پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

تاثیر باکتری محرک رشد بر برخی خصوصیات گندم در شرایط آزمایشگاهی

بنفشه رضایی نیکو[۱]، نعیمه عنایتی ضمیر[۲]، مجتبی نوروزی مصیر[۳]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ۳- استادیارگروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

چکیده

امروزه افزایش روز افزون مشکلات زیست محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی موجب افزایش توجه به استفاده از باکتری‌های محرک رشد در کشاورزی می‌شود. به منظور بررسی تاثیر باکتری محرک رشد سودوموناس بر روی برخی ویژگی‌های گیاه گندم آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری در دو سطح B_1 (شاهد)، B_2 (*Pseudomonas sp*) و کود سولفات روی در سه سطح Zn_1 (شاهد)، Zn_2 (۲۰کیلوگرم بر هکتار) و Zn_3 (۴۰ کیلوگرم بر هکتار) بودند. نتایج نشان‌دهنده تاثیر معنادار ($P<0.01$) اثر متقابل باکتری و کود بر وزن خشک اندام هوایی و محتوای کلروفیل گندم بود. بیشترین عدد اسپد و وزن خشک اندام هوایی در حضور باکتری و بدون مصرف کود سولفات روی به دست آمد. اثر ساده باکتری بر وزن تر و خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی، طول ریشه و ارتفاع اندام هوایی معنادار ($P<0.01$) بود.

واژه‌های کلیدی: باکتری، عملکرد،کود شیمیایی، سولفات روی

مقدمه

در میان محصولات غذایی، گندم (*Triticum aestivum* L) یکی از مهم‌ترین غلات در تأمین غذا و امنیت غذایی در سطح جهان و به ویژه در کشورهای در حال توسعه است. این محصول به عنوان راهبردی‌ترین محصول برای تغذیه انسان در بسیاری از کشورها می‌باشد(Mallarino et al., 1999). این گیاه از لحاظ مصرف در بسیاری از مناطق دنیا در رتبه دوم بعد از برنج قرار دارد و غذای اصلی ۳۵ درصد از جمعیت جهان را تشکیل می‌دهد (Behl et al., 2003). همچنین، گندم از مهمترین منابع تأمین روی و آهن در رژیم غذایی انسان‌ها به ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. گندم مهمترین گیاه زراعی تولیدی در ایران می‌باشد. این گیاه تامین کننده بیش از ۴۵ درصد پروتئین و ۵۵ درصد از کالری مورد نیاز مردم کشور ایران می‌باشد. در ایران، در هر سال حدود ۶/۵ میلیون هکتار به کشت گندم اختصاص می‌یابد(FAO, 2004). عنصر روی (Zn) برای رشد طبیعی انسان و حیوانات مورد نیاز است(Alloway et al., 2004). کمبود روی به عنوان یکی از اصلی‌ترین مشکلات تغذیه‌ای انسان‌ها در سطح جهان به ویژه در مناطقی است که زندگی مردم به غلات به عنوان غذای اصلی وابسته است (Bouis et al., 1996).

روی در فعال‌سازی بیش از ۳۰۰ آنزیم در بدن نقش دارد و به عنوان یک عنصر ضروری برای بقا و زندگی گیاه، دام و انسان شناخته شده و وظایف مهمی به عهده دارد از جمله در گیاه موجب بهبود رشد و عملکرد گردیده و در انسان افزایش ایمنی بدن در برابر بیماری‌ها و کنترل اسیدیته معده را بر عهده دارد(Malakouti et al., 2007; Malakouti et al., 2010; Kirchhoff et al., 2010). عنصر روی در سنتز کلروفیل، متابولیسم کربوهیدرات، فعالیت آنزیم کربنیک انهیدراز، ساخت پروتئین، استحکام آنزیم‌ها و فتوسنتز در گیاه نقش دارد(بهتاش و همکاران،۱۳۸۹).

بسیاری از خاک‌های نواحی جنوب کشور آهکی بوده و دارای پ.هاش بالا و ماده آلی کم می‌باشند که در این خاک‌ها بروز کمبود روی در آن‌ها محتمل است(Hosseini, 2004). کمبود روی سبب نقصان تولید اکسین، کاهش تولید پروتئین و کربوهیدرات‌ها و در نهایت موجب کاهش رشد گیاه می‌شود(Brown et al., 1993). کاربرد روی در خاک موجب افزایش رشد

برگ و ساقه و در نهایت رشد گیاه و وزن خشک بوته می‌شود (Singh and Shukla, 1985; Brennan, 2007). بعد از استفاده از کودهای محلول روی در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک ۹۶ تا ۹۹ درصد از روی محلول و قابل استفاده به شکل‌های غیرقابل استفاده تبدیل می‌شود(Saravanan et al., 2003).

با توجه به آگاهی انسان از مشکلات زیست‌محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی توجه زیادی به استفاده از باکتری‌های محرک رشد در کشاورزی به عنوان روشی جایگزین برای کودهای شیمیایی می‌شود(Ashrafuzzaman et al., 2009). این باکتری‌ها از راه‌های گوناگون مانند تولید هورمون‌ها (اکسین، سیتوکنین و جبرلین)، تولید اسیدهای آلی و در نتیجه کاهش پ.هاش و افزایش رهاسازی عناصر غذایی، تولید آنزیم ACC دی آمیناز، افزایش حلالیت فسفر، تثبیت نیتروژن، افزایش حلالیت آهن بواسطه تولید سیدروفور موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند(Mehboob et al., 2009). باپیری و همکاران(۲۰۱۲)، در آزمایشی نشان دادند *Pseudomonas aeruginos*a و *Pseudomonas putida* دارای توانایی انحلال ترکیبات نامحلول اکسید روی و کربنات روی هستند(Bapiri et al., 2012). آنها به این نتیجه رسیدند باکتری‌های نامبرده با کاهش پ.هاش محیط باعث افزایش انحلال ترکیبات نامحلول روی می‌شوند. پراوین و همکاران(۲۰۱۳)، در آزمایشی تاثیر باکتری‌های انحلال کننده روی بر افزایش جذب عناصر غذایی و رشد گیاه ذرت نشان دادند *Pseudomon*as spp و *Bacillus* spp دارای توانایی انحلال ترکیبات نامحلول روی و در نتیجه سبب افزایش رشد گیاه ذرت می شوند(Praveen et al., 2013). آنها بیان کردند افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه ممکن است به خاطر اثر باکتری‌های محرک رشد بر روی رشد ریشه-های جانبی گیاه باشد.

مواد و روش ها

خاک مورد استفاده از مزارع تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه و برخی ویژگی‌های آن شامل نیتروژن (با استفاده از کجلدال)، فسفر (روش اولسن)، پتاسیم قابل تبادل (با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر) ، ماده آلی (روش والکی بلک)، هدایت الکتریکی (در نسبت ۱:۱ خاک به آب)، pH (در نسبت ۱:۱ خاک به آب)، بافت خاک (روش هیدرومتر)، آهک (به روش خنثی سازی با اسید کلریدریک) و اندازه عنصر روی قابل تبادل (با استفاده از DTPA) اندازه‌گیری شد. نتایج ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در جدول ۱ آمده است.

آزمایش در شرایط آزمایشگاهی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در پنج تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری در دو سطح B_1 (شاهد)، B_2 (*Pseudomonas sp*)، کود سولفات روی در سه سطح Zn_1 (بدون افزودن کود سولفات روی)، Zn_2 (۵۰ درصد نیاز گیاه) و Zn_3 (۱۰۰ درصد نیاز گیاه) بودند. توصیه کود سولفات روی برای گندم به میزان ۴۰ کیلوگرم در هکتار است (رحیمی و همکاران ۱۳۹۴). فسفر مورد نیاز گیاه با افزودن سوپرفسفات تریپل (۵۰ کیلوگرم در هکتار) و نیتروژن از منبع اوره (۵۰۰ کیلوگرم در هکتار) تامین شد.

بذرهای گندم به مدت سه ساعت درون آب خیسانده شدند و سپس به منظور سترون شدن ابتدا به مدت سی ثانیه در الکل هفتاد درصد قرار داده و بعد از آن به مدت ۱۰ دقیقه درون هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد قرار داده شدند. سپس چندین بار با آب مقطر استریل شسته شدند. خاک به همراه ماسه (هر لوله حاوی ۱۶ گرم خاک و ۴ گرم ماسه) اتوکلاو شدند تا بذرها و تیمارهای مورد نظردر شرایط استریل به درون آن‌ها اعمال شوند. بافت خاک مورد آزمایش کلی لوم بود و از ماسه بهمنظور سبک شدن بافت خاک استفاده شد. برای تهیه مایه تلقیح کشت شبانه‌ای از باکتری مورد نظر تهیه شد و درون لوله‌هایی که نیاز به تیمار باکتری داشتند به میزان ۲۰ میکرولیتر از مایه تلقیح باکتری (10^9Cfu/g) در شرایط استریل مایه‌زنی شد. بعد از اعمال تیمارها، لوله‌های آزمایش در شرایط گلخانه‌ای نگه داری شدند. بعد از یک دوره ۱۵ روزه کلروفیل با اسپد، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری شد.

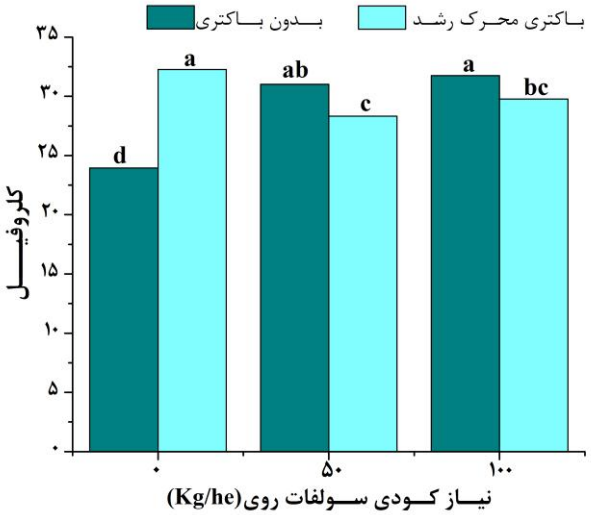
آنالیز واریانس کلیه صفات مورد بررسی با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی نیز با استفاده از آزمون دانکن انجام گردید.

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک

pH	dS/m(EC)	OM(٪)	N(٪)	P (mg/kg)	پتاسیم تبادلی(mg/kg)	روی تبادلی(mg/Kg)	بافت خاک	آهک(٪)
۷/۴	۲/۵	۰/۷	۰/۰۷	۱۱	۲۹۰	۰/۳	کلی لوم	۴۴

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد کاربرد توام باکتری محرک رشد و کود سولفات روی بر کلروفیل در سطح یک درصد معنادار است (جدول ۲). کاربرد توام کود و باکتری باعث افزایش معنادار محتوای کلروفیل شد(شکل ۱). تاثیر باکتری بر افزایش محتوای کلروفیل بیشتر از کود بود(شکل ۱). عنصر روی با تاثیر بر غلظت عناصر آهن و منگنز (عناصر درگیر در ساخت کلروفیل) می‌تواند به‌طور غیر مستقیم باعث افزایش محتوای کلروفیل شود(Kaya and Higgs, 2002). باکتری با فراهمی آب و عناصر غذایی برای گیاه ساخت رنگریزه را افزایش داده و انتقال آب و مواد فتوسنتزی را در گیاه تسهیل می نماید(Marius et al., 2005).



شکل۱- آزمون میانگین اثر تیمارها بر کلروفیل گیاه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنها اثر ساده باکتری در سطح احتمال یک درصد بر طول ریشه معنادار است (جدول ۲). تلقیح ریشه‌های سویا با باکتری محرک رشد *Azospirillum brasilense* موجب افزایش شش برابری طول ریشه شد(Molla and Chowdhury, 2001). باکتری‌های محرک رشد به دلیل داشتن توانایی تولید اکسین(Mehboob et al., 2009) که نقش موثری در طول ریشه دارد می‌توانند باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه شوند.

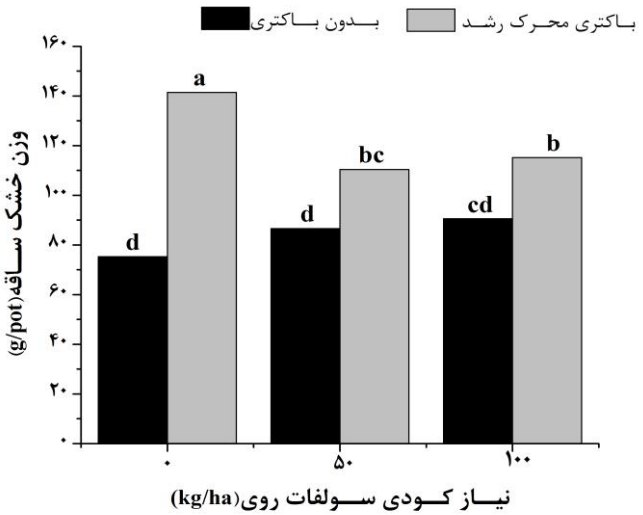
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده باکتری و کود سولفات روی بر وزن تر و خشک ریشه گندم در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است(جدول ۲). تلقیح ذرت با باکتری محرک رشد *Azospirillum brasilense* سبب تکثیر ریشه‌های موئین و افزایش سطح ریشه می‌شود(Fallik et al., 1994) (فالیک و همکاران ، ۱۹۹۴) در نتیجه وزن ریشه فزونی می‌یابد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تاثیر باکتری و کود شیمیایی بر برخی خصوصیات گندم در شرایط آزمایشگاهی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل	ریشه			اندام هوایی		
			طول	وزن تر	وزن خشک	ارتفاع	وزن تر	وزن خشک
کود	۲	۱۷/۷۵**	۳/۶۶ns	۳۳۸۱۲/۱۳**	۵۷۷۹۷/۰۳**	۱۵/۲۸ns	۶۷۷۷۴/۵۳*	۲۴۱/۹۸ns
باکتری	۱	۱۱/۰۴**	۲۹/۶**	۳۶۸۰۷۷/۶۳**	۳۵۲۲۶/۱۳**	۴۲/۴۸ **	۲۱۱۳۴۴/۱۳**	۱۰۹۳۶/۶۶**
کود*باکتری	۲	۹۵/۰۲**	۳/۵ns	۲۲۲۲۸/۱۳ns	۵۳۶۴/۴۳ns	۴/۷۸ns	۴۴۰۸/۹۳ns	۱۴۶۷/۶**
خطا	۲۴	۱/۸۲	۱/۵۰	۲۱۶۵۰/۸۶	۱۹۶۴/۹۵	۳/۲۴	۲۱۳۰۰/۸۵	۲۷۰/۲۶

**معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱، *معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ns غیر معنی‌دار

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل *Pseudomonas sp* و کود شیمیایی بر وزن خشک ساقه در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۲). بیشینه وزن خشک ساقه در تیمار بدون کود و در حضور باکتری به دست آمد(شکل ۲). باکتری‌های محرک رشد و عنصر روی محتوای کلروفیل را افزایش می‌دهند و به تبع آن فتوسنتز افزایش می‌یابد و مواد فتوسنتزی بیشتری به نقاط مختلف گیاه از جمله ساقه منتقل می‌شود و ارتفاع ساقه افزایش می‌یابد. با افزایش ارتفاع ساقه وزن آن نیز افزایش می‌یابد(Malakouti and Tehrani, 1999).



شکل۲- آزمون میانگین تیمارها بر وزن خشک ساقه

اثر ساده باکتری بر ارتفاع و وزن تر گندم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد(جدول ۲). تحقیقات شارما(۲۰۰۴) نشان داده است که تیمار گیاه ذرت با باکتری محرک رشد به طور معناداری ارتفاع گیاه، وزن خشک خوشه، طول و تعداد دانه‌ها در هر ردیف را افزایش داد و همچنین جذب عناصر غذایی مثل N،P،K،Fe، Zn و Cu توسط گیاه به طور معنی‌داری با کاربرد باکتری‌های محرک رشد افزایش یافته همچنین نتایج مشخص کردند که تلقیح بعضی باکتری‌های محرک رشد این پتانسیل را دارد که عملکرد رشد ذرت و جذب عناصر غذایی را افزایش دهند(Sharma, 2004).

این تحقیق نشان داد که باکتری محرک رشد می‌تواند به تنهایی بر عملکرد گندم تاثیر معنی‌دار داشته باشد. اما باید تحقیقات بیشتری در رابطه با تاثیر توام کود (در سطح بهینه) و باکتری صورت گیرد. به صورت کلی می‌توان از باکتری‌های محرک رشد به عنوان کود بیولوژیک استفاده کرد تا اثرات زیان بار کودهای شیمیایی بر محیط زیست کاهش یابد.

منابع

بهتاش، ف.، طباطبایی، س.ج.، ملکوتی، م.ج.، سرور الدین، م.ح. و اوستان، ش.، ۱۳۸۹. اثر روی و کادمیم بر رشد، مقدار کلروفیل، فتوسنتز و غلظت کادمیم در چغندر لبویی. مجله پژوهش های خاک (علوم خاک و آب) جلد ۲۴، شماره ۱.

رحیمی، ص.، خوش گفتارمنش، ا.ح.، افیونی، م. و نوروزی، م. ۱۳۹۴. ارزیابی شاخص کیفیت خاک تحت تاثیر تیمارهای مختلف کود روی و ارتباط آن با غلظت روی در دانه گندم. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک. سال نوزدهم، شماره ۷۱، صفحه‌های ۴۷ تا ۵۶ .

Alloway B.J. 2004. Zinc in Soils and Crop Nutrition, International Zinc Association Brussels, Belgium.

Ashrafuzzaman M., Hossein F.A., Razi Ismail M., Anamul Hoque M.D., Zahurul Islam M., Shahidullah S.M. and Meon S. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth.African Journal of Biotechnology, 8: 1247-1252.

Bapiri A., Asgharzadeh A., Mujliali H., Khavazi K. and Pazira E. 2012. Evaluation of Zinc solubilization potential by different strains of Fluorescent Pseudomonads. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 16(3): 295-298.

Behl R., Osaki M., Wasaki J., Watanabe T. and Shinano T. 2003. Breeding Wheat for zinc efficiency improvement in semi-arid climate- A review. Tropics, 12: 295-312.

Bouis H. 1996. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. Nutrition Reviews, 54: 131-137.

Brennan R.F. 2007. Effectiveness of zinc sulfate and zinc chelate as foliar sprays in alleviating zinc deficiency of wheat grown on zinc–deficient soils in Western Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture, 31: 831-834.

Brown, P.H., Cakmac, I., and Zhang, Q. 1993. Form and function of zinc in plant. Developments in Plant and Soil Sciences,55: 93-93.

Fallik E., Sarig S. and Okon Y. 1994. Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum*. *In* Azospirillum/plant associations. pp. 77-85.

FAO J. and Foods, M.H.I. 2004. Food and Agriculture organization of the United Nations.

Hosseini S.H. 2004. Response of rice, corn, and wheat to Zn and B in a calcareous soil, PhD. thesis, Faculty of Agriculture, Shiraz University.(In Persian).

Kaya C. and Higgs D. 2002. Response of tomato (*Lycopersicom esculentum* L.) cultivars to foliar application of zinc when grown in sand culture at low zinc. Scientia Horticulturae, 93: 53-64.

Kirchhoff P., Socrates Th., Sidani Sh., Duffy A., Breidthardt T., Grob Ch., Viehl C.T., Beglinger Ch., Oertli D. and Geibel J.P. 2010. Zinc salts provide a novel, prolonged and rapid inhibition of gastric acid secretion. The American journal of gastroenterology, 106(1):62-70.

Malakouti M.J. and Tehrani M.M. 1999. Effects of micronutrients on the yield and quality of agricultural products. Tarbiat Modarres University Publications, 22(2): 292-294.

Malakouti M.J., Malakouti A., Bybordi I. and Khamesi E. 2010. Zinc (Zn) is the neglected element in the life cycle of plant, animal and human health (10th edition with complete revision). Soil Science Department-Tarbiat Modares University. Tehran, Iran..

Malakouti M.J. 2007. Zinc is a neglected element in the life cycle of plants: A review. Middle Eastern and Russian Journal of Plant Science and Biotechnology, 1: 1-12.

Mallarino A., Oyarzabal E. and Hinz P. 1999. Interpreting within-field relationships between crop yields and soil and plant variables using factor analysis. Precision Agriculture, 1: 15-25.

Marius S., Octavita A., Eugen U., Vlad A. 2005. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus anuus* L.). Genetics and Molecular Biology, 12(2): 11-17.

Mehboob I., Naveed M. and Zahir Z.A. 2009. Rhizobial Association with Non-Legumes: Mechanisms and Applications. Critical Reviews in Plant Science, 28: 432–456.

Molla M.A.Z. and Chowdhury A.A. 2001. Microbial mineralization of organic phosphate in soil. Plant and Soil, 78: 393-399.

Praveen K., Goteti L., Amalraj E., Suseelendra D. and Shaik M.H.A. 2013. Prospective Zinc Solubilizing Bacteria for Enhanced Nutrient Uptake and Growth Promotion in Maize (Zea mays L.). International Journal of Microbiology.

Saravanan V.S., Subramoniam S.R. and Ra S.A. 2003. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (zsb) isolates. Brazilian Journal of Microbiology, 34:121-12.

Sharma A.K. 2004. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India.

Singh K. and Shukla V.C. 1985. Response of wheat to zinc application in different soils of a semiarid region. Journal of the Indian Society of Soil Science, 33(4): 831-835.

The Effect of a Plant Growth Promoting Rhizobacterium on Some Characteristics of Wheat at In Vitro Condition

B Rezaeinikoo[1], N Enayatizamir[2] and M Norouzi masir[3]

1-M.Sc. Student, Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric.,Shahid Chamran University of Ahvaz.
2- Assoc. Prof., Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Shahid Chamran University of Ahvaz.
3-Assic. Prof., Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Shahid Chamran University of Ahvaz

Abstract

During the latest years, a great attention has been paid to plant growth promoting bacteria due to environmental problems resulted from the indiscriminate use of chemical fertilizers. In order to investigate the influence of *Pseudomonas sp* on some characteristics of wheat a factorial experiment in a completely randomized design with five replications was conducted. The treatments included two levels of bacteria B_1 (control), B_2 (*Pseudomonas sp*) and zinc sulfate fertilizer at three levels of Zn_1 (control), Zn_2 (20 kg/ha) and Zn_3 (40 kg/ha). Results indicated a significant interaction effect of bacterium and fertilizer on shoot dry weight and chlorophyll content ($P < 0.01$). The maximum spad amount and wet weight of aerial part obtained at present of bacterium and without using of zinc sulfate. The main effect of bacterium on wet and dry weight of root and wet weight of aerial part, root length and shoot height was significant ($P < 0.01$).

Keywords: Bacteria, Fertilizer, Yield, Zinc sulfate.