عنوان سنگ فسفات مرجع برای مقایسه و کاربرد مستقیم سنگ فسفاتهای دیگر استفاده می شود (چین و هاموند 1978). میزان حلالیت سنگ فسفاتهای داخلی در مقایسه با سنگ فسفات گافسا پایین و ناچیز است، سنگ فسفات یاسوج از نوع رسوبی اما سنگ فسفات یزد از نوع آذرین می باشد که دارای حلالیت کمتری نسبت به سنگ فسفاتهای رسوبی می باشد (قلی زاده و همکاران 2009).

### نتیجه گیری

به طور کلی می توان این گونه بیان نمود که استفاده از باکتری باسیلوس کواگلانس تأثیر مثبت و معنی داری بر اغلب صفات کلزا داشته است و همچنین میزان انحلال و فراهمی فسفر از منابع سنگ فسفات را افزایش داده است. اما این اثر در سنگ فسفاتهای مختلف متفاوت بوده و به ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی و مینرالوژیکی آنها وابسته است. در سنگ فسفاتهای یاسوج و یزد میزان انحلال کم بوده و برای توصیه آن برای کاربرد در مزرعه بایستی آزمایشات مشابهی در شرایط طبیعی صورت گیرد و همچنین ملاحظیات اقتصادی نیز در نظر گرفته شود.

### منابع

- آستارایی ع ر و کوچکی ع، 1375. کاربرد کودهای بیولوژیک در کشاورزی پایدار. (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه 168 تا 175.
- سلیم پور س، خاوازی ک و پاک نژاد ع، 1384. بررسی اثرات باقیمانده خاک فسفات با کرت های دائم در الگوی کشت کلزا - گندم. نهمین کنگره علوم خاک ایران.
- شهیدی ا و فروزان ک، 1376. کلزا. انتشارات شرکت سهامی خاص توسعه و کشت دانه های روغنی.
- صالح راستین ن، 1373. کود های زیستی. چهارمین کنگره علوم خاک ایران.
- قربانی ه، 1386. مروری بر کودهای بیولوژیک در ایران و نقش آنها در حفظ محیط زیست و سلامت جامعه. دومین همایش ملی کشاورزی بوم شناختی ایران
- Antoun H, 2002. Field and green house trials performed with phosphate solubilizing bacteria and fungi. Proceedings of the 15th International meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Salamanca University, 16-19 July 2002. Salamanca, Spain.
- Azcon RJ, Barea M and Hayman DS, 1976. Utilization of rock phosphate in alkaline soil by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria. Soil Biochem 8:135-138.
- Chien SH and Hamond LL, 1978. A comparison of various laboratory methods for predicting the agronomic potential of phosphate rock for direct application. Soil Sci. Soc. Am. J. 42:1758-1760.



- Gholizade AL, Ardalan M, Tehrani MM, Mirseyed Hosseini H and Karimian N, 2009. Solubility test in phosphate rocks and their potential for direct application in soil. *Word Applied Sciences Journal* 6(2):182-190.
- Kumutha K, Sempaulan J and Krishnan PS, 2004. Effect of insoluble phosphate and dual inoculation on soybean. Pp. 354-358. In : Kannaryan S, Kumar K and Gouidarajan K (eds) , *Biofertilizer*.
- Rodriguez h, and Fraga R ,1999. phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *biotechnology advances* 17:319 – 339
- Mahnaz S and Lazarovits G, 2006. Inoculation effects of *pseudomonase putida* , *Gluconacetobacter azetocaptans*, and *Azospirillum lipofrum* on corn plant growth under greenhouse conditions, *Ecology Microbial* 51: 326-335.
- Sahu SN and Jana BB, 1997. Enhancement of the fertilizer value of rock phosphate engineered through phosphate – solubilizing bacteria, *Ecological engineering* 15:27-39.