





دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی علوم خاک
(گرایش بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک)

تأثیر جدایه‌های مختلف باکتری *Azospirillum spp.* بر روی واریته‌های مختلف برنج در استان گلستان

پژوهش و نگارش:

ام‌لیلا خسروی

اساتید راهنما:

دکتر محسن علمائی

دکتر محمدحسین ارزانش

استاد مشاور:

مهندس رضا قربانی نصرآبادی

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت های علمی - پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می شوند:

- (۱) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
- (۲) در انتشار نتایج پایان نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
- (۳) انتشار نتایج پایان نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب ام **لیلا خسروی** دانشجوی رشته **علوم خاک (بیولوژی خاک)** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می شوم.

تقدیم به:

پدر و مادر دلسوزم،

خواهران و برادران مهربانم

و همسرم

پاسکوزاری

پس خدایی را که هرگاه از او چیزی خواسته ایم عطای کند و آنگاه که امیدی به او داشته ایم به امیدمان می‌رساند خدای مهربانی که با کرم و احسان خویش هر کس روی به او بیاورد او را محروم نمی‌کند و امیدش را ناامید نمی‌گرداند پس تو را پاس می‌گویم که بر من منت نهادهی تا بتوانم با توکل بریاری و لطف بی‌پایانت این تحقیق را به اتمام برسانم. از این رو بر خود لازم می‌دانم بدین وسیله از اساتید راهنمای محترم جناب آقای دکتر محسن علایی و جناب آقای دکتر محمد حسین ارزانش که در طول انجام این پایان نامه از راهنمایی‌های ارزنده‌شان بهره‌جتم قدردانی نمایم. از استاد مشاور محترم جناب آقای مهندس رضا قربانی نصرآبادی به خاطر مشاوره و کمک‌های ارزنده‌شان در این تحقیق تشکر می‌نمایم.

از مساعدت و لطف ناینده تحصیلات تکمیلی، جناب آقای دکتر سعید حسنی و از داوران محترم جناب آقای دکتر بهنام کامکار و جناب آقای دکتر جاوید قرخلو که زحمت مطالعه و تصحیح این تحقیق را متقبل شدند پاسکوزارم.

از کارشناسان محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان بویژه بخش خاک و آب و پرسنل محترم آزمایشگاه بیولوژی این بخش بخصوص سرکار خانم مهندس مریم غزائیان و سرکار خانم مهندس مریم سبطی و از

کارشناس محترم گروه علوم خاک، آقایان مهندس علاء‌دین، مهندس عجمی و سرکار خانم مهندس طاهره و
کارشناس محترم آموزش دانشکده کمال شکر رادارم.

از پدر و مادر عزیزم و خواهران و برادران مهربانم بویژه جناب آقای یوسف خسروی و جناب آقای مهندس نقی
خسروی که بدون کمک و بهکاریهای ایشان طی این طریق بسیار مشکل بود و همچنین از همسر مهربانم و خانواده محترم
ایشان که در طول این مدت صبورانه سختی راه را بر من هموار ساختند بی نهایت قدردانی می‌کنم.

از دوستان و بهکلاسی‌های خوبم خانم مهندس نجار قادری، نثار اله ویسی، مرگان رجب زاده، اکرم فرشادی
راد، مسامیر کرمی، فریده رضایی، فرشته فرسنگی، مونا لیاقت، شهلا حاجی زاده، مریم سامانی، نیلوفر باناژاد، سارا
مستیان، گلشوم منصوره، اکرم شعبانی، ملیحه لکزایی، الهام اکراسردشتی، سمانه چوپانی، محبوبه عبداللہی و مرضیه قدسی
کمال شکر و قدردانی رادارم.

چکیده

به کارگیری کودهای شیمیائی در بهبود حاصلخیزی خاک و افزایش بازده محصولات کشاورزی بسیار ضروری است، اما کود شیمیائی تنها منبع تامین کننده نیاز بخش کشاورزی به عناصر مغذی نیست و بخشی از این از طریق ذخایر طبیعی موجود خاک، مواد آلی، حیوانی و گیاهی برگردانیده شده به خاک و تثبیت ازت اتمسفری تامین می شود. برنج در بین غلات پس از گندم، در سطح بسیار وسیعی از زمینهای زراعتی برخی از کشورهای مختلف جهان کشت می گردد. سطح زیر کشت برنج در دنیا کمتر از گندم بوده، لکن مقدار تولید آن تقریباً برابر گندم می باشد. با توجه به هدرروی (آبشویی، تصعید و دنیتریفیکاسیون)، پایین بودن راندمان و کمی یا استفاده نادرست از کودهای شیمیائی و نیز با توجه به اینکه برنج یکی از وعده های غذایی اصلی مردم جهان را تشکیل می دهد، لزوم افزایش راندمان کودهای شیمیائی و افزایش کمی و کیفی این محصول ضروری است. مطالعات زیادی توسط محققان در کشور های مختلف نشان داده شده است که کودهای بیولوژیک می توانند در ۷۰٪ مواقع باعث افزایش عملکرد و افزایش راندمان کودهای شیمیائی شوند. کودهای بیولوژیک که از ریزموجودات مفید خاک جدا شده و پس از یکسری آزمون های شیمیائی و تائید اثر بخشی آنها در شرایط مزرعه ای به صورت انبوه تولید می شوند، در سال های اخیر به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرند. به منظور معرفی بهترین جدایه یا جدایه های *Azospirillum* جهت تولید مایه تلقیح برنج و نیز واکنش ارقام غالب برنج استان، سه جدایه از گونه *A. largimobile* (AZR53، AZR24، AZR8) و یک گونه خارجی از (*A. irakense* DSM 1693) برای این تحقیق استفاده گردیدند. در ادامه تاثیر ۳ جدایه برتر انتخابی *A. largimobile* و یک جدایه خارجی *A. irakense* روی پارامترهای رشدی دو رقم برنج در شرایط مزرعه ای در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در قالب طرح کرت های دوبارخرد شده (اسپلیت-اسپلیت-پلات) سه عاملی بر روی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)، دو تیمار کودی (بدون کود و کود کامل) و چهار تیمار باکتری *Azospirillum* و یک شاهد (بدون تلقیح) در سه تکرار (بلوک) بررسی شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اثر تلقیح جدایه های آزوسپیریلوم، سطح کودی و رقم برنج (هاشمی و ندا) بر روی پارامترهای رشدی از جمله ارتفاع ساقه، تعداد پنجه، قطر ساقه، طول برگ پرچم، وزن تر و خشک برگ پرچم، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، طول ساقه، وزن تر و خشک ساقه و مدت زمان ظهور خوشه در سطح ۱ درصد معنی دار بوده همچنین رقم ندا نسبت به رقم هاشمی واکنش پذیری بیشتری نسبت به تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم از خود نشان داد. بعلاوه بخش های مختلف گیاه عکس العمل متفاوتی به تلقیح از خود نشان دادند. بطور مثال در رقم هاشمی ارتفاع گیاه، تعداد دانه در خوشه، تعداد دانه در واحد سطح و طول خوشه در اثر تلقیح با جدایه های بومی AzR.8 و AzR.53 افزایش یافت، در حالی که در رقم ندا این برتری با جدایه خارجی *A. irakense* 1691 بود. در نهایت می توان از جدایه بومی AzR.8 برای رقم هاشمی و از جدایه های خارجی *A. irakense* 1691 یا جدایه بومی AzR.53 برای تولید مایه تلقیح برنج در استان گلستان استفاده نمود.

واژه های کلیدی: *Azospirillum*، مایه تلقیح، برنج و کودهای بیولوژیک

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	فصل اول: مقدمه.....
۷	فصل دوم: مروری بر منابع.....
۸	۱-۲ مبدا و منشاء.....
۸	۲-۲ خصوصیات گیاهی.....
۱۰	۳-۲ سازگاری.....
۱۰	۱-۳-۲ حرارت.....
۱۱	۲-۳-۲ رطوبت.....
۱۲	۳-۳-۲ خاک.....
۱۳	۴-۳-۲ مقاومت به شوری.....
۱۳	۴-۲ کودهای مورد نیاز برنج.....
۱۴	۱-۴-۲ کودهای نیتروژنی.....
۱۵	۲-۴-۲ کودهای فسفوری.....
۱۵	۳-۴-۲ کودهای پتاسیمی.....
۱۶	۵-۲ غرقاب کردن خاک.....
۱۶	۶-۲ علف‌های هرز برنج.....
۱۷	۷-۲ آفات و بیماری‌های برنج.....
۲۰	۸-۲ باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR).....
۲۲	۱-۸-۲ تاریخچه کشف جنس و گونه‌های مختلف آزوسپریلوم.....
۲۴	۲-۸-۲ گیاهان میزبان و پراکنش جغرافیایی آزوسپریلوم.....
۲۵	۳-۸-۲ خصوصیات اکولوژیکی آزوسپریلوم.....
۲۵	۱-۳-۸-۲ رطوبت خاک.....
۲۶	۲-۳-۸-۲ درجه حرارت.....
۲۶	۳-۳-۸-۲ اسیدیته خاک.....
۲۶	۴-۳-۸-۲ اکسیژن.....

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۲۶	۲-۸-۳-۵ تاثیر سموم کشاورزی.....
۲۸	۲-۸-۳-۶ ترکیبات نیتروژن.....
۲۸	۲-۹ مکانیزم‌های جذب آزوسپیریلوم به طرف ریشه.....
۳۰	۲-۱۰ تثبیت نیتروژن.....
۳۰	۲-۱۱ توانایی تولید هورمون‌های گیاهی.....
۳۱	۲-۱۲ افزایش حلالیت فسفات‌های نامحلول آلی.....
۳۱	۲-۱۳ اثرات و نتایج تلقیح گیاهان با آزوسپیریلوم.....
۳۵	فصل سوم: مواد و روش‌ها
۳۶	۳-۱-۱ جداسازی و گروه‌بندی جدایه‌های <i>Azospirillum</i>
۳۶	۳-۱-۱-۱ نمونه‌برداری خاک و ریشه.....
۳۶	۳-۱-۱-۲ جداسازی و شناسایی مقدماتی باکتری‌های جنس آزوسپیریلوم.....
۳۸	۳-۱-۱-۳ ویژگی‌های فنوتیپی و مرفولوژیکی جدایه‌های <i>Azospirillum</i>
۳۸	۳-۱-۱-۴ اندازه‌گیری ویژگی‌های PGPR.....
۳۹	۳-۱-۴-۱-۱ آزمون توان تثبیت بیولوژیک نیتروژن.....
۴۰	۳-۱-۴-۱-۲ اندازه‌گیری کمی توان تولید ایندول استیک اسید (IAA).....
۴۰	۳-۱-۴-۱-۳ اندازه‌گیری کیفی توان حل فسفات نامحلول آلی.....
	۳-۲ بررسی تاثیر تلقیح <i>Azospirillum</i> بر روی بعضی از پارامترهای
۴۱	رشدی برنج در شرایط مزرعه.....
۴۱	۳-۲-۱ محل انجام آزمایش مزرعه‌ای.....
۴۱	۳-۲-۲ آماده سازی، ضدعفونی کردن و جوانه‌زنی بذرهاى برنج.....
۴۳	۳-۲-۳ تهیه سوسپانسیون باکتری.....
۴۴	۳-۲-۴ نحوه تلقیح بذور و گیاهچه‌های برنج با گونه‌های مختلف <i>Azospirillum</i>
۴۵	۳-۳ کاشت برنج در مزرعه.....
۴۶	۳-۴ مرحله داشت برنج در مزرعه.....

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۴۸	۵-۳ پارامترهای اندازه‌گیری آزمون مزرعه‌ای
۴۹	۶-۳ تجزیه و تحلیل داده‌ها
۵۰	۷-۳ اندازه‌گیری خصوصیات بیولوژیکی و فیزیکوشیمیایی خاک و آب
۵۰	۸-۳ شمارش جمعیت آزوسپیریلومی خاک و بذره‌ای تلقیح شده دو رقم برنج
۵۱	۹-۳ پارامترهای اندازه‌گیری شده در زمان ظهور خوشه
۵۱	۱-۹-۳ ارتفاع گیاه و تعداد بوته
۵۱	۲-۹-۳ قطر ساقه در یک کپه
۵۲	۳-۹-۳ طول برگ پرچم در یک کپه
۵۲	۴-۹-۳ وزن تر و خشک برگ پرچم در یک کپه
۵۲	۵-۹-۳ طول ریشه
۵۲	۶-۹-۳ وزن تر و خشک ریشه
۵۲	۷-۹-۳ طول ساقه در یک کپه
۵۳	۸-۹-۳ وزن تر و خشک ساقه و برگ‌ها در یک کپه
۵۳	۹-۹-۳ تعداد روز تا ظهور خوشه
۵۳	۱۰-۳ مرحله برداشت و اندازه‌گیری پارامترهای رشدی برنج
۵۳	۱-۱۰-۳ ارتفاع گیاهچه‌ها در مترمربع
۵۳	۲-۱۰-۳ تعداد بوته در مترمربع
۵۴	۳-۱۰-۳ وزن خشک خوشه در مترمربع
۵۴	۴-۱۰-۳ وزن خشک ساقه و برگ‌ها در مترمربع
۵۴	۵-۱۰-۳ طول خوشه در مترمربع
۵۴	۶-۱۰-۳ تعداد خوشه در مترمربع
۵۴	۷-۱۰-۳ عملکرد بیولوژیک در مترمربع
۵۴	۸-۱۰-۳ تعداد دانه در خوشه
۵۵	۹-۱۰-۳ تعداد دانه پوک در خوشه

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۵۵	۳-۱۰-۱۰ وزن هزار دانه.....
۵۵	۳-۱۰-۱۱ عملکرد دانه (تن در هکتار).....
۵۷	فصل چهارم: نتایج و بحث.....
۵۸	۴-۱ نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک و آب.....
۵۹	۴-۲ ویژگی های چهار جدایه انتخابی آزوسپریلوم.....
۶۰	۴-۳ تثبیت نیتروژن ملکولی.....
۶۰	۴-۴ آزمون کمی توان تولید ایندول استیک اسید (IAA).....
۶۱	۴-۵ آزمون کیفی توان حل فسفات های آلی.....
۶۲	۴-۶ شمارش جمعیت خاک مزرعه مورد نظر و بذره های تلقیح شده و تلقیح نشده.....
	۴-۷ نتایج تاثیر تلقیح جدایه های آزوسپریلوم روی پارامترهای رشدی قبل و هنگام خوشه دهی در شرایط مزرعه.....
۶۳	۴-۷-۱ ارتفاع گیاهچه ها در قبل و زمان خوشه دهی.....
۶۸	۴-۷-۲ تعداد بوته در واحد سطح در قبل خوشه دهی و زمان خوشه دهی در یک کپه.....
۶۸	۴-۷-۳ قطر ساقه در یک کپه.....
۶۹	۴-۷-۴ طول برگ پرچم در یک کپه.....
۶۹	۴-۷-۵ وزن تر و خشک برگ پرچم در یک کپه.....
۶۹	۴-۷-۶ طول ریشه.....
۷۱	۴-۷-۷ وزن تر و خشک ریشه.....
۷۱	۴-۷-۸ طول اندام هوایی در یک کپه.....
۷۲	۴-۷-۹ وزن تر و خشک اندام هوایی در یک کپه.....
۷۲	۴-۷-۱۰ ظهور خوشه.....
	۴-۸ نتایج تاثیر تلقیح جدایه های آزوسپریلوم روی عملکرد و اجزای عملکرد در واحد سطح در شرایط مزرعه ای.....
۷۲	۴-۸-۱ ارتفاع گیاه در مترمربع.....

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۷۷	۲-۸-۴ تعداد بوته در مترمربع.....
۷۷	۳-۸-۴ تعداد خوشه در مترمربع.....
۷۸	۴-۸-۴ تعداد دانه در خوشه.....
۸۰	۵-۸-۴ تعداد دانه در مترمربع.....
۸۰	۶-۸-۴ طول خوشه در مترمربع.....
۸۰	۷-۸-۴ تعداد دانه پوک در یک خوشه.....
۸۲	۸-۸-۴ وزن خشک خوشه در مترمربع.....
۸۲	۹-۸-۴ وزن خشک ساقه و برگها در مترمربع.....
۸۲	۱۰-۸-۴ عملکرد بیولوژیک در مترمربع.....
۸۳	۱۱-۸-۴ وزن هزار دانه برحسب گرم.....
۸۳	۱۲-۸-۴ وزن خشک دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار.....
۸۴	۱۳-۸-۴ عملکرد دانه بر حسب تن در هکتار.....
۸۶	۹-۴ ضریب همبستگی بین عملکرد دانه با اجزای عملکرد در برخی صفات زراعی برنج.....
۸۸	۱۰-۴ نتیجه گیری کلی.....
۸۸	۱۱-۴ پیشنهادها.....
۹۱	فهرست منابع.....

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۴ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد مطالعه.....	۵۸
جدول ۲-۴ خصوصیات شیمیایی آب مصرفی مزرعه مورد مطالعه.....	۵۹
جدول ۳-۴ ویژگی‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی چهار جدایه انتخابی آزوسپیریلوم.....	۶۰
جدول ۴-۴ شمارش جمعیت خاک مزرعه مورد نظر و بذرهاى تلقیح شده و تلقیح نشده.....	۶۲
جدول ۵-۴ تجزیه واریانس پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۶۴
ادامه جدول ۵-۴ تجزیه واریانس پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۶۵
جدول ۶-۴ مقایسه میانگین پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۶۶
ادامه جدول ۶-۴ مقایسه میانگین پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۶۷
جدول ۷-۴ مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و باکتری بر پارامترهای رشدی دو رقم برنج	
(هاشمی و ندا).....	۷۰
جدول ۸-۴ تجزیه واریانس عملکرد و پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۷۳
ادامه جدول ۸-۴ تجزیه واریانس عملکرد و پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۷۴
جدول ۹-۴ مقایسه میانگین پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۷۵
ادامه جدول ۹-۴ مقایسه میانگین پارامترهای رشدی دو رقم برنج (هاشمی و ندا)	
تلقیح شده با جدایه‌های بومی آزوسپیریلوم.....	۷۶
جدول ۱۰-۴ مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و باکتری بر پارامترهای رشدی	
دو رقم برنج (هاشمی و ندا).....	۷۹

فهرست جداول

صفحه	عنوان
جدول ۴-۱۱ مقایسه میانگین اثر متقابل کود و رقم بر پارامترهای رشدی	
۸۱	دو رقم برنج (هاشمی و ندا).....
جدول ۴-۱۲ مقایسه میانگین اثر متقابل کود، رقم و باکتری بر پارامترهای رشدی	
۸۵	دو رقم برنج (هاشمی و ندا).....
جدول ۴-۱۳ ضریب همبستگی عملکرد و اجزای عملکرد بر برخی صفات زراعی	
۸۷	در دو رقم برنج هاشمی و ندا در استان گلستان.....

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲ علف‌های هرز مزارع برنج	۱۷
شکل ۲-۲ آفات کرم ساقه‌خوار و کرم برگ‌خوار برنج در مزارع برنج	۱۸
شکل ۳-۲ بیماری‌های بلاست برنج و شیت‌بلاست در مزارع برنج	۱۹
شکل ۴-۲ مکانیسم جذب آزو اسپیریلوم به ریشه (باشان، ۲۰۰۶)	۲۹
شکل ۱-۳ جداسازی و شناسایی جدایه‌های آزو اسپیریلوم	۳۸
شکل ۲-۳ نمایی از مزرعه که آزمون تاثیر تلقیح آزو اسپیریلوم بر روی بعضی از پارامترهای رشدی برنج در شرایط مزرعه در آن اجرا گردید	۴۲
شکل ۳-۳ ضد عفونی بذور دو رقم برنج ندا و هاشمی توسط الکل و محلول وایتکس	۴۳
شکل ۴-۳ تهیه سوسپانسیون باکتری	۴۴
شکل ۵-۳ تلقیح بذور و گیاهچه‌های برنج	۴۵
شکل ۶-۳ کاشت نشاهای دو رقم برنج در مزرعه	۴۶
شکل ۷-۳ کود ها و سموم استفاده شده به همراه دستگاه سم پاش	۴۸
شکل ۸-۳ اندازه گیری پارامترهای رشدی دو رقم برنج در مرحله داشت و برداشت	۴۹