

استفاده از جلبکهای سبز- آبی جدا شده از یک شالیزار در استان گیلان به عنوان کود زیستی در گیاه برنج (*Oryza sativa*)

هما سعادت نیا*، حسین ریاحی و جواد فخاری

تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۱

چکیده

جلبکهای سبز- آبی هتروسیست دار دسته‌ای از میکروارگانیسمهای آزاد تثبیت کننده ازت هوا هستند که به طور طبیعی در مزارع برنج رشد می کنند. در این بررسی جمعیت این جلبکها در خاک شالیزار در استان گیلان در فصول مختلف سال، جداسازی و شناسایی گردید و به صورت کود زیستی به گیاه برنج و شلتوکهای خیس‌مانده افزوده شد. در این آزمایش pH و رطوبت خاک شالیزار نیز اندازه‌گیری گردید. در آزمایش دیگری که با افزودن ۲ گرم جلبک به گلدانهای حاوی بذر گیاه برنج انجام شد، ارتفاع و وزن گیاه، طول ریشه، رطوبت، چگالی حجمی، چگالی ذره ای و منافذ خاک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به آزمایشات صورت گرفته تنها نمونه جلبک هتروسیست دار جنس *Anabaena* با ۴ گونه (به ترتیب فراوانی): ۱- *A. spiroides* -۲ *A. variabilis* -۳ *A. torulosa* -۴ *A. variabilis* بود. میزان pH (۶/۷، بهار و ۶/۲، زمستان) و رطوبت خاک (۴۳ درصد، بهار و ۳۶ درصد، زمستان) در بهار بیشتر و در زمستان کمتر از فصول دیگر بود. همچنین در بهار بیشترین تراکم جلبکهای سبز- آبی خاک با ۲۰ و ۱۲ کلنی در محیط کشت الف و ب و در زمستان کمترین تراکم جلبکهای سبز- آبی خاک با ۵ و ۴ کلنی در محیط کشت الف و ب مشاهده شد. در آزمایش اثر جلبکهای سبز- آبی بر تندش (Germination) دانه برنج، شلتوکهای خیس شده با آب و جلبک زودتر شروع به تندش کرده و میزان رشد گیاهکها و ریشه ها بعد از بیست روز بیشتر از شلتوکهای خیس شده با آب بود. در آزمایش کشت گلدانی نتایج به دست آمده شامل: ۵۳ درصد افزایش ارتفاع گیاه، ۶۶ درصد افزایش طول ریشه، ۵۸ درصد افزایش وزن تر برگ و ساقه، ۱۲۵ درصد افزایش وزن خشک برگ و ساقه، ۸۰ درصد افزایش وزن تر ریشه، ۱۵۰ درصد افزایش وزن خشک ریشه، ۲۰ درصد افزایش رطوبت، ۹/۸ درصد کاهش چگالی حجمی خاک، ۴/۸ درصد کاهش چگالی ذره ای خاک، ۲۸ درصد افزایش منافذ خاک بود که در تمامی موارد با توجه به آنالیزهای آماری انجام شده (آزمون t-test مستقل) اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) در گلدانهای تیمار نسبت به شاهد مشاهده شد.

واژه های کلیدی: کودهای زیستی، جلبکهای سبز-آبی، *Anabaena*، تندش

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۲۴۵۰۳۸۸۰، پست الکترونیکی: h_saadatnia60@yahoo.com

مقدمه

بردن لایه از ن و اسیدی شدن آب را به همراه می آورد. استفاده از کودهای زیستی باعث کاهش این مشکلات می شود (۱۰ و ۲۳). کودهای زیستی کودهای طبیعی هستند و شامل: باکتریها (ازتوباکتر)، قارچها (میکوریزا)، جلبکها (جلبکهای سبز- آبی) و غیره می باشند که نقش مهمی را در تغذیه گیاه و سلامت خاک به عهده دارند (۹). از جمله

نیترژن یکی از مهمترین عناصر پرمصرف در گیاه می باشد و کمبود این عنصر تقریباً در اکثر خاکها یا مزارع مشاهده می شود. بنابراین کود ازته یکی از پرمصرفترین کودها در مزارع است که این کود به صورت شیمیایی، آلی و زیستی استفاده می گردد (۳). کودهای شیمیایی علاوه بر گران بودن، مشکلات محیطی از قبیل: اثر گلخانه ای، از بین

صورت پذیرفته بر ۱۰۲ نمونه از خاکهای مزارع برنج کاری فیلیپین، هند، مالزی، پرتقال در سال ۱۹۸۷ توسط Roger و همکارانش اشاره نمود (۲۸) و نیز مطالعاتی که بر جلبکهای سبز- آبی جدا شده از خاک مزارع آفریقا در همان سال توسط Reynaud و Pedurand صورت پذیرفت (۲۲). در سال ۱۹۸۶ Roger و Watanabe نیز تحقیقی پیرامون تکنولوژیهای مورد استفاده برای تثبیت نیتروژن در مزارع برنج انجام دادند (۲۷).

تأثیر مثبت جلبکهای سبز- آبی علاوه بر برنج بر روی محصولاتی چون جو (Barley)، جو دو سر (Oats)، گوجه‌فرنگی (Tomato)، تربچه (Radish)، پنبه (Cotton)، نیشکر (Sugarcane)، ذرت (Maize)، فلفل (Chilli) و کاهو (Lettuce) نیز گزارش شده است (۳۱). امروزه از این جلبکها به عنوان کود زیستی برای محصول برنج در بسیاری از کشورها همچون هندوستان، ژاپن، چین، فیلیپین، اندونزی، مالزی، پرتقال، بنگلادش، روسیه، کشورهای آفریقایی و اسپانیا (۱۱ و ۲۱) و در سالهای اخیر در کشورهای آمریکای جنوبی استفاده می‌شود (۱۷). متأسفانه در کشور پهناوری چون ایران، با قابلیت بالای تولید و کشت برنج در ۱۷ استان کشور (بر گرفته از سایت www.berenge.com), هنوز مطالعه جدی در این زمینه صورت نپذیرفته است و مطالعات صورت پذیرفته، در سطح شناسایی و کشت این جلبکها در مقیاس آزمایشگاهی بوده است (۱).

مواد و روشها

نمونه برداری از یک شالیزار در روستای ازبیرم در ۶ کیلومتری شرق سیاهکل در استان گیلان در ماه میانی هر ۴ فصل سال صورت گرفت و سپس آزمایشات زیر انجام شد.

اندازه‌گیری pH خاک: ۲۰ گرم خاک را با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده ۳-۲ دقیقه هم زده و ۳۰ دقیقه به

این کودهای زیستی جلبکهای سبز- آبی هتروسیست دار هستند که در شالیزارها به فراوانی یافت می‌شوند چون اکوسیستم شالیزار محیط مناسبی را از لحاظ نور، دما، رطوبت زیاد برای رشد جلبکهای سبز- آبی نسبت به خاکهای دیگر فراهم می‌کند (۲۶). این موجودات دارای سلولهایی به نام هتروسیست هستند که در آن آنزیم ویژه‌ای به نام نیتروژناز وجود دارد که نیتروژن هوا را پس از جذب، تبدیل به ترکیبات نیتروژن دار می‌کند (۲۴ و ۳۵). از خصوصیات دیگر این جلبکها می‌توان به افزایش منافذ خاک به علت داشتن ساختار رشته‌ای و تولید مواد چسبنده، ترشح مواد محرک رشد از قبیل هورمونها (اکسین و جبریلین) ویتامینها و اسیدهای آمینه (۲۵، ۲۶ و ۳۵)، جلوگیری از تشکیل مواد سمی در خاک با عمل فتوستتر و تولید O_۲، افزایش ظرفیت نگهداری آب خاک به دلیل ساختار ژله‌ای (۲۶)، افزودن بیوماس به خاک بعد از مرگ و تجزیه شدن، کاهش شوری خاک (۵ و ۳۵)، جلوگیری از فرسایش خاک (۱۰)، جلوگیری از رشد علفهای هرز، افزایش سطح فسفات خاک با ترشح اسیدهای آلی اشاره نمود (۳۶). اولین بار Fritsch در سال ۱۹۰۷ فراوانی جلبکهای سبز- آبی را در مزارع برنج گزارش کرد (۱۵). Bannerji در سال ۱۹۳۵ نیز مطالعات فراوانی در این زمینه انجام داد (۷) و در نهایت اهمیت جلبکهای سبز-آبی تثبیت کننده ازت در حاصلخیزی شالیزارها توسط De در سال ۱۹۳۹ تشخیص داده شد (۱۲). Watanabe و همکارانش در سال ۱۹۵۱ با افزودن *tolypothrix tenuis* به مزارع برنج ۲۵ درصد افزایش محصول را مشاهده کردند و در سال ۱۹۵۹ همین محقق تعدادی از جلبکهای سبز- آبی تثبیت کننده ازت را در ۶۴ نمونه از مزارع برنج بخشهای مختلف آسیا شناسایی و معرفی نمود (۳۴).

در زمینه شناسایی این جلبکها و به کارگیری آنها به عنوان کود زیستی مطالعات گسترده ای توسط محققان مختلف از سراسر جهان از جمله Venkataraman در سال ۱۹۵۶ صورت پذیرفت (۳۲) و بعد از آن می‌توان به مطالعات

۲۶-۳۰ درجه سانتی گراد و تناوب نوری ۱۲ ساعته به مدت ۳۰-۳۵ روز قرار داده شدند (۱۹).

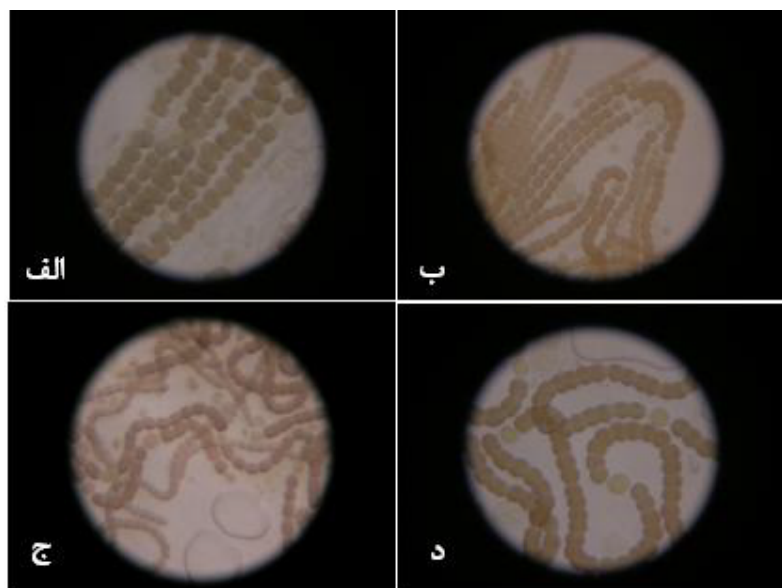
خالص سازی، شناسایی و تکثیر: به منظور خالص سازی، شناسایی و تکثیر جلبکها، مقداری نمونه توسط لوپ برداشته و به صورت زیگزاگ روی یک پلیت جدید کشیده شد (۱۹). بعد از رشد جلبکها، نمونه ها به هر دو محیط کشت الف و ب مایع در ارلنها منتقل و به مدت ۲ هفته (۳۲) در دستگاه لرزاننده با دور ۱۰۰ rpm، دمای ۳۰-۲۶ درجه سانتی گراد و تناوب نوری ۱۲ ساعته قرار داده شدند (۳۰).

اثر جلبکهای سبز-آبی بر تندش دانه برنج: در شش ظرف به طور جداگانه ۱۰۰ عدد شلتوک برنج خیسانده شد. به هر سه عدد از این ظرفها حدود ۱/۰ گرم به طور جداگانه جلبک (مخلوطی از ۴ گونه جلبک *Anabaena*) نیز اضافه شد. بعد از ۲۰ روز ارتفاع گیاهکها و طول ریشهها بررسی گردید.

حالت سکون گذاشته، ۲ میلی لیتر از محلول رویی برداشته شد و با استفاده از pH متر (مدل CD 500، آلمان)، pH اندازه گیری شد (۱۶).

اندازه گیری رطوبت خاک: مقدار معینی خاک در آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گذاشته و سپس وزن گردید. اختلاف وزن نشان دهنده میزان رطوبت موجود در خاک می باشد (۱۶).

جداسازی جلبکها از خاک: سوسپانسیونی از آب و خاک با رقت 10^{-2} و 10^{-3} تهیه شد. به دلیل رشد جلبکهای سبز-آبی هتروسیست دار در محیط کشت فاقد نیترون، دو محیط کشت جامد فاقد نیتروژن شامل: (Modified Benecke's solution) و (Tretyakova) به ترتیب به عنوان محیطهای کشت الف و ب تهیه شد (۱۹). محیط کشت در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ PSI به مدت ۲۰ دقیقه استریل و سپس به پلیتها منتقل شد. بعد از جامد شدن آگار ۱ میلی لیتر از هر رقت به هر کدام از پلیتها اضافه شد. پلیتها در دستگاه کشت (Germinator) با دمای



شکل ۱- الف) *A. spiroides* (ب) *A. osillarioides* (ج) *A. torulosa* (د) *A. variabilis*

استفاده شد. شلتوک برنج ابتدا به مدت ۲۰ روز درون یک پارچه مرطوب خیس خورد (۴). بعد از ۲۰ روز گیاهکهای

کشت گلدانی: برای آنالیزهای گلدانی از دو گلدان شاهد (بدون جلبک) و تیمار (با جلبک) هر کدام با ۳ تکرار

بعد از سه هفته، ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن تر گیاه، وزن خشک گیاه، رطوبت خاک، چگالی حجمی خاک، چگالی ذره ای خاک و میزان منافذ موجود در خاک اندازه گیری شد.

برنج با ارتفاع ۲ سانتیمتر به گلدها انتقال یافتند. در هر گلدان از ۵ گیاهک استفاده شد و گلدها در دمای آزمایشگاه و پشت پنجره (در فصل تابستان) نگهداری شدند. جلبک زنده یک هفته قبل و یک هفته بعد از انتقال گیاهکها هر بار ۱ گرم به گلدهای تیمار اضافه گردید.

جدول ۱- میانگین pH و رطوبت خاک و تراکم جلبکهای سبز-آبی در چهار فصل سال

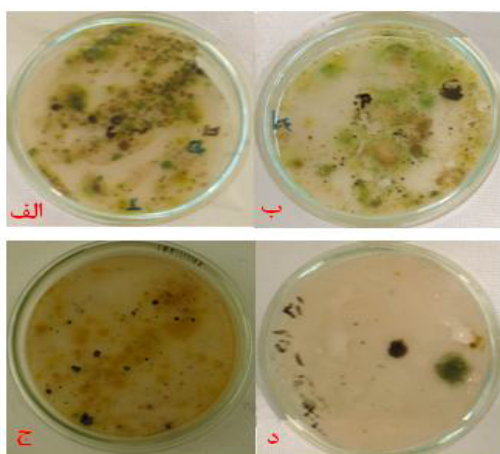
| فصل | pH | رطوبت | تعداد کلنیها در محیط | تعداد کلنیها در محیط |
|---------|-----|-------|----------------------|----------------------|
| بهار | ۶/۷ | ٪۴۳ | ۱۲ ± ۱ | ۲۰ ± ۲ |
| تابستان | ۶/۶ | ٪۳۹ | ۱۰ ± ۲ | ۱۵ ± ۱ |
| پاییز | ۶/۳ | ٪۳۶ | ۷ ± ۲ | ۱۰ ± ۱ |
| زمستان | ۶/۲ | ٪۳۶ | ۴ ± ۱ | ۵ ± ۲ |

جا بجا شده است. وزن خاک خشک که در ابتدا ۵ گرم بود به وزن آب جا بجا شده تقسیم شد (۸):

$$\text{چگالی ذره ای خاک} = \frac{\text{وزن آب جا بجا شده}}{\text{وزن خاک}}$$

$$\times 100 = \frac{\text{چگالی حجمی}}{\text{چگالی ذره ای}} - 1 = \text{میزان منافذ موجود در خاک}$$

آنالیزهای آماری: آنالیزهای آماری با استفاده از آزمون t-test مستقل و نرم افزار (SPSS 9.0) انجام شد.



شکل ۲- تراکم جلبکهای سبز-آبی در (الف) بهار، (ب) تابستان، (ج) پاییز و (د) زمستان

وزن خشک گیاه: وزن خشک گیاه با قرار دادن گیاه به همراه ریشه، در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت محاسبه گردید (۲۰).

چگالی حجمی خاک: مقداری خاک در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گذاشته شد تا آب آن کاملاً خشک شود، بعد کمی خاک کوبیده شد. سپس بشر معینی را با خاک پر کرده، وزن خاک درون بشر را اندازه گرفته و بر حجم بشر تقسیم شد (۸).

$$\text{چگالی حجمی خاک} = \frac{\text{وزن خاک}}{\text{حجم ظرف}}$$

چگالی ذره ای خاک: ۵ گرم خاک خشک شده در آون را کاملاً کوبیده، خاک را درون یک پیکنومتر ریخته و تا نصف حجم پیکنومتر آب مقطر افزوده شد. پیکنومتر چند دقیقه داخل آب ۹۰ درجه قرار داده (طوری که آب وارد آن نشود) و مرتباً تکان داده شد. سپس پیکنومتر با آب مقطر کاملاً پر شد. در پیکنومتر را گذاشته و آب پیکنومتر خارج گردید. سپس پیکنومتر با خاک درون آن وزن شد. پیکنومتر خالی را نیز وزن کرده، اختلاف وزن نشان دهنده میزان آب

نتایج

جلبک، بعد از دو روز شروع به جوانه زنی کرده و در طول بیست روز ارتفاع گیاهکها به ۷ سانتیمتر و طول ریشه ها به ۳ سانتیمتر رسید که اثبات کننده یکی از اعمال این جلبکها یعنی، ترشح مواد محرک رشد می باشد (جدول ۲ و شکل ۳). در آزمایش کشت گلدانی با توجه به آنالیزهای انجام گرفته اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) در تمام موارد مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۴). از جمله تأثیرات این جلبکها، افزایش ارتفاع گیاه، طول ریشه و وزن گیاه تیمار نسبت به گیاه شاهد بود. همچنین در این آزمایش، افزایش رطوبت و درصد منافذ خاک و کاهش چگالی حجمی و ذره‌ای خاک تیمار نسبت به شاهد مشاهده شد.

جدول ۲- اثر جلبکهای سبز-آبی بر تندش دانه برنج

| نمونه (گیاه) | شاهد | تیمار |
|-----------------------------------|------|-------|
| میانگین ارتفاع گیاهکها (سانتیمتر) | ۴ | ۷ |
| میانگین طول ریشه‌ها (سانتیمتر) | ۰/۵ | ۳ |

pH اندازه‌گیری شده خاک در مرحله اول این تحقیق در بهار، تابستان، پاییز و زمستان (به ترتیب) ۶/۷، ۶/۶، ۶/۳، ۶/۲ و رطوبت ۴۳ درصد، ۳۹ درصد، ۳۶ درصد، ۳۶ درصد بود (جدول ۱). تنها نمونه جلبک هتروسپست دار جنس *Anabaena* با ۴ گونه (به ترتیب فراوانی): ۱- *A. Variabilis* بود (شکل ۱) (۱۳). در فصل بهار بیشترین تراکم با ۲۰ و ۱۲ کلنی در محیط کشت الف و ب و در زمستان کمترین تراکم با ۵ و ۴ کلنی در محیط کشت الف و ب مشاهده شد (جدول ۱ و شکل ۲). در آزمایش اثر جلبکهای سبز-آبی بر تندش دانه برنج، شلتوکهای خیس‌انده شده با آب، بعد از پنج روز شروع به جوانه زنی کرده و در طول بیست روز ارتفاع گیاهکها ۴ سانتیمتر و طول ریشه ها به ۰/۵ سانتیمتر رسید. شلتوکهای خیس‌انده شده با آب و



شکل ۳- الف) شلتوکهای خیس شده با آب. ب) شلتوکهای خیس شده با آب و جلبک بعد از بیست روز



شکل ۴- A) گیاه شاهد (بدون جلبک). B) گیاه تیمار (با جلبک)، بعد از سه هفته از انتقال گیاهکهای ۲ سانتیمتری به گلدانها

جدول ۳- تأثیرات جلبکهای سبز-آبی بر روی گیاه و خاک

| درصد تغییرات | تیمار | شاهد | نمونه (گیاه و خاک) |
|--------------|--------------|--------------|--------------------------------------|
| ۵۳ | ۲۰ ± ۰/۳۰* | ۱۳ ± ۰/۲۰* | ارتفاع گیاه (سانتی متر) |
| ۶۶ | ۵ ± ۰/۲۰* | ۳ ± ۰/۱۰* | طول ریشه (سانتی متر) |
| ۵۸ | ۰/۲۷ ± ۰/۰۲* | ۰/۱۷ ± ۰/۰۱* | وزن تر برگ و ساقه (گرم) |
| ۸۰ | ۰/۴۷ ± ۰/۰۳* | ۰/۲۶ ± ۰/۰۲* | وزن تر ریشه (گرم) |
| ۱۲۵ | ۰/۰۹ ± ۰/۰۱* | ۰/۰۴ ± ۰/۰۱* | وزن خشک برگ و ساقه (گرم) |
| ۱۵۰ | ۰/۱۵ ± ۰/۰۲* | ۰/۰۶ ± ۰/۰۱* | وزن خشک ریشه (گرم) |
| ۲۰ | ٪۳۰ ± ٪۳* | ٪۲۵ ± ٪۲* | رطوبت (درصد) |
| -۹/۸ | ۱/۵۳ ± ۰/۰۳* | ۱/۶۸ ± ۰/۰۲* | چگالی حجمی (گرم بر سانتی متر مکعب) |
| -۴/۸ | ۱/۸۶ ± ۰/۰۳* | ۱/۹۵ ± ۰/۰۱* | چگالی ذره ای (گرم بر سانتی متر مکعب) |
| ۲۸ | ٪۱۸ ± ٪۲* | ٪۱۴ ± ٪۱* | منافذ (درصد) |

*اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ که با استفاده از آزمون t-test مستقل (SPSS 9.0) انجام شد.

بحث

آنابین را از جنسهای غالب در شالیزارهای شمال کشور گزارش کرد. مقایسه شلتوکهای تیمار شده با جلبک و شلتوکهای شاهد نشان داد که جلبکهای سبز-آبی علاوه بر تسریع در تندش، سبب رشد بیشتر ریشه و جوانه می شوند. در واقع این عمل جلبکهای سبز-آبی اولین بار توسط Kannaiyan در سال ۱۹۸۵ کشف شد (۱۵) و یکی از ساده ترین روشها برای اثبات این موضوع مقایسه شلتوکهای خیسانده شده با جلبک و بدون جلبک می باشد که آزمایشات انجام شده توسط Kannaiyan نشان داد که جلبک نه تنها باعث تحریک رشد شده بلکه سبب افزایش وزن و پروتئین محصول نیز می شود (۱۸). در آزمایش مشابهی Neelakantan و Venkataraman در سال ۱۹۶۷، ۱۲ عامل محرک رشد شامل: Tween 80, Riboflavin, Niacin, Ca-pantothenate, Thiamine-HCL, Pyridoxal, p-Aminobenzoic acid, Folic acid, Biotin, Vit. B₁₂, Thymidine, Orotic acid به همراه عصاره استخراج شده از جلبکهای سبز-آبی را بر روی شلتوکهای برنج بررسی و مشاهده کردند که ویتامین B₁₂ و عصاره جلبک تأثیر بسیار زیادی نسبت به ۱۱ عامل محرک رشد دیگر بر رشد ریشه بعد از سه روز داشتند، از طرفی تأثیر یکسانی که ویتامین B₁₂ و عصاره جلبک بر روی رشد ریشه داشتند اثبات کننده

تحقیقات گذشته نشان داده که pH بالا و رطوبت جزء عوامل مهم و مؤثر در رشد جلبکها می باشد، در واقع با افزایش pH و رطوبت تراکم این جلبکها نیز افزایش می یابد (۱۴). در این آزمایش با توجه به اختلاف بسیار کمی که بین pH فصول مختلف سال مشاهده شد می توان رطوبت را به عنوان عامل اصلی افزایش جلبکهای سبز-آبی در بهار نسبت به فصول دیگر سال ذکر کرد. نتایج به دست آمده در قسمت اول این تحقیق نشان داد که فصل بهار دارای بیشترین جمعیت جلبکهای سبز-آبی می باشد و در نتیجه می توان فصل بهار را مناسب ترین فصل برای نمونه برداری انتخاب کرد. در این فصل شرایط مساعدتری برای رشد جلبکها نسبت به فصول دیگر سال فراهم می باشد و در نتیجه جمعیت جلبکها نیز بیشتر است. با توجه به شباهت زیاد دو محیط کشت الف و ب تفاوت در تعداد کلنیها را می توان به یون آهن نسبت داد زیرا این عنصر از عناصر مهم برای رشد این جلبکها می باشد و در ساختمان سیتوکرومها، فردوکسین و مهمتر از همه آنزیم نیتروژناز حضور دارد (۱۴). با توجه به تحقیقات انجام شده در خصوص بررسی جلبکهای سبز-آبی شالیزارهای شمال ایران (۱ و ۲) و نتایج حاصل از این تحقیق می توان

آزمایش نیز افزایش رطوبت خاک تیمار نسبت به شاهد اثبات کننده یکی از نقشهای این جلبکها می باشد که با داشتن دیواره ژله ای باعث نگهداری آب خاک می شوند، همچنین با داشتن دیواره ژله ای و ساختار رشته ای باعث چسبیدن ذرات خاک به هم شده که این عمل سبب افزایش منافذ خاک و هوادهی بیشتر و همچنین سبک تر شدن و کاهش چگالی خاک می شود که تمام این نتایج در این تحقیق مشاهده شدند. با توجه به این امر می توان جلبکهای سبز-آبی را جانشینی مناسب برای کودهای شیمیایی دانست که هم کاربرد بیشتر و هم ضرر کمتری برای کشاورزی و در نهایت محیط زیست دارند.

سپاسگزاری: در انجام این تحقیق از جناب آقای دکتر داریوش مینایی تهرانی استادیار دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی به دلیل تهیه بعضی منابع و آقای حامد سعادت نیا به دلیل همکاری در ویرایش این مقاله قدردانی می گردد.

۳- غیور، ا. س، کرم زاده، ۱۳۸۱، فیزیولوژی گیاهی، انتشارات سنجش، ۲۴۳ صفحه.

۴- معین، م. ج. ع، کریمی پور کاشانی، ۱۳۶۲، اصول مقدماتی کشت و زراعت برنج، انتشارات سازمان ترویج کشاورزی، ۲۲۱ صفحه.

- 5- Abul Hashem, MD., 2000, Problems and prospects of Cyanobacterial biofertilizer for rice cultivation, Australian Journal of Plant Physiology, 28(9): 881-888.
- 6- Aiyer, R.S., Salahudeen, S. and Venkataraman, G.S., 1972, On a long term algalization field trials with high yielding rice varieties: Yield and Economics, Indian Journal of Agricultural Sciences, 42: 382.
- 7- Bannerji, J.C., 1935, On algae found in soil samples from an alluvial paddy field of Faridpur, Bengal. Science and Culriire, 1: 298-7-99.
- 8- Blake, G. R., Hartage, K. H., 1986, Water use in crop production, Haworth press, pp 385.

ترشح این ماده محرک رشد (ویتامین B₁₂) از جلبکهای سبز-آبی می باشد (۳۳).

تیمار گیاه برنج با جلبکهای سبز-آبی جدا شده از مزرعه برنج نشان داد که این جلبکها می توانند نقش مهمی را در رشد گیاه برنج داشته باشند. Venkataraman & Neelakantan در سال ۱۹۶۷ با مقایسه ریشه گیاه برنج تیمار شده با جلبک و ریشه گیاه شاهد ۸۹/۵ درصد افزایش در وزن خشک ریشه گیاه تیمار را مشاهده کردند (۳۳). این موجودات علاوه بر این، تغییراتی بر روی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی خاک داشتند که این تغییرات برای گیاه برنج سودمند می باشد. Sankaram (۱۹۷۱) خصوصیات فیزیکی خاک را در حضور و فقدان جلبکهای سبز-آبی بررسی کرد (۲۹). در سال ۱۹۷۲ Ayert و همکارانش نیز خصوصیات شیمیایی خاک را بررسی کرده و به نتایج مشابهی دست یافتند و در نتیجه تأثیرات مثبت جلبکهای سبز-آبی بر خاک را گزارش کردند (۶). در این

منابع

- ۱- ابرکار، م. ح، ریاحی، ۱۳۷۳، جداسازی و بررسی جلبک های سبز-آبی، پژوهش و سازندگی، شماره ۲۵
- ۲- سلطانی، ن.، شکروی، ش.، بافته چی، ل.، ۱۳۸۵، سیانوباکتریهای مزارع برنج در ایران، چهاردهمین کنفرانس سراسری و دومین کنفرانس بین المللی زیست شناسی ایران، دانشگاه تربیت مدرس.
- 9- Board, N., 2004, The Complete Technology Book on Bio-Fertilizere and Organic Farming, NIIR Board, pp 620.
- 10- Choudhury, A. T. M. A., Kennedy, I. R., 2005, Nitrogen fertilizer losses from rice soils and control of environmental pollution problems, communications in soil science and plant analysis, 36 (11-12): 1625-1639.
- 11- Chunleuchanon, S., Sooksawnag, A., Teamoong, N. and Boonkerd, K., 2003, Diversity of nitrogen-fixing cyanobacteria under various ecosystems of Thailand: population dynamics as affected by environmental factors, World J Microbiol Biotechnol, 19:167-173.
- 12- De, P.K., 1939, The role of blue-green algae in nitrogen fixation in rice fields, Proceedings of

- the Royal Society of London, Series B. 127: 121 - 139.
- 13- Desikachary, T.V., 1959, Cyanophyta, indian council of agricultural research new delhi, pp 686.
- 14- Fogg, G. E., Stewart, W. D. P., Fay, P. and Walsby, A. E., 1973, The blue-green algae, Academic press INC, London and Newyork, pp 459.
- 15- Fritsch, F.E., 1907, A general consideration of aerial and fresh water algal flora of Ceylon. Proceedings of the Royal Socieg of London, Series B, 11: 79-197.
- 16- Hayes, W.A., 1981, International studies of physical, chemical and biological factors in casing soils, mushroom science, XI: 103-120.
- 17- Irisarri, P., Gonnet, S. and Monza, J., 2001, Cyanobacteria in Uruguayan rice fields: diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides and combined nitrogen, J Biotechnol, 91:95-103.
- 18- Kannaiyan, S., 1987, Use of Azolla in India. In Azolla Utilization. Proceedings of the Workshop on Acolla Use, Fuzhou, Fujian, China, 31 March-5 April 1985. International Rice Research Institute. PO Box 933, Manila, Philippines. pp. 109- 118.
- 19- Kaushik, B. D., 1987, Laboratory cultivation blue-green algae, associated publishing co,new delhi, pp 70.
- 20- Meloni, D.A., Gulotta, M.R., Martinez, C.A. and Oliva, M.A., 2004, The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in, Brazilian journal Plant Physiology, 16(1): 39-46.
- 21- Mishra, U., Pabbi, S., 2004, Cyanobacteria: a potential biofertilizer for rice, Resonance 6-10.
- 22- Pedurand, .P., Reynaud.P.A., 1987, Do cyanobacteria enhance germination and growth of rice? Plant and Soil, 101: 135 -240.
- 23- Rai, M. K., 2006, Handbook of Microbial Biofertilizers, Haworth Press, pp 543.
- 24- Rai, A. N., Soderback, E. and Bergman, B., 2000, Cyanobacterium-plant symbioses, 147(116): 449-488.
- 25- Rodriguez, AA., Stella, AA., Storni, MM., Zulpa, G. and Zaccaro, MC., 2006, Effects of cyanobacterial extracellular products and gibberellic acid on salinity tolerance in *Oryza sativa* L., Saline Systems 2006: 2-7.
- 26- Roger, P.A., Reynaud, P.A., 1982, Free-living blue-green algae in tropical soils, Martinus Nijhoff Publisher La Hague, pp 168.
- 27- Roger, P., Watanabe, I., 1986, Technologies for utilizing biological nitrogen fixation in lowland rice:potentialities. current usage and limiting factors, Fertilizer Research, 9: 39-77.
- 28- Roger, P.A., Santiago-Ardales, S., Reddy, P.M. and Watanabe.I., 1987, The abundance of heterocystous bluegreen algae in rice soils and inocula used for application in rice fields. Biolog and Ferrilip of Soils, 1: 98- 105.
- 29- Sankaram, A., 1967, Work Done on Blue-green Algae in Relation to Agriculture, Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, Bulletin 27: 27-28.
- 30- Schiefer, G.E., Caldwell, D.E., 1982, Synergistic interaction between *Anabaena* and *zoogloea* spp. In carbon dioxide-limited continous cultures, 44(1): 84-87.
- 31- Thajuddin, N., Subramanian,G., 2005, Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology, Current Science, 89(1,10): 47-57.
- 32- Venkataraman, G.S., 1972, Algal biofertilizer and rice cultivation, today and tomorrow printers and publishers,new delhi, pp 72.
- 33- Venkataraman, G. S., Neelakantan, s., 1967, effect of the cellular constituets of the nitrogen fixing blue-green algae, *Cylindrospermum muscicola* on the root growth of rice seedlings, J.gen. appl. Microbiol, 13: 53.
- 34- Watanabe, A., Ito, R. and Konishi, C., 1951, Effect of nitrogen-fixing blue-green algae on the growth of rice plants, Nutrire, 168: 748-749.
- 35- Wilson, L.T., 2006, Cyanobacteria: A Potential Nitrogen Source in Rice Fields, texas rice, 6(6): 9-10.
- 36- Whitton, B.A., Roger, P.A., 1989, Use of blue-green algae and *Azolla* in agriculture, Society for General Microbiology, 25: 89-100.

Using of isolated blue-green algae from a paddy in Gillan province as a biofertilizer in rice plant (*Oryza sativa*)

Saadatnia H. and Riahi H.

Faculty of Biosciences, University of Shahid Beheshti, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Heterocystous blue-green algae (BGA) are group of nitrogen fixation free living microorganisms that grow naturally in paddy fields. In this research BGA population of one paddy in Gillan province in different seasons, were isolated, identified and added to rice and soaked seeds as a biofertilizer. In this examination pH and moisture of soil were measured. In another examination, 2g algae were added to rice pots and plant height and total weight, root length, moisture, bulk density, particle density and porosity of soil were surveyed. *Anabaena* was the only heterocystous BGA found in soil samples with four species: *A. spiroides*, *A. osillarioides*, *A. torulosa* and *A. variabilis*. The highest and lowest pH (6.7, Springer & 6.2, winter) and moisture of soil (43%, Springer & 36%, winter) was in spring and winter, respectively. In addition the highest of blue-green algae population in spring (20, 12 in A & B medium) and lowest in winter (5, 4 in A & B medium) were observed. Rice seeds soaked in water and BGA germinated earlier than control seeds and the height of seedlings and roots of treated seeds were more than seeds soaked in water after 20 days. The result of pot culture experiment were: 53% increase in plant height, %66 increase in Roots length, %58 increase in Weight of fresh leaf and stem, %80 increase in Weight of fresh root, %125 increase in Weight of dry leaf and stem, %150 increase in Weight of dry root of seedling grown in pots and %20 increase in Moisture and %9.8 decrease in Bulk density, %4.8 decrease in Particle density, %28 increase in Porosity of soil and there were significant differences in pot treated with BGA as compared with control.

Keywords: Biofertilizers, Blue-green algal, *Anabaena*, Germination