SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

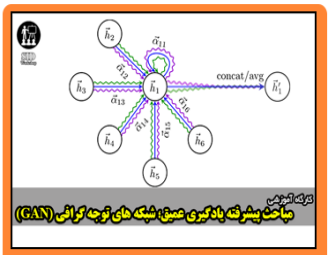
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)

Archive of SID

تلقیح جدایه های مختلف باکتری *Gluconacetobacter diazotrophicus* بر روی سه رقم نیشکر تحت شرایط گلخانه ای

محسن علمائی[۱] و مهران الهامی فرد[۲]

چکیده

با افزایش سطح زیر کشت نیشکر در استان خوزستان و مصرف بالای کودهای نیتروژن دار و به منظور تامین بخشی از نیاز نیتروژن گیاه نیشکر و کاهش آلودگی‌های زیست محیطی کود بیولوژیک تثبیت کننده نیتروژن مورد آزمایش قرارگرفت. با تلقیح جدایه‌های مختلف یک نوع باکتری همیار تثبیت کننده نیتروژن در نیشکر از گونه *Gluconacetobacter diazotrophicus* در طرحی گلخانه‌ای بر روی سه رقم تجاری نیشکر، مقدار رشد نی و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بررسی شد. با اندازه گیری متوسط وزن خشک نی و نیتروژن کل جذب شده در بافت هوائی نیشکر تحت اثر تیمارهای باکتری و $N=100kgN.ha^{-1}$ و مقایسه آن با تیمار شاهد نشان داده شد که تیمارهای اعمال شده ٦٦-۲۹ درصد در وزن خشک گیاه و ۵۵-۲۹ درصد جذب نیتروژن کل گیاه افزایش یافته است.

کلید واژه ها: نیشکر، تلقیح، Gluconacetobacter diazotrophicus، تثبیت بیولوژیک نیتروژن

مقدمه

نیشکر (*Saccharum officinarum*) جزء گیاهان C_4 بوده و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می‌شود و مانند سایر گیاهان چهار کربنه از انرژی نورانی و گرمایی خورشید حداکثر بهره را می‌برد. نیشکر در مقایسه با سایر محصولات کشاورزی از نقطه نظر راندمان تثبیت انرژی در واحد سطح در درجه اول اهمیت قرار دارد (۳). به منظور افزایش تولید و بالا بردن راندمان و حفظ محیط زیست می‌توان کود بیولوژیک را جایگزین بخشی از کود نیتروژن دار نمود (۱ و ۲). باکتری تثبیت کننده نیتروژن در نیشکر در صورت مهیا بودن فسفر، پتاسیم و دیگر عناصر ریزمغذی توانایی تامین ۳۰٪ از نیتروژن مورد نیاز گیاه را دارا می باشد و بیشترین مقدار تثبیت نیتروژن در نیشکر $۱۵۰\ kgN.ha^{-1}$ گزارش شده است (۶). اولین بار دوبرینر و راشل[۳] (۵) از بافت نیشکر یک نوع باکتری همیار تثبیت کننده نیتروژن را جداسازی کرده و آن را *Beijerinckia fluminensis* نامگذاری نمودند.

کاواکانت و دوبرینر[۴](۴)، یک گونه اختصاصی *Acetobacter diazotrophicus* را برای نیشکر شناسایی نمودند. این گونه باکتری توسط یامادا و همکاران[۵] (۱۱) به *Gluconacetobacter diazotrophicus* تغییر نام یافت. این باکتری علاوه بر نیشکر، در سیب زمینی شیرین و سورگوم شیرین نیز یافت می‌شود و کاملاً درون بافتی بوده و در تمام قسمت های بافت گیاهی (ریشه، ساقه و برگ) وجود داشته و در محیط خاک زنده نمی‌ماند. این باکتری میله ای کوتاه، گرم منفی، هوازی اجباری و هتروتروف می‌باشد. درجه حرارت مطلوب برای رشد باکتری۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد و

۱- استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (olamaee_m@yahoo.com)

۲- کارشناس ارشد خاکشناسی مرکز تحقیقات نیشکر (شرکت توسعه نیشکر و صنایع جانبی)، اهواز

4- Cavalcante & Dobereiner

5- Yamada *et al.*

3- Dobereiner *et al.*

تاریخ دریافت: ۸٤/۱۰/۱۱

تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۲۱

www.SID.ir

Archive of SID

مناسب ترین واکنش pH= ۵/۵ (درون سلول گیاه) می‌باشد. این باکتری در pH> ۷ قادر به رشد نیست اما در pH کمتر از ۳ و در غلظت‌های بالای نیترات در محیط کشت (۲۵ mM)، هم می‌تواند تثبیت نیتروژن را انجام دهد. برخی از سویه های این باکتری توانائی تولید هورمون رشد اکسین Indol-3- acetic acid) را دارند (۷). با توجه به نیاز سالانه نیشکر به ۳۵۰kg.ha^{-1} –۳۰۰ کود اوره در اراضی زیر کشت نیشکر خوزستان، می‌توان با جایگزینی بخشی از کود نیتروژنی مورد نیاز نیشکر توسط کود بیولوژیک قدم هایی در راستای کشاورزی پایدار و جلوگیری از آلودگی محیط زیست برداشت. این آزمایش به منظور بررسی سازگاری جدایه‌های مختلف باکتری و واریته‌های نیشکر و مقایسه مقدار محصول و نیتروژن تثبیت شده در گلدان صورت گرفت.

مواد و روش ها

برای اجرای طرح از گلدانهای پلاستیکی ۱۰ لیتری حاوی ۹ کیلوگرم ماسه کوارتز شسته شده با آب معمولی استفاده گردید. قلمه‌های نیشکر از رقمهای غالب منطقه (V_1=CP69-1062, V_2=CP48-103 , V_3=CP57-614) که دارای یک جوانه سالم و وزن تقریبی ۲±۵۰ گرم بودند تهیه و با محلول ۱٪ هیپوکلرید سدیم (وایتکس) بمدت ۵ دقیقه ضد عفونی و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو گردیدند. قلمه ها در سینی چیده شده و به منظور جوانه زنی در مدت چهار روز در انکوباتور با دمای ۳۵°C قرارداده شدند.

چهار تیمار باکتری مورد آزمایش شامل: جدایه های B_1 و B_2 جدا شده از مزارع کشت و صنعت امیر کبیر و سویه‌های B_3=PALst ; UAP- =B_4 5560 از کشور مکزیک بودند. برای تکثیر انبوه باکتریها، از محیط کشت سترون مایع LGIP، بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه و دمای ۳۰°C استفاده شد.

محیط کشت LGIP شامل مواد زیر می باشد (۸):

LGIP g.l^{-1}(K_2HPO_4 0.2, KH_2PO_4 0.6, $MgSO_4$. $2H_2O$ 0.2, $CaCl_2$. $2H_2O$ 0.02, $FeCl_3$. $6H_2O$ 0.01, $(NH_4)_2$ SO_4 1.0, $Na_2MoO_4.2H_2O$ 0.002, Sucrose 100, Yeast extract 2.0), Bromothymol blue 5ml, pH=5,5 with acetic acid

بعد از ۴۸ ساعت جمعیت باکتری با اندازه گیری میزان کدورت در طول موج 630nm و بااستفاده از منحنی رشد(cfu/ml) ۱×۱۰$^{+۷}$ رسیده بود. قلمه های ریشه دار شده را بمدت ۱۰– ۸ ساعت در سوسپانسیون باکتری غوطه‌ور نموده و سپس درون گلدان‌ها کشت شدند.

طرح آزمایشی به صورت بلوکهای کامل تصادفی در قالب فاکتوریل با ۳ رقم تجاری گیاه نیشکر در برابر ۴ تیمار باکتری، یک تیمار کود نیتروژن دار (۱۰۰kgN.ha^{-1}) معادل 11,0mM و یک تیمار شاهد (باحداقل کودنیتروژنه=5kg.ha^{-1})، معادل 0,56mM در محیط کشت بعنوان Starter، با چهار تکرار، این مقدار حداقل در تیمارهای باکتری هم اعمال شد و طرح با جمعا ۷۲ گلدان در گلخانه مرکز تحقیقات نیشکر اهواز اجرا شد.

در طول رشد گلدانها با محیط غذائی عاری از نیتروژن Murashige and Skoog حاوی ترکیبات با مقادیر زیر تغذیه گردیدند(۹):

$MgSO_4.7H_2O$ 1.5mM, H_3BO_3 100µM, $ZnSO_4.7H_2O$ 30 µM, $CuSO_4.5H_2O$ 100pM, KI 5.3 µM, $CoCl_2.6H_2O$, 105pM, $Na_2MoO_4.2H_2O$ 1.0 µM, $MnSO_4.H_2O$ 100 µM, $CaCl_2.2H_2O$ 3mM, Na_2EDTA 4.1mM, $FeSO_4.7H_2O$ 6.7 mM, KH_2PO_4 1.3mM,

هر بار pH محلول غذایی با KOH بر روی شش تنظیم می‌شد.

www.SID.ir

Archive of SID

محلول غذایی هر هفته به میزان ۵۰ml و کود نیتروژنه با غلظت ۰/۵۶mM از ترکیب نیترات آمونیوم هر دو هفته به میزان ۵۰ml به همه گلدانها اضافه شد. برای تیمار کودی ۱۱mM معادل ۱۰۰kgN.ha^{-1} ازت خالص از همین ترکیب استفاده گردید و در طول دوره رشد در چند مرحله به گلدانها اضافه شد. بعد از چهار ماه قسمت هوایی گیاه از محل طوقه برداشت و وزن تر و خشک آنها را بر حسب گرم در گلدان محاسبه آورده، درصد نیتروژن بافت گیاهی توسط دستگاه کجلدال تعیین و نیتروژن کل بافت بخش هوائی محاسبه گردید.

نتایج

نتایج تاثیر تیمارهای مختلف بر جرم ماده خشک و مقدارکل نیتروژن جذب شده در بخش هوایی نیشکر در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است.

با مشاهده نتایج بدست آمده در تمامی ۱۸ تیمار باکتری و ارقام مختلف نیشکر، وزن خشک تمامی تیمارهای باکتری از شاهد بیشتر بوده و همچنین کل نیتروژن جذب شده در بخش هوائی گیاه نیز افزایش یافته است (نمودار۱ و ۲). بر اساس نمودار ۲ باکتری شماره B_4 نسبت به همه ارقام اثر افزایشی داشته است.

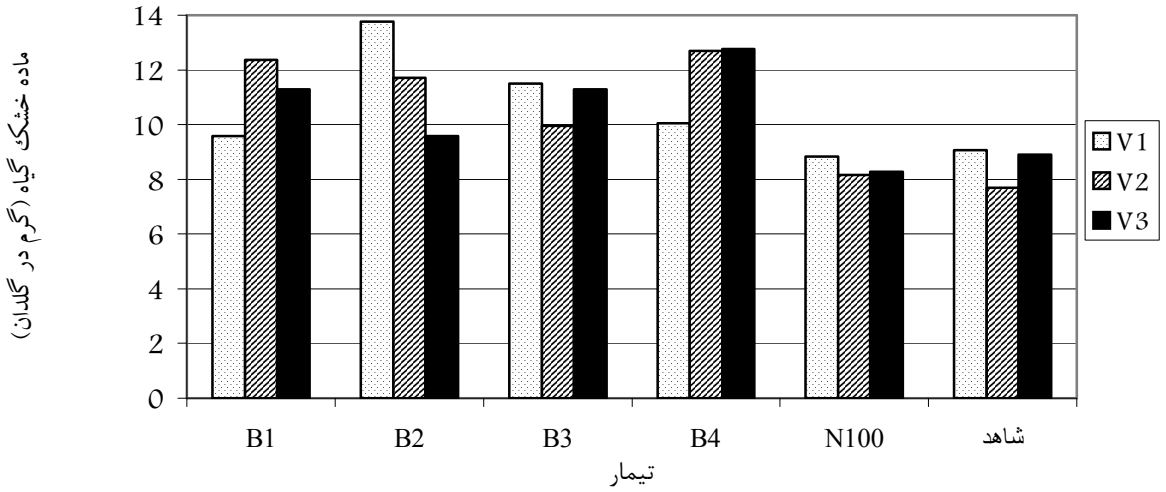
جدول ۱ نشان می‌دهد درصد نیتروژن در تیمار کودی به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود بقیه تیمارها به جز تیمار B_2 باکتری با شاهد از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشتند. مقدار نیتروژن در چهار تیمار باکتری با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند و فقط تیمار شماره B_4 باکتری با سایر تیمارهای باکتریایی و شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت. بطور کلی مقدار نیتروژن موجود در تیمارهای باکتری بیشتر از تیمار شاهد بوده و مقدار کل نیتروژن موجود در بافت گیاه در تیمارها باکتریایی بیشتر از دو تیمار نیتروژن و شاهد بدست آمد، این افزایش نشان دهنده تثبیت نیتروژن مولکولی از هوا توسط این باکتری‌ها می باشد. ستون جرم ماده خشک گیاه نیز نشان داد که وزن چهار تیمار باکتریایی به طور معنی داری بیشتر از دو تیمار کودی و شاهد می باشد.

جدول ۲ نشان می‌دهد درصد نیتروژن کل تثبیت شده و افزایش مقدار وزن ماده خشک گیاه توسط تیمار باکتری بیشتر از تیمار شاهد و کودی بوده است. جدایه باکتری شماره B_4 بالاترین درصد تثبیت نیتروژن و افزایش وزن ماده خشک گیاه را نشان داده است و سپس باکترهای‌های شماره B_1 و B_3 و کمترین مقدار مربوط به باکتری شماره B_2 می‌باشد. تحلیل آماری در جدول ۳ نشان می دهد که نوع رقم تاثیری بر درصد نیتروژن، مقدار نیتروژن کل و مقدار وزن ماده خشک گیاه نداشته است. مقدار نیتروژن در چهار تیمار باکتری با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند و فقط تیمار شماره B_4 باکتری با سایر تیمارهای باکتریایی و شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت. بطور کلی مقدار نیتروژن موجود در تیمارهای باکتری بیشتر از تیمار شاهد بوده و مقدار کل نیتروژن موجود در بافت گیاه در تیمارها باکتریایی بیشتر از دو تیمار نیتروژن و شاهد بدست آمد، این افزایش نشان دهنده تثبیت نیتروژن مولکولی از هوا توسط این باکتری‌ها می باشد. ستون جرم ماده خشک گیاه نیز نشان داد که وزن چهار تیمار باکتریایی به طور معنی داری بیشتر از دو تیمار کودی و شاهد می باشد.

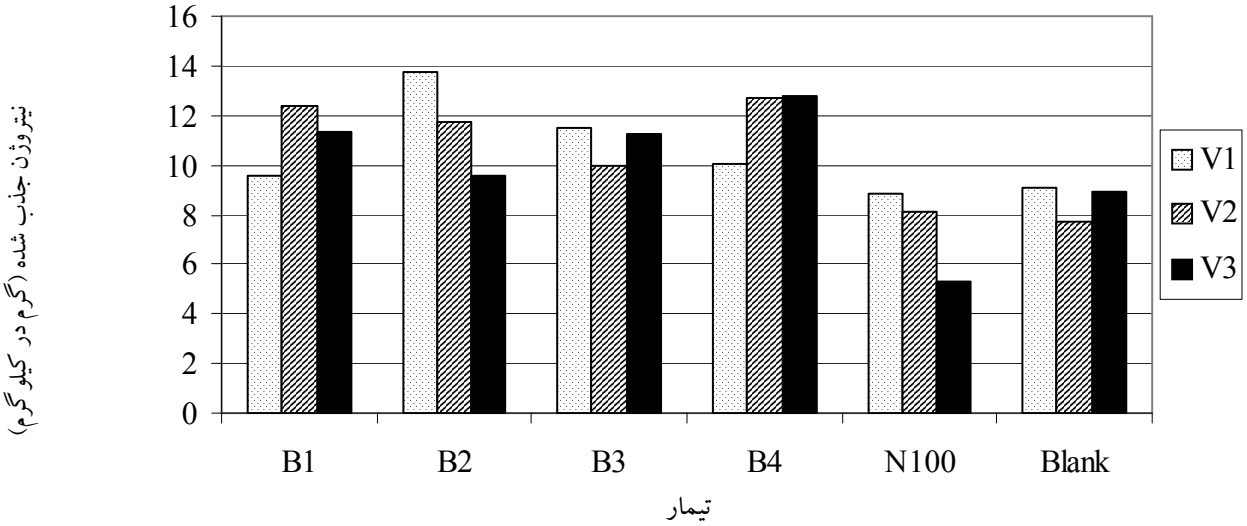
جدول ۲ نشان می‌دهد درصد نیتروژن کل تثبیت شده و افزایش مقدار وزن ماده خشک گیاه توسط تیمار باکتری بیشتر از تیمار شاهد و کودی بوده است. جدایه باکتری شماره B_4 بالاترین درصد تثبیت نیتروژن و افزایش وزن ماده خشک گیاه را نشان داده است و سپس باکترهای‌های شماره B_1 و B_3 و کمترین مقدار مربوط به باکتری شماره B_2 می‌باشد. تحلیل آماری در جدول ۳ نشان می دهد که نوع رقم تاثیری بر درصد نیتروژن، مقدار

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- تاثیر تیمارهای مختلف باکتری بر وزن ماده خشک بخش هوائی نیشکر



نمودار۲- تاثیر تیمارهای مختلف باکتری بر کل نیتروژن جذب شده توسط بخش هوائی نیشکر

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تحلیل آماری اثر نوع باکتری و تیمار نیتروژن به روش دانکن

تیمار باکتری	نیتروژن %	نیتروژن کل گرم در گلدان	ماده خشک گرم در گلدان
B_1	۱/۰۷ BC	۰/۱۲ AB	۱۰/۸ AB
B_2	۰/۹۶ C	۰/۱۱ AB	۱۱/۲ AB
B_3	۱/۰۵ BC	۰/۱۲ AB	۱۰/۹ AB
B_4	۱/۰۹ B	۰/۱۴ A	۱۳/۰ A
N۱۰۰	۱/۳۸ A	۰/۱۰ B	۸/۴۲ C
شاهد	۱/۰۶ BC	۰/۰۸ B	۸/۱ BC

جدول۲- افزایش نسبی تیمارهای باکتری نسبت به تیمارهای شاهد و کودی در همه ارقام

تیمار باکتری	نیتروژن کل نسبت به تیمار شاهد (٪)	ماده خشک نسبت به تیمار شاهد (٪)	نیتروژن کل نسبت به تیمار کودی (٪)
B۱	۳۹	۲۹	۱۱
B۲	۲۹	۳۳	۳
B۳	۳۸	۳۰	۱۱
B۴	۶۶	۵۵	۳۳

جدول۳- تحلیل آماری اثر واریته به روش دانکن

تیمار واریته	نیتروژن کل %	نیتروژن کل گرم در گلدان	ماده خشک گرم در گلدان
V1	۱/۱۲ A	۰/۱۲ A	۱۰/۴ A
V2	۱/۱۱ A	۰/۱۲ A	۱۰/۹ A
V3	۱/۰۷ A	۰/۱۰ A	۹/۵ A

نیتروژن کل و مقدار وزن ماده خشک گیاه نداشته است.

بحث و نتیجه گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که تیمارهای دارای باکتری *G.diazotrophicus* موجب افزایش رشد نیشکر به طور معنی داری شده‌اند و این امر می‌تواند علاوه بر تثبیت نیتروژن بدلیل ترشح هورمون رشد توسط این باکتریها باشد (۷). این باکتری می‌تواند به عنوان یک کود بیولوژیک موثر بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه را فراهم کند و در جهت کاهش

www.SID.ir

Archive of SID

مصرف کود شیمیائی نیتروژنه بکار گرفته شود، همچنین می‌تواند با تولید هورمون رشد در جهت افزایش رشد موثر باشد (۷).

جدول ۱ نشان داده شده است هر چند درصد نیتروژن در بافت گیاه کمتر از تیمار کودی است اما بالا بودن جرم ماده خشک و نیتروژن کل جذب شده نسبت به دو تیمار شاهد و ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن نشان دهنده اینست که علاوه بر نیتروژن عامل دیگری که احتمالا ترشح هورمون رشد توسط باکتری باعث رشد نیشکر شده است (۷).

افزایش نفوذ پذیری جمعیت باکتریهای تثبیت کننده نیتروژن به داخل گیاه نیشکر با تلقیح همزمان و استفاده توام این باکتری با دیگر باکتری های ثبیت کننده نیتروژن در نیشکر مانند باکتری *Herbaspirillum spp* می‌تواند ما را در کاهش مصرف کود شیمیائی کمک کند. اثر تحریک کنندگی مشترک این باکتریها در افزایش رشد گیاه نیشکر با قارچ هایVAM[1] توسط پولا و همکاران [2] (۱۰) نشان داده شده است.

در این جهت پیشنهاد می‌شود باکتریهای ومی*Herbaspirillumspp*، *Azospirillum spp* و قارچهای میکورایزا جداسازی، تا با مطالعه اثر متقابل آنها در شرایط گلخانه ای و در مراحل بعد در مزرعه، بهترین کود بیولوژیک جهت تامین نیتروژن مورد نیاز نیشکر معرفی گردد.

سپاسگزاری

از همکاری مسئولین مرکز تحقیقات نیشکر اهواز برای اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

منابع

۱. تهرانی، م. م ۱۳۷۷. نیترات از دیدگاه کشاورزی و محیط زیست. مجله زیتون، ویژه نامه شماره ۶، صص ۴۸-۵۱.

۲. جبلی، ج. ۱۳۷۸. تاثیرات زیست محیطی مواد شیمیائی در توسعه پایدار منابع آب و خاک. فصلنامه شرکت مهندسی مشاور مهاب قدس، جلد هشتم، صص ۲۲-۲۶.

3. Alexander, A. G. 1973. Sugarcane physiology. Elsevier Publ. Co. Amsterdam. 752 p.

4. Cavalcante, V.A., and Dobereiner, J. 1988. A new acid tolerant nitrogen fixing bacterium associated with sugarcane. Plant and Soil, 108:23-31

5. Dobereiner, J. and Ruschel, A. P. 1958. Uma nova especie *Beijerinckia fluminenisis.* Rerista de Biologia, Rio de Juniro, pp:261-279.

6. Dobereiner, J. 1997. Biological nitrogen fixation in the tropics and economic contributions. Soils Biotechnology, 29 (56): 771-774.

7. Fuentes-Ramirez, L. E., Jimenz-Salgado, T, Abarce-Ocampo, I.R and Caballero-Mellado, J. 1993. *Acetobacter diazotrophicus* an indole acetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico. Plant and Soil, 154:145-150.

1- Visicular arbuscular mycorrhizal
2- Paula *et al*.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Luis, E., Ramirez, F., Mellado, J. C., Sepulveda, J., Romero, M. E., 1999. Colonization of sugar cane by *Acetobacter diazotrophicus* is inhibited by high N fertilization. FEMS Microbiology Ecology, 29: 117-128.

9. Murashige, T., and Skoog, F. 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologla Plantarum,15: 473-497.

10. Paula, M. A., Reis, V. M., and Dobereiner, J. 1991. Interactions of *Glomus clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), sugarcane (*Saccharum* spp), and sweet sorghum (*Sorghum vulgare*). Soil Fertil and Fertilizer, 11:111-115.

11. Yamada, Y., Hashimo, K., Ishikawa, T. 1997. The phylogeny of acetic acid bacteria on the partial sequences of 16S ribosomol RNA: The elevation of the subgenus *Gluconacetobacter* to the generic level. Bioscience, Biotechnology and Biochemisty, 61: 1244-1251.

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

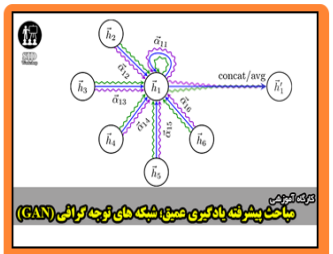
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)