



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۴
صفحه‌های ۹۲۴-۹۱۱

بررسی تأثیر تلقیح ریزغده سیب‌زمینی با باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و مقدار جذب عناصر غذایی

فرشید حسنی^{۱*}، احمد اصغرزاده^۲، محمدرضا اردکانی^۳، آیدین حمیدی^۴

۱. دانش‌آموخته دکتری، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
۲. استادیار بخش بیولوژی خاک، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کرج، ایران
۳. استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
۴. استادیار، بخش تحقیقات کنترل و گواهی بذر، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کشور، کرج، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۲۱

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۹/۲۶

چکیده

به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر مقدار جذب عناصر غذایی و افزایش بازده تولید ریزغده سیب‌زمینی حاصل از کشت بافت، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار، در گلخانه مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال در سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. ریزغده‌های دو رقم 'آگریا' و 'سانته' با زادمایه ۱۱۶ و ۱۷۳ باکتری سودوموناس و نیز دو جنس باکتری باسیلوس (*B. megaterium* و *B. subtilis*) به صورت مجزا و مخلوط با هم مایه‌زنی شدند. در پایان مرحله پر شدن غده، مقدار عناصر غذایی فسفر، نیتروژن، پتاسیم، آهن، روی و منگنز اندازه‌گیری شد. ریزغده‌های تولیدی در اندازه‌های مختلف درجه‌بندی شد و عملکرد کل ریزغده تولیدی در اندازه استاندارد تعیین شد. مایه‌زنی با باکتری‌ها بر تعداد ریزغده تولیدی و جذب عناصر غذایی تأثیر مثبت و معنادار داشت. دو رقم از نظر مقدار جذب عناصر غذایی به جز پتاسیم و تعداد ریزغده تولیدی در اندازه استاندارد اختلاف معنادار نشان دادند. با مقایسه میانگین صفات مشخص شد که تیمارهای تلفیقی دو نوع باکتری بیشترین سهم را بر مقدار جذب عناصر غذایی و نیز تعداد ریزغده در اندازه استاندارد در قیاس با تیمار شاهد (عدم تلقیح با باکتری) داشت. رقم 'سانته' با برتری ۴۸ درصدی، بیشترین تعداد ریزغده را در قیاس با رقم 'آگریا' تولید کرد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، تلقیح سیب‌زمینی با باکتری‌های محرک رشد به صورت مجزا و تلفیقی ضمن تشدید تأثیرات هم‌افزایی از طریق افزایش رشد و توسعه ریشه و در نتیجه جذب بهتر عناصر غذایی می‌تواند سبب افزایش عملکرد و بازده تولید ریزغده شود.

کلیدواژه‌ها: باسیلوس، تولید ریزغده، جذب عناصر، سودوموناس، مایه‌زنی.

۱. مقدمه

با توجه به متوسط سطح زیرکشت محصول سیب‌زمینی در ایران، مقدار بذر لازم در هر سال در طبقات مختلف بالغ بر ۵۰۰ تا ۶۰۰ هزار تن برآورد می‌شود [۲]. در ایران از سال شروع تولید بذر سیب‌زمینی، همواره منشأ اولیه بذر از طریق واردات تأمین شده است. بذر وارداتی نگرانی‌هایی از جمله ورود احتمالی آفات و بیماری‌های قرنطینه‌ای به کشور، آسیب بذر در اثر حمل و نگهداری و نیز خروج مقادیر زیادی ارز از کشور (بیش از ۳ میلیون دلار در سال) در پی داشته است.

با توجه به نیاز ۱۲۰۰ تن بذر در کلاس^۱ SE در چرخه تولید بذر سیب‌زمینی در کشور، برنامه‌ریزی تولید ریزغده در راستای تحقق این مقدار تولید بذر در کلاس SE صورت گرفت. بر این اساس، هر ساله بین ۵ تا ۵/۵ میلیون عدد مینی‌تیوبر در کشور لازم است [۴]. تولید ریزغده سیب‌زمینی با استفاده از تکنیک کشت بافت با هدف افزایش ضریب تکثیر، تولید هسته اولیه بذر سالم، امکان ذخیره ژرم‌پلاسما جدید و انتقال آسان مواد گیاهی را میسر می‌سازد.

کودهای زیستی^۲ ضمن بهبود چرخه عناصر فعالیت‌های حیاتی خاک، موجب دسترسی مطلوب گیاه به آب و عناصر غذایی پرمصرف و ریزمغذی و درنهایت، سبب افزایش عملکرد گیاه می‌شود. باکتری‌های مفید خاک‌زی که سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند و اصطلاحاً باکتری‌های محرک رشد گیاه^۳ نام دارند، از جمله مهم‌ترین انواع کودهای زیستی محسوب می‌شوند [۶].

ریزجاندارهای حل‌کننده فسفات^۴ عامل افزایش جذب فسفرند و استفاده از آنها به صورت کودهای زیستی، سبب

بهبود وضعیت تغذیه‌ای خاک، ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی و کنترل بیماری‌های خاک‌زاد و در نهایت رشد بهتر و عملکرد بیشتر گیاهان زراعی می‌شود [۱۵، ۳۲]. این قبیل کودها از طریق سازوکارهای متنوعی از جمله تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر گیاه، تثبیت نیتروژن، ساخت آنتی‌بیوتیک‌ها، سیدروفورها و همچنین ترشح آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند [۱۷، ۱۸]. برخی از این باکتری‌ها می‌توانند به‌طور معناداری مواد معدنی مفید از جمله فسفر، پتاسیم، منیزیم، منگنز، آهن، مس و روی را آزاد کنند و بنابراین محیط کشت و رشد گیاه را تغییر دهند [۲۶، ۲۵].

باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند عملکرد گیاهان زراعی از جمله چغندر قند [۳۴]، ذرت [۲۹]، برنج [۱۲]، گندم [۳۵]، جو [۱۰] و سیب‌زمینی [۱۳] را افزایش دهند. افزایش عملکرد سیب‌زمینی با فعالیت برخی از باکتری‌ها در بستر کشت از جمله *Pseudomonas fluorescence* و *P. putida* پیشتر گزارش شد [۲۰]. با بررسی بیش از ۱۵۰ ایزوله باکتری سودوموناس در شرایط گلخانه، شاهد افزایش تأثیرگذار آن بر رشد گیاه و تولید غده سیب‌زمینی بودند [۳۳]. کاربرد باکتری باسیلوس به‌تنهایی یا در ترکیب با کود شیمیایی حداکثر عملکرد سیب‌زمینی را موجب می‌شود. همچنین عملکرد غده‌های قابل فروش بین ۳۴/۷ و ۱۱/۸ درصد به‌ترتیب در طی دو سال ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ افزایش نشان داد [۱۳]. با توجه به تکثیر اندک ریزغده در فرایند تولید، چنانچه بهره‌گیری از کودهای زیستی همراه با بهبود جذب عناصر غذایی امکان افزایش تولید ریزغده را موجب شود، ضمن کاهش هزینه تولید به‌واسطه کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، صرفه اقتصادی بیشتری را برای تولیدکننده به‌همراه خواهد داشت. نظر به پژوهش‌های اندک در زمینه تلقیح ریزغده سیب‌زمینی با ترکیبات زیستی

- 1 . Super Elit
- 2 . Biofertilizer
- 3 . Plant growth promoting rhizobacteria
- 4 . Phosphate solubilizing microorganisms

گلدان‌ها با مخلوط پرلیت^۱ و پیت ماس^۲ استریل به نسبت یک به یک تا نیمه پر شدند.

ریزغده‌ها برای تلقیح با باکتری‌ها پس از قرار گرفتن در محلول سوسپانسیون باکتری به مقدار ۵ میلی‌لیتر با جمعیت $10^9 \times 1/6$ و $10^9 \times 1/8$ باکتری زنده و فعال در هر میلی‌لیتر ($CFU \text{ ml}^{-1}$) به ترتیب برای باکتری‌های سودوموناس سویه‌های ۱۷۳ و ۱۱۶ و نیز برای گونه‌های باکتری جنس باسیلوس *B. subtilis* و *B. megaterium* با جمعیت $10^9 \times 1/4$ و $10^9 \times 1/8$ باکتری زنده و فعال در هر میلی‌لیتر ($CFU \text{ ml}^{-1}$) به صورت غرقابی به مدت ۲۰ دقیقه در محلول باکتری انفرادی و تلقیحی با توجه به تیمار مورد نظر قرار گرفتند و سپس به بستر کشت اصلی منتقل شدند. در زیر هر گلدان، از یک زیرگلدانی برای جمع‌آوری محلول غذایی خارج شده به منظور کنترل pH و شوری آن استفاده شد. عملیات داشت و مراقبت از گیاهچه‌ها در تیمارهای شاهد و تیمارهای مایه‌زنی شده به صورت یکسان انجام گرفت. تغذیه گیاهچه‌ها با کود کامل البت^۴ (در بسته‌های ۲ کیلوگرمی تولید انگلستان، با ترکیب N.P.K به نسبت ۲۰:۲۰:۲۰ و حاوی تمام عناصر ریزمغذی) به غلظت ۰/۳ در هزار و به صورت محلول با حجم یکسان ۱۵ روز یک‌بار صورت پذیرفت. شدت نور در سطح کانوپی گیاه بین ۵۵۰ تا ۶۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه و تغییرات دمایی شبانه‌روز $20 \pm 5/30 \pm 5$ (روز/شب) درجه سانتی‌گراد بود. همچنین به منظور بهره‌مندی یکسان همه گلدان‌ها از آب مصرفی، سیستم آبیاری نواری طراحی و اجرا شد.

به منظور اندازه‌گیری مقدار جذب مواد غذایی، نمونه‌های برگ‌ها در مرحله پر شدن غده از بوتۀ سوم در هر واحد آزمایشی برداشت شد. پس از خشک کردن در آون،

تحریک‌کننده رشد، لازم بود همراه با سنجش بازده تولید ریزغده و عملکرد نهایی، تغییرات عناصر غذایی نیز مطالعه شود.

هدف پژوهش حاضر، ارزیابی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر مقدار جذب عناصر غذایی و امکان افزایش تولید ریزغده‌ها با بهره‌گیری از شیوه‌ای مقرون‌به‌صرفه از نظر اقتصادی و کاهش هزینه‌های تولید بود.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر کاربرد گونه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد از جنس‌های سودوموناس و باسیلوس بر مقدار جذب عناصر غذایی و عملکرد کمی مینی‌تیوبر سیب‌زمینی دو رقم 'اگریا' و 'سانته' انجام گرفت. محل اجرای پژوهش، گلخانه و آزمایشگاه مؤسسات تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال و نیز تحقیقات خاک و آب کشور بود. در این آزمایش، مایه‌زنی با باکتری‌ها در گلخانه و در زمان انتقال ریزغده‌های تلقیح شده به گلدان انجام گرفت. این پژوهش به صورت یک آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی به اجرا درآمد. آزمایش با سه عامل به ترتیب شامل دو رقم سیب‌زمینی 'اگریا' و 'سانته'، مایه‌زنی ریزغده‌ها با زادمایه دو سویه باکتری سودوموناس (*Pseudomonas fluorescence*) شامل سویه‌های ۱۱۶ و ۱۷۳ و تیمار شاهد و مایه‌زنی ریزغده با مایه تلقیح دو گونه از جنس باسیلوس شامل *Bacillus megaterium* و *B. Subtilis* و تیمار شاهد در چهار تکرار انجام گرفت. گونه‌های باکتری‌های مورد بررسی و زادمایه آنها از بانک باکتری بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند. بر این اساس، طرح دارای ۷۲ واحد آزمایشی بود. برای هر واحد آزمایشی، سه گلدان و در مجموع ۲۱۶ گلدان در نظر گرفته شد که هر کدام دارای یک بوتۀ بود.

1. Perlite
2. Peat moss
3. Colony forming unit
4. Elite

سوزاندن در کوره و عصاره‌گیری به روش خاکستر خشک^۱، فسفر با دستگاه اسپکتروفتومتر^۲ و آهن، روی و منگنز با دستگاه جذب اتمی^۳ اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری پتاسیم نیز توسط دستگاه فلیم فتومتر با روش نشر شعله‌ای^۴ و کوره گرافیتی انجام گرفت. مقدار نیتروژن نیز به روش کجلدال^۵ اندازه‌گیری شد [۱]. این اندازه‌گیری‌ها در آزمایشگاه بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور انجام گرفت.

هفت روز پس از سرزنی برداشت انجام گرفت. ریزغده‌ها شسته شده و تعداد کل آنها در هر بوته براساس استاندارد اندازه بذری (۳۵-۱۲ میلی‌متر) شمارش شد [۳]. محاسبات آماری داده‌های حاصل، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) انجام گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد استفاده شد.

۳. نتایج

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، مشخص شد که تفاوت دو رقم مورد بررسی از لحاظ مقدار جذب عناصر غذایی ریزمغذی و پرمصرف به‌جز پتاسیم و نیز تعداد ریزغده تولیدی در اندازه استاندارد در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد. باکتری سودوموناس بر مقدار جذب عناصر پرمصرف به‌غیر از پتاسیم و نیز عناصر ریزمغذی به‌جز آهن در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنادار داشت. باکتری باسیلوس تفاوت معناداری در مقدار جذب پتاسیم و نیز تعداد ریزغده تولیدی در اندازه استاندارد از هر بوته ایجاد نکرد، اما جذب سایر عناصر تحت تأثیر این باکتری

محرك رشد قرار گرفت. اثر متقابل رقم × سودوموناس × باسیلوس بر مقدار جذب نیتروژن، روی و منگنز در سطح احتمال ۱ درصد معنادار شد. در میان تأثیرات متقابل دوگانه اثر سودوموناس × باسیلوس بر تعداد ریزغده استاندارد تولیدشده در هر بوته و جذب عناصر غذایی به‌جز پتاسیم و منگنز و اثر متقابل رقم × باسیلوس بر مقدار جذب پتاسیم در سطح احتمال ۱ درصد اثر معناداری داشت (جدول ۱).

براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها مشاهده شد که روند جذب فسفر دو رقم 'اگریا' و 'سانته' روال مشابهی نداشت و به‌ویژه در رقم 'سانته' سطح جذب فسفر ۱۵/۵ درصد بالاتر از رقم 'اگریا' بود (شکل ۱). با توجه به نتیجه مقایسه میانگین داده‌های اثر متقابل باکتری سودوموناس × باسیلوس، بیشترین مقدار جذب فسفر در تیمار تلقیح تلفیقی سویه ۱۱۶ باکتری سودوموناس به همراه *B. subtilis* مشاهده شد. این مقدار برتری به بیش از ۳۸ درصد در مقایسه با تیمار شاهد (عدم تلقیح با باکتری‌ها) رسید. البته نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از سویه ۱۷۳ باکتری سودوموناس به‌صورت مجرد و در ترکیب با جنس‌های مختلف باکتری باسیلوس نیز مشابه کاربرد سویه ۱۱۶، تأثیر بسزایی بر افزایش مقدار جذب این عنصر غذایی مهم و کم‌تحرك در گیاه دارد (شکل ۲).

با توجه به معنادار شدن اثر متقابل سه‌گانه رقم × سودوموناس × باسیلوس، بیشترین مقدار جذب نیتروژن در رقم 'اگریا' در تیمار مایه‌زنی تلفیقی باکتری سودوموناس، سویه ۱۱۶ و باکتری باسیلوس جنس *B. subtilis* نسبت به کاربرد جداگانه و نیز شاهد به‌دست آمد. در مقایسه دو رقم و کاربرد تیمارهای جداگانه یا تلفیقی باکتری‌ها، کمترین جذب مربوط به رقم 'سانته' و مصرف مجرد سویه ۱۷۳ باکتری سودوموناس بود (شکل ۳).

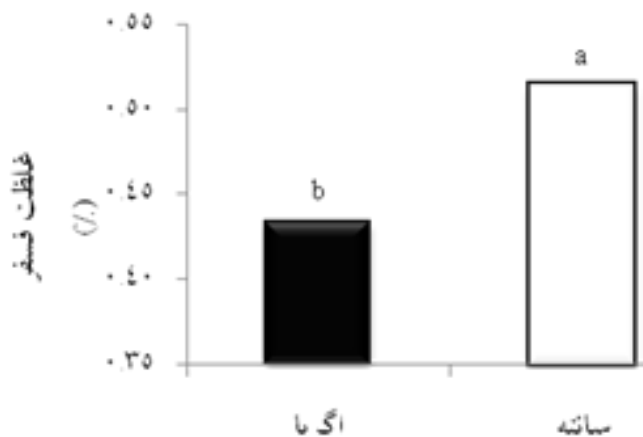
- 1 . Drying Ash
- 2 . Spectrophotometer
- 3 . Atomic Absorption
- 4 . Flame photometer
- 5 . Macro-Kjeldahl method, AOAC. 1984

بررسی تأثیر تلقیح ریزغده سیب‌زمینی با باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و مقدار جذب عناصر غذایی

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) جذب عناصر غذایی و تعداد ریزغده تولیدی در اندازه استاندارد تحت تأثیر مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فسفر	نیترژن	پتاسیم	آهن	روی	منگنز
تعداد ریزغده هر بوته							
در اندازه استاندارد							
رقم	۱	۵۸/۱۳**	۲۳/۵۵**	۰/۳ ^{ns}	۱۸/۷۸**	۱۵۷/۹۶**	۲۶/۵۷**
سودوموناس	۲	۳۰/۴**	۲۹/۳۳**	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۴۶ ^{ns}	۱۳/۶۵**	۱۲/۴۶**
باسیلوس	۲	۰/۱۴ ^{ns}	۳۷/۰۶**	۷/۸۲**	۷/۳۵**	۱۷/۴۹**	۷/۳۳**
رقم × سودوموناس	۲	۰/۲۱ ^{ns}	۱/۸۵ ^{ns}	۱/۱۰ ^{ns}	۲/۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۱/۷ ^{ns}
رقم × باسیلوس	۲	۰/۰۵ ^{ns}	۵/۷۰**	۵/۵۸**	۲/۶۷ ^{ns}	۳/۰۷ ^{ns}	۴/۴*
سودوموناس × باسیلوس	۴	۳/۲۶*	۱۴/۸۴**	۱/۳۹ ^{ns}	۵/۰۱**	۴/۰۳**	۱/۰۳ ^{ns}
رقم × سودوموناس × باسیلوس	۴	۰/۴۱ ^{ns}	۴/۱۶**	۲/۳۰ ^{ns}	۱/۳۷ ^{ns}	۴/۶۹**	۳/۳۳*
خطای آزمایش	۵۴	۰/۱۵۲	۰/۴۹۵	۰/۱۶	۴/۶۵	۳۷/۱۷	۶۲/۸۸
ضریب تغییرات (%)	-	۱۶/۴۶	۱۷/۰۳	۸/۲۷	۷/۲۸	۱۱/۲۵	۱۲/۴

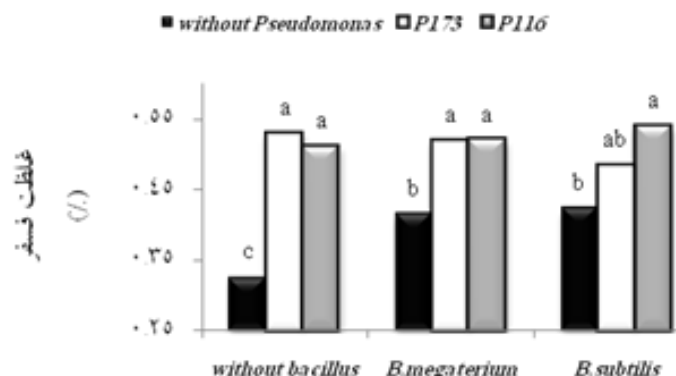
*, **, ns: به ترتیب اثر معنادار در سطح ۵ و ۱ درصد؛ و عدم اثر معنادار.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر رقم بر مقدار جذب فسفر در مینی تیوبر سیب‌زمینی

به زراعی کشاورزی

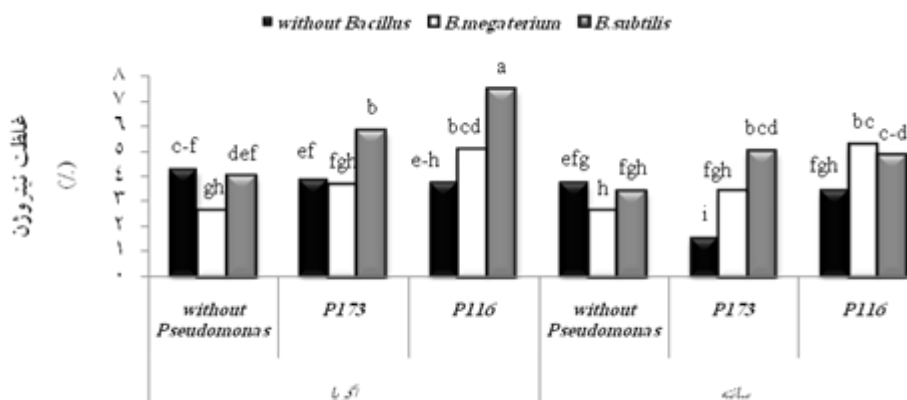
دوره ۱۷ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۴



شکل ۲. مقایسه میانگین مربوط به اثر باکتری سودوموناس و باسیلوس بر مقدار جذب فسفر در مینی تیوبر سیب زمینی

کاربرد جداگانه و نیز شاهد به دست آمد. در مقایسه دو رقم و کاربرد تیمارهای جداگانه یا تلفیقی باکتری‌ها، کمترین جذب مربوط به رقم 'سانته' و مصرف مجرد سویه ۱۷۳ باکتری سودوموناس بود (شکل ۳).

با توجه به معنادار شدن اثر متقابل سه گانه رقم × سودوموناس × باسیلوس، بیشترین مقدار جذب نیتروژن در رقم 'اگریا' در تیمار مایه زنی تلفیقی باکتری سودوموناس، سویه ۱۱۶ و باکتری باسیلوس جنس *B. subtilis* نسبت به

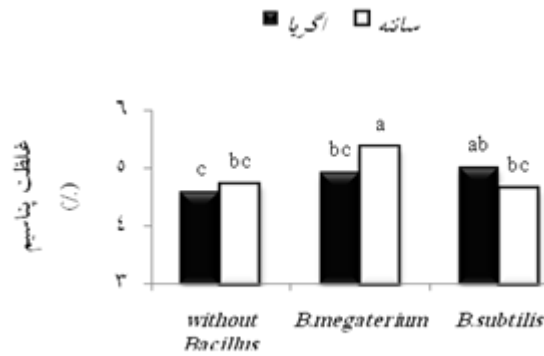


شکل ۳. مقایسه میانگین مربوط به اثر رقم و باکتری‌های محرک رشد بر مقدار جذب نیتروژن در مینی تیوبر سیب زمینی

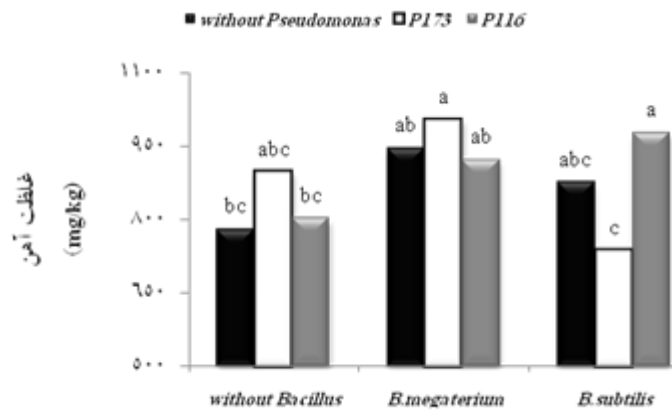
عنصر غذایی در رقم 'سانته' به نسبت رقم 'اگریا' و تیمار شاهد به ترتیب ۸/۲ و ۱۱/۷ درصد بود. تلفیق با *B. subtilis* بر مقدار جذب پتاسیم در رقم 'اگریا' اثر بیشتری داشت، ضمن اینکه تفاوت آماری مشخصی با مصرف این جنس از باکتری بین دو رقم مشاهده نشد (شکل ۴).

مقدار جذب پتاسیم دو رقم با کاربرد جنس‌های مختلف باکتری باسیلوس متفاوت بود. بالاترین سطح جذب این عنصر در رقم 'سانته' در تیمار تلفیقی *B. megaterium* در مقایسه با تیمارهای تلفیق رقم 'اگریا' و نیز تیمار شاهد (عدم تلفیق با باکتری) به دست آمد. مقدار افزایش جذب این

بررسی تأثیر تلقیح ریزغدهٔ سیب‌زمینی با باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و مقدار جذب عناصر غذایی



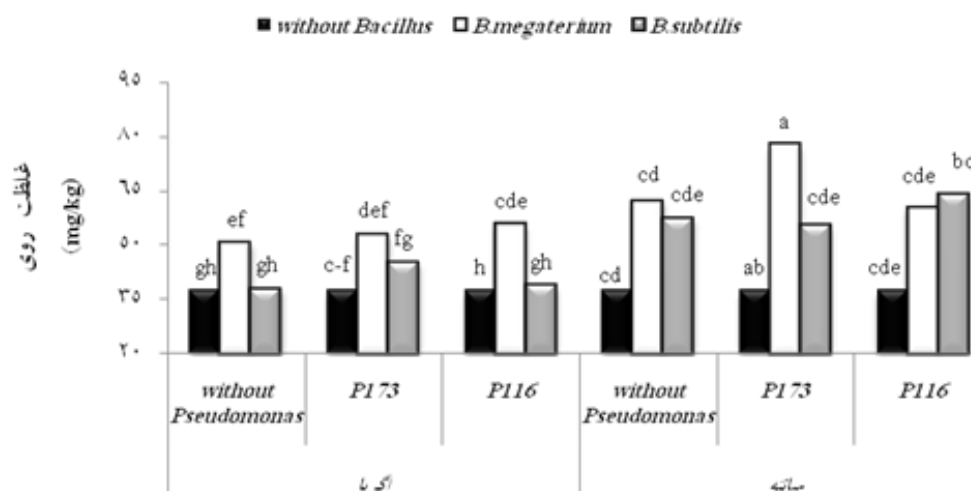
شکل ۴. مقایسهٔ میانگین مربوط به اثر رقم و باسیلوس بر مقدار جذب پتاسیم در مینی‌تیوبر سیب‌زمینی



شکل ۵. مقایسهٔ میانگین مربوط به اثر باکتری سودوموناس و باسیلوس بر مقدار جذب آهن در مینی‌تیوبر سیب‌زمینی

و به میزان ۱۳/۳ درصد برتری داشت (شکل ۶). نظر به نتایج تحقیق حاضر، می‌توان گفت که رقم 'سانته' در مقایسه با رقم 'آگریا' از برتری چشمگیری در جذب روی برخوردار بود. براساس مقایسهٔ میانگین داده‌ها، بیشترین سطح جذب روی مربوط به رقم 'سانته' و تیمار تلقیح تلفیقی سویهٔ ۱۷۳ باکتری سودوموناس و *B. megaterium* و نیز تلقیح مجرد با این سویه از باکتری سودوموناس بود. مصرف مجرد سویهٔ ۱۱۶ باکتری سودوموناس در رقم 'آگریا' و نیز تیمار شاهد (عدم تلقیح با باکتری‌ها) کمترین جذب روی را نشان دادند (شکل ۷).

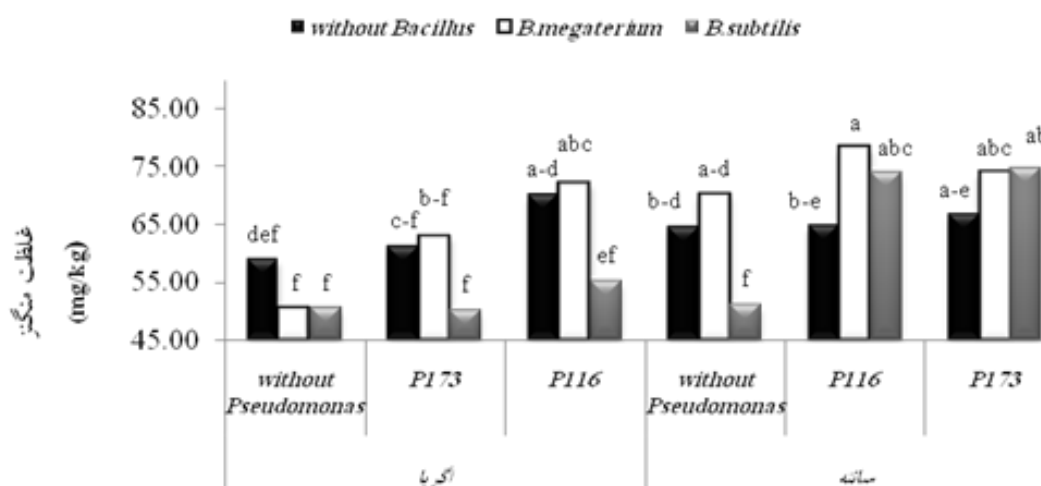
بیشترین جذب آهن در تلقیح تلفیقی هر دو جنس باکتری باسیلوس با سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس مشاهده شد. تلقیح ترکیبی با سودوموناس سویهٔ ۱۷۳ و *B. megaterium* و سویهٔ ۱۱۶ در مخلوط با باکتری *B. subtilis* عامل افزایش مقدار جذب این عنصر به ترتیب به میزان ۲۲/۳ و ۲۰/۲ درصد به نسبت تیمار شاهد (عدم تلقیح با باکتری‌ها) بود؛ از این رو سویهٔ ۱۷۳ باکتری سودوموناس و جنس *B. megaterium* در بهبود جذب این عنصر تأثیر بیشتری داشتند (شکل ۵). دو رقم مورد مطالعه در شرایط اجرای این آزمایش از نظر مقدار جذب آهن الگوی مشابهی نداشتند. بیشترین جذب مربوط به رقم 'سانته' بود



شکل ۷. مقایسه میانگین مربوط به اثر رقم و باکتری‌های محرک رشد بر مقدار جذب روی در مینی تیوبر سیب‌زمینی

۱۱۶ سودوموناس و *B. megaterium* و نیز همین سویه سودوموناس و *B. subtilis* در رقم 'سانته' به تأیید رسید. کمترین جذب منگنز در هر دو رقم مورد مطالعه با مصرف مجرد باکتری *B. subtilis* و نیز تیمار شاهد (عدم تلقیح با باکتری‌ها) اتفاق افتاد (شکل ۸).

رقم 'سانته' در کاربرد مخلوط دو نوع باکتری، جذب منگنز بیشتری داشت. با وجود بیشترین جذب این عنصر غذایی در تیمار تلقیح ترکیبی سویه ۱۷۳ باکتری سودوموناس و *B. megaterium* در رقم 'سانته'، مشابهت مقدار جذب در رقم 'آگریا' در تیمار تلقیح ترکیبی سویه

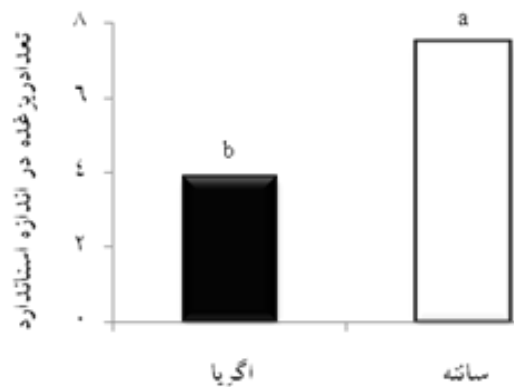


شکل ۸. مقایسه میانگین مربوط به اثر رقم و باکتری‌های محرک رشد بر مقدار جذب منگنز در مینی تیوبر سیب‌زمینی

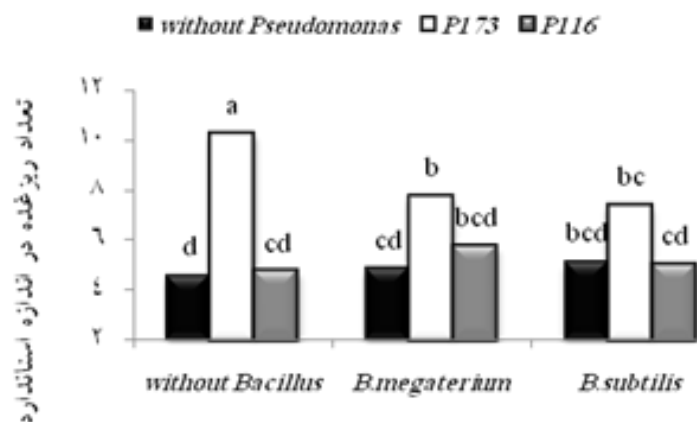
بررسی تأثیر تلقیح ریزغده سیب‌زمینی با باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و مقدار جذب عناصر غذایی

جنس باکتری و نیز مصرف تلفیقی آن با گونه‌های باکتری باسیلوس، بیشترین تعداد ریزغده در اندازه استاندارد را داشت. برتری مایه‌زنی با این نوع باکتری در مقایسه با تیمار شاهد (بدون تلقیح با باکتری‌ها) ۵۵ درصد بود که رقم بسیار چشمگیری است. کاربرد تلفیقی سویه ۱۷۳ باکتری سودوموناس با دو گونه باکتری باسیلوس مورد مطالعه به نسبت تیمار شاهد (عدم تلقیح با باکتری‌ها) نیز سبب افزایش ۳۹ درصدی تعداد ریزغده تولیدی شدند (شکل ۱۰).

تولید ریزغده در اندازه استاندارد (۳۵-۱۲ میلی‌متر) دو رقم تفاوت معنادار داشت. رقم 'سانته' با برتری ۴۸ درصدی در مقایسه با رقم 'اگریا' بیشترین تولید ریزغده را در اندازه مورد نظر داشت (شکل ۹). اثر متقابل رقم در باکتری‌های مورد استفاده معنادار نشد، اما اثر متقابل باکتری سودوموناس و باسیلوس در سطح احتمال ۱ درصد به لحاظ آماری اختلاف معنادار بود. تأثیر باکتری‌ها بر تعداد ریزغده تولیدی پس از تلقیح، الگوی یکنواختی از خود بروز نداد، به گونه‌ای که کاربرد جداگانه سویه ۱۷۳ باکتری سودوموناس در مقایسه با مصرف مجرد سویه دیگر این



شکل ۹. مقایسه میانگین اثر رقم بر تعداد ریزغده تولیدی در اندازه استاندارد (۳۵-۱۲ میلی‌متر قطر عرضی)



شکل ۱۰. مقایسه میانگین مربوط به اثر باکتری سودوموناس و باسیلوس بر تعداد ریزغده در اندازه استاندارد

۴. بحث

کارایی باکتری‌های محرک رشد در بهبود جذب عناصر غذایی موجود در بستر کشت و تأثیرات مثبت این قبیل ریزجاندارها در تحریک رشد گیاه و افزایش بازده تولید و عملکرد سیب‌زمینی در شرایط مزرعه در تحقیقات گذشته تعدادی از پژوهشگران تأیید شده است [۲۹، ۱۲، ۳۲، ۳۵]. با این حال، تحقیقاتی کمی در زمینه بررسی تأثیرات باکتری‌های محرک رشد در جذب عناصر غذایی پرمصرف و ریزمغذی در شرایط گلخانه‌ای و تولید هسته اولیه بذر سیب‌زمینی (مینی تیوبر) صورت گرفته است.

در پژوهش حاضر، تأثیرات چشمگیر باکتری‌های محرک رشد در افزایش جذب عناصر غذایی پرمصرف از جمله نیتروژن، فسفر، پتاسیم و ریزمغذی مورد نیاز گیاه، آهن، روی و منگنز به‌ویژه با کاربرد تیمار تلقیح تلفیقی دو نوع جنس‌های مختلف باکتری به تأیید رسید که توجه به آن در برنامه‌های تولید مینی تیوبر به‌عنوان یک راهکار پشتیبان محیط‌زیست می‌تواند بسیار مهم و شایان توجه باشد. بر این اساس، ریزجاندارهای فعال در بستر کشت با توجه به ناچیز بودن مقدار قابل جذب عناصر غذایی موجود در بستر کشت معمول مینی تیوبر قادر خواهند بود با ارتقای مقدار جذب عناصر غذایی ضمن کاهش نیاز به تأمین این مواد غذایی با بهره‌گیری از کودهای شیمیایی و کاهش هزینه تولید، خلأ ناشی از کمبود آنها را جبران کنند. از سوی دیگر، چنانچه در سیستم تولید ریزغده سیب‌زمینی اجرای یک برنامه تغذیه تکمیلی با کاربرد نهاده‌های شیمیایی مورد نظر باشد، وجود باکتری‌های محرک رشد فعال در بستر کشت با ایجاد شرایط بهتر جذب عناصر غذایی به کارآمدتر شدن فرایند تولید کمک می‌کند.

باکتری‌های محرک رشد زمینه افزایش جذب فسفر، نیتروژن و عناصر غذایی ریزمغذی را ایجاد می‌کنند که در واقع یک نوع غنی‌سازی بیولوژیک محصول نیز محسوب

می‌شود و ارزش غذایی سیب‌زمینی را به‌عنوان یک محصول پرمصرف در اغلب جوامع بشری افزایش می‌دهد. بی‌تردید یکی از عوامل بروز این مقدار برتری در جذب فسفر در تیمار ترکیبی، تشدید تأثیر هم‌افزایی دو باکتری در تغییر فسفات نامحلول و کم‌دسترس به فسفر محلول و در دسترس گیاه و افزایش سطح جذب با تأثیر بر سطح و حجم ریشه است.

از روش‌های جذب فسفر توسط باکتری‌های افزاینده رشد، محلول‌سازی فسفر است که عملاً سبب افزایش دسترسی به مواد غذایی در گیاهان میزبان می‌شود [۲۷]. محتوای فسفر گیاهچه‌های *Ficus Benjamina L.* پس از تلقیح با *Bacillus coagulans* در مقایسه با گیاهچه‌های بدون تلقیح بیشتر شد [۲۸]. همچنین تلقیح هم‌زمان ریزوبیوم‌های تثبیت‌کننده نیتروژن با باسیلوس‌های حل‌کننده فسفات، فسفر قابل استفاده خاک و تثبیت نیتروژن را افزایش داد [۱۹]. تلقیح هم‌زمان گیاه با باکتری مزوریزوبیوم سیسری^۱ و جدایه‌ای از باکتری ازوتوباکتر کروکوکوم^۲ به دلیل تولید اسیدهای آلی و کاهش pH توسط باکتری محرک رشد، سبب افزایش جذب فسفر و در نتیجه نیتروژن یافت [۱۴]. این امکان وجود دارد که باکتری‌های محرک رشد از طریق تغییر در مورفولوژی و فیزیولوژی، سطح و حجم ریشه گیاهان تلقیح‌شده موجب افزایش جذب عناصر غذایی و در نتیجه، افزایش تثبیت نیتروژن شوند [۱۱]. ریزجانداران حل‌کننده فسفات در بیشتر موارد تأثیر مثبتی بر تثبیت نیتروژن دارند [۵].

باکتری *Bacillus sp.* به‌عنوان حل‌کننده فسفات، رشد گیاهان را از طریق افزایش جذب پتاسیم افزایش می‌دهد [۹]. تلقیح توأم نخود با ریزوبیوم و یک سویه از سودوموناس *P. striata* یا سویه‌ای از باسیلوس

1. *Mesorhizobium ciceri*

2. *Azotobacter chroococcum*

و در نهایت بهبود عملکرد سیب‌زمینی می‌شوند. این ریزجاندارها، محیط اطراف ریشه گیاه را کلنیزه می‌کنند، جمعیت خود را به سرعت گسترش می‌دهند و با تولید متابولیت‌های ثانویه بسیاری نظیر آنتی‌بیوتیک و سیانید هیدروژن از رشد عوامل بیماری‌گر گیاهی جلوگیری می‌کنند و موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند [۲۱]. قطعات بذر سیب‌زمینی آغشته به باکتری‌های محرک رشد، افزایش معنادار عملکرد غده از ۱۴ تا ۳۳ درصد نشان دادند [۲۰]. کاربرد باکتری باسیلوس به‌تنهایی یا در ترکیب با کود شیمیایی حداکثر عملکرد سیب‌زمینی را موجب شد [۱۳].

با این وصف و نظر به تأثیر مثبت کاربرد باکتری‌های محرک رشد در افزایش تولید ریزغده با توجه به نتایج این پژوهش و البته هزینه بسیار کم در مقایسه با شیوه رایج تولید این محصول در شرایط کنونی استفاده از این فراورده‌های زیستی در سیستم تولید مینی‌تیوبر یک پیشنهاد اجرایی و عملیاتی خواهد بود. البته شایان ذکر است که هر دو جنس باکتری‌های مورد استفاده، باکتری‌های مطرح در کنترل بیولوژیک بیماری‌های خاک‌زاد هستند که در صورت وجود چنین عواملی در خاک انتظار می‌رود این باکتری‌ها بیش از صفات محرک رشدی آنها بروز کند.

۱.۴. نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر مشخص شد که تلقیح تلفیقی ریزوباکتری‌های محرک رشد می‌تواند تأثیر زیادی در افزایش کارایی جذب مواد غذایی و در نتیجه تحریک رشد در گیاهچه‌های سیب‌زمینی داشته باشد. فراهم شدن شرایط مناسب به‌منظور استقرار بهتر گیاه، ضمن افزایش مقدار جذب عناصر غذایی، ضریب تکثیر ریزغده را نیز به‌طور معنادار بهبود بخشید. افزایش نرخ تکثیر در تلقیح انفرادی با باکتری و در برخی ترکیبات دوگانه در مقایسه با تیمار عدم مصرف، اندکی بیش از دو برابر بود. افزایش تولید

B. polymyxa به‌طور مشخص، شاخص‌های رشد گیاه از جمله گره‌سازی، فعالیت آنزیم نیتروژناز، جذب فسفر و نیتروژن را افزایش داد [۲۳، ۱۶]. همچنین تلقیح باکتریایی به‌طور جداگانه، سبب افزایش محتوای پتاسیم گیاه می‌شود [۷]. یکی از سازوکارهای مهم باکتری‌های محرک رشد گیاه، بهبود رشد ریشه از طریق تولید و ترشح تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه نظیر اکسین و جیبرلین است [۲۴].

باکتری‌های محرک رشد با تولید سیدروفورها از رسوب آهن جلوگیری کرده و به جذب این عنصر توسط گیاه کمک می‌کنند [۲۲]. گیاهان می‌توانند از سیدروفورهای تولیدشده توسط باکتری‌ها به‌عنوان عاملی برای تأمین آهن مورد نیاز خود استفاده کنند [۸]. افزایش سطح جذب آهن در گیاه ماش با تلقیح ریشه با باکتری تأیید شد [۳۰]. بعضی از این باکتری‌ها می‌توانند به‌طور معناداری مواد معدنی مفید از جمله عناصر پرنیاز و منگنز، مس و روی را آزاد کنند و بنابراین محیط کشت و رشد را تغییر دهند [۲۶، ۱۸].

مایه‌زنی با مخلوط دو گونه باکتری در مقایسه با کاربرد مجزای دو گونه در افزایش جذب عناصر غذایی مؤثرتر بود. به نظر می‌رسد دو گونه باکتری بر همدیگر همکنش مثبت دارند و با تقویت اثر همدیگر پاسخ سیگنالی مؤثرتری را در جهت استقرار بر ریشه در سیب‌زمینی به‌وجود می‌آورند. یکی از چالش‌های تولید مینی‌تیوبر در کشور، نرخ تکثیر به‌نسبت کم در برخی ارقام مورد استفاده در چرخه تولید بذر است.

با بررسی نتایج تحقیق حاضر می‌توان به برتری استفاده از باکتری‌ها در افزایش عملکرد تولید ریزغده به‌ازای هر بوته اشاره کرد. کودهای زیستی حل‌کننده فسفات علاوه بر تأمین فسفر با بهبود شرایط تغذیه گیاه، توسعه حجم ریشه و جذب سایر عناصر غذایی نظیر آهن، سبب ایجاد تعادل در بین اجزای عملکرد یعنی تعداد غده در بوته و وزن تک‌غده

۶. قلاوند ا، حمیدی آ، دهقان شعار م، ملکوتی م ج، اصغرزاده ا و چوگان ر (۱۳۸۵) کاربرد کودهای زیستی (بیولوژیک)، راهبردی بوم‌شناختی برای مدیریت پایدار بوم نظام‌های زراعی. مقالات کلیدی نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات، ۷-۵ شهریور ۱۳۸۵. پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران.
7. Aliasgharzade N, Neyshabouri MR and Salimi G (2006) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* on drought stress of soybean. *Biologiae*. 61: 324-328.
8. Ahmad F and Khan MS (2008) Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiology Research*. 163: 173-81.
9. Biswas JC, Ladha JK, Dazzo FBN, Gianni YG and Rolfe BG (2000) Rhizobial inoculation influence seedling vigor and yield of rice. *Agronomy*. 92: 880-886.
10. Cakmakci R, Donmez MF and Erdogan U (2007) The effect of plant growth promoting rhizobacteria on barley seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 31: 189-199.
11. Chabot R and Antoun H (1996) Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Plant Soil*. 9. Cottenie, A. 1980. *Methods of Plant Analysis*. In: *Soil and Plant Testing*. FAO Soils Bulletin. 38: 64-100.
- Cong PT, Dung TD, Hien TM, Hien NT, Choudhury ATMA, Kecskes ML and Kennedy IR (2009) Inoculant plant growth-promoting microorganisms enhance utilization of urea-N and grain yield of paddy rice in southern Vietnam. *European Journal of Soil Biology*. 45: 52-61.
- ریزغده ناشی از تلقیح ریزوباکتریایی توأم با کاهش مصرف کودهای شیمیایی و هزینه تولید را می‌توان به‌عنوان یک راه نوین در برنامه تکثیر و تولید مینی تیوبر حاصل از کشت بافت، طرح کرد. از نگاهی دیگر، تولید مایه تلقیح ترکیبی این جنس از باکتری‌ها برای استفاده در برنامه تولید سیب‌زمینی نیز از مواردی است که می‌تواند مورد توجه کارخانه‌های تولیدکننده این نوع از فراورده‌های زیستی قرار گیرد و در فرمولاسیون محصول نهایی لحاظ شود.

منابع

۱. امامی ع (۱۳۷۵) روش‌های تجزیه گیاه. مؤسسه تحقیقات خاک و آب. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. وزارت کشاورزی. نشریه شماره ۹۸۲. ۹۹ ص.
۲. بی‌نام (۱۳۸۹) آمارنامه کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات، وزارت جهاد کشاورزی. ۱: ۶۶-۶۸.
۳. حسنی ف، درویشی ب و علی‌پورد (۱۳۸۶) دستورالعمل فنی کنترل و گواهی مزارع بذری سیب‌زمینی. مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال. کرج. ۲۱ ص.
۴. حسنی ف و رضوانی ع (۱۳۸۷) سیستم کنترل و گواهی مزارع بذری سیب‌زمینی. اولین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر ایران. گرگان. ۱۸ ص.
۵. علی مددی ا، جهانسوز م ر، بشارتی ح و توکل افشاری ر (۱۳۸۹) ارزیابی تأثیر ریزجانداران حل‌کننده فسفات، مایکوریزا و پرایمینگ بذر بر گره‌زایی در گیاه نخود. پژوهش‌های خاک. ۲۴(۱): ۴۳-۵۴.

12. Ekin Z, Faruk O, Murat E and Erdal O (2009) The effect of *Bacillus* sp. OSU-142 inoculation at various levels of nitrogen fertilization on growth, tuber distribution and yield of potato (*Solanum tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology*. 8(18): 4418-4424.
13. Elkoca E, Kantar F and Sahin F (2008) Influence of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria on nodulation, plant growth and yield of chickpea. *Journal of Plant Nutrition*. 33: 157-171.
14. Gaur R, Shani N, Kawaljeet BN, Rossi P and Aragno M (2004) Diacetyl phloroglucinol-producing *Pseudomonas* do not influence AM fungi in wheat rhizosphere. *Current Science*. 86: 453-457.
15. Gunasekaran S, Balachandar D and Mohanasundaram K (2004) Studies on synergism between *Rhizobium*, plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and phosphate solubilizing bacteria in blackgram, in: *Biofertilizer technology for rice based cropping system*, S. Kannaiyan, K. Kumar and K. Govindarajan, eds, Scientific Publ. Jodhpur. Pp. 269-273.
16. Hayat R, Ali S, Amara U, Khalid R and Ahmed I (2010) Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of Microbiology*. 60: 98-579.
17. Khan MS, Zaidi A, Wani PA and Oves M (2008) Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters*. 7: 1-19.
18. Khan MS, Zaidi A and Wani PA (2006) Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: A review. *Agronomy*. 26: 1-15.
19. Kloepper JW, Schrorth MN and Miller TD (1980) Effects of Rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*. 70:1078-1082.
20. Leben SD, Wadi JA and Easton GD (1987) Effect of *Pseudomonas fluorescens* on potato plant growth and control of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*. 77: 1592-1595.
21. Neilands JB (1981) Iron absorption and transport in microorganisms. *Annual Review of Nutrition*. 1: 27-46.
22. Prasad H and Chandra R (2003) Growth pattern of urdbean *Rhizobium* sp. with PSB and PGPR in consortia. *Journal of the Indian Society of Soil Science*. 51: 76-78.
23. Probanza A, Lucas Garcia JA, Ruiz Palomino M, Ramos B and Gutierrez Manero FJ (2002) *Pinus pinea* L. Seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). *Applied Soil Ecology*. 20: 75-84.
24. Puente ME, Bashan Y, Li CY and Lebsky VK (2004a) Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. I. Root colonization and weathering of igneous rocks. *Plant Biology*. 6: 629-642.
25. Puente ME, Li CY and Bashan Y (2004b) Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. II. Growth promotion of cactus seedlings. *Plant Biology*. 6: 643-650.
26. Richardson AE (2001) Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*. 28: 897-906.
27. Serianth J, Bagyaraj DJ and Satyanarayana BN

- (2003) Enhanced growth and nutrition of micropropagated *Ficus benjamina* to *Glomus mosseae* co-inoculated with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus coagulans*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 19: 69-72.
28. Shaharoon B, Arshad M, Zahir ZA and Khalid A (2006) Performance of *Pseudomonas* ssp. Containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil Biology and Biochemistry. 38: 2971-2975.
29. Sharma A, Johri BN, Sharma AK and Glick BR (2003) Plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. Strain GPR(3) influences iron acquisition in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). Soil Biology and Biochemistry. 35: 887-894.
30. Suneja S, Lakshminarayana K and Gupta PP (1994) Role of *Azotobacter chroococcum* siderophores in control of bacterial rot and Schlotinia rot of mustard. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology. 24: 202-205.
31. Verma JP, Yadav J and Tiwari KN (2010) Application of Rhizobium sp. BHURCO1 and plant growth promoting rhizobacteria on nodulation, Plant biomass and yields of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). International Journal of Agricultural Research. 5: 148-156.
32. Wadi JA and Easton GD (1985) Control of *Verticillium dahliae* by coating potato seed pieces with antagonistic bacteria. Pages 134-136. in: Ecology and management of soilborne plant pathogens. C. A. Parker, A. D. Rovira, K. J. Moore, and P. T. W. Wong. eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 358 pp.
33. Zhang F, Dashti N, Hynes RK and Smith DL (1997) Plant growth-promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max* L. Merr.) growth and physiology at suboptimal root zone temperatures. Annals Botany. 79: 243-249.
34. Zorita MD and Canigia MVF (2009) Field performance of a liquid formulation of *Azospirillum brasiliense* on dryland wheat productivity. European Journal of Soil Biology. 45: 3-11.