تأثیرپوشش‌دار و پلت کردن بذر با استفاده از باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه چغندرقند

Effect of seed coating and pelleting with plant growth promoting rihzobacteria on germination and seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris*)

حسن مهدوی[۱]، سعیده ملکی فراهانی[۲*]، محمدعلی چگینی[۳] و حسین بشارتی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۹

ح. مهدوی، س. ملکی فراهانی، م.ع. چگینی و ح. بشارتی. ۱۳۹۵. تأثیرپوشش‌دار و پلت کردن بذر با استفاده از باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه چغندرقند. **چغندرقند، ۳۲(۱): ۶۳- ۷۴.** DOI:10.22092/jsb.2016.106112

چکیده

در این تحقیق تأثیر دو روش پوشش‌دار و پلت کردن یک رقم بذر چغندرقند در۱۲ سطح باکتری (شاهد، کاربرد انفرادی باکتری‌های *ازتوباکتر، باسیلوس، سودوموناس، آزوسپیریلوم*، تلفیق دوتایی و تلفیق مجموع باکتری‌ها با هم) با غلظت 10^{7} CFU ml^{-1} (تعداد کلونی تشکیل شده باکتری در میلی لیتر) بر درصد و سرعت ظهور گیاهچه، طول و وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه، تعداد گیاهچه‌های عادی و غیرعادی، شاخص طولی و وزنی بنیه بذر و ماندگاری جمعیت باکتری‌ها در پوشش بذر پس از شش ماه پس از تیمار کردن و نگه‌داری بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار درسال ۱۳۹۳ انجام شد. کاربرد باکتری بر صفات وزن تر گیاهچه، درصد گیاهچه عادی، شاخص وزنی و طولی بنیه بذر اثر معنی‌دار گذاشت ولی دو روش پوشش و پلت کردن بذر بر هیچ یک از صفات معنی‌دار نبود. نتایج نشان داد که پوشش بذر با باکتری *سودوموناس* موجب افزایش ۱۶۰، ۵۰، ۱۲۸ و ۹۰ درصدی نسبت به تیمار شاهد به ترتیب در وزن ترگیاهچه، درصدگیاهچه عادی شاخص طولی بنیه بذر و شاخص وزنی بنیه بذر شد. همچنین تلفیق باکتری *سودوموناس* و *ازتوباکتر* نیز مناسب بود. نتایج قدرت ماندگاری باکتری پس از شش ماه در بذرهای پلت شده در مقایسه با بذرهای پوشش‌دار شده بیشتر بود. جمعیت باکتری‌های *باسیلوس، سودوموناس، آزوسپیریلوم و ازتوباکتر* در روی بذرهای پوشش‌دار شده به ترتیب ۲۵۰۰۰، ۱۵۹۵۰، صفر و ۱۴۱۰۰ CFU بود.

واژه‌های کلیدی: باکتری محرک رشد، بذر چغندرقند، پوشش‌دار و پلت کردن بذر، جوانه‌زنی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد- تهران

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شاهد- تهران * نویسنده مسئول: maleki@shahed.ac.ir

۳- دانشیار مؤسسه تحقیقات چغندرقند- کرج

۴- دانشیار مؤسسه تحقیقات آب و خاک- کرج

مقدمه

در زراعت چغندرقند، جوانه‌زنی مطلوب بذر در سطح مزرعه بسیار مهم می‌باشد. بذر مرغوب، بیشترین ارزش افزوده را در بین نهاده‌های کشاورزی ایجاد می‌کند و بازدهی سایر نهاده‌های کشاورزی را بالا می‌برد. از طرفی عوامل زیادی در جوانه‌زدن بذر، استقرار گیاهچه و روند رشد آن مؤثر هستند. بررسی‌ها نشان داده است که برخی باکتری‌های محرک رشد (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) گیاه قادرند قدرت جوانه‌زنی، استقرار گیاهچه و روند رشد گیاهچه را تحت تأثیر قرار داده و ضمن کاهش اثرات نامطلوب انواع تنش‌های زنده و غیرزنده، قدرت جذب آب و عناصر غذایی را افزایش دهند و حاصل این فرایندها در طول دوره رشد موجب بهبود جوانه‌زنی، رشد گیاه، کمیت و کیفیت محصول می‌شود (Dewar *et al.* 1997). روش‌های مختلفی برای استفاده از ظرفیت این باکتری‌های محرک رشد گیاه وجود دارد که پوشش کردن و پلت کردن بذر از مهم‌ترین این روش‌ها می‌باشند. در روش پوشش‌دار کردن، بدون این‌که شکل بذر تغییری نمایید سطح بذر با مخلوطی از باکتری یا مواد محرک شد و یا سموم قارچ‌کش پوشانده می‌شود اما در روش پلت کردن علاوه‌بر مواد ذکر شده از مواد پرکننده‌ای مثل رس استفاده می‌شود تا فرورفتگی‌های بذر پر شود و یا بذر از حد طبیعی خود مقداری درشت‌تر شود. این دو روش با اهداف مختلفی از جمله افزایش سرعت جوانه‌زنی، جلوگیری از خسارات آفات و بیماری‌ها، آسان‌سازی عملیات بذرکاری، توزیع یکنواخت بذر، حفظ رطوبت در اطراف بذر با استفاده از مواد جاذب رطوبت، افزایش عملکرد، ایجاد تأخیر در جوانه‌زنی، جلوگیری از خورده شدن بذر توسط جانوران و افزایش سرعت و توان استقرار گیاه، انجام می‌گیرد (Scott *et al.* 1984). پلت کردن بذر آفتاب‌گردان با ۱۰ سویه باکتری‌های محرک رشدگیاه موجب افزایش معنی‌دارجوانه‌زنی بذر (در سطح اختلاف یک درصد) این گیاه در شرایط گلخانه شد. علاوه‌بر این میزان رشد گیاهچه‌ها و هم‌چنین ارتفاع گیاه نیز از تیمار شاهد بیشتر بود (Lada *et al.* 2004). پوشش‌دار کردن بذر گونه مرتعی *Sanguisorba minor* با باکتری موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شد. پوشش‌دار کردن بذر با ریزوباکتری‌های محرک رشد بر برخی ویژگی‌های رشدی ذرت نشان داد که اثر انواع میکروارگانیزم‌ها بر سرعت فتوسنتز برگ معنی‌دار بود و بیشترین سرعت فتوسنتز برگ در پوشش منفرد و تلقیح دوگانه آن حاصل گردید (Krantev *et al.* 2008). کاربرد باکتری‌های محرک رشد در فرمولاسیون کودهای بیولوژیک بر جوانه‌زنی بذر پنبه در شرایط غیراستریل معنی‌دار شده بود (Tilak 1992). در مقایسه کارایی چند ماده حامل باکتری برای تولید مایه پوشش باکتری در یونجه نشان دادند که حامل ورمیکولیت نسبت به سایر حامل‌ها بهترین پاسخ را نشان داد و توانست توان گره‌زایی باکتری روی ریشه یونجه را تا پایان ماه ششم در خود حفظ نماید (Gholami *et al.* 2009). پوشش‌دار کردن بذر ذرت با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش جوانه‌زنی و بهبود رشد گیاهچه ذرت شد (Cakmakci *et al.* 2009). نتایج نشان داد که پوشش بذرهای جو با باکتری‌های محرک رشد گیاه، موجب افزایش طول و وزن ریشه‌چه‌ای جو شد (Gholami *et al.* 2012). آنان افزایش وزن ریشه جو در واکنش به پوشش بذر با باکتری‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد بیش از ۳۲ درصد و وزن اندام هوایی به واسطه تلقیح با باکتری‌ها را ۲۸/۸ تا ۴۵/۲ درصد بسته به نوع باکتری گزارش نمودند. بین پوشش

بذر و باکتری‌هایی نظیر *ریزوبیوم*، *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* در گیاهان زراعی همانند سویا، ذرت، شبدر، بادام زمینی و نخود اثر متقابل مثبت وجود داشت (Antunes *et al.* 2006). تأثیر پوشش بذر با *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* بر مقدار ماده خشک ذرت و سورگوم معنی‌داری بود (Tilak *et al.* 1992). در مطالعه‌ای دیگر، پوشش بذر ذرت با باکتری‌های *آزوسپیریلوم* در مقایسه با تلقیح با *ازتوباکتر* و شاهد در افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه اثر معنی‌دار داشت و هر دو باکتری در افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن گیاهچه نسبت به شاهد اثر معنی‌داری در سطح یک درصد داشتند (Sayed-Sharif and Khavazi 2010). پوشش‌دار کردن بذر با باکتری‌های *آزوسپیریلوم* و پوشش آن با عناصر ریزمغذی بر عملکرد و میزان اسانس زیره اثر معنی‌داری داشت (Mirshekari *et al.* 2013). هم‌چنین پوشش بذر گیاهان گندم و ذرت با باکتری *آزوسپیریلوم* استقرار بوته را افزایش داد (Ibrahim *et al.* 1990). پوشش‌دار کردن بذر کلزا با *ازتوباکتر* در شرایط آزمایشگاهی توانست رشد ریشه‌چه، ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه را در مقایسه با شاهد به میزان ۲۴ درصد افزایش دهد (Gaur 2001). افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر ذرت در اثر پوشش با کمک باکتری *ازتوباکتر* گزارش شده است (Kennedy and Tychan 1999). نتایج تحقیقات نشان داد که در استفاده از سویه‌های مختلف *سودوموناس فلورسنس* ترکیب شده به عنوان فرمولاسیون پوشش بذر پنبه باعث تاثیر معنی‌دار بر روی پارامترهایی نظیر وزن تر و خشک گیاهچه در گلخانه به میزان ۲۰ تا ۸۰ درصد می‌شود (Rajab- Ali *et al.* 1999). لذا برای استفاده از مزیت‌های پوشش و پلت و باکتری‌ها در کشاورزی، لازم است مناسب‌ترین روش و بستری که در آن باکتری بیشترین قدرت بقاء (در شرایط نامساعد سطح بذر حداقل ۶-۲۴ ماه زنده بماند) را داشته باشد انتخاب نمود تا بعد از کشت بذر نیز باکتری به تواند در خاک مستقر شده و در جذب مواد غذایی به گیاهچه کمک نماید و موجبات بهبود جوانه‌زنی، استقرار و رشد بیشتر را فراهم سازد. هدف از این پژوهش بررسی روند جوانه‌زنی بذر چغندرقند رقم پارس پس از پوشش‌دار و پلت کردن به وسیله برخی از باکتری‌ها بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه مؤسسه تحقیقات چغندرقند کرج در سال ۱۳۹۳ اجرا گردید. در این تحقیق روند جوانه‌زنی بذر چغندرقند پس از پوشش‌دار کردن و پلت کردن بذر به وسیله باکتری‌های محرک رشد گیاه مورد بررسی قرار گرفت. این تحقیق به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل کاربرد مایه تلقیح به صورت محلول باکتری‌های محرک رشد *ازتوباکتر کروکوکوم* *Azotobacter (crococcum)* سویه ۵، *باسیلوس لنتوس* *(Bacillus lentus)* سویه ۴-۱۵، *سودوموناس پوتیدا* *Pseudomonas (putida)* سویه RS- 36 و *آزوسپیریلوم لیپوفروم* (*Azospirillum lipoferum*) سویه OF، تلفیق دوتایی از هریک از این باکتری‌ها با هم ترکیب مجموع آن‌ها با هم و در نهایت عدم تلقیح بذر به عنوان شاهد بودند. لازم به ذکر است که هریک از این تیمارها به صورت مجزا در قالب پوشش‌دار و پلت کردن بذر استفاده شد. این باکتری‌ها، بومی خاک‌های کشور بوده و مایه تلقیح آنها از بخش تحقیقات بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک وآب (با غلظت CFU^{-1} 10^{7} ml)، که هر گرم آن دارای 10^{7} عدد باکتری زنده و

فعال بود تهیه گردید. برای تیمارپوشش دارکردن بذر، ابتدا ماده چسباننده (Polyvinylpyrrolidone= PVP) با غلظت ۵ درصد تهیه شد. سپس برای پوشش‌دار کردن ۵۰ گرم بذر ۵ میلی‌لیتر از محلول چسب به۲۰ میلی لیتر محلول باکتری افزوده شد.۵۰ گرم بذر به داخل یک جعبه ریخته، ۲۵ میلی‌لیتر محلول چسب و باکتری به آن اضافه گردید و برای مدت پنج دقیقه به‌خوبی تکان داده شد تا سطح خارجی بذرها به خوبی با مایه تلقیح و چسب آغشته شوند. سپس بذرها در داخل یک سینی ضدعفونی شده پخش و در سایه قرار داده شد تا سطح آنها خشک شوند. برای تیمار پلت کردن بذر، نیز ۵۰ گرم بذر داخل دستگاه پن ریخته شد. مخلوط خاک اره، بنتونیت، کائولین، میکا، ورمیکولیت و چسب به عنوان ماده پلت کننده استفاده شد. با چرخش پن حاوی بذر، به تدریج۲۰ میلی‌لیتر از غلظت‌های از پیش تعیین شده محلول باکتری و مخلوط ماده پلت کننده به بذرها اضافه شد. با توجه به وزن هزار دانه بذر (۱۰ گرم) و تعداد باکتری در ۲۰ میلی‌لیتر(۲۰۰۰۰۰۰۰۰ عدد) انتظار بر این بود که در روی هر بذر حدود ۴۰۰۰۰ باکتری قرار گیرد. با هر بار چرخش پن، این عمل تکرار شد و لذا به‌تدریج اندازه پوشش بذر بزرگتر و کروی شکل گردید. در پایان فرآیند پلت کردن بذر و به منظور سخت کردن بذر، لایه بیرونی پلت چسب (PVP) زده شد. در نهایت بذرهای پلت شده، خشک شده و برای کشت مورد استفاده قرار گرفت. در گلخانه، تیمارهای ذکر شده در شرایط رطوبتی بدون تنش در خاک کشت گردیدند. ابعاد جعبه کشت مورد استفاده ۲۰ ×۵۰ سانتی‌متر بود. با توجه به تعداد تیمارها ۳۶ جعبه کشت با ابعاد ذکر شده از خاک تهیه شده به یک اندازه پر شدند. بعد از مسطح کردن سطوح ناهموار خاک در سطح جعبه تعداد ۲۵ بذر در هر تکرار در هر جعبه کشت گردید. میزان آب بر حسب وزن خاک جعبه کشت محاسبه و بعد از کشت بذر به طور یکنواخت روی خاک ریخته شد. جهت دستیابی به اثر مواد پوشش‌دهنده بر جوانه‌زنی بذر مورد نظر، علاوه بر عامل خاک عوامل نور و دما (۲۲-۲۱ درجه سانتی‌گراد) با مقادیر نزدیک به شرایط مزرعه تنظیم شد. در این تحقیق درصد ظهور گیاهچه، سرعت ظهور گیاهچه، یکنواختی ظهور گیاهچه، درصد گیاهچه‌های عادی و غیرعادی، شاخص وزنی و طولی بنیه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه، در گلخانه مؤسسه بذر چغندرقند اندازه‌گیری شدند. برای محاسبه درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی ظهور گیاهچه، از نرم‌افزار Seed Calculator 3 استفاده شد. گیاهچه‌های عادی و غیرعادی بر مبنای معیارهای آزمون گیاهچه انجمن بین‌المللی آزمون بذر (Don 2006) تعیین شدند. به منظور بررسی و ارزیابی بنیه بذر و گیاهچه تیمارهای مورد نظر پس از پایان آزمون استقرار گیاهچه، خاک هر گلدان با دقت و احتیاط فراوان شستشو شد و تعداد۱۰ گیاهچه عادی به طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و پس از اندازه‌گیری طول گیاهچه، ساقه اولیه و ریشه اولیه با استفاده از خط‌کش مدرج بر حسب سانتی‌متر وزن تر گیاهچه‌ها به‌وسیله ترازوی دقیق تعیین و پس از خشک کردن گیاهچه‌ها به‌وسیله آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از ترازوی دقیق مشخص گردیدند. با استفاده از داده‌های به دست آمده دو شاخص بنیه گیاهچه از طریق رابطه‌های زیر تعیین گردیدند (Abdul-Baki and Anderson 1973):

شاخص طولی بنیه بذر=
درصد ظهورنهایی×(میانگین طول ریشه‌اولیه+میانگین طول ساقه‌اولیه)

شاخص وزنی بنیه بذر= درصد ظهور نهایی×وزن خشک گیاهچه

جهت بررسی ماندگاری باکتری‌ها، بذرهای پوشش‌دار شده و پلت شده توسط باکتری‌های منفرد به مدت شش ماه در در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند و سپس جمعیت باکتری در پوشش‌های بذر اندازه‌گیری شد. بدین صورت که ابتدا نمونه‌های با رقت‌های مختلف از باکتری‌های موجود در روی بذر تهیه شد. برای این منظور ابتدا با اضافه کردن یک گرم بذر به ۹ میلی‌لیتر آب استریل ۱۰ میلی‌لیتر محلول با رقت ۰/۱ میلی‌لیتر از باکتری‌های روی بذر تهیه شد. برای تهیه‌ی رقت ۰/۱ از باکتری‌های موجود در بذر یک میلی‌لیتر از نمونه‌ی موجود در لوله‌ی شماره‌ی یک را به ۹ میلی‌لیتر آب سترون اضافه شد. برای تهیه‌ی رقت‌های بیشتر هر بار یک میلی‌لیتراز محلول موجود در لوله را به لوله‌ی بعدی که حاوی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر بود اضافه کشد برای شمارش تعداد باکتری‌ها نیاز به کشت باکتری و شمارش کلنی‌های حاصل بود برای تهیه‌ی کشت ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌ی موجود در هر لوله را به پلیت سترون منتقل شد و سپس آگار مذاب را در دمایی که باعث مرگ باکتری‌ها نشود به پلیت منتقل شد و برای این که باکتری‌ها به خوبی در محیط کشت پراکنده شوند پلیت محتوی محیط کشت و باکتری‌ها به آرامی به صورت حرکت ۸ جابجا شد و در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. برای محاسبه‌ی تعداد باکتری‌های موجود در نمونه‌ی بذر تعداد کلنی‌های شمارش شده در هر پلیت را در عکس ضریب رقت لوله‌ی مربوط به آن پلیت ضرب می‌کشود. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و جداول آماری نیز توسط نرم‌افزار Excel صورت گرفت. مقایسه میانگین صفات مورد نظر با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج و یک درصد تعیین گردید.

نتایج و بحث

الف- ویژگی‌های جوانه‌زنی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر پوشش‌دار و پلت کردن بذر بر هیچ یک از صفات مورد بررسی در این پژوهش معنی‌دار نشد (جدول ۱). تیمار بذر با باکتری در شرایط گلخانه بر وزن‌تر گیاهچه و شاخص وزنی بنیه در سطح احتمال یک درصد و بر درصد گیاهچه عادی و شاخص طولی بنیه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. هم‌چنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل باکتری در روش پوشش بذر بر هیچ یک از صفات معنی‌دار نبود.

وزن‌تر گیاهچه

نتایج مقایسه میانگین اثرات باکتری (شکل ۱) نشان داد که اثر منفرد باکتری *سودوموناس* بر افزایش وزن‌تر نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها بیشتر بود. شاید به‌توان گفت یکی از دلایل بهبود وزن تر گیاهچه توسط باکتری *سودوموناس* در روش پوشش‌دار کردن بذر، این باشد که با نظر به ماندگاری بالای این باکتری در این روش نسبت به روش پلت کردن بذر، حضور تعداد بیشتری از باکتری‌های زنده و فعال بر روی بذرهای پوشش‌دار شده با این باکتری در خاک باشد که موجب افزایش وزن‌تر شده است. با توجه به این‌که در مرحله گیاهچه، چغندرقند ساقه‌ای نداشته و عمده بخش هوایی را برگ‌ها به خود اختصاص می‌دهند، لذا وزن تر و خشک گیاهچه بیشتر بیانگر برگ‌های سنگین‌تر و بزرگ‌تر می‌باشند. این مطلب نشان می‌دهد که برای تولید گیاهچه‌های با وضعیت مطلوب در شرایط مزرعه تنها سرعت سبز کردن بالا کافی نبوده و عوامل دیگری نیز در این مورد می‌توانند اثرگذار باشند. افزایش وزن گیاهچه چغندرقند در اثر تلقیح با باکتری *سودوموناس* را می‌توان به نقش مثبت این

باکتری در گسترش ریشه اعم از وزن و حجم که به جذب آب و عناصر غذایی و انتقال آن به گیاه کمک می‌نماید نسبت داد که در نهایت به بهبود رشد و افزایش فتوسنتز گیاه منجر می‌شود. افزایش ۱۹ درصدی وزن ذرت در اثر تلقیح توام بذر با باکتری *سودوموناس* و *ازتوباکتر* گزارش شده است (Zahir *et al*. 1998). تحقیقات زیادی اثربخشی باکتری‌های محرک رشد گیاه را بر افزایش وزن گیاهچه به اثبات رسانده است. نتایج پژوهشی نشان داد که اثر مواد تنظیم‌کننده رشد تولید شده به وسیله این باکتری‌ها بر رشد گیاهچه از طریق پارامترهایی بروز می‌کند که مهم‌ترین آن‌ها افزایش وزن ریشه، افزایش ارتفاع، گسترش سطح ریشه است که از میان آن‌ها افزایش وزن در اثر کاربرد این باکتری عمومی‌تر است. به احتمال زیاد توسعه بیشتر ریشه و جذب کارآمدتر آب از لایه‌های خاک می‌تواند عامل افزایش وزن تر گیاهچه باشد.

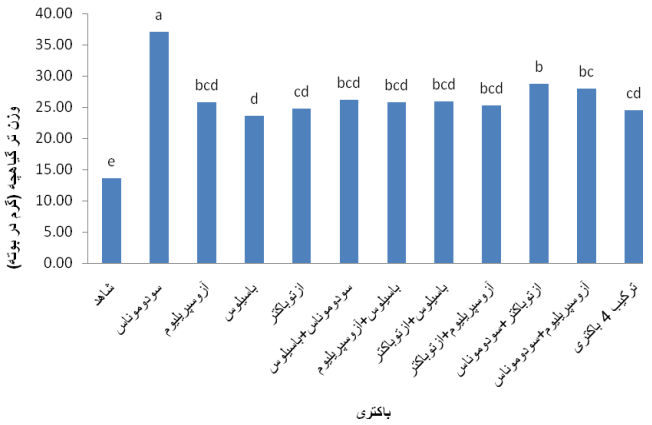
درصد گیاهچه های عادی

نتایج جدول واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر کاربرد باکتری بر درصد گیاهچه‌های عادی در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. نتایج همچنین نشان داد که اثر متقابل روش پوشش در باکتری معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری (شکل ۲) نشان داد که بیشترین درصد گیاهچه‌های عادی در میان تیمارها مربوط به کاربرد همزمان باکتری *ازتوباکتر* و *سودوموناس* و همچنین کاربرد منفرد باکتری *سودوموناس* نسبت به شاهد بود. به‌طورکلی تعداد گیاهچه‌های غیرعادی ناشی از خسارات وارده به سلول‌های جنین و به ویژه ساختار دیواره سلولی است. در نتیجه کاهش تعداد این گیاهچه‌ها موجب افزایش استقرار و یکنواختی گیاهچه‌ها در مزرعه می‌شود. ظهور یکنواخت گیاهچه‌ها در مزرعه عاملی مهم در استقرار و تراکم بوته مطلوب می‌شود. گزارش شده که بالاترین میزان ظهور نهایی گیاهچه ذرت شیرین مربوط به بذرهایی بود که با سویه‌ای از باکتری *سودوموناس* تلقیح و پوشش‌دار شده بودند (Callan *et al*. 1991). هم‌چنین گزارش شده است که برخی از جدایه‌های *سودوموناس* موجب بهبود میزان ظهور گیاهچه‌ها در مزرعه در طی دو سال آزمایش گردیدند. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش و گزارش‌ها رسیده نقش مثبت و کارآمد کاربرد باکتری‌های محرک رشد به‌ویژه باکتری سودوموناس در رشد و بهبود وضعیت گیاهچه‌های عادی اثبات می‌شود و می‌توان با اطمینان خاطر از این عوامل مناسب در کشاورزی یاری جست.

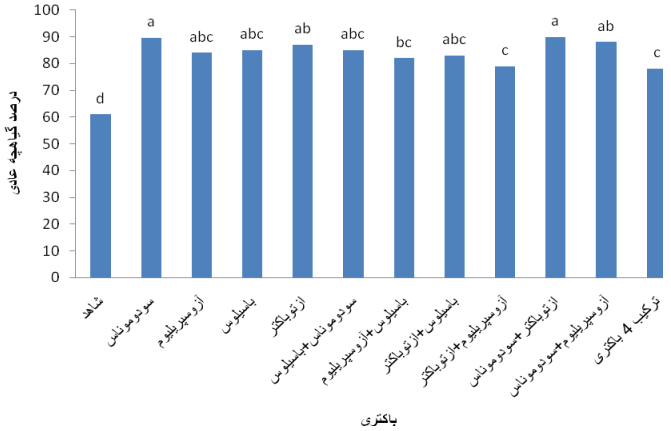
شاخص طولی و وزنی بنیه بذر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کاربرد باکتری‌ها بر شاخص طولی بنیه بذر در سطح پنج درصد و بر شاخص وزنی بنیه بذر در سطح یک درصد معنی‌دار بود. هم‌چنین نتایج تجزیه واریاس نشان داد که اثر متقابل بین روش پوشش‌دار کردن بذر و سطوح باکتری بر شاخص وزنی بنیه بذر معنی‌دار نشد (جدول ۱).

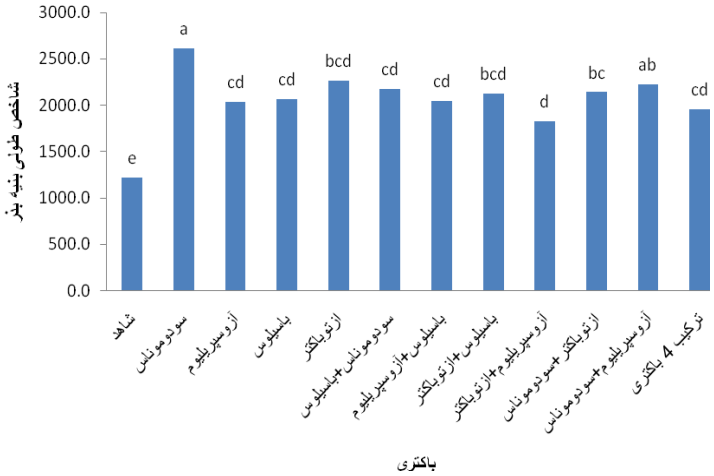
نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری (شکل ۳ و ۴) نشان داد که بیشترین شاخص طولی و وزنی بنیه بذر مربوط به تیمار باکتری *سودوموناس* و کمترین مربوط به تیمار شاهد بود. تحقیقات نشان داده است که شاخص وزنی بنیه بذر معیاری برای ارزیابی بنیه و توانمندی بالقوه تولید محصول محسوب می‌شود. با توجه به ساز وکارهای مختلف اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر تقویت جوانه‌زنی بذر، ظهور گیاهچه و استقرار بوته در گلخانه و مزرعه به نظر می‌رسد که باکتری *سودوموناس* مورد استفاده در این پژوهش نیز به احتمال زیاد از طریق چنین سازوکارهایی سبب افزایش بنیه گیاهچه در گلخانه شده است.



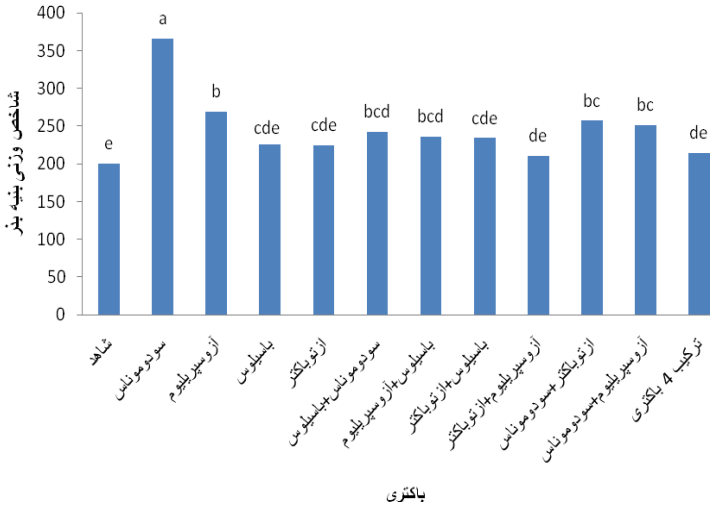
شکل ۱ اثر تیمار باکتری بر وزن‌تر گیاهچه در گلخانه



شکل۲ اثر تیمار باکتری بر درصد گیاهچه‌های عادی در گلخانه



شکل۳ اثر تیمار باکتری بر شاخص طولی بنیه بذر در گلخانه



شکل٤ اثر تیمار باکتری بر شاخص وزنی بنیه بذر در گلخانه

تحقیقات نشان داده است که یکی از مهم‌ترین و کارآمدترین مکانیسمی که باکتری‌های محرک رشد از طریق آن باعث افزایش رشد می‌شوند ساخت هورمون‌های محرک رشد است، که موجب افزایش جوانه‌زنی بذر، ریشه‌زایی و توسعه رشد می‌شوند. علاوه بر این هورمون‌ها رشد گیاه را از طریق تقسیم سلولی، افزایش نفوذپذیری غشاهای سلولی گیاه و در نتیجه افزایش جذب مواد غذایی بهبود می‌بخشند (Arshad and Frankenberger 1991). باکتری‌های جنس سودوموناس از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد محسوب می‌شوند که اصلی‌ترین دلایل افزایش رشد توسط آن‌ها تولید هورمون اکسین گزارش شده است. مطالعات انجام شده بیان‌گر این هستند که برخی باکتری‌های سودوموناس با تولید هورمون‌های گیاهی و افزایش جذب مواد غذایی به‌طور مستقیم قادرند رشد گیاهان را افزایش دهند. تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهان مهم‌ترین سازوکار اثر این

باکتری‌ها بر رشد و ریخت‌شناسی محسوب می‌شود (Banerjee *et al*. 2006).

از بارزترین خصوصیات باکتری *سودوموناس* تولید غلظت‌های بالای اکسین است (Ahmad *et al*. 2005). اکسین باکتریایی با اختلال در تعادل هورمونی گیاهان، افزایش طول ریشه، افزایش ریشه‌های جانبی و تراکم تارهای کشنده را سبب می‌شود (Hafeez *et al*. 2004). گزارش شده است در بین مکانیزم‌هایی که باکتری‌های محرک رشد از آن‌ها استفاده می‌کنند ترشح اکسین مهم‌ترین نقش را ایفا می‌کند (Glick 1995). در بررسی اثر تلقیح پنج سویه *سودوموناس* و *باسیلوس* بر فلفل سیاه گزارش شد که کاربرد این باکتری به طور معنی‌داری طول ریشه‌چه، سطح ریشه و تعداد ریشه را افزایش داد (Paul and Sarma 2006). علاوه بر این اسید ۳- ایندول استیک مؤثرترین ترکیب اثر گزار بر آغازش ریشه، تقسیم و رشد سلول است که اثر آن عمدتاً به صورت افزایش طول ریشه بروز می‌کند. مطالعه و بررسی علاوه بر اثر غیر مستقیم این باکتری‌ها از طریق تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه بر رشد ریشه، شواهدی دال بر این‌که این باکتری به‌طور مستقیم تنفس ریشه و در نتیجه افزایش رشد ریشه را سبب می‌گردد وجود دارد. به طوری‌که افزایش میزان تنفس ریشه برخی گونه‌های گیاهی در اثر تلقیح با این باکتری گزارش گردیده است.

جدول۱.تجزیه واریانس اثر پوشش دار و پلت کردن بذر با باکتری بر جوانه‌زنی چغندر قند در گلخانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد ظهور گیاهچه	سرعت ظهور گیاهچه	طول ساقه-چه	طول ریشه‌چه	وزن‌تر گیاهچه	وزن خشک گیاهچه	درصد گیاه چه عادی	درصد گیاهچه غیر عادی	شاخص طولی بنیه بذر	شاخص وزنی بنیه بذر
		(MSE)									
تکرار	۳	۲۸^{ns}	۰/۱۵^{ns}	۷/۴^{ns}	۱۴^{ns}	۲۷^{ns}	۲/۲^{ns}	۵۴^{ns}	۷^{ns}	۴۸۹۶^{ns}	۵۱۰۹۰۵^{ns}
پوشش‌دار و پلت کردن	۱	۱۱^{ns}	۰/۰۶^{ns}	۱/۵^{ns}	۱۹^{ns}	۱۰۲^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۱^{ns}	۱۸^{ns}	۱۴۳^{ns}	۱۱۰۰۸^{ns}
باکتری	۱۱	۳۵۰^{ns}	۱/۸^{ns}	۱۷۵/۲^{ns}	۲۹۷^{ns}	۲۳۷۸**	۵۰/۰^{ns}	۱۳۳۱*	۴۳۱^{ns}	۱۶۳۶۷*	۹۳۵۲۱۳**
پوشش‌دار و پلت کردن × باکتری	۱۱	۲۹^{ns}	۰/۱۵^{ns}	۴۷/۰^{ns}	۱۳۳^{ns}	۱۰۴^{ns}	۱۰/۶^{ns}	۷۱^{ns}	۷۵^{ns}	۲۰۰۰^{ns}	۱۶۹۱۳۹^{ns}
خطا	۶۹	۲۹۶	۱/۵۲	۲۵۰/۰	۴۰۹	۷۰۱	۲۸/۰	۶۷۷	۳۶۰	۶۶۵۳	۲۷۸۷۸۳
کل	۹۵	۷۱۴	۳/۶	۴۸۱/۲	۸۷۱	۳۳۱۱	۹۰/۹	۲۱۳۵	۸۹۲	۲۵۵۲۵	۱۴۳۵۳۲۷
ضریب تغییرات٪ (CV)		۷/۶	۴/۷	۱۰/۳	۹/۲	۲۸/۵	۱۵/۱	۱۱/۵	۷/۹	۲۶/۰	۵/۳

* معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، nsعدم معنی‌داری.

ب- بررسی ماندگاری جمعیت باکتری بر روی بذر

نتایج نشان داد که بعداز شش ماه جمعیت باکتری در روی بذر در هر دو روش پوشش و پلت کردن تا حدود یک سوم مقدار اولیه بذر کاهش یافت. نتایج نشان داد که اثر روش پوشش‌دار کردن و پلت‌کردن بذر بر روی جمعیت باکتری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسات میانگین داده‌ها (جدول ۴) نیز نشان داد که بقاء باکتری‌های پلت شده بیشتر از باکتری‌های پوشش‌دار شده بود. اما نتایج نشان داد که تعداد باکتری *سودوموناس* در روش پوشش کردن بیشتر از روش پلت کردن بود. نتایج مقایسه میانگین بیان‌گر این است که باکتری *باسیلوس* در روش پلت کردن بذر با دارا بودن تعداد ۳۷×۱۰^{۵}CFU باکتری زنده پس از شش ماه انبارداری دارای بیشترین تعداد باکتری زنده و فعال بود. در

بررسی ماندگاری باکتری‌های محرک رشد گیاه فرموله شده در حامل پودر تالک در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در طی یک دوره ۱۵۰ روزه نشان داد که باکتری *سودوموناس* بیشترین میزان کاهش در جمعیت باکتری را از خود نشان داد (جدول ۴). در تحقیقاتی که بر روی بررسی خصوصیات انبارمانی باکتری‌ها بر روی بذرهای گوجه‌فرنگی انجام شد، جمعیت باکتری بر روی بذر تا چهار ماه انبارمانی زیاد و در حد جمعیت اولیه پس از تلقیح روی بذر بود، ولی در هشت ماه انبارداری این جمعیت کاهش یافت Warren and Bennett (1999). عمدتاً وارد نمودن باکتری به صورت مستقیم در خاک مقدور نمی‌باشد و اصولاً به همراه یک ماده حامل انجام می‌گیرد. ماده حامل، ضمن حفظ جمعیت قابل قبول از باکتری، باید وسیله‌ای برای عرضه باکتری به سطح بذر یا ریزوسفر گیاه باشد. بنابراین یکی از دلایل اصلی برتری در میزان ماندگاری بیشتر باکتری‌ها پس از ۶ ماه انبارداری در روش پلت کردن بذر در مقایسه با روش پوشش کردن وجود ترکیبات به کار برده شده در پلت بذر می‌باشد که به عنوان یک حامل مناسب جهت حفظ و ماندگاری باکتری عمل نموده است.

جدول ۳ تجزیه واریانس اثر روش پوشش دار کردن بذر بر جمعیت باکتری روی بذر

منابع تغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات
باکتری	۳	$۴/۱\times۱۰^{۱۷}$ **
پوشش‌دار کردن	۱	$۲/۷۴\times۱۰^{۱۴}$ **
باکتری × پوشش‌دار کردن	۳	$۲/۳۸\times۱۰^{۱۴}$ **
خطای آزمایش	۱۲	۶۲۵×۱۰^{۸}
ضریب تغیرات (درصد)		۰/۰۴

** معنی‌دار در سطح یک درصد.

جدول ٤ مقایسه میانگین اثر متقابل روش پوشش‌دار کردن بذر بر جمعیت باکتری روی بذر ($CFU\ Seed^{-1}$)

نوع باکتری	روش پوشش‌دهی بذر	
	پوشش دار	پلت شده
باسیلوس	$۲/۵\times۱۰^{۴}$b	$۳/۷\times۱۰^{۶}$a
سودوموناس	$۱/۶\times۱۰^{۴}$c	۱×۱۰^{-۴}g
آزوسپیریلوم	۱×۱۰^{-۴}g	$۲/۲\times۱۰^{۳}$f
ازتوباکتر	$۱/۴\times۱۰^{۴}$e	$۱/۶\times۱۰^{۴}$d

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p\leq۰/۰۵$)

در مجموع نتایج نشان داد که روش‌های مختلف روکش‌دار کردن بذر چغندرقند بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌های چغندرقند در شرایط گلخانه اثر معنی‌داری نمی‌گذارد. لذا انتخاب استفاده از این روش‌ها می‌تواند بر اساس امکانات و سرمایه موجود انجام شود.

هم‌چنین نتایج نشان داد که کاربرد باکتری‌های مختلف آثار متفاوتی بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی چغندرقند می‌گذارد. به طوری که کاربرد باکتری *سودوموناس* در مقایسه با سایر باکتری‌ها تأثیر بسیار مثبتی بر برخی صفات اندازه‌گیری شده داشت. به طوری که کاربرد باکتری *سودوموناس* موجب افزایش ۱۶۰، ۹۰ و ۱۲۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد به ترتیب در وزن‌تر گیاهچه، شاخص وزنی بنیه، شاخص طولی بنیه و کاهش گیاهچه غیرعادی شد. هم‌چنین بذرهای روکش‌دار شده با باکتری *ازتوباکتر* و تلفیق دوتایی باکتری *سودوموناس* و *ازتوباکتر* و باکتری *سودوموناس* نقش بهتری درمقایسه با سایر تیمارها داشتند. نتایج ماندگاری جمعیت باکتری روی بذر پس از شش ماه نشان داد که حفظ جمعیت باکتری در بذرهای پلت شده در مقایسه با بذرهای پوشش‌دار شده بیشتر بود. بیشترین تعداد جمعیت باکتری زنده روی بذر مربوط به تیمار پلت کردن بذر

با *باسیلوس* (۲۵۰۰۰) CFU بود ولی جمعیت باکتری‌های *باسیلوس لنتوس* سویه ۴-۱۵، *سودوموناس پوتیدا* سویه RS- 36، *آزوسپیریلوم لیپوفروم* سویه OF و *ازتوباکتر کروکوکوم* در روی بذرهای پوشش‌دار شده به ترتیب ۲۵۰۰۰، ۱۵۹۵۰، ۰ و ۱۴۱۰۰ CFU بود.

تشکر و قدردانی

از مؤسسه تحقیقات چغندرقند واقع در کرج که موجبات پلت، پوشش، اجرای آزمایش‌ها در آزمایشگاه کنترل بذر وگلخانه را فراهم نمودند تشکر و قدردانی می‌شود. از بخش تحقیقات بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب که باکتری‌ها را در اختیار اینجانب قرار دادندتشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده: References:

Abd El-Fattah DA, Eweda WE, Zayed MS, Hassanein MK. Effect of carrier materials, sterilization method, and storage temperature on survival and biological activities of Azotobacter chroococcum inoculant. Ann Agric Sci [Internet]. 2013 Dec [cited 2014 Jun 11];58(2):111–8.

Abd-el-Malek Y, Ishac YZ. Evaluation of Methods Used in Counting Azotobacters. J Appl Bacteriol. Blackwell Publishing Ltd; 1963 Sep 1;31(3):267–75.

Abdul– Baki, A.A., and J.D., Anderson, 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. Crop Sci., 13: 630-633.

Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of Azotobacter and fluorescent Pseudomonas in the presence and absence of tryptophan. Turk J Biol. 2005;29:29–34.

Antunes PM, Deaville D, Goss MJ. Effect of two AMF life strategies on the tripartite symbiosis with Bradyrhizobium japonicum and soybean. Mycorrhiza. Springer; 2006;16(3):167–73.

Arshad M, Frankenberger Jr WT. Microbial production of plant hormones. Plant Soil. Springer; 1991;133(1):1–8.

Banerjee MR, Yesmin L, Vessey JK, Rai MK, others. Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. Handb Microb biofertilizers. Food Products Press; 2006;137–81.

Cakmacki, R, Kantar F, Sahin F. Effect of N2-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. J Plant Nutr Soil Sci. Wiley Online Library; 2009;164(5):527–31.

Callan NW, Mathre DE, Miller JB. Field performance of sweet corn seed bio-primed and coated with Pseudomonas fluorescens AB254. HortScience. American Society for Horticultural Science; 1991;26(9):1163–5.

Dewar AM, Westwood F, Bean KM, Haylock LA, Osborne R. The relationship between pellet size and the quantity of imidacloprid applied to sugar beet pellets and the consequences for seedling emergence. Crop Prot. 1997 Mar;16(2):187–92.

Don, R. ISTA handbook on seedling evaluation. International Seed Testing Association, Switzerland. 2006.

Gaur AC. Efect of Azotobacterization in presence of ertilzer Nitrogen in the yield of canola(Brasica napus L). Field experiment. Indian Society of Soil Science.2001;41: 50 -54

Gholami A, Biyari A, Gholipoor M, Asadi Rahmani H. Growth promotion of Maize (Zea mays L.) by plant-growth-promoting rhizobacteria under field conditions. Commun Soil Sci Plant Anal. Taylor & Francis; 2012;43(9):1263–72.

Gholami A, Shahsavani S, Nezarat S. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. Int. J. Biol. Life Sci. Citeseer; 2009;1(1):35–40.

Glick BR. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can J Microbiol. NRC Research Press; 1995;41(2):109–17.

Hafeez FY, Safdar ME, Chaudhry AU, Malik KA. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. Anim Prod Sci. CSIRO; 2004;44(6):617–22.

Ibrahim MA, Campbell WF, Rupp LA, Allen EB. Effects of mycorrhizae on sorghum growth, photosynthesis, and stomatal conductance under drought conditions. Arid L Res Manag. Taylor & Francis; 1990;4(2):99–107.

Kennedy IR, Tchan Y-T. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: Recent advances. Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture. Springer; 1999. p. 93–118.

Krantev A, Yordanova R, Janda T, Szalai G, Popova L. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. J Plant Physiol. Elsevier; 2008;165(9):920–31.

Lada R, Stiles A, Surette MA, Sturz AV, Blake TJ, Caldwell C, et al., Stand establishment technologies for processing carrots. Acta Hortic. ISHS; 1999; 2004;105–16.

Mirshekari B, Roudsari AM. Bio-nutrient seed priming may improve growth and essential oil yield of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Int J Biosci. Shamokal Publications; 2013;3(6):32–7.

Paul D, Sarma YR. Antagonistic effects of metabolites of Pseudomonas fluorescens strains on the different growth phases of Phytophthora capsici, foot rot pathogen of black pepper (*Piper nigrum* L.). Arch Phytopathol Plant Prot. Taylor & Francis; 2006;39(02):113–8.

Rajab- Ali j, Zadeh A, A., Nouhi A, Salehi, M, Khavazy K., Brotherhood Sepahi AS .The effect of additives in the formulation of biofertilizers on the germination of cotton. Journal of Microbiology,1999; 3: 38-30.

Renaut J, Lutts S, Hoffmann L, Hausman J-F. Responses of poplar to chilling temperatures: proteomic and physiological aspects. Plant Biol. Wiley Online Library; 2004;6(1):81–90.

Sayed- Sharif R, Khavazi k. Effect of plant growth promoting bacteria on germination and seedling growth of corn components, Agroecology, 2010; 4 (3): 520-513.

Scott SJ, Jones RA, Williams WA. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science Society of America; 1984;24(6):1192–9.

Tilak K, Singh CS, Roy NK, Subba Rao NS. Azospirillum brasilense and Azotobacter chrococcum inoculum effect on maize and sorghum. Soil Biol Biochem. 1992;14:417–8.

Warren JE, Bennett MA. Bio-osmopriming tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds for improved stand establishment. Seed Sci Technol. International Seed Testing Association; 1999;27(2):489–99.

Zahir ZA, Asghar HN, Akhtar MJ, Arshad M. Precursor (L-tryptophan)-inoculum (Azotobacter) interaction for improving yields and nitrogen uptake of maize. J Plant Nutr. Taylor & Francis; 2005;28(5):805–17.