کارآیی جدایه‌های باکتریایی کنترل‌کننده زیستی بیماری بلاست برنج در افزایش رشد گیاهچه در خزانه

مهدی رستمی[۱*]، علی رضا نبی پور[۲]، وحید خسروی[۲]، لیلا زارع[۳]، محدثه قلندری[۳]، نعمت اله درویش زاده[۳]، حسین دریاباری[۳]

۱- مربی پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور- معاونت مازندران، آمل،

۲- استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور- معاونت مازندران، آمل

۳- کارشناس ، موسسه تحقیقات برنج کشور- معاونت مازندران، آمل

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: mrostamid@gmail.com

چکیده

گونه‌های جنس *Bacillus* spp. و *Pseudomonas* spp. علاوه بر دارا بودن خواص بیوکنترلی علیه عوامل بیمارگر گیاهی به عنوان ریزوباکترهای افزایش‌دهنده رشد گیاه نیز قادرند تأثیرات مطلوبی را در افزایش شاخص‌های رشد و عمل‌کرد گیاه داشته باشند. در این تحقیق تأثیر گونه‌های *Bacillus* sp. (۳ جدایه)، *Pseudomonas* sp. (۲ جدایه) و *Serratia* sp. (یک جدایه)، بر شاخص‌های رشد شامل افزایش ارتفاع، تعداد برگ، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهچه مورد ارزیابی قرار گرفت. بذر طارم محلی به مدت ۲۴ ساعت در سوسپانسیون کشت جوان گونه‌های مذکور با جمعیت 10^9 CFU/ml قرار گرفت و در خزانه بذرپاشی گردید. همچنین گیاهچه‌ها در مرحله دو تا سه برگی نیز با همان کیفیت از سوسپانسیون با جمعیت 10^9CFU/ml محلول‌پاشی گردیدند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام و تیمارهای باکتریایی با شاهد مقایسه گردید. نمونه‌برداری ۱۵ روز پس از اسپری‌پاشی با اندازه‌گیری شاخص‌های رشد در ۲۰ گیاهچه صورت گرفت. بررسی نتایج نشان داد که بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود داشته است. تیمارها از لحاظ ارتفاع گیاهچه، سطح برگ، وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی تفاوت معنی‌داری با شاهد داشتند. جدایه‌های *Bacillus* sp. [155] ، *Bacillus* sp. [89]،*Pseudomonas* sp. [51] و *Pseudomonas* sp. [71] به ترتیب بیشترین تأثیر را در رشد و افزایش شاخص‌های رشد گیاهچه داشتند. جدایه *Bacillus* sp. [155] باعث افزایش وزن خشک ساقه به میزان ۶۵٪ در مقایسه با شاهد گردید و سطح برگ را نیز به میزان ۵۰ درصد افزایش داد. بر خلاف دیگر باکتری‌ها، تیمار با باکتری *Seratia spp.* هیچگونه اثر مثبتی روی شاخص‌های رشدی گیاهچه برنج نداشت.

کلمات کلیدی: برنج، گیاهچه، رایزوباکتر ارتقا دهنده رشد

مقدمه

وقوع و شدت بیماری‌های گیاهچه در خزانه‌های برنج در سال‌های اخیر رو به افزایش بوده و بخصوص در سال‌هایی که در فصل بهار هوای سرد توأم با بارندگی باشد، کشت‌های زیر پلاستیک اعم از خزانه‌های سنتی و ماشینی علائم پوسیدگی، بلایت، زردی و سوختگی را نشان می‌دهند (رستمی و قاسمی، ۱۳۸۶ و فروتن و رحیمیان، ۱۳۶۸). لذا در صورتی که در زمان خزانه‌گیری درجه حرارت محیط پایین بوده و با بارندگی همراه باشد، خروج گیاهچه از بذر و رشد گیاهچه در خزانه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (او، ۱۹۸۵). در مواردی از دست رفتن کامل گیاهچه در خزانه سبب شده تا کشاورزان مجدداً اقدام به خزانه‌گیری نمایند. عوامل قارچی و باکتریایی متنوعی وجود دارند که قادرند باعث از بین رفتن گیاهچه‌ها در خزانه شوند. لذا رشد بهینه گیاهچه در خزانه و مدیریت صحیح بیماری در جهت افزایش استقرار و حفظ گیاهچه در خزانه در مقابل تنش‌های زنده و غیرزنده بسیار مهم و

ضروری می‌باشد (رستمی و قاسمی، ۱۳۸۶). استفاده از ریزوباکتریا در خزانه و کنترل بیولوژیک بیماری‌های مهم گیاهچه در خزانه با استفاده از این میکروارگانیسم‌های مفید یکی از رویکردهای مهم و اساسی می‌باشد. از طرفی در صورت به‌کارگیری سموم شیمیایی به جهت آلودگی‌های محیط زیست و خطرات ناشی از مصرف آن و همچنین مساله مقاومت قارچ‌ها و باکتری‌ها به قارچ‌کش‌ها و آنتی بیوتیک‌ها، در اکثر کشورها تلاشهای فراوانی به منظور افزایش آگاهی برای دست‌یابی به روش‌های سالم‌تر در جهت مبارزه با بیماری‌ها در بخش کشاورزی صورت می‌گیرد. ولی از آنجایی که تأثیر ارتقاء دهنده‌های رشد و عوامل بیوکنترل عموما محدود به شرایط اقلیمی خاصی می‌باشد و همانند سموم در اقلیم‌های مختلف بر طیف وسیعی از آفات و بیماری‌ها موثر نیستند، لذا تحقیق در زمینه بهبود رشد گیاهچه در خزانه صورت پذیرفت.

به طور کلی رشد گیاهچه در خزانه تحت تأثیر دو دسته از عوامل قرار می‌گیرد و به‌عبارتی، عواملی وجود دارند که باعث مرگ و میر گیاهچه شده و رشد و استقرار گیاهچه را در خزانه تحت تأثیر قرار می‌دهند (وبستر و گانل، ۱۹۹۲). دسته اول عوامل زنده مانند قارچ‌ها، باکتری‌ها و نماتدهای مضر و بیماری‌زا هستند. دسته دوم شامل عوامل غیرزنده و عوامل فیزیولوژیک مانند pH خاک، شوری آب یا خاک، کمبودها و یا سمیت ناشی از سموم و عناصر مهم غذایی، سرمازدگی، سوختگی در اثر گرما (در کشت‌های زیر پلاستیک)، تغییرات و یا برودت ناگهانی درجه حرارت محیط هستند. این‌ها از جمله عواملی هستند که باعث مرگ و میر گیاهچه‌ها شده و یا رشد و استقرار گیاهچه را در خزانه تحت تأثیر قرار می‌دهند (او، ۱۹۸۵ و یوشیدا، ۱۹۸۱). از طرفی افزایش کشت برنج، تنوع ارقام کیفی و حساس و تغییر نظام کشت، مرسوم شدن کشت‌های زیرپلاستیک و خزانه ماشینی، سبب تغییر در اکولوژی عوامل بیماری‌زا شده و ضرورت مطالعه عوامل بیماری‌زا و کنترل آن‌ها را به همراه بهبود رشد گیاهچه و حفظ گیاهچه‌ها در مقابل عوامل نامساعد محیطی را روشنتر ساخته است (تنگ و همکاران ۱۹۹۴). استفاده از سینی خزانه در کشت مکانیزه برنج و فراهم شدن شرایط مطلوب و مساعد برای توسعه عوامل بیماری‌زا باعث شده تا عوامل باکتریایی بذرزاد و خاک‌زاد مسائل مهمی را در خزانه‌ها ایجاد نمایند. از آنجایی‌که بذور در سینی خزانه به‌صورت متراکم در شرایط حرارتی و رطوبتی مساعدی جهت رشد گیاهچه و عوامل بیماری زا به مدت چند روز برای جوانه‌زنی نگهداری می‌شوند، این شرایط باعث می‌شود تا عوامل بیماری‌زا به سرعت تکثیر شده و باعث مرگ گیاهچه و سوختگی آن‌ها شود (وبستر و گانل، ۱۹۹۲). لذا استفاده از باکتری‌هایی که بتواند استقرار و رشد گیاهچه ها را در خزانه بهبود ببخشد، می‌تواند بسیار مهم و کاربردی قلمداد گردد. بنابراین در این تحقیق از باکتری هایی استفاده شده است که باعث کنترل بیماری بلاست شدند که به‌طور همزمان تاثیر آنها در افزایش شاخص‌های رشد گیاه‌چه در خزانه مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از گونه‌های مختلف باکتری جهت کنترل عوامل بیماری‌زای مهم قارچی گیاهچه در خزانه و ارتقادهنده‌های رشد استفاده شد. مواد آزمایشی مورد استفاده در این تحقیق شامل گیاهچه‌های رقم طارم محلی بودند که در مرحله بذری و سه‌برگی تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار گرفتند. تیمارهای آزمایش جدایه‌های مختلف باکتریایی شامل جدایه‌های *Bacillus* spp، *Pseudomonas* spp و *Seratia* sp. بودند، که از قسمت‌های مختلف (ریشه، برگ، بذر و اسکلروت) جداسازی و شناسایی شده و تأثیر آنتاگونیستی آن در شرایط آزمایشگاه به اثبات رسیده بود. شناسایی اولیه و در حد جنس باکتری‌های آنتاگونیست بر اساس روش‌های استاندارد ارائه شده در کتاب شاد انجام شد (شاد و همکاران، ۲۰۰۱). سوسپانسیونی از کشت ۲۴ ساعته جدایه‌ها به

غلظت 10^9 cfu/ml تهیه و بذر رقم طارم محلی به مدت ۲۴ ساعت در آن قرار گرفت و سپس در خزانه بذرپاشی شد. در مرحله ۲ الی ۳ برگی، مجددا سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی مذکور با همان غلظت روی گیاهچه‌ها در خزانه محلول‌پاشی گردید. تیمار شاهد (استفاده از آب سترون) نیز در نظر گرفته شد. تأثیر باکتری‌های مفید و آنتاگونیست روی رشد گیاهچه و اندازه‌گیری شاخص‌های رشد در طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. ۲۱ روز بعد از اعمال تیمارها (محلول‌پاشی با تیمارهای باکتریایی) شاخص‌های رشد گیاهچه بر اساس روش‌های استاندارد ارائه شده ایری (ایری، ۲۰۰۲) مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده از تمامی آزمایشات به کمک نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. همبستگی فنوتیپی بین صفات با استفاده از نرم‌افزار SPSS 24 محاسبه گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارها تفاوت معنی‌داری از جهت میزان رشد گیاهچه و شاخص‌های رشد گیاهچه در خزانه وجود داشته است. تیمارها از لحاظ ارتفاع گیاهچه، سطح برگ، وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی تفاوت معنی‌داری با شاهد داشتند. جدایه‌های[155] .*Bacillus* sp ، [89] .*Bacillus* sp،[51] .*Pseudomonas* sp و [71] .*Pseudomonas* sp به‌ترتیب بیشترین تأثیر را در رشد و افزایش شاخص‌های رشد گیاهچه داشتند. برای مثال، جدایه [155] .*Bacillus* sp باعث افزایش وزن خشک ساقه به میزان ۶۵٪ در مقایسه با شاهد گردید و سطح برگ را نیز به میزان ۵۰ درصد افزایش داد. بر خلاف دیگر باکتری‌ها، تیمار با باکتری .*Seratia spp* هیچگونه اثر مثبتی روی شاخص‌های رشدی گیاهچه برنج نداشت.

بررسی همبستگی بین صفات نشان داد که بین وزن خشک ریشه با وزن خشک اندام هوایی گیاهچه و وزن خشک ریشه با حجم ریشه، سطح برگ، تعداد برگ و ارتفاع گیاهچه همبستگی‌های بسیار معنی‌دار و مثبتی وجود داشت. بین ارتفاع گیاهچه با تعداد برگ و سطح برگ، حجم ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهچه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود داشت. با توجه به اختلاف کارایی باکتری‌ها در بهبود شاخص‌های رشدی گیاهچه برنج، انتخاب باکتری مناسب جهت بهبود رشد و افزایش محصول از اهمیت خاصی برخوردار است. با توجه به نتایج آزمایش فوق، باکتری [155] .*Bacillus* sp و در درجه بعد، [89] .*Bacillus* sp و یا سویه‌های ۵۱ و ۷۱ از .*Pseudomonas* sp برای برنج رقم طارم محلی قابل توصیه هستند.

....

جدول ۱ – تجزیه واریانس شاخص‌های بررسی شده در گیاهچه های تیمار شده با باکتری های ارتقادهنده رشد

منبع تغییرات	df	MS					
		ارتفاع گیاهچه	تعداد برگ	سطح برگ	حجم ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه
تکرار	۲	۱۵/۳۳۲ ns	۰/۰۴۹ ns	۱/۹۲۴ ns	۲۸/۰۰۰ ns	۱/۰۲۹ ns	۵/۲۸۳ ns
تیمار	۷	۴۸/۷۷۰ **	۰/۲۱۹ ns	۱۰/۹۴۶ **	۵۸/۹۲۹ ns	۱/۸۰۹ **	۷/۸۷۷ **
خطا	۱۷	۹/۵۱۶	۰/۰۸۹	۲/۰۴۵	۵۷/۰۶۹	۰/۴۰۴	۱/۷۲۲
ضریب تغییرات		۵/۴۹	۷/۴۹	۱۱/۳۷	۲۸/۹۳	۲۳/۰۹	۲۰/۲۹

** معنی‌داری در سطح ۱٪ ، *معنی‌داری در سطح ۵٪، ns غیر معنی‌دار

جدول ۲- مقایسه میانگین عامل‌های بررسی شده بین تیمارهای مختلف باکتریایی

تیمار	MS					
	ارتفاع گیاهچه (cm)	تعداد برگ	سطح برگ (cm^2)	حجم ریشه (cm^3)	وزن خشک ریشه (gr)	وزن خشک ساقه (gr)
Ps-51	۶۲/۲۲a	۴/۲۰ab	۱۴/۹۰a	۲۹/۶۷a	۲/۵۷b	۷/۴۹ab
Ps-71	۵۶/۳۷abc	۳/۸۸b	۱۳/۰۱ab	۲۵/۳۳a	۳/۲۳ab	۶/۱۹ab
Ba-155	۶۰/۹۲ab	۴/۴۳a	۱۵/۳۸a	۳۴a	۴/۴۳a	۹/۳۱a
Ba-154	۵۳/۶۹bc	۳/۸۲b	۱۲/۱۹ab	۲۷/۳۳a	۲/۵۳b	۶/۱۹ab
Ba-89	۵۸/۹۲abc	۴/۲۸ab	۱۳/۸۱ab	۲۷/۳۳a	۲/۸۲b	۸/۰۹ab
Serati-1	۵۲c	۳/۷۸b	۱۰/۸۵b	۲۰/۸۳a	۲/۲۳b	۵/۰۷b
شاهد	۵۵/۸۹abc	۴ab	۱۰/۹۳b	۲۴/۶۷a	۲/۶۹b	۵/۶۸b

منابع

- رستمی، م و قاسمی، ا. ۱۳۸۶. شناسایی باکتری‌های بیماری‌زای گیاهچه برنج در خزانه‌های استان مازندران. گزارش نهایی. انتشارات موسسه تحقیقات برنج کشور. بخش تحقیقات گیاه پزشکی. ۴۴ صفحه.
- فروتن، ع، و رحیمیان، ح. ۱۳۶۸. شناسایی عوامل بیماری‌زای گیاهچه برنج و تعیین اهمیت آنها در شرق مازندران. گزارش نهایی. انتشارات مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران. بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی. ۱۲۸ صفحه.
- Abbot, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol, 18: 266-267.
- IRRI, 2002. Standard Evaluation System for Rice. International Rice Research Institute. November, 2002. 56p.
- Mew, T. W., and Misra, J. K. 1994. A Manual of Rice Seed Health Testing. Philippines: International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna.
- Ou, J. H. 1985. Rice Diseases. 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 380p.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. New York. 3rdAmerican Phytopathology Society Press. 373p.
- Teng, P. S., Heong, K. L., and Moody, K. 1994. Rice Pest Science and Management. Philippines: International Rice research Institute, Los Banos, Laguna. 289p.
- Ushida, SH. 1981. Fundamental of Rice Crop Science. IRRI. 269p.
- Webster, R. K., and Gunnell, P. S. 1992. Compendium of Rice Diseases. New York: American Phytopathology Society press. 62p.

The efficiency of biocontrol bacterial isolates of rice blast disease in increasing seedling growth in nursery

M.Rostami[1]*, A. Nabipour[2], V. Khosravi[2], L. Zare[3], M. Ghalandari[3], N. Darvishzade[3] and M.Omrani[3]
1. Dept. of Plant protection, Rice Reserch Institute of Iran- Mazandaran branch, Amol, Iran.
2. Dept. of Plant breeding, Rice Reserch Institute of Iran- Mazandaran branch, Amol, Iran.
3. Dept. of Plant protection, Rice Reserch Institute of Iran- Mazandaran branch, Amol, Iran.
*Corresponding author email:
mrostamid@gmail.com

Abstract:
The species of the genus *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp.**,** in addition to having biocontrol properties against phytopathogenic agents and also as plant growth promoting rhizobacteria, have desirable effects on increasing of plant growth and yield. In this study, the influence of the species *Bacillus* sp. (3 isolate) and *Pseudomonas* sp. (2 isolate) and serratia sp. (1 isolate) on increasing of growth indicators such as plant height, number of leaves, root and shoot dry weight was evaluated. Seeds of Tarom Mahali variety were soaked for 24 hours in a bacterial suspension with 10^9 CFU/ml and were later sown in nursery. The seedlings were sprayed with the same bacterial suspension isolates in two-to three-leaf stage. The Experiment was laid out based on a randomized complete block design with three replications and bacterial treatments were compared with control. Sampling was conducted 15 days after spraying of seedlings and growth indicators were measured in 20 seedlings from each plot. Statistical analysis indicated that there were significant differences among the treatments in terms of plant height, leaf area, dry weight of roots and shoots. Isolates *Bacillus* sp. [155]، *Bacillus* sp. [89] ،*Pseudomonas* sp. [51] and *Pseudomonas* sp. [71] had the highest impact on seedling growth parameters. Isolate *Bacillus* sp. [155] increased the dry weight of the stems by 65% compared with the control and increased the leaf area by 50%. Unlike the other bacteria, treatment with *Serratia* spp. There was no positive effect on rice seedling growth.

Keywords: rice, seedling, plant growth promotion Rhizobacteria