بررسی روند تغییرات شاخص سطح برگ برنج در زمان استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد در دو میزان مختلف فسفر

اسماعیل بخشنده*[۱]، حشمت‌اله رحیمیان[۲]، همت‌اله پیردشتی[۳]، قربانعلی نعمت‌زاده[۳]

۱ و * - نویسنده مسوول: استادیار پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۲- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۳- دانشیار و استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(e.bakhshandeh@sanru.ac.ir و bakhshandehesmail@gmail.com

چکیده

به‌منظور کمّی‌سازی تغییرات شاخص سطح برگ برنج در زمان استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد در سطوح مختلف کود فسفر، آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح کود سوپر فسفات تریپل (۲۵ و ۷۵ کیلوگرم در هکتار) به عنوان کرت اصلی و چهار سطح تلقیح (شاهد، تلقیح نشاء به طور جداگانه با باکتری *Pseudomonas fluorescens*، *Pseudomonas putida* و *Rahnella aquatilis*) به عنوان کرت فرعی بودند. نتایج نشان داد که بین سطوح مختلف کود سوپر فسفات تریپل از نظر شاخص سطح برگ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما با افزایش مقدار مصرف کود درصد افزایش این صفت کاهش یافت. تلقیح ریشه گیاهچه برنج توسط باکتری‌های *Ps. fluorescens*، *Ps. putida* و *R. aquatilis* باعث افزایش حداکثر شاخص سطح برگ به‌ترتیب ۱۳/۲، ۱۷/۵ و ۱۸/۹ درصد در زمان مصرف ۲۵ کیلوگرم در هکتار کود و ۳/۵۵، ۱۰/۶ و ۱۴/۱ درصد در زمان مصرف ۷۵ کیلوگرم در هکتار کود سوپرفسفات‌تریپل نسبت به شرایط شاهد شد. در مجموع، استفاده از این باکتری‌های مورد مطالعه باعث بهبود شاخص سطح برگ در گیاه برنج شد.

واژه‌های کلیدی: باکتری افزاینده رشد، برنج، شاخص سطح برگ.

مقدمه

فسفر به‌عنوان دومین عنصر پرمصرف برای گیاهان در بسیاری از فرآیندهای رشد گیاه و مسیرهای متابولیکی نقش مهمی ایفا می‌کند. اتمام منابع اولیه تأمین‌کننده کودهای فسفاته در آینده نه چندان دور، استفاده همیشگی این گونه کودها را غیرقابل پیش‌بینی نموده است. بنابراین در سال‌های اخیر، استفاده از روش‌های بیولوژیکی به عنوان یک راهکار جایگزین جهت بهبود تولید محصولات سالم کشاورزی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. به طور کلی، ریزجانداران افزاینده رشد به دو روش مستقیم و غیرمستقیم از طریق ترشح برخی ترکیبات نظیر اسیدهای آلی، هورمون‌ها رشد گیاهی، تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن و یا تولید ۱-آمینو-سیکلوپروپان-۱-کربوکسیلاز می‌تواند موجب بهبود رشد گیاه میزبان شوند (احمد و کبرت، ۲۰۱۴). انجام مطالعات دقیق و بررسی عوامل تأثیرگذار بر سطح برگ (شاخص سطح برگ)، به عنوان کارخانه تولید مواد فتوسنتری،

می‌تواند بسیار مفید باشد. برنج به عنوان یکی از غلات مهم در دنیا و به‌خصوص ایران محسوب می‌شود. سطح زیرکشت این گیاه در ایران حدود ۵۹۰ هزار هکتار با میانگین تولید سالیانه ۲/۶ میلیون تن می‌باشد. بنابراین با توجه به مطالب فوق، این مطالعه با هدف کمّی‌سازی تغییرات شاخص سطح برگ برنج در زمان استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد در سطوح مختلف کود سوپرفسفات‌تریپل طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور کمّی‌سازی تغییرات شاخص سطح برگ برنج در زمان استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد در سطوح مختلف کود فسفر، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۳ در مزرعه‌ای واقع در شهرستان ساری با طول جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۸ دقیقه و عرض جغرافیایی ۵۳ درجه و ۱۲ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۳/۵ متری از سطح دریا اجرا گردید. منطقه مورد آزمایش دارای بافت خاک رسی با مقدار کربن آلی ۱/۷۲ درصد، اسیدیته خاک ۷/۷، هدایت الکتریکی ۱/۱۴ دسی‌زیمنس بر متر و فسفر و پتاسیم قابل استفاده به‌ترتیب ۵/۱ و ۳۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. از رقم 'طارم محلی' در این آزمایش استفاده شد. آزمایش به صورت کرت‌های خردشده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح کود سوپر فسفات تریپل (۲۵ و ۷۵ کیلوگرم در هکتار) به عنوان کرت اصلی و چهار سطح تلقیح (شاهد، تلقیح نشاء به طور جداگانه با باکتری *Pseudomonas fluorescens*، *Psedomonas putida* و *Rahnella aquatilis*) به عنوان کرت فرعی بودند. هر کرت شامل هشت ردیف به طول سه متر بود. در تاریخ چهارم خردادماه سه گیاهچه در هر کپه با فاصله ۲۵×۲۵ سانتی‌متر به صورت دستی نشاء شدند. بر اساس نتایج آزمون خاک (عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری)، قبل از کاشت تیمارهای مختلف کود سوپرفسفات‌تریپل و ۷۵ کیلوگرم در هکتار کود کلروپتاسیم و نیز ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره در سه مرحله (کاشت، پنجه‌زنی و گلدهی) به زمین اضافه شد. مبارزه با آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز در مواقع ضروری صورت گرفت، بنابراین، آزمایش در شرایط مطلوب مدیریتی اجرا گردید. دو جدایه *Ps. fluorescens* و *Ps. putida* از مرکز تحقیقات کشاورزی گرگان و جدایه *R. aquatilis* از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تهیه شدند (بخشنده و همکاران، ۲۰۱۴). برای تهیه ماده تلقیحی، هر یک از ایزوله‌های فوق به صورت جداگانه در محیط کشت نوترینت براث (هشت گرم در لیتر) به مدت سه روز بر روی شیکر (۱۰۰ دور در دقیقه) و در دمای ۱±۲۹ درجه‌سانتی‌گراد کشت داده شدند. در پایان تعداد سلول در هر میلی‌لیتر محیط کشت برابر 10^7 برآورد شد، که از آن به‌عنوان ماده تلقیحی آزمایش استفاده گردید. تلقیح ریشه گیاهچه‌های برنج با هر یک از باکتری‌های فوق و در شرایط شاهد (تلقیح ریشه تنها با استفاده از محیط کشت نوترینت‌براث بدون باکتری) به مدت ۱۲ ساعت قبل از نشاءکاری و به روش غوطه‌ورسازی ریشه‌ها در دمای اتاق انجام شد. نشاءکاری بلافاصله بعد از عملیات تلقیح و نمونه‌برداری‌ها از زمان نشاءکاری تا پایان فصل رشد به فاصله زمانی هر ۱۰ تا ۱۵ روز (بسته به شرایط آب و هوایی) انجام گردید. در هر کرت، تمام اندازه‌گیری‌ها روی هفت بوته انتخابی (به‌صورت تصادفی) صورت گرفت. برای تعیین وزن خشک برگ سبز در هر مرحله، نمونه‌ها تا رسیدن به وزن ثابت درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس وزن خشک با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. در آخر، برای محاسبه سطح برگ از معادله پیشنهاد شده توسط بخشنده و همکاران (۱۳۹۵) به صورت زیر استفاده گردید:

وزن خشک برگ سبز×۲۵۴/۶۳ = سطح برگ (۱)

برای توصیف روند تغییرات شاخص سطح برگ از معادله بتا پیشنهاد شده توسط ین و همکاران (۲۰۰۳) به شکل زیر استفاده شد:

$$LAI = I_{max}\left[\left(\frac{te-x}{te-tm}\right)\left(\frac{x-tb}{tm-tb}\right)^{\left(\frac{tm-tb}{te-tm}\right)}\right]^{\alpha} \quad (۲)$$

که در آن x، $lmax$، tb، tm، te و α به‌ترتیب زمان پس از نشاءکاری (روز)، حداکثر شاخص سطح برگ، زمان شروع رشد برگ، زمان وقوع حداکثر شاخص سطح برگ، زمان پایان رشد برگ که در آن شاخص سطح برگ صفر است و ضریب ثابت در معادله می‌باشند. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

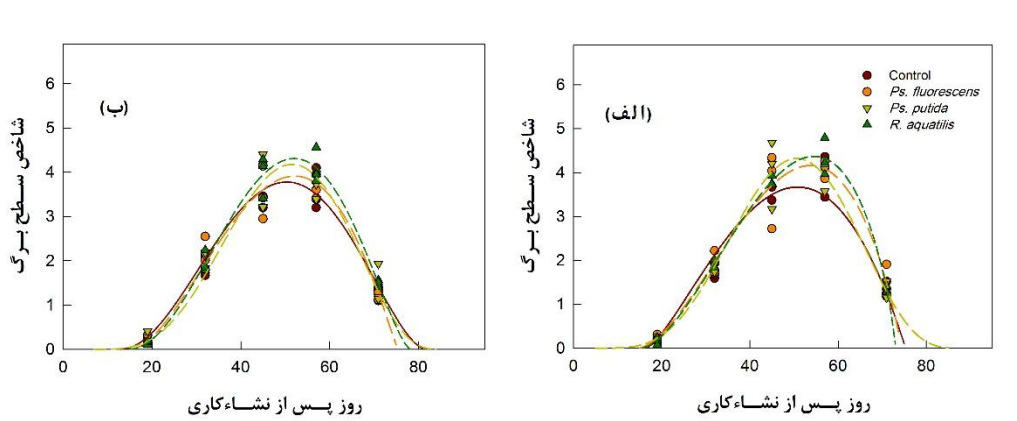
نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین سطوح مختلف کود سوپرفسفات‌تریپل از نظر شاخص سطح برگ اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت، اما با افزایش مقدار مصرف کود درصد افزایش این صفت کاهش یافت (جدول ۱). تلقیح ریشه گیاهچه برنج توسط باکتری‌های افزاینده رشد باعث افزایش حداکثر شاخص سطح برگ نسبت به شاهد شد، اگرچه این اختلافات معنی‌دار نبود. به عبارت دیگر، حضور باکتری‌های *Ps. fluorescens*، *Ps. putida* و *R. aquatilis* باعث افزایش شاخص سطح برگ به‌ترتیب ۱۳/۲، ۱۷/۵ و ۱۸/۹ درصد در زمان مصرف ۲۵ کیلوگرم در هکتار کود و ۳/۵۵، ۱۰/۶ و ۱۴/۱ درصد در زمان مصرف ۷۵ کیلوگرم در هکتار کود سوپر فسفات تریپل نسبت به شرایط شاهد گردید (جدول ۱ و شکل ۱).

جدول ۱- ضرایب تخمین‌زده شده بعد از برازش معادله ۲ به داده‌های شاخص سطح برگ در مقابل روز پس از نشاءکاری در زمان استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد در سطوح مختلف کود سوپرفسفات‌تریپل.

تیمارها		$lmax \pm SE$	$tb \pm SE$	$tm \pm SE$	$te \pm SE$	$\alpha \pm SE$	R^2
۲۵ کیلوگرم در هکتار	شاهد	۳/۶۷ ± ۰/۱۶۷	۱۶/۵ ± ۳/۶۰	۵۰/۸ ± ۲/۲۱	۷۵/۳ ± ۵/۳۴	۱/۰۰ ± ۰/۷۳۳	۰/۹۷
	R. aquatilis	۴/۳۷ ± ۰/۱۰۳	۱۵/۴ ± ۳/۴۱	۵۴/۵ ± ۱/۵۷	۷۳/۱ ± ۱/۸۶	۰/۸۰۳ ± ۰/۳۵	۰/۹۹
	Ps. fluorescens	۴/۱۶ ± ۰/۲۱۹	۱۴/۶ ± ۸/۲۶	۵۳/۸ ± ۳/۲۷	۷۴/۴ ± ۶/۲۴	۰/۹۱۹ ± ۰/۹۷	۰/۹۴
	Ps. putida	۴/۳۲ ± ۰/۱۸۲	۵/۰۰ ± ۵/۷۶	۵۰/۷ ± ۱/۳۵	۸/۵ ± ۱۲/۰۴	۳/۵۰۱ ± ۲/۲۲	۰/۹۶
۷۵ کیلوگرم در هکتار	شاهد	۳/۷۷ ± ۰/۲۰۴	۱۲/۷ ± ۱۰/۰	۵۰/۴ ± ۲/۲۱	۸۱/۷ ± ۱۵/۸	۱/۷۹۳ ± ۲/۱۷	۰/۹۶
	R. aquatilis	۴/۳۱ ± ۰/۱۵۴	۱۴/۶ ± ۶/۴۲	۵۲/۰ ± ۱/۵۴	۷۸/۲ ± ۶/۸۴	۱/۵۰۵ ± ۱/۰۵	۰/۹۷
	Ps. fluorescens	۳/۹۱ ± ۰/۱۶۹	۱۵/۴ ± ۵/۵۵	۵۲/۱ ± ۲/۱۰	۷۵/۴ ± ۵/۳۲	۱/۱۱۴ ± ۰/۸۳	۰/۹۶
	Ps. putida	۴/۱۸ ± ۰/۱۷۵	۶/۸۳ ± ۱۱/۵	۵۱/۴ ± ۱/۳۴	۸۴/۴ ± ۱۶/۸	۲/۸۸۲ ± ۳/۵۵	۰/۹۴

lmax، *tb*، *tm*، *te* و *a* به‌ترتیب حداکثر شاخص سطح برگ، زمان شروع رشد برگ، زمان وقوع حداکثر شاخص سطح برگ، زمان پایان رشد برگ که در آن شاخص سطح برگ صفر است و ضریب ثابت در معادله می‌باشند. se، خطا استاندارد و R^2، ضریب تبیین می‌باشد.



شکل ۱- روند تغییرات شاخص سطح برگ در مقابل روز پس از نشاءکاری در دو مقدار ۲۵ (الف) و ۷۵ (ب) کیلوگرم در هکتار کود سوپرفسفات‌تریپل.

از نظر زمان شروع رشد برگ بین تیمارهای مختلف تلقیح و سطوح مختلف کود فسفر اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (به‌ترتیب ۱۲/۸ و ۱۲/۴ برای ۲۵ و ۷۵ کیلوگرم در هکتار مصرف کود). حضور باکتری‌های افزاینده رشد موجب تأخیر (حدود دو الی سه روز) وقوع حداکثر شاخص سطح برگ در هر دو سطح کود فسفر شد که نتیجه آن ایجاد فرصت بیشتر برای گیاه جهت تولید شاخص سطح برگ بالاتر می‌باشد. علاوه بر این، کاهش شاخص سطح برگ بعد از به حداکثر رسیدن در تیمارهای تلقیح‌شده دیرتر شروع شد (شکل ۱). بر اساس نتایج حدود اطمینان ضرایب، بین تیمارها از نظر زمان پایان رشد برگ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). نتایج این مطالعه با نتایج بسیاری از محققین که از جنس‌های مختلف باکتری‌های افزاینده رشد جهت تحریک رشد گیاه برنج استفاده کرده بودند، مطابقت داشت. به عنوان مثال، اصغری و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که تلقیح ریشه گیاهچه برنج با باکتری *Ps. fluorescens* Strain 41 باعث افزایش سطح برگ گیاه شد. به طوری که، بیشترین سطح برگ در تیمار تلقیح با باکتری *Ps. fluorescens* و کمترین آن نیز در تیمار شاهد مشاهده گردید. در همین راستا، آمال و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که صفاتی همچون ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، شاخص سطح برگ، نسبت سطح برگ و وزن مخصوص برگ سورگوم دانه‌ای در زمان استفاده از کودهای زیستی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. نیک‌مهر و همکاران (۱۳۹۳) بیان کردند که هر دو جدایه باکتری B1 و *Pseudomonas* sp. B2 باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک و ارتفاع ساقه نسبت به شاهد شدند. با این وجود، سطح برگ بیشتر تحت تأثیر جدایه B2 قرار گرفت (۲۵ درصد افزایش نسبت به شاهد). در آزمایشی دیگر، محمدی و همکاران (۱۳۹۲) اظهار داشتند که در زمان کاربرد ۲۵ کیلوگرم در هکتار کود سوپر فسفات تریپل به همراه کود زیستی میکوریزا باعث افزایش ۴۹/۱۸ درصدی شاخص سطح برگ نخود نسبت به شاهد شد. به طور کلی، افزایش شاخص سطح برگ در حضور باکتری‌های افزاینده رشد ممکن است به خاطر افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه، جذب نور بیشتر و یا توسعه و گسترش ریشه در گیاهان باشد (احمد و کبرت، ۲۰۱۴). در مجموع، استفاده از این باکتری‌های مورد مطالعه باعث بهبود شاخص سطح برگ در گیاه برنج شد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به خاطر حمایت‌های مالی این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. اصغری ج، احتشامی س م ر، رجبی درویشان ز و خاوازی ک، ۱۳۹۲. مقایسه محلول‌پاشی با تلقیح ریشه‌ای باکتری‌های محرک رشد و متابولیت‌های آن‌ها بر ویژگی‌های مرفوفیزیولوژیک، صفات کیفی و عملکرد برنج رقم طارم هاشمی. مجله فرایند و کارکرد گیاهی، جلد ۲، شماره ۲، صفحه‌های ۲۵ تا ۴۰.

۲. بخشنده ا، حسینی م، فرزین ن و پیردشتی ه ا، ۱۳۹۵. معرفی یک روش ساده و سریع برای برآورد سطح برگ برنج، هفدهمین همایش ملی برنج کشور، بهمن‌ماه، ساری، ایران. (پذیرش شده)

۳. نیک‌مهر س، اخگر ع ر، مداح حسینی ش و مظفری و، ۱۳۹۳. تأثیر کاربرد سودوموناس‌های فلورسنت حل‌کننده فسفات و کود فسفری بر رشد و جذب عناصر غذایی در گیاه کنجد. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، جلد ۴، شماره ۳، صفحه‌های ۶۱ تا ۸۶.

4. Ahemad M and Kibret M, 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. Journal of King Saud University 26: 1-20.
5. Amal GA, Orabi S and Gomaa AM, 2010. Bio-organic farming of grain sorghum and its effect on growth, physiological and yield parameters and antioxidant enzymes activity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 6: 270-279.
6. Bakhshandeh E, Rahimian H, Pirdashti H and Nematzadeh GA, 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.
7. Yin X, Goudriaan J, Lantinga EA, Vos J and Spiertz HJ, 2003. A flexible sigmoid function of determinate growth. Annals of Botany 91: 361–371.