**دانشگاه زنجان**
**دانشکده کشاورزی**

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد (M. Sc)
در رشته خاکشناسی

عنوان:

# ارزیابی توان تحریک رشد گیاهی (PGP) برخی از باکتری های ریزوسفری، با بررسی شاخص های رشد و عملکرد در ذرت و سویا

تحقیق و نگارش:
**شهلا پاشاپور**

اساتید راهنما:
**دکتر حسین بشارتی**
**دکتر محمود رضازاد**

استاد مشاور:
**دکتر احمد گلچین**

**زمستان ۸۷**

این پایان نامه را تقدیم می کنم به:

پدر و مادر عزیز و بزرگوارم که جوانی خویش را شمع راه من ساختند و در کشاکش این روزگار پر فراز و نشیب و عبور از یکایک جاده های پر پیچ و خم زندگی همواره مرا یاری نمودند. من پس از الطاف بی پایان خداوند مهربان بیش از همه مدیون و سپاسگذار زحمات این عزیزان هستم.

با نهایت تقدیر و تشکر از:

اساتید گرانقدرم جناب آقای دکتر محمود رضازاد، جناب آقای دکتر حسین بشارتی و جناب آقای دکتر احمدگلچین

جناب آقای دکتر رسول صدقیانی استاد محترم گروه خاکشناسی دانشگاه ارومیه

کلیه اساتید محترم گروه خاکشناسی دانشگاه زنجان

مساعدت و همکاری مسئولین پژوهشکده علوم زیستی دانشگاه ارومیه

کلیه دوستان و عزیزانی که در تهیه این پایان نامه مرا یاری نمودند

## چکیده

استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی، سموم و آفت کش ها به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی، اثرات جبران ناپذیری بر روی خاک و آب وارد کرده است. یکی از راهکارهای کاهش مصرف کودهای شیمیایی، استفاده از باکتری های افزاینده رشد گیاه (PGPR)[1] می باشد. در این تحقیق ابتدا ۵۱ جدایه باکتری ریزوسفری یونجه (۴۵ جدایه ریزوبیوم، ۲ جدایه باسیلوس و ۴ جدایه سودوموناس) از نظر خصوصیات محرک رشد گیاهی (PGP) غربالگری شدند. نتایج نشان داد که ۹۲ درصد از جدایه ها اکسین، ۲۵ درصد از جدایه ها سیدروفور، ۳۵ درصد از جدایه ها آنزیم ACC-دِآمیناز و ۵۴ درصد از جدایه ها سیانید هیدروژن تولید کردند. ۴۵ درصد از جدایه ها توان حل کنندگی فسفات معدنی و ۳۷ درصد از جدایه ها توان حل کنندگی فسفات آلی را دارا بودند و هیچ یک از جدایه ها قادر به تولید کیتیناز نبودند. با توجه به نتایج غربالگری باکتری ها، ۲ جدایه ریزوبیوم، ۲ جدایه باسیلوس و ۴ جدایه سودوموناس به عنوان جدایه های برتر برای تهیه مایه تلقیح انتخاب شدند. به منظور بررسی تأثیر باکتری های منتخب بر شاخص های رشد سویا و ذرت آزمایشی در قالب بلوک های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار (T۱، T۲، T۳، T۴ (جدایه های سودوموناس)، T۵، T۶ (جدایه های باسیلوس)، T۷، T۸ (جدایه های ریزوبیوم)، T۹(مخلوط جدایه های باسیلوس، سودوموناس و ریزوبیوم)، T۱۰ (شاهد بدون کود و باکتری)، T۱۱(نصف توصیه کودی بدون باکتری)، T۱۲ (کل توصیه کودی بدون باکتری)) هر کدام در ۳ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تأثیر باکتری های مورد استفاده بر تمام شاخص های رشد سویا به جز ارتفاع بوته معنی دار بود. تمام تیمارهای باکتری نسبت به تیمار شاهد، وزن خشک بخش هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، تعداد گره، تعداد غلاف، وزن خشک دانه، غلظت آهن، روی و منگنز بخش هوایی، جذب نیتروژن و فسفر بخش هوایی را بطور معنی داری افزایش دادند. بیشترین تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری از تیمار تلقیح سویا با یکی از جدایه های سودوموناس (T۲) مشاهده شد. بیشترین غلظت منگنز بخش هوایی سویا از تیمار ریزوبیوم (T۸) بدست آمد. بیشترین غلظت فسفر و نیتروژن بخش هوایی سویا از تیمار تلقیح با باکتری باسیلوس (T۵) مشاهده شد. بطور کلی کارایی باکتری های سودوموناس در افزایش شاخص های رشد سویا بهتر از کارایی جدایه های باسیلوس و ریزوبیوم بود که علت را می توان به بارزتر بودن خصوصیات افزایندگی رشد گیاه این باکتری ها نسبت داد. نتایج نشان داد تأثیر تیمارهای باکتری بر تمام شاخص های اندازه گیری شده در ذرت ( به جز طول ریشه و وزن خشک ریشه) معنی دار بود. بیشترین ارتفاع بوته، وزن تر ریشه و بخش هوایی و وزن خشک بخش هوایی ذرت در تیمار تلقیح با مخلوط باکتری های ریزوبیوم، باسیلوس و سودوموناس (T۹) مشاهده شد. بیشترین غلظت نیتروژن و فسفر بخش هوایی ذرت به ترتیب از تیمار باکتری ریزوبیوم (T۸) و تیمار باکتری باسیلوس (T۵) بدست آمد. بیشترین غلظت آهن و منگنز بخش هوایی ذرت در تیمار باکتری باسیلوس (T۶) و بیشترین تعداد باکتری های غیر ریزوسفری نیز در تیمار تلقیح ذرت با باکتری سودوموناس (T۳) مشاهده شد. در مجموع با توجه به نتایج تحقیق، استفاده از باکتری های افزاینده رشد گیاه باعث کاهش مصرف کودهای شیمیایی (تا یک سوم)، بخصوص نیتروژن و فسفر می شود که البته استفاده از آنها در شرایط مزرعه ای احتیاج به بررسی های بیشتری دارد.



**واژگان کلیدی:**

PGPR، ACC-دِآمیناز، سیدروفور، باسیلوس، سودوموناس، مایه تلقیح


۱. Plant Growth Promoting Rrhizobacteria

**فهرست مطالب**


**عنوان ..... صفحه**

**فصل اول- مقدمه ..... ۱**

۱-۱- خاک و میکروارگانیسم ها ..... ۱

۱-۲- ریزوسفر ..... ۱

۱ -۳- باکتری های ریزوسفری افزایش دهنده رشد گیاه (PGPR) ..... ۳

۱-۳-۱- خصوصیات ذاتی باکتری های ریزوسفری ..... ۴

۱-۴- تاریخچه‌ی استفاده از PGPR ..... ۵

۱-۵- مکانسیم های عمل PGPR ..... ۵

۱-۶- تقسیم بندی باکتری های PGPR ..... ۶

۱-۷- کنترل زیستی بیماری های گیاهی با استفاده از PGPR ..... ۶

۱-۸- کودهای بیولوژیک ..... ۸

۱-۹- انواع کودهای بیولوژیک ..... ۱۰

۱-۱۰- دلایل بکارگیری عوامل بیوکنترل ..... ۱۰

۱-۱۱- اهداف انجام این تحقیق ..... ۱۱

**فصل دوم- بررسی منابع ..... ۱۲**

۲-۱- تعداد باکتری های ریزوسفری ..... ۱۲

۲-۲- تقسیم بندی باکتری های PGPR از نظر استقرار و فعالیت ..... ۱۲

۲-۳- مکانیسم های باکتری های PGPR ..... ۱۳

۲-۴- مکانیسم های کاهش تنش های محیطی و بیماری های گیاهی ..... ۳۱

۲-۵- خلاصه نحوه عمل PGPR ..... ۳۶

۲-۶- برخی از باکتری های شناخته شده بعنوان PGPR و اثرات آنها بر گیاه ..... ۳۷

۲-۷- تأثیرات تلقیح با PGPR بر روی اکوسیستم گیاه-خاک-میکروب ..... ۴۴

۲-۸- عوامل موثر بر فعالیت PGPR ..... ۴۵

۲-۹- کنترل زیستی بیماری های گیاهی با استفاده از PGPR ..... ۵۲

۲-۱۰- روش های استفاده از مایه تلقیح های PGPR ..... ۵۳

۲-۱۱- موانع موجود در تولید مایه تلقیح های تجاری PGPR ..... ۵۷

۲-۱۲- برخی معایب استفاده از PGPR ..... ۵۷

۲-۱۳- کشورهای استفاده کننده از PGPR در مقیاس وسیع ..... ۵۷

۲-۱۴- ذرت ..... ۵۸

۲-۱۵- سویا ..... ۶۰

۲-۱۵-۱- متوسط تولید و سطح زیر کشت سویا ..... ۶۱

۲-۱۶- لزوم استفاده از PGPR در دنیای امروز ..... ۶۲

**فصل سوم- مواد و روش ها ..... ۶۳**

۳-۱- بررسی صفات محرک رشد گیاهی در جدایه های مورد آزمایش ..... ۶۳

۳-۱-۱- بررسی تولید اکسین (IAA) ..... ۶۳

۳-۱-۲- بررسی تولید آنزیم ACC-دِآمیناز ..... ۶۴

۳-۱-۳- بررسی تولید سیانید هیدروژن(HCN) ..... ۶۵
۳-۱-۴- بررسی تولید سیدروفور ..... ۶۵
۳-۱-۵- تولید آنزیم کیتیناز ..... ۶۷
۳-۱-۶- توان حل کنندگی فسفات معدنی ..... ۶۷
۳-۱-۷- توان حل کنندگی فسفات آلی ..... ۶۸
۳-۲- انتخاب سویه های برتر باکتری ها ..... ۶۹
۳-۳- انتخاب خاک برای کشت گلدانی ..... ۶۹
۳-۴- تهیه مایه تلقیح باکتری های منتخب، جوانه دار کردن و تلقیح بذر ها ..... ۶۹
۳-۵- آزمایش گلخانه ای کشت سویا و ذرت ..... ۷۰
۳-۶- شمارش باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری در خاک گلدان ها ..... ۷۲
**فصل چهارم- نتایج و بحث ..... ۷۳**
۴-۱- غربالگری باکتری ها ..... ۷۳
۴-۱-۱- بررسی کمی تولید اکسین (IAA) ..... ۷۳
۴-۱-۲- بررسی تولید سیدروفور ..... ۷۵
۴-۱-۳- بررسی تولید آنزیم ACC-دِآمیناز ..... ۷۷
۴-۱-۴- تولید سیانید هیدروژن (HCN) ..... ۷۹
۴-۱-۵- فعالیت کیتیناز ..... ۸۱
۴-۱-۶- حل کنندگی فسفات های آلی و معدنی ..... ۸۴
۴-۲- آزمایشات گلخانه ای ..... ۸۹
۴-۳- تأثیر تیمار های مختلف بر شاخص های اندازه گیری شده در گیاه سویا ..... ۹۰
۴-۳-۱- تأثیر تیمار های مختلف بر ارتفاع بوته سویا ..... ۹۲
۴-۳-۲- تأثیر تیمار های مختلف بر طول ریشه سویا ..... ۹۲
۴-۳-۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن تر بوته سویا ..... ۹۴
۴-۳-۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک بوته سویا ..... ۹۶
۴-۳-۵- تأثیر تیمار های مختلف بر وزن تر ریشه سویا ..... ۹۷
۴-۳-۶- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشه سویا ..... ۹۹
۴-۳-۷- تأثیر تیمار های مختلف بر تعداد گره در گیاه سویا ..... ۱۰۱
۴-۳-۸- تأثیر تیمارهای مختلف بر تعداد غلاف های سویا ..... ۱۰۲
۴-۳-۹- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک دانه سویا ..... ۱۰۴
۴-۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر در اندام هوایی سویا ..... ۱۰۵
۴-۴-۱- تأثیر تیمار های مختلف بر غلظت نیتروژن اندام هوایی سویا ..... ۱۰۶
۴-۴-۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر اندام هوایی سویا ..... ۱۰۸
۴-۴-۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن اندام هوایی سویا ..... ۱۱۰
۴-۴-۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت روی و منگنز اندام هوایی سویا ..... ۱۱۱
۴-۵- تأثیر تیمارهای مختلف بر تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری سویا ..... ۱۱۳
۴-۶- تأثیر تیمارهای مختلف بر شاخص های اندازه گیری شده در گیاه ذرت ..... ۱۱۵
۴-۶-۱- تأثیر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته ذرت ..... ۱۱۷

۴-۶-۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر طول ریشه ذرت ۱۱۸
۴-۶-۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن تر بوته ذرت ۱۱۹
۴-۶-۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن تر ریشه ذرت ۱۲۱
۴-۶-۵- تأثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک بوته ذرت ۱۲۳
۴-۶-۶- تأثیر تیماهای مختلف بر وزن خشک ریشه ذرت ۱۲۵
۴-۷- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر در بخش هوایی ذرت ۱۲۶
۴-۷-۱- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت نیتروژن بخش هوایی ذرت ۱۲۶
۴-۷-۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر بخش هوایی ذرت ۱۲۷
۴-۷-۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن بخش هوایی ذرت ۱۲۹
۴-۷-۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت منگنز و روی بخش هوایی ذرت ۱۳۰
۴-۸- تأثیر تیمارهای مختلف بر تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری ذرت ۱۳۳
۴-۹- نتایج کلی ۱۳۶
۴-۱۰- پیشنهادها ۱۳۷
۵- فهرست منابع ۱۳۸

## فهرست جداول

جدول ۲-۱. سویه های میکروبی تولید کننده اسیدهای آلی ۱۷
جدول ۲-۲. متوسط تولید و سطح زیر کشت سویا در جهان و ایران (۸۰-۱۳۷۹) ۶۱
جدول۳-۱. توصیه کودی برای ذرت و سویا در خاک مورد آزمایش ۷۲
جدول۴-۱. تولید سیدروفور، HCN، ACC-دِآمیناز، اکسین و کیتیناز توسط سویه های باکتری ۸۴
ادامه جدول ۴-۱ ۸۵
ادامه جدول ۴-۱ ۸۶
جدول۴-۲. فعالیت حل کنندگی فسفات های آلی و معدنی در باکتری های مورد مطالعه ۸۷
ادامه جدول۴-۲ ۸۸
جدول ۴-۳. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده برای کشت گلدانی ۹۱
جدول ۴-۴. تجزیه واریانس اثر تیمار های مختلف بر شاخص های اندازه گیری شده در گیاه سویا ۹۳
جدول ۴-۵. مقایسه میانگین تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری در کشت گلدانی ۱۱۶
ادامه جدول ۴-۵. مقایسه میانگین تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری در کشت سویا ۱۱۷
جدول ۴-۶. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص های اندازه گیری شده در رشد گیاه ذرت ۱۱۹
جدول ۴-۷. مقایسه میانگین تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری در کشت ذرت ۱۳۷

## فهرست اشکال


شکل ۲-۱- سهم نسبی ترکیبات موجود در دانه سویا ..... ۶۰
شکل۴-۱- تشکیل هاله های شفاف نارنجی رنگ در اطراف کلونی های تولید کننده ..... ۷۵
شکل۴-۲- تغییر رنگ کاغذ صافی ها در نتیجه تولید مقادیر مختلف سیانید هیدروژن ..... ۷۹
شکل ۴-۳- تشکیل هاله های شفاف اطراف کلونی های حل کننده فسفات ..... ۸۷
شکل ۴-۴- همبستگی میان فعالیت حل کنندگی فسفات و کاهش pH محیط ..... ۸۸
شکل ۴-۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته سویا ..... ۹۲
شکل۴-۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر طول ریشه سویا ..... ۹۳
شکل ۴-۷- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر بوته سویا ..... ۹۵
شکل ۴-۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک بوته سویا ..... ۹۶
شکل ۴-۹- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر ریشه سویا ..... ۹۸
شکل۴-۱۰- مقایسه میانگین اثر تیمار های مختلف بر وزن خشک ریشه سویا ..... ۹۹
شکل ۴-۱۱- تفاوت سیستم ریشه ای گیاه شاهد با گیاهان تلقیح شده با باکتری ..... ۱۰۰
شکل۴-۱۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر تعداد گره در گیاه سویا ..... ۱۰۱
شکل ۴-۱۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر تعداد غلاف سویا ..... ۱۰۲
شکل ۴-۱۴- مقایسه میانگین اثر تیمار های مختلف بر وزن خشک دانه سویا ..... ۱۰۴
شکل ۴-۱۵- تأثیر تیمارهای باکتری بر غلظت عناصر در گیاه سویا ..... ۱۰۶
شکل ۴-۱۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر غلظت نیتروژن اندام هوایی سویا ..... ۱۰۷
شکل ۴-۱۷- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر اندام هوایی سویا ..... ۱۰۸
شکل ۴-۱۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن اندام هوایی سویا ..... ۱۱۰
شکل ۴-۱۹- مقایسه میانگین اثر تیمار های مختلف بر غلظت منگنز و روی اندام هوایی سویا ..... ۱۱۲
شکل۴-۲۰- همبستگی تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری در تیمارهای مختلف ..... ۱۱۵
شکل ۴-۲۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته ذرت ..... ۱۱۷
شکل ۴-۲۲- مقایسه میانگین اثر تیمار های مختلف بر طول ریشه ذرت ..... ۱۱۹
شکل ۴-۲۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر بوته ذرت ..... ۱۲۰
شکل ۴-۲۴- تأثیر تیمارهای باکتری بر وزن تر بوته ذرت ..... ۱۲۰
شکل ۴-۲۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر ریشه ذرت ..... ۱۲۲
شکل ۴-۲۶- تأثیر تیمارهای باکتری بر وزن تر ریشه ذرت ..... ۱۲۲
شکل ۴-۲۷- مقایسه میانگین اثر تیمار های مختلف بر وزن خشک بوته ذرت ..... ۱۲۴
شکل ۴-۲۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشه ذرت ..... ۱۲۵
شکل ۴-۲۹- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر غلظت نیتروژن بخش هوایی ذرت ..... ۱۲۶
شکل ۴-۳۰- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر بخش هوایی ذرت ..... ۱۲۸
شکل ۴-۳۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر غلظت آهن بخش هوایی ذرت ..... ۱۲۹
شکل ۴-۳۲- مقایسه میانگین اثر تیمار های مختلف بر غلظت منگنز و روی در اندام هوایی ذرت ..... ۱۳۱
شکل ۴-۳۳- همبستگی تعداد باکتری های ریزوسفری و غیر ریزوسفری در تیمارهای مختلف ..... ۱۳۴

# فصل اول

# مقدمه

## فصل اول: مقدمه

### ۱-۱- خاک و میکروارگانیسم ها

پیچیدگی اکوسیستم خاک به روابط متقابل متنوع و متعدد میان اجزای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی آن که تحت تأثیر عوامل زیست محیطی قرار می گیرد، نسبت داده می شود (Buscot، ۲۰۰۵). فعالیت و روابط متقابل بین جمعیت های متراکم خاک، تأثیر مهمی بر واکنش های خاک دارد، از این رو میکروارگانیسم ها از طریق فعالیت های آنزیمی در مسیرهای متابولیکی اساسی، نقش دارند (Nannipieri و همکاران، ۲۰۰۳). روابط متقابل میکروبی که توسط ملکول ها یا سیگنال های بخصوصی تنظیم می شوند (Pace،۱۹۹۷)، در چرخه‌ی بیوشیمیایی عناصر غذایی و حفظ سلامت گیاه نقش دارند (Barea و همکاران، ۲۰۰۴). بسیاری از مطالعات نشان داده است که روابط میکروب های خاکزی با ریشه های گیاه و اجزای خاک در سطح ریشه- خاک اتفاق می افتد (Lynch،۱۹۹۰؛ Bowen و Rovia، ۱۹۹۹؛ Barea و همکاران،۲۰۰۲). بسیاری از روابط متقابل میکروب-ریشه منجر به توسعه‌ی محیط دینامیک و پویایی که تحت عنوان ریزوسفر شناخته شده و در آن جمعیت های میکروبی با هم رابطه دارند، می‌گردد. خصوصیات مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک غیر ریزوسفری عامل تغییرات تنوع میکروبی و افزایش تعداد و فعالیت های میکروارگانیسم ها در محیط ریزوسفر هستند (Kennedy، ۱۹۹۸). گیاهان نیز خاک اطراف خود را تغییر می دهند و نقش مهمی در تنظیم میکروفلور ریزوسفر دارند (Paterson، ۲۰۰۳؛ Lemanceau و همکاران، ۱۹۹۵؛ Lynch و Whipps، ۱۹۹۰).

### ۱-۲- ریزوسفر

ریزوسفر (Rhizosphere) از دو کلمه‌ی Rhizo به معنی ریشه و Sphere به معنی کره تشکیل شده است و تعریف عامیانه آن فضای کروی محصور کننده‌ی ریشه می باشد. در تعریف دقیق تر امروزی، ریزوسفر به حجمی از خاک گفته می شود که ریشه های گیاهان را احاطه کرده و تحت تأثیر آنها قرار

می‌گیرد. ریزوپلین نیز به سطح ریشه های گیاه گفته می شود که ذرات خاک را به شدت جذب می نماید (Kennedy، ۲۰۰۵). گیاهان سلول های فعال متابولیکی را از ریشه های خود آزاد می کنند و ۲۰ درصد از کربن اختصاص یافته به ریشه ها در ریزوسفر ته نشین می شود، که این مقدار نشان دهنده‌ی روابط گسترده میان گیاه و میکروارگانیسم های ریزوسفری می باشد (Handelsam وStabb، ۱۹۹۶). در گیاهان چمنی حدود ۳۰ تا۵۰ درصد از کل کربن جذب شده توسط گیاه به خاک منتقل می شود (Gobat و همکاران، ۲۰۰۴؛ Kuzyakov، ۲۰۰۱).

در صورت وجود مقادیر بسیار زیادی از دی اکسید کربن، انتقال کربن به خاک افزایش می یابد و ترکیب آن نیز ممکن است متغیر باشد (Hodge و همکاران، ۱۹۹۸). این حالت ممکن است رشد و فعالیت میکروارگانیسم های خاکزی تغذیه کننده از منابع کربن مشتق شده از گیاه را تحریک کند (Weihong و همکاران، ۲۰۰۰). ریشه های گیاه مقادیر قابل توجهی از ترکیبات حاوی کربن و نیتروژن را در خاک اطراف خود آزاد می کنند. میکروارگانیسم ها جذب این محیط غنی از مواد غذایی شده و از ترشحات و تراوشات گیاه برای رشد و تکثیر بر روی سطح ریشه و مجاور خاک ریزوسفری استفاده می‌کنند (Lynch وWhipps ، ۱۹۹۱).

بدلیل مصرف سریع مواد غذایی، رشد باکتری در ریزوسفر توسط مواد غذایی محدود شده و بندرت بیش از ۱۵درصد از سطح منطقه ریشه ها توسط باکتری ها اشغال می شود. ریزوسفر در معرض تغییرات زیادی قرار دارد و ماهیت دینامیکی ریزوسفر باعث ایجاد روابط متقابلی شده که منجر به تحریک رشد گیاه و کنترل زیستی بیماری های گیاه می شود (Waisel و همکاران، ۱۹۹۱).

در ریزوسفر روابط متقابل بسیار مهمی میان گیاه، خاک، میکروارگانیسم ها و ریز جانوران خاک اتفاق می افتد. در مجموع سه جزء تشکیل دهنده و تأثیر گذار بر یکدیگر در ریزوسفر وجود دارند، که شامل ریزوسفر، ریزوپلین و خود ریشه هستند. ریزوپلین شامل سطح ریشه ها و ذراتی از خاک است که شدیدا به ریشه ها چسبیده اند. خود ریشه بخشی از این سیستم به شمار می رود چرا که

میکروارگانیسمهای بخصوصی (اندوفیت ها)، قادرند بافت های ریشه را اشغال نمایند (Bowen و Rovira، ۱۹۹۹؛ Kennedy، ۱۹۹۸). اشغال میکروبی ریزوپلین و یا بافت های ریشه تحت عنوان اشغال ریشه شناخته می شود، در حالی که اشغال حجمی از خاک مجاور ریشه تحت عنوان اشغال ریزوسفر شناخته می شود (Kloepper، ۱۹۹۴).

استفاده از تکنیک های میکروبی برای شناسایی میکروارگانیسم ها ( O'Gara و همکاران، ۱۹۹۴)، امروزه یک ابزار کلیدی برای مطالعه‌ی اکولوژی ریزوسفر می باشد (Puhler و همکاران، ۱۹۹۴). به دلیل نگرانی هایی که در مورد اثرات مواد شیمیایی کشاورزی وجود دارد، توجه فزاینده ای در مورد افزایش شناخت فعالیت های میان جمعیت های میکروبی و چگونگی امکان استفاده از آنها در کشاورزی وجود دارد (Lucy و همکاران، ۲۰۰۴؛ Barea و همکاران، ۲۰۰۵). در واقع، روابط متقابل بیوشیمیایی و تبادل سیگنال های ملکولی میان گیاهان و میکروارگانیسم های خاک نیز مورد مطالعه قرار گرفته است (Werner، ۲۰۰۴؛ Pinton و همکاران، ۲۰۰۱). این روابط متقابل می تواند به شدت بر رشد گیاه و عملکرد محصول تأثیر داشته باشد. باکتری ها فراوان ترین میکروارگانیسم های موجود در ریزوسفر هستند. باکتری های ریزوسفری باکتری های رقابت کننده ای می باشند که به شدت ریشه های گیاه را اشغال کرده و در تمام مراحل رشد گیاه قادر هستند در نیچ های اکولوژیکی روی ریشه ها تکثیر یافته و با میکروفلور خاک رقابت داشته باشند (Antoun و Kloepper، ۲۰۰۱).

### ۱-۳- باکتری های ریزوسفری افزایش دهنده رشد گیاه (PGPR)[۲]

تقریبا ۲ تا ۵ درصد از باکتری های ریزوسفری هنگام تلقیح شدن به یک خاک حاوی میکروفلور بومی رقابت کننده، می توانند تأثیرات مفیدی بر روی رشد گیاه داشته باشند که تحت عنوان باکتریهای ریزوسفری افزایش دهنده رشد گیاه نامیده می شوند (Kloepper و Scorth، ۱۹۷۸). این باکتری ها اغلب آزادزی هستند (Kloepper و همکاران، ۱۹۸۹)، و برخی از آنها بافت های گیاهی را مورد هجوم قرار داده

---

۱- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

و آلودگی های پنهان و بدون علائمی را در گیاهـان ایجـاد مـی کننـد (Sturz و Nowak، ۲۰۰۰). مفهـوم اصلی باکتری های ریزوسفری به باکتری های آزادزی منحصر می شد که آنها را از فرانکیا و باکتری هـای ریزوبیومی تثبیت کننده‌ی نیتروژن متمایز می کرد (Kolepper و همکاران،۱۹۹۲).

باکتری های افزاینده رشد گیاه، باکتری های آزادزی هستند که اغلب ممکن است تأثیرات مثبتی بر گیاه داشته باشند. آنها همچنین جوانه زنی بذر، توسعه‌ی ریـشه، تغذیـه‌ی معـدنی و اسـتفاده از آب را افزایش می دهند. این باکتری ها باعث افزایش ظهور و تجمع ریـشه هـا شـده و در نهایـت رشـد گیـاه را تحریک می کنند. دستکاری در ریزوسفر با تلقیح PGPR برای افزایش رشد و کنترل پـاتوژن هـای گیـاه نتایج قابل ملاحظه ای را ایجاد می کند (Nelson، ۲۰۰۴). استفاده از بـاکتری هـای ریزوسـفری محـرک رشد گیاه (PGPR) در کاشت گیاهان، یکی از روش های رایج برای افزایش عملکرد محصولات کـشاورزی و افزایش کارایی تجزیه کننده های آلاینده های خاک می باشد (van Veen و همکاران، ۲۰۰۲).

### ۱-۳-۱- خصوصیات ذاتی باکتری های ریزوسفری

باکتری های ریزوسفری مفید اشغال کننده ی ریشه (PGPR) بـا سـه خـصوصیت ذاتـی تعریـف میشوند:

- آنها بایستی قادر به اشغال ریشه باشند.
- قادر به رقابت با میکروارگانیسم های ساکن در ریز مکان های سطح ریشه بوده و حداقل تا زمانی که قادر به فعالیت های محرک رشد گیـاهی و محـافظتی از گیـاه هـستند، زنـده بـاقی بمانند.
- بایستی رشد گیاه را افزایش دهند.

### ۱-۴- تاریخچه‌ی استفاده از PGPR

تاریخچه‌ی استفاده از PGPR به بیش از ۱۰۰ سال قبل بر می گردد. برای سال های طولانی سویه های PGPR جداسازی شده، برای تلقیح به خاک ریزوسفری استفاده می شده است. در قرن اخیر کشورهایی همچون سوئد، آمریکا، کشورهای اروپایی و چین برنامه های عملی و کاربردی را برای توسعه‌ی کاربرد باکتری های PGPR در کشاورزی شروع کرده اند (Zehnder و همکاران، ۲۰۰۱). امروزه با توسعه روش های مهندسی ژنتیک تعداد زیادی از سویه های PGPR که از نظر ژنتیکی دستکاری شده اند، عملا مورد استفاده قرار می گیرند ( Glick و همکاران، ۱۹۹۹).

گرچه استفاده از کودهای بیولوژیک در کشاورزی از قدمت بسیار زیادی برخوردار است و در گذشته تمام مواد غذایی مورد استفاده انسان با استفاده از چنین منابع ارزشمندی تولید می شده است، ولی استفاده علمی از اینگونه منابع سابقه چندانی ندارد. کاربرد کودهای بیولوژیک در طی چند دهه گذشته به دلایل مختلف کاهش یافته است ولی امروزه با توجه به مشکلاتی که مصرف بی رویه کودهای شیمیایی بوجود آورده است، استفاده از آنها در کشاورزی مجددا مطرح شده است. بدون تردید کاربرد کودهای بیولوژیک علاوه بر اثرات مثبتی که بر بسیاری از خصوصیات خاک دارد، از جنبه های اقتصادی، زیست محیطی و اجتماعی نیز مثمر ثمر بوده و می تواند به عنوان جایگزینی مناسب و مطلوب برای کودهای شیمیایی باشد. در حال حاضر نگرش های جدیدی که در کشاورزی پایدار، ارگانیک و بیولوژیک مطرح می باشد، بر استفاده از چنین منابعی استوار است (Glick و همکاران، ۱۹۹۹).

### ۱-۵- مکانسیم های عمل PGPR

باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه می توانند بصورت مستقیم یا غیر مستقیم باعث افزایش رشد گیاه شوند. مکانیسم های مستقیم شامل تثبیت غیر همزیست نیتروژن، تولید هورمون های گیاهی، افزایش قابلیت فراهمی عناصر معدنی نامحلول مثل فسفر و تولید آنزیم هایی چون ACC-دِآمیناز

می باشد (Glick و همکاران، ۱۹۹۵). در مکانیسم های غیر مستقیم نیز این باکتری ها اثرات زیان آور یک یا تعدادی از بیمارگرهای گیاهی را از طریق ایجاد مقاومت سیستمیک القایی یا مقاومت سیستمیک اکتسابی، تعدیل یا خنثی می کنند (Schippers و همکاران، ۱۹۸۷).

### ۱-۶- تقسیم بندی باکتری های PGPR

در سال ۲۰۰۴ Bashan و Holguin باکتری های محرک رشد گیاه را به دو گروه تقسیم بندی کردند:

- باکتری های افزایش دهنده رشد گیاه با مکانیسم کنترل زیستی
- باکتری های افزاینده رشد گیاه با مکانیسم تحریک رشد گیاه

این نوع تقسیم بندی ممکن است باکتری های ریزوسفری را شامل نشود و از این رو چندان مورد قبول نیست. بعد ها براساس نوع فعالیت، Somers و همکاران (۲۰۰۴)، PGPR را به کودهای بیولوژیک افزایش دهنده قابلیت دسترسی گیاه به مواد غذایی، محرک های رشد گیاه از طریق تولید هورمون های گیاهی، پالاینده های ریزوسفری، تجزیه کننده آلاینده های آلی و آفت کش های بیولوژیک کنترل کننده‌ی بیماری ها از طریق تولید آنتی بیوتیک ها و متابولیت های ضد قارچی، تقسیم بندی کردند. در مطالعه‌ی باکتری های ریزوسفری مفید مفهوم اصلی PGPR مورد استفاده قرار می گیرد.

### ۱-۷- کنترل زیستی بیماری های گیاهی با استفاده از PGPR

در اوایل سال ۱۹۷۰ تعدادی از محققان جمعیت های میکروبی خاصی در ریزوسفر شناسایی کردند که به عنوان اولین مانع در آلودگی های پاتوژنی به شمار می رفتند. امروزه به خوبی مشخص شده که برخی از خاکها بصورت طبیعی محدود کننده برخی از پاتوژن های خاکزی مثل *Fusarium*، *Rhizocotina*، *Phytophtora* و *Phythium* هستند. اگرچه محدود نمودن پاتوژن ها در خاک مرتبط با

جنبه های فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژیکی خاک می باشد ولی اغلب ویژگی های بیولوژیک به عنوان عوامل اصلی کنترل پاتوژن های گیاهی به شمار می روند (Weller و همکـاران، ۲۰۰۲). اثـرات مـستقیم ضد پاتوژنی شامل رقابت برای اشغال مکان های ویژه در ریشه، رقابت برای جذب منابع کربن و نیتـروژن (به عنوان عناصر غذایی و سیگنال ها)، رقابت برای آهـن از طریـق تولیـد ترکیبـات کـلات کننـده آهـن (سیدروفورها)، ممانعت از پاتوژن ها توسـط ترکیبـات ضـد میکروبـی مثـل آنتـی بیوتیـک هـا و سـیانید هیدروژن، تجزیه مواد رشدی آنها و یا انگلی شدن می باشد. این اثرات می توانند بـا مکانیـسم هـای غیـر مستقیم همراه باشند که از آن جمله می توان به بهبود وضعیت تغذیه ای گیاه، جبران صـدمات وارده بـه گیاه، تغییرات آناتومی ریشه، تغییرات میکروبی در ریزوسفر و فعال سـازی مکانیـسم هـای دفـاعی اشـاره نمود. یک عامل کنترل زیستی مؤثر اغلب با ترکیبی از مکانیسم های مختلف عمل می کنند.

بازدارندگی عوامل بیماری‌زای گیاهی به وسیله‌ی برخی متابولیت‌های میکروبی اولین بار در سال ۱۹۰۸در بیماری شناسی گیاهی مطرح شد ( Baker, ۱۹۸۳). اصطلاح کنترل زیستی نیـز اولـین بـار در زمینه‌ی بیماری‌های گیاهی مطرح و اولین کوشش‌ها در مورد بـه‌کـارگیری کنتـرل زیـستی بیمارگرهـای گیاهی از سال ۱۹۲۰ آغاز شد. در سال‌های اخیر موضوع کنترل بیولوژیک عوامـل بیمـاری‌زای گیـاهی بـا استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست به خصوص باکتری‌های متعلق به سودموناس‌های فلورسـنت و تعدادی از گونه‌های جنس باسیلوس و ریزوبیوم در کنترل بیماری‌های قارچی و باکتریایی ریشه‌ی گیاهان زراعی مطرح شده است. میکروارگانیسم‌هایی که در ناحیه ریزوسفر گیاهان زنـدگی مـی کننـد، گزینـه‌ی مناسبی برای استفاده در کنترل بیولوژیک هستند زیرا ریزوسفر اولین پل دفاعی ریشه علیـه بیمارگرهـای خاکزی است (Weller, ۱۹۸۳). ریزوسفر غنی از عوامل میکروبی بوده و باکتری‌هـای ریزوسـفری اشـغال کننده‌ی ریشه، نقش برجسته‌ای در این مکان دارند.

باکتری های PGPR می توانند با تحریک غیر مستقیم رشد گیاه، اثرات زیان آور یک یا تعـدادی از بیمار گرهای گیاهی را تعدیل یا خنثی کنند (Schippers و همکاران، ۱۹۸۷). این پدیده که به کنتـرل بیولوژیک یا کنترل زیستی موسوم است به دو طریق اتفاق می افتد:

در یک روش باکتری ها با تولید آنتی بیوتیک، ترشح سـیدروفور، تولیـد متابولیـت هـایی بـا وزن ملکولی کم از قبیل سیانید هیدروژن (HCN)، ترشح آنـزیم هـای بـرون سـلولی ماننـد کیتینـاز، لیپـاز و پروتئاز، رقابت برای مواد غذایی و اشغال جایگاه های میکروبی در ریزوسفر، فعالیت بیمار گر را محدود یـا متوقف می سازند (Nagarajkumar و همکاران، ۲۰۰۴). در روش دیگر کنتـرل زیـستی، بـین بیمـارگر و باکتری محرک رشد گیاه تماسی وجود ندارد، بدین ترتیب که این باکتری ها از طریق فعـال سـازی یـک مکانیسم مقاومت در گیاه به نام مقاومت سیـستمیک القـایی (Induced Systemic Resistence, ISR) و نیز مقاومت سیستمیک اکتسابی ناشی از وجود بیمارگر (Systemic Aquired Resistence, SAR) بخش های غیر آلوده گیاه را در مقابل طیف گسترده ای از بیمارگرها مقاوم تر می کنند (Bakker و همکـاران، ۲۰۰۳).

### ۱-۸- کودهای بیولوژیک

کودهای بیولوژیک منحصرا به مواد آلی حاصل از کودهای دامی، بقایـای گیـاهی و غیـره اطـلاق نمی شود، بلکه تولیدات حاصل از فعالیت میکروارگانیسم هـایی کـه در ارتبـاط بـا تثبیـت نیتـروژن و یـا فراهمـی فـسفر و سـایر عناصـر غـذایی در خـاک فعالیـت مـی کننـد را نیـز شـامل مـی شـود. بشر امروزه با استفاده از ماشین آلات سنگین سعی در بهره برداری بی رویه از خاک کرده اسـت. سیـستم های جدید خاک ورزی مثل سیستم های بدون شخم و شخم حداقل برای جلـوگیری از فرسـایش خـاک پیشنهاد شده است. استفاده از این سیستم ها بدون فعال نگه داشتن جامعه میکروبی (میکروارگانیسم ها) خاک یک تلاش بیهوده است. لذا به دنبال کاهش باروری خاک و نابودی آن، یک رشته علمـی جدیـد بـه

نام بیوتکنولوژی خاک در کشاورزی ایجاد شده است که هدفش استفاده از ارگانیسم های مفید خاکزی برای تولید حداکثر است. موجودات خاک محرک تمام فعل و انفعالات خاک می باشند. تلاش های زیادی صورت گرفته که بتوان با تقویت میکروارگانیسم های خاک و تلقیح خاک با آنها حاصلخیزی خاک را حفظ کرد. به مجموعه فعالیت هایی که در این زمینه مطرح است، تهیه کودهای بیولوژیک گفته میشود. نخستین کود بیولوژیک که به بازار عرضه شد نیتراژین بوده و باکتری استفاده شده در آن ریزوبیوم میباشد. این کود بیولوژیک حدود یک قرن پیش تولید و به فروش رسید و به دنبال تهیه آن انواع و اقسام ریزوبیوم ها را نیز معرفی کردند. علاوه بر باکتری ریزوبیوم، باکتری های دیگر مثل ازتوباکتر نیز برای تولید کودهای بیولوژیک استفاده شدند. اما فعالیت های مرتبط با تولید کودهای زیستی به دلیل مقارن شدن این فعالیت ها با تولید کودهای شیمیایی و صنعتی دوام زیادی نداشت، زیرا کودهای شیمیایی رقیب بسیار قدرتمندی برای کودهای بیولوژیک بودند و تمام سرمایه ها صرف قسمت شیمیایی می شد. گذشته از آن کودهای شیمیایی جاذبه های گمراه کننده ای از قبیل: ارزان تر بودن، بازگشت سریع تر سرمایه و... را به همراه داشت، در حالی که مستهلک شدن زمین و از بین رفتن موجودات زنده میکروبی خاک در نتیجه مصرف کودهای شیمیایی در نظر گرفته نمی شد. این مسائل باعث شد چند دهه تولید کودهای بیولوژیک دچار رکود و وقفه شود. این موضوع تا سال ۱۹۷۰ ادامه داشت. پس از آن با اوج گیری بهای نفت، بهای کودهای شیمیایی نیز افزایش یافت و اندکی از برتری رقابتی کودهای شیمیایی در مقایسه با کودهای بیولوژیک کاسته شد. سال های بین ۱۹۷۳ تا ۱۹۷۵ دوره حیات مجدد کودهای بیولوژیک محسوب می شود (Somers و همکاران، ۲۰۰۳).