

تأثیر سویه‌های مختلف باکتری حل کننده فسفات *Pseudomonas putida* بر کمیت و کیفیت علوفه ارقام سورگوم در ورامین

*سید محمد رضا احتشامی^۱، محمدرضا عباسی^۲، کاظم خوازی^۳، بهنام زند^۴

اگروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان،^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد رودهن،^۲ عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران^۳

(تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۵/۱۹؛ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۰۸/۱۸).

چکیده:

به منظور بررسی اثر دو سویه از *Pseudomonas putida* بر کمیت و کیفیت علوفه سه رقم سورگوم، آزمایشی در قالب طرح بلوك-های کامل تصادفی در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران (ورامین) اجرا شد. بیشترین عملکرد علوفه تر و خشک، درصد قابلیت هضم علوفه خشک و درصد پروتئین خام در تیمار واحد باکتری سودوموناس سویه ۱۶۸ و بالاترین درصد کربوهیدرات محلول در آب در تیمار واحد باکتری سودوموناس سویه ۴۱ به دست آمد. بیشترین درصد فیبر نامحلول و درصد خاکستر نیز به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار حاوی ترکیبی از دو باکتری بود. بیشترین عملکرد علوفه تر و علوفه خشک و درصد پروتئین خام را رقم جامبو به خود اختصاص داد و بیشترین درصد قابلیت هضم علوفه خشک و درصد کربوهیدرات محلول در آب در رقم اسپیدفید مشاهده شد. تیمار تلقیح بذر با ۱۶۸ *P. putida strain* در اکثر صفات مورد بررسی دارای بالاترین میزان بود و همین آنها در تیمار ترکیبی از دو باکتری مشاهده شد. یافته های این تحقیق نشان داد که دو سویه باکتری حل کننده فسفات با یکدیگر اثر آنتاگونیستی دارند، هر چند که تلقیح بذر با هر یک از آنها به تنهایی (بهخصوص سویه ۱۶۸) به دلیل جذب عناصر غذائی و نیز تحریک رشد گیاه بر اثر ترشح متابولیت های ثانویه می تواند منجر به افزایش عملکرد گیاه شود.

کلمات کلیدی: اثر آنتاگونیستی، کود زیستی، سویه، عملکرد، تلقیح

عنوان یکی از عوامل کلیدی تحقق امنیت غذا و کشاورزی پایدار یاد شده است. یکی از روش های تأمین فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه، استفاده از منابع زیستی است. باکتری های ریزوسفری افزایش دهنده رشد گیاه که به آنها باکتری های محرك رشد اطلاق می گردد، از جمله منابع زیستی می باشند که از طریق مستقیم و غیرمستقیم باعث بهبود رشد گیاه می شوند (احتشامی و همکاران، ۱۳۸۸). این

مقدمه:

شاید توجه به تولید و مصرف محصولات زیستی در سال های اخیر به خصوص در جوامع پیشرفته نیز ناشی از نگرانی به دلیل مصرف بیش از حد نهاده های شیمیائی در کشاورزی باشد. در سال های اخیر، نگرانی از تخریب خاک ها به عنوان تنها منبع تأمین کننده ای غذا در سطح جهان مورد توجه قرار گرفته است. در بیانیه ای جهانی غذا از حاصلخیزی خاک به

برگ، تعداد گره و وزن خشک ریشه در مقایسه با شاهد شده اند (Banchio *et al.*, 2008). در ضمن مشخص شد که محلول پاشی باکتری‌های محرک رشد اثر معنی‌داری بر عملکرد میوه، رشد و میزان فسفر و روی توت فرنگی داشته است (Esitken *et al.*, 2010).

نقش تعیین کننده و جایگاه خاص گیاهان علوفه‌ای در حفظ حاصلخیزی خاک و جلوگیری از فشار بیش از حد دام بر مراتع کشور که سبب از بین رفتان پوشش گیاهی، فرسایش خاک و جاری شدن سیلاب‌ها می‌شود، بر کسی پوشیده نیست. سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک دنیاست که به علت سازگاری با شرایط خشک و بالا بودن کارائی مصرف آب می‌تواند در برخی از مناطق که با کمبود آب مواجه هستند، تولید خوبی داشته باشد (Rathore, 2002). از طرف دیگر، استفاده از کودهای زیستی می‌تواند آثار مثبتی بر خواص فیزیکی و شیمیایی خاک، سودمندی اقتصادی و تأثیر مفید و مثبت بر کاهش آلودگی محیط زیست داشته باشد. هدف از انجام این تحقیق نیز بررسی تأثیر استفاده از کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت علوفه ارقام مختلف سورگوم بود.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش در بهار ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران در شهرستان ورامین واقع در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۸ دقیقه شرقی با ارتفاع ۹۲۷ متر از سطح دریا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و ۱۲ تیمار اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق شامل سویه باکتری و ارقام بودند. تیمار سویه باکتری در چهار سطح اعمال شد که عبارت بودند از: تیمار بذر با *P. putida* strain 168، تیمار بذر با *P. putida* strain 41، تیمار بذر با مخلوطی از

افرایش از طریق سازوکارهای مختلفی چون تأمین نیتروژن برای گیاه از طریق ثبت N₂، تولید مواد محرک رشد یا همان فیتوهورمون‌ها شامل اکسین، سیتوکینین و جیبرلین و ایجاد کنترل زیستی در مقابل پاتوژن‌های خاکزی است (Piromyou *et al.*, 2011). باکتری‌های محرک رشد گیاه به عنوان مکمل و جایگزین کودهای شیمیایی شناخته می‌شوند که می‌توانند سبب افزایش باروری و حاصلخیزی خاک گردند. استفاده از کودهای زیستی باعث کاهش هزینه‌های تولید می‌شود (Mehnaz *et al.*, 2010). این ریزجاذaran نظیر آزوسپریلیوم و ازتوباکتر می‌توانند در قابل حل شدن و تأمین مواد معدنی ضروری برای گیاه، همکاری لازم را داشته باشند (Sekar and Karmegam, 2010). مزایای تلقیح با این باکتری‌ها شامل افزایش شاخص‌های متعددی مانند سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، کنترل عوامل بیماری‌زا، سطح برگ، محتوی کلروفیل، مقاومت به خشکی، وزن ریشه و اندام هوایی و فعالیت میکروبی است (Lucy *et al.*, 2004). برخی از محققین گزارش کردند در بین ژنوتیپ‌های مختلف گندم پاییزه، تعدادی از ژنوتیپ‌ها پاسخ بهتری به تلقیح ازتوباکتر نشان می‌دهند و پاسخ آنها به سویه‌های مختلف، متفاوت می‌باشد (Zaiied *et al.*, 2003). در تحقیقی اثر تلقیح با ازتوباکتر در گوجه فرنگی نشان داد که درصد جوانه‌زنی در بذرهای تلقیح شده، بیشترین میزان (۹۰٪) را به خود اختصاص داد. طول ساقه، تعداد برگ‌ها و طول و عرض برگ در این تیمار نسبت به شاهد افزایش داشت (Mahato *et al.*, 2009). تحقیقات نشان داده است که تیمار نمودن بذر با ریزوباکتر های افزاینده رشد گیاهان می‌تواند میزان جذب نیتروژن از کود توسط گیاه را افزایش دهد (Adesemoye *et al.*, 2010). استفاده از این باکتری‌ها همراه با کیتین حتی باعث افزایش معنی‌دار رشد، عملکرد و عناصر غذایی موز شده است (Kavino *et al.*, 2010). باکتری‌های *Bradyrhizobium* sp. و *P. fluorescens* باعث افزایش معنی‌داری در طول شاخصاره، وزن شاخصاره، تعداد

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیابی خاک محل آزمایش

کربن آلی٪	نیتروژن٪	فسفر٪	آهن(ppm)	پتاسیم(ppm)	منگنز(ppm)	روی(ppm)	مس(ppm)	اسیدیته	بافت خاک
۰/۸۱	۰/۱	۹/۶	۲۶۰	۴/۱	۱۱/۳	۰/۸	۱/۳	۷/۱	لومه رسى

آن، مقدار ۲۰ گرم از مایه‌ی تلقيح به بذرهاي چسبناك اضافه شد و پس از ۴۵ ثانие تکان دادن و اطمینان از چسبيدن يکنواخت مایه‌ی تلقيح به بذرها، بذرهاي آگسته به مایه‌ی تلقيح بر روی ورقه‌ی آلومينيومی تمیز در زير سایه پهن گردید تا بذور خشک شدند. کاشت بذور در عمق یک تا دو سانتي متر انجام گرفت. پس از کاشت بذر، بالاصله کودهای اوره، پتاسیم و فسفر بر مبنای آزمون خاک و مطابق با توصیه‌ی کودی برای سورگوم علوفه‌ای به صورت نواری به خاک داده شد. علاوه بر این، نیتروژن در دو نوبت دیگر نیز به صورت سرک در اختیار گیاه قرار گرفت. کلیه عملیات زراعی از قبیل واکاری، وجین، تنک کردن و مبارزه با آفات و بیماری‌ها به طور همزمان و به نحو مطلوب در کلیه کرت‌های آزمایشی انجام شد. در زمان برداشت (در مرحله گلدی) کلیه بوته‌های سبز در هر کرت شمارش و سپس از ۱۵ سانتي متری سطح خاک، قطع و برداشت گردید. پس از اندازه‌گیری وزن تر به وسیله‌ی ترازو، سپس به مدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۷۵ درجه سانتی گراد خشک شده و به عنوان علوفه‌ی خشک توزین شد. شاخص‌های کیفی علوفه (درصد قابلیت هضم، درصد پروتئین خام، فیبر خام، خاکستر، الیاف نامحلول در شوینده‌های اسیدی) نیز با استفاده از دستگاه NIR (طیف سنتجی مادون قرمز نزدیک) در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور اندازه‌گیری شدند. پس از برداشت چین اول، مجدداً به بوته‌های سورگوم کود سرک داده شد و پس از رسیدن به ارتفاع کافی (۸ هفته پس از برداشت چین اول)، چین دوم بوته‌ها از سطح خاک انجام گرفت (علت برداشت چین دوم این بود که چون سورگوم گیاهی است که راتون دهی دارد، هم می‌توان عملکرد و کیفیت علوفه را مورد

باکتری‌ها (به نسبت ۵۰ به ۵۰)، تیمار بدون تلقيح. تیمار رقم در ۳ سطح در نظر گرفته شد که عبارت بودند از: جامبو، اسپیارفید، KFS.

از عمق صفر تا ۳۰ سانتي متری خاک محل اجرای آزمایش، نمونه‌گیری مرکب به عمل آمد تا میزان عناصر غذائی پرصرف و کم‌صرف خاک اندازه‌گیری شوند (جدول ۱). هر کرت آزمایشی از شش ردیف کاشت به فاصله ۵۰ سانتي متر و به طول پنج متر تشکیل شده بود. فاصله بوته‌ها در روی ردیف نیز ۱۲ سانتي متر در نظر گرفته شد. بین هر دو تیمار، یک ردیف به صورت نکاشت و فاصله‌ی بین دو تکرار نیز پنج متر تعیین شد. عملیات کاشت در نیمه‌ی دوم اردیبهشت ماه انجام گردید. ریزساز واره‌های حل کننده فسفات ابتدا در آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه‌ی تحقیقات خاک و آب فرموله و تهیه شدند. جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه‌ی تلقيح، $10^7 \times 9/8$ برآورد شد. ماده‌ی حامل نیز پرلیت بود. برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت King B استفاده شد. پس از کشت انفرادی باکتری‌ها، پس از ۴۸ ساعت جمعیت آنها به روش Plate Count و بر روی محیط‌های اختصاصی شمارش گردید و سپس حجم مساوی از آنها با یکدیگر مخلوط شده و مجدداً جمعیت در محیط کشت شمارش شده و مایه‌ی تلقيح آماده شد. در تیمارهایی که بایستی بذور با این ریزساز واره‌ها تلقيح می‌شدند، پس از محاسبه‌ی میزان بذر برای هر تیمار و ریختن بذور سورگوم در داخل یک کیسه‌ی پلی اتیلنی، مقدار ۲۰ میلی لیتر محلول شکر ۲۰ درصد به آن اضافه شد. آن‌گاه کیسه‌ی حاوی بذر و ماده‌ی چسباننده برای مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شد تا سطح کلیه‌ی بذرها به طور یکنواخت چسبناک شود. پس از

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس صفات کمی و کیفی علوفه ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف باکتری

منبع تغییرات	درجه آزادی	علوفه تر	آزادی خشک	عملکرد علوفه	DMD ^۱	WSC	CP	ADF	ASH
تکرار	۲	۲۰۱۳۱۰۹۰۷**	۲۳۰۹۵۲۸۷**	۲۳/۰۴ ns	۶/۲۹ ns	۱۵/۲۴**	۲۲/۲۵ ns	۰/۱۴۳ ns	۱/۹۴۱ **
رقم	۲	۱۳۶۰۵۰۱۰۸۷۰**	۲۲۰۷۷۳۱۱/۵**	۱۳۶/۱۳**	۱۳۲/۶۵**	۲۹/۲۸**	۱۷۲/۹۰**	۱/۹۴۱ **	۹/۰۲۹ ns
باکتری	۳	۱۶۰۹۶۴۶۸۰۸**	۲۷۳۸۶۱۷۷/۱**	۳۷/۹۵ ns	۳۰/۶۲ ns	۴/۶۵ ns	۳۹/۷۴ ns	۱/۹۴۱ **	۰/۰۵۶*
رقم*باکتری	۶	۹۷۲۶۲۹۷۸۷**	۲۹۸۹۲۳۰۰**	۳۹/۷۶ ns	۳۹/۳۱*	۱۲/۶۷**	۲۶/۱۲ ns	۰/۰۵۶*	۰/۲۴۲
خطای a	۲۲	۲۵۸۹۳۶۳۶۷	۱۰۷۸۴۳۹۸/۲	۸/۸۰	۹/۳۳	۲۰۳	۱۱/۴۱	۱/۹۴۱ **	۰/۰۰۴ ns
زمان	۱	۲۱۱۱۳۴۰۹۹۲**	۶۰۷۴۲۲۴۲**	۱۹۸/۶۳**	۰/۱۰ ns	۶۵/۴۲**	۸۱/۱۱*	۰/۱۴۳ ns	۰/۷۳۷*
باکتری*زمان	۲	۱۶۳۱۰۱۷۷ ns	۲۲۶۲۱۸/۲ ns	۶/۴۶ ns	۰/۸۵ ns	۳/۱۶ ns	۱/۴۵ ns	۰/۷۳۷*	۰/۱۳۹ ns
رقم*زمان	۳	۶۴۳۴۵۶۲ ns	۹۸۱۱۷/۸ ns	۱۹/۵۳ ns	۱۴/۷۹ ns	۱/۱۶ ns	۲۱/۵۱ ns	۰/۱۳۹ ns	۰/۱۸۸ ns
رقم*باکتری*زمان	۶	۶۹۷۱۱۳۲ ns	۲۱۵۱۰۳/۰ ns	۲۲/۱۴ ns	۱۴/۵۷ ns	۶/۶۹ ns	۲۱/۵۹ ns	۰/۱۸۸ ns	۰/۱۹۱
خطای b	۲۴	۵۶۵۰۲۴۵	۹۵۲۱۶/۹	۱۹/۵۷	۱۴/۳۵	۲/۵۲	۱۶/۹۲	۱/۹۴۱ **	۶/۶۹
ضریب تغییرات	-	۲/۸۴	۲/۲۵	۸/۱۱	۲۵/۶۲	۱۵/۹۲	۱۲/۵۸	۰/۱۹۱	

*اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد، **اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد و ns عدم وجود اختلاف معنی دار

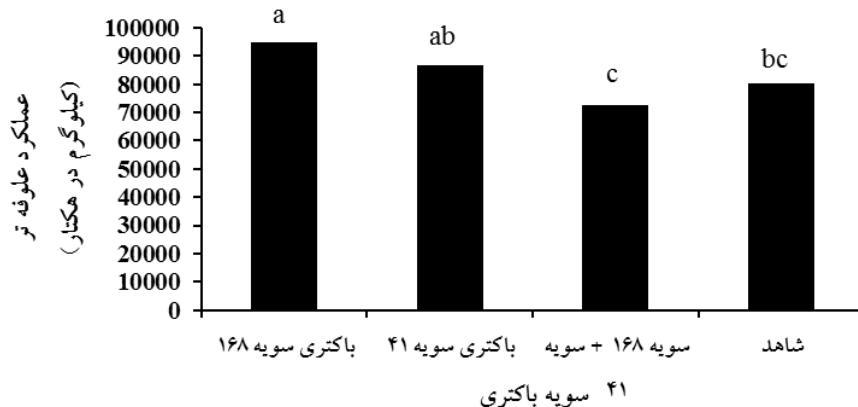
^۱DMD: درصد قابلیت هضم علوفه خشک، CP: درصد پروتئین خام، WSC: درصد کربوهیدرات‌های محلول در آب، ASH: درصد خاکستر و ASH: درصد خاکستر

داد و کمترین مقدار این شاخص در تیمار واجد هر دو باکتری دیده شد (شکل ۱). بین ارقام نیز رقم جامبو و رقم اسپیدفید به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار عملکرد علوفه تر را از آن خود کردند (جدول ۳). همچنین بیشترین عملکرد علوفه تر در چین اول به دست آمد (جدول ۴). تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در عملکرد علوفه خشک بین سطوح باکتری‌ها، ارقام، چین‌های مختلف و اثر مقابله رقم در باکتری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی داری وجود داشت (جدول ۲)، به طوری که مقایسه‌ی بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه ۱۶۸ بیشترین مقدار عملکرد علوفه خشک را به خود اختصاص داد و کمترین مقدار این شاخص در تیمار واجد دو باکتری دیده شد (شکل ۲). بین ارقام نیز رقم جامبو و رقم اسپیدفید به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار عملکرد علوفه خشک را داشتند، هر چند که بین ارقام تفاوت معنی داری دیده نشد (جدول ۳). همچنین بیشترین عملکرد

بررسی قرار داد و هم متوجه شد که بر اساس کارکرد ریزجانداران، چه مقدار فسفر در خاک برای گیاه قابل استفاده باقی مانده است) و پس از محاسبه‌ی عملکرد علوفه‌ی تر و خشک مطابق با چین اول، صفات کیفی آن نیز محاسبه شد. به منظور تجزیه و تحلیل‌های آماری از برنامه آماری SAS استفاده گردید. سپس میانگین‌ها در صورت معنی دار بودن اثر عوامل آزمایشی با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث:

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که در عملکرد علوفه تر بین سطوح باکتری‌ها، ارقام، چین‌های مختلف و اثر مقابله رقم در باکتری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی داری وجود داشت (جدول ۲)، به طوری که مقایسه‌ی بین سطوح باکتری‌ها نشان داد که تیمار حاوی باکتری سویه ۱۶۸ بیشترین مقدار عملکرد علوفه تر را به خود اختصاص



شکل ۱- تأثیر سویه‌های مختلف باکتری بر عملکرد علوفه تر ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای

جدول ۳- جدول مقایسه میانگین صفات کمی و کیفی علوفه در ارقام مختلف سورگوم علوفه ای

ارقام	عملکرد علوفه تر (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد علوفه خشک (کیلوگرم در هکتار)	DMD (%)	WSC (%)	CP (%)	ADF (%)	ASH (%)
جامبو	۹۰۱۷۰ ^a	۱۴۶۴۰/۳ ^a	۵۴/۶۹ ^b	۱۶/۰۳ ^a	۱۱/۱۴ ^a	۳۰/۲۸ ^b	۶/۵۱ ^b
اسپیدفید	۷۵۳۴۰ ^b	۱۲۶۸۲/۵ ^a	۵۶/۸۹ ^a	۱۶/۲۵ ^a	۹/۸۴ ^b	۳۲/۰۵ ^b	۶/۲۸ ^b
KFS _۱	۸۵۱۳۷ ^a	۱۳۷۶۱/۸ ^a	۵۲/۱۳ ^c	۱۲/۰۷ ^b	۸/۹۴ ^c	۲۵/۶۳ ^a	۶/۸۴ ^a

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD هستند.

جدول ۴- جدول مقایسه میانگین صفات کمی و کیفی علوفه در چین‌های مختلف سورگوم علوفه ای

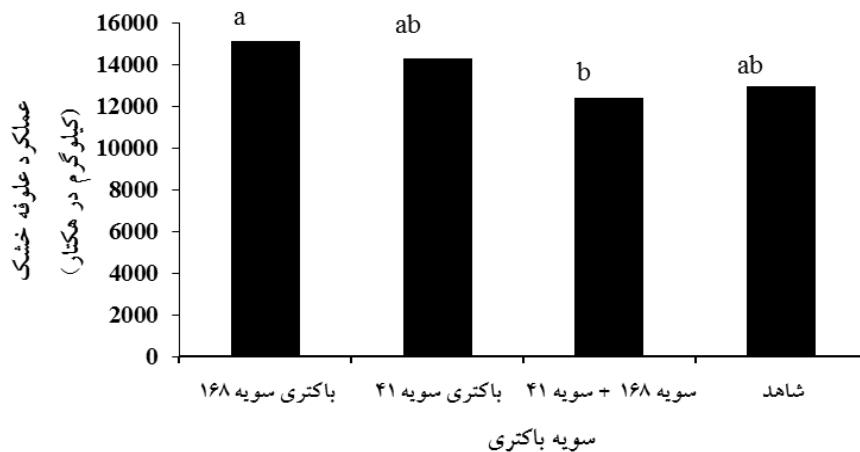
چین	عملکرد علوفه تر (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد علوفه خشک (کیلوگرم در هکتار)	DMD (%)	WSC (%)	CP (%)	ADF (%)	ASH (%)
چین اول	۸۸۹۶۴/۴ ^a	۱۴۶۱۳/۳۳ ^a	۵۶/۲۳ ^a	۱۴/۸۲ ^a	۱۰/۹۲ ^a	۳۱/۶۲ ^b	۶/۵۵ ^a
چین دوم	۷۸۱۳۴/۱ ^b	۱۲۷۷۶/۳۳ ^b	۵۲/۹۱ ^b	۱۴/۷۴ ^a	۹/۰۲ ^b	۳۳/۷۵ ^a	۶/۵۳ ^a

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD هستند

می‌توانند عملکرد گیاه را ارتقاء بخشنند. اثر مثبت ریزجانداران حل کننده فسفات در افزایش عملکرد علوفه خشک ذرت گزارش شده است (Edwards *et al.*, 1998). اثر باکتری‌های محرک رشد در افزایش عملکرد علوفه سورگوم نیز به دلیل جذب بیشتر فسفر گزارش شده است (Pamella and Steven, 1982).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، نشان‌دهنده آن است که بین چین‌های مختلف و همچنین بین ارقام در درصد قابلیت هضم علوفه خشک (DMD) اختلاف معنی‌داری

علوفه خشک در چین اول مشاهده شد (جدول ۴). گزارش‌ها حاکی از وجود تریپتوфан در تراوش‌های ریشه‌ای (Omay *et al.*, 1992; Khalid *et al.*, 2004) اغلب گیاهان (Edwards *et al.*, 1998) توانایی رهاسازی تریپتوfan تحت تأثیر ترکیبات دیگر تراوش‌های ریشه‌ای از قبیل گلوتامین را نیز دارند. به نظر می‌رسد وجود تریپتوfan به عنوان یک پیش ماده برای اکسین، تولید اکسین باکتریائی را تحریک می‌کند (Olsen *et al.*, 1994). بنابراین این ترکیبات نه تنها بر رشد گیاه تأثیر دارند، بلکه بر تولید اکسین نیز مؤثرند و



شکل ۲- تأثیر سویه‌های مختلف باکتری بر عملکرد علوفه خشک ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای.

جدول ۵- تجزیه واریانس صفات کیفی علوفه ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف باکتری در چین اول

منبع تغییرات	درجه آزادی	تکرار
ASH (%)	ADF (%)	CP (%)
۰/۰۲۷ ns	۰/۰۵۳ ns	۱۶/۸۵ **
۰/۱۴ ns	۱۵/۴۳ ns	۱/۴۶ ns
۲/۲۸ **	۷۹/۰۹ *	۲۳/۳۱ **
۰/۱۶ ns	۲۷/۶۴ ns	۱۱/۱۱ **
۰/۱۶	۱۷/۱۸	۱/۷۳
۶/۰۹	۱۳/۱۱	۱۲/۰۵
WSC (%)	DMD (%)	
۱/۶۴ ns	۱۵/۰۱ ns	
۱۵/۴۲ ns	۱۶/۲۷ ns	
۷۴/۱۲ **	۵۵/۱۲ ns	
۲۷/۹۵ ns	۴۶/۵ ns	
۱۱/۵۶	۱۸/۹	
۲۲/۹۳	۷/۷۳	
ضریب تغییرات		

* اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد ns عدم وجود اختلاف معنی دار

یکساله تابستانه انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که ماده خشک قابل هضم همبستگی منفی با درصد پروتئین خام، درصد فیرهای نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر دارد. همچنین نشان دادند که عوامل محیطی مانند دما، تنفس رطوبتی، بافت خاک و... بر قابلیت هضم تاثیر دارند (Ward et al., 2001) مشخص شده است که در سورگوم علوفه‌ای، قابلیت هضم علوفه تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Kipnis et al., 1994; Smith, 1998). البته در برخی از تحقیقات گزارش شده است که قابلیت هضم علوفه تحت تأثیر تنفس خشکی قرار نمی‌گیرد (Ortega-Ochoa, 2005). همبستگی مثبتی نیز بین قابلیت هضم و میزان بلال تولیدی گزارش شده است (Deinum, 1988).

وجود داشت، اما بین سطوح مختلف باکتری اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). در بین ارقام نیز KFS₁ و اسپیلوفید به ترتیب کمترین و بیشترین درصد قابلیت هضم علوفه خشک را از آن خود کردند (جدول ۳). همچنین بیشترین قابلیت هضم در چین اول به دست آمد (جدول ۴). جدول تجزیه واریانس در چین‌های مختلف نشان داد که در چین اول بین سطوح باکتری‌ها، ارقام و اثر متقابل رقم در باکتری اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۵)، لیکن در چین دوم اثر باکتری و رقم معنی دار بود (جدول ۶). افزایش درصد قابلیت هضم به عنوان مهمترین صفت اساسی در تعیین کیفیت علوفه شناخته شده است (فاتح، ۱۳۸۵). محققین با تحقیقی که بر روی گیاهان علوفه‌ای

جدول ۶- تجزیه واریانس صفات کیفی علوفه ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف باکتری در چین دوم

منبع تغییرات	درجه آزادی	DMD (%)	WSC (%)	CP (%)	ADF (%)	ASH (%)
تکرار	۲	۴۲/۷۱*	۱۹/۳۵ns	۲/۰۲ ns	۵۴/۷۸*	۰/۴۳ ns
باکتری	۳	۴۱/۲**	۲۹/۹۹ ns	۴/۳۴ ns	۴۵/۸۱*	۰/۰۲۶ ns
رقم	۲	۸۷/۴۶**	۵۹/۳۶*	۹/۱۴ ns	۹۴/۸۱**	۰/۰۳۹ ns
رقم*باکتری	۶	۱۵/۳۹ ns	۲۵/۹۳ ns	۸/۲۵*	۲۰/۰۵ ns	۰/۰۵۸ ns
خطا	۲۲	۸/۰۹	۱۲/۰۹	۲/۷۱	۹/۶۸	۰/۰۲۶
ضریب تغییرات	-	۵/۳۷	۲۳/۵۷	۱۸/۲۷	۹/۲۲	۷/۰۸۵

*، ** و ns به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد و سطح ۵ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح باکتری در ارقام مختلف سورگوم علوفه‌ای مربوط به صفات کمی و کیفی علوفه

ارقام	عملکرد علوفه تر (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد علوفه خشک (کیلوگرم در هکتار)	WSC (%)	CP (%)	ASH (%)
باکتری + جامبو	۱۰۸۶۱۳/۳۳ ^a	۱۸۰۵۷/۱۶ ^a	۱۲/۹۴ ^a	۱۲/۲۳ ^{ef}	۶/۲۳ ^{ef}
باکتری + جامبو	۹۶۲۳۰/۸۳ ^b	۱۵۲۴۲/۶۶ ^b	۱۷/۱۹ ^{bc}	۱۱/۸۵ ^b	۶/۲۴ ^c
هر دو باکتری + جامبو	۷۳۱۸۹/۵ ^g	۱۲۹۰۸/۶۶ ^h	۱۱/۹۳ ^{gh}	۹/۱۷ ^d	۶/۷۶ ^{bed}
شاهد + جامبو	۸۳۲۹۶/۶۶ ^e	۱۳۸۱۶/۱۶ ^g	۱۴/۴۶ ^{ef}	۸/۹۸ ^d	۶/۶۶ ^d
باکتری + اسپیدفید	۹۱۴۰۲/۲۳ ^c	۱۴۷۸۸/۲۳ ^d	۱۵/۰۳ ^{de}	۱۰/۳۷ ^c	۶/۶۳ ^d
باکتری + اسپیدفید	۹۱۶۱۷/۵ ^c	۱۴۹۴۹/۶۶ ^c	۲۱/۱۷ ^a	۱۰/۳۸ ^c	۶/۰۵ ^f
هر دو باکتری + اسپیدفید	۵۹۳۳۵/۶۶ ⁱ	۱۰۰۸۹ ^j	۱۲/۰۷ ^{gh}	۹/۳۶ ^d	۶/۹۱ ^{ab}
شاهد + اسپیدفید	۷۹۳۸۵ ^f	۱۲۹۷۰ ^h	۱۲/۳۶ ^{gh}	۹/۱۴ ^d	۶/۸۶ ^{abc}
+ ۱۶۸ KFS ₁	۸۹۷۵۱/۶۶ ^d	۱۴۲۸۱/۶۶ ^e	۱۶/۳۷ ^{cd}	۱۰/۸۷ ^c	۶/۲۲ ^{ef}
+ ۴۱ KFS ₁	۸۹۶۲۲/۱۶ ^d	۱۴۰۸۷ ^f	۱۴/۳۲ ^{ef}	۱۰/۷۱ ^c	۶/۲۰ ^{ef}
+ KFS ₁ هر دو باکتری	۶۰۹۳۳/۲۳ ^h	۱۰۲۶۵ ⁱ	۱۱/۰۸ ^h	۷/۱۹ ^e	۷/۰۴ ^a
+ KFS ₁ شاهد	۷۹۲۱۳/۱۶ ^f	۱۲۸۸۲/۶۶ ^h	۱۳/۲۱ ^{fg}	۹/۱۰ ^d	۶/۶۹ ^{cd}

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD هستند.

(جدول ۵)، لیکن در چین دوم تنها اثر متقابل باکتری در رقم در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۶). بیشترین درصد پروتئین خام در باکتری سویه ۱۶۸ و رقم جامبو و کمترین آن در هر دو باکتری و رقم KFS₁ مشاهده شد (جدول ۷). در چین اول و دوم نیز بیشترین درصد پروتئین خام در سویه ۱۶۸ به دست آمد (جدول ۸ و ۹). بالا بودن پروتئین یکی از مهمترین ویژگی‌های کیفی گیاهان علوفه‌ای می‌باشد و بالا بودن آن یک فاکتور موثر در انتخاب علوفه برای تغذیه دام محسوب می‌شود. درصد پروتئین در علوفه

جدول تجزیه واریانس نشان‌دهنده آن است که بین ارقام، چین‌های مختلف و اثر متقابل رقم در باکتری در درصد پروتئین خام اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). همچنین مشخص گردید که در بین ارقام نیز جامبو و KFS₁ به ترتیب بیشترین و کمترین درصد پروتئین خام را از آن خود کردند (جدول ۳). همچنین بیشترین درصد پروتئین خام در چین اول به دست آمد (جدول ۴). در ضمن در چین‌های مختلف مشخص شد که در چین اول بین ارقام و اثر متقابل رقم در باکتری اختلاف معنی‌داری وجود داشت

جدول ۸- جدول مقایسه میانگین صفات کیفی علوفه در سطوح مختلف باکتری در چین اول

سطوح باکتری	DMD (%)	WSC (%)	CP (%)	ADF (%)	ASH (%)
باکتری سویه	۵۶/۵۸ a	۱۵/۶۸ a	۱۱/۵۰ a	۳۰/۶۷ b	۶/۴۴ c
باکتری سویه	۵۷/۴۸ a	۱۶/۱۴ a	۱۰/۶۲ b	۳۰/۷۸ b	۴/۶۴ bc
سویه + سویه	۵۴/۳۲ b	۱۳/۳۳ b	۱۰/۶۷ b	۳۱/۵۵ b	۶/۷۱ a
شاهد	۵۶/۵۵ a	۱۴/۱۵ b	۱۰/۹۲ b	۳۳/۵۰ a	۶/۵۸ b

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند قادر تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD هستند.

جدول ۹- جدول مقایسه میانگین صفات کیفی علوفه در سطوح مختلف باکتری در چین دوم

سطوح باکتری	DMD (%)	WSC (%)	CP (%)	ADF (%)	ASH (%)
باکتری سویه	۵۵/۶۴ a	۱۶/۲۹ a	۹/۸۳ a	۳۰/۹۶ c	۶/۵۳ a
باکتری سویه	۵۳/۴۸ b	۱۶/۳۵ a	۹/۳۷ a	۳۲/۹۲ b	۶/۴۶ a
سویه + سویه	۵۰/۷۷ d	۱۲/۸۹ b	۸/۵۳ b	۳۵/۹۳ a	۶/۵۹ a
شاهد	۵۱/۷۴ c	۱۳/۴۷ b	۸/۳۶ b	۳۵/۱۸ a	۶/۵۵ a

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند قادر تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD هستند

(جدول ۴). در ضمن جدول تجزیه واریانس در چین های مختلف نشان داد که در چین اول بین سطوح باکتری ها، ارقام و اثر متقابل رقم در باکتری اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۵)، اما در چین دوم فقط اثر رقم معنی دار بود (جدول ۶). بیشترین درصد کربوهیدرات در باکتری سویه ۴۱ و رقم اسپیدفید و کمترین آن در هر دو باکتری و رقم KFS_۱ مشاهده شد (جدول ۷). در چین اول و دوم نیز بیشترین درصد کربوهیدرات در سویه ۴۱ به دست آمد (جدوال ۸ و ۹). بالا بودن درصد کربوهیدرات محلول در آب نشان از کیفیت بالاتر علوفه دارد. محققین نتیجه گرفتند گیاهانی که رطوبت کمتری دریافت می کنند، WSC بالاتری دارند و در نتیجه کیفیت آنها برای سیلو کردن بیشتر است. آنها وجود همبستگی منفی بین آبیاری و WSC را نشان دادند (Weinberg *et al.*, 2005). همچنین مشخص شد اگرچه اثر تیمارهای آبیاری بر WSC آفتابگردان معنی دار نبوده، گیاهانی که رطوبت کمتری دریافت کردند کربوهیدرات محلول در آب بیشتری داشتند (Weinberg *et al.*, 2007).

از نظر قابلیت هضم زیاد آن غالباً به عنوان شاخصی از قابلیت هضم در نظر گرفته می شود (فاتح، ۱۳۸۵). درصد پروتئین به تنها بی نمی تواند معرف کیفیت علوفه تولید شده باشد زیرا ممکن است درصد پروتئین بالا در اثر پایین بودن عملکرد تولیدی، چندان قابل توجه نباشد و یا ممکن است گیاهی با درصد پروتئین کم ولی تولید ماده خشک بالاتر، پروتئین بیشتری تولید کرده و در نتیجه اهمیت بیشتری داشته باشد. لذا عملکرد پروتئین در هکتار که برآیندی از عملکرد ماده خشک و درصد پروتئین می باشد، دارای اهمیت زیادی در تعیین ارزش کیفی گیاهان علوفه ای است (فاتح، ۱۳۸۵).

در درصد کربوهیدرات های محلول در آب بین ارقام اختلاف معنی داری وجود داشت، اما بین سطوح مختلف باکتری و چین های مختلف، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین مشخص گردید که بین ارقام نیز اسپیدفید بیشترین درصد کربوهیدرات های محلول در آب را از آن خود کرد (جدول ۳). همچنین بیشترین درصد کربوهیدرات های محلول در آب در چین اول به دست آمد

مختلف، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین مشخص گردید که بین ارقام نیز KFS_1 بیشترین درصد خاکستر را از آن خود کرد (جدول ۳). بیشترین درصد خاکستر در هر دو باکتری و رقم KFS_1 و کمترین آن در باکتری سویه ۴۱ و رقم اسپیدفید مشاهده شد (جدول ۷). در چین اول و دوم نیز بیشترین درصد خاکستر در هر دو سویه به دست آمد (جداول ۸ و ۹). افزایش درصد خاکستر علوفه می‌تواند سبب کاهش قابلیت هضم و خوشخوراکی علوفه شود. ارزش علوفه‌ای گیاهان، مربوط به ترکیبات مواد معدنی خاکستر گیاه است و میزان مواد معدنی در اندام‌های مختلف گیاه متفاوت می‌باشد (به نقل از فاتح، ۱۳۸۵).

نتیجه‌گیری:

تلقیح بذر سورگوم با هر یک از سویه‌های *Pseudomonas putida* بر عملکرد علوفه و کیفیت آن از طریق افزایش جذب مواد غذائی اثر مثبتی داشت. به نظر می‌رسد این افزایش عمدتاً به دلیل تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آنها بر رشد ریشه بود که جذب آب و مواد غذایی را از خاک بهبود بخشدید. افزایش در میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه باعث افزایش تجمع ماده خشک در گیاه شد. تنوع عملکرد سویه‌های سودوموناس به صورت تفاوت در جذب عناصر غذایی و تأثیر بر عملکرد علوفه نمود یافت. در بین دو سویه مختلف باکتری، تیمار تلقیح بذر با سویه ۱۶۸ نسبت به سویه دیگر اثر بارزتری بر کمیت و کیفیت داشت. برای کاهش صفات مورد مطالعه نیز می‌توان بیان کرد که این دو ریز ساز واره در کنار یکدیگر بر هم اثر آنتاگونیستی داشته و تأثیر منفی بر رشد گیاه دارند. در بین ارقام نیز رقم جامبو بهتر از بقیه نشان داد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که از سویه ۱۶۸ این باکتری می‌توان به عنوان یک مکمل برای کودهای شیمیائی در منطقه استفاده کرد.

بین چین‌های مختلف و همچنین بین ارقام در درصد فیبر نامحلول ADF اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما بین سطوح مختلف باکتری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین مشخص گردید که بین ارقام نیز KFS_1 بیشترین درصد فیبر نامحلول را از آن خود کرد (جدول ۳). همچنین بیشترین درصد فیبر نامحلول در چین دوم به دست آمد (جدول ۴). در ضمن جدول تجزیه واریانس در چین‌های مختلف نشان داد که در چین اول بین سطوح باکتری‌ها و اثر متقابل رقم در باکتری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۵)، لیکن در چین دوم اثر باکتری و رقم معنی دار بود (جدول ۶). در چین اول و دوم نیز بیشترین درصد فیبر نامحلول در شاهد به دست آمد (جداول ۸ و ۹). افزایش درصد فیبر نامحلول منجر به کاهش قابلیت هضم علوفه و در نتیجه کاهش کیفیت آن می‌گردد. با افزایش رطوبت قابل دسترس گیاه، درصد فیبر کاهش یافته که خود منجر به افزایش خوشخوراکی و قابلیت هضم علوفه می‌شود. راندال (به نقل از فاتح، ۱۳۸۵) افزایش درصد فیبر نامحلول در شرایط تنفس خشکی را نسبت به تیمار شاهد گزارش کرد، در حالی که نتایج تحقیقات ریچتال و همکاران (به نقل از فاتح، ۱۳۸۵) بیانگر این امر بود که درصد فیبر نامحلول در سورگوم و ارزن مرواریدی علوفه‌ای تحت شرایط دیم و تنفس خشکی نسبت به شرایط آبیاری کاهش می‌یابد. در بعضی موارد افزایش کود باعث افزایش فیبر خام گردید، ولی در برخی دیگر باعث کاهش آن شد و گاهی اوقات تاثیری مشاهده نشد. تحقیقات (Weinberg *et al.*, 2005) در آقتاگردان نشان داد گیاهانی که رطوبت بیشتری دریافت می‌کنند، ADF و NDF بیشتری دارند. فولگوئیرا و همکاران (به نقل از فاتح، ۱۳۸۵) نیز گزارش داد که کاهش ADF علوفه سبب افزایش کیفیت علوفه می‌گردد. در درصد خاکستر بین ارقام، اثر متقابل رقم در باکتری و اثر متقابل باکتری در زمان اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما بین سطوح مختلف باکتری و چین‌های

منابع:

- Khalid, A., Arshad, M. and Zahir, A. Z. (2004) Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 473-480.
- Kipnis, T., Krivat, G., Dvash, L., Granoth, I. and Jonathan, R. (1994) Yield and quality of forage sorghum as affected by water supply. In: Proceedings of the 15th General Meeting of the European Grassland Federation. Grassland and Society, Wageningen, The Netherlands, June 6–9, pp. 173–176.
- Lucy, M., Reed, E. and Glick, B. R. (2004) Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86: 1–25.
- Mahato, P., Badoni, A. and Chauhan, J. S. (2009) Effect of *Azotobacter* and Nitrogen on Seed Germination and Early Seedling Growth in Tomato. *Researcher* 1(4):62-66.
- Mehnaz, S., Kowalik, T., Reynolds, B. and Lazarovits, G. (2010) Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 42:1848-1856.
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S. and Dean, L. A. (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture Circular 939: 1-19.
- Omaya, S. H., Schmidt, W. A. and Martin, P. (1992) Indole-3-acetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasiliense* Cd under in vitro condition. *Canadian Journal of Microbiology* 39: 187-192.
- Ortega-Ochoa, C. (2005) Effect of levels of irrigation on forage standing crop and quality of WW-B. Dahl (*Bothriochloa bladhii*) pasture under summer grazing. Ph. D. Thesis. Texas Tech University, Lubbock, Texas, USA.
- Pamella, A. C. S. and Steven, H. (1982) Inorganic phosphate solubilization by rhizosphere in a *Zostera marina* community. *Canadian Journal of Microbiology* 28: 605–610.
- Piromyou, P., Buranabanayat, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N. and Teaumroong, N. (2011) Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *European Journal of Soil Biology* 47: 44.54.
- Rathore, P. S. (2002) Techniques and management of field crop production. Updesh Purohit for Agrobios (India), Jodhpur, 524p.
- Sekar, K. R. and Karmegam, N. (2010) Earthworm casts as an alternate carrier material for biofertilizers: Assessment of endurance and viability of *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum*. *Scientia Horticulturae* 124: 286.289.
- احتشامی، س. م. ر.، جاوید، ح.، مریدی، ر. و خوازی، ک. (۱۳۸۸). کارایی باکتری‌های محرك رشد بر جوانه زنی برنج در شرایط تنش شوری. اولین همایش ملی تنش های محیطی در علوم کشاورزی، دانشکده کشاورزی بیرجند، بیرجند.
- فاتح، ا. (۱۳۸۵). تأثیر سیستم‌های مختلف حاصلخیزی خاک (ارگانیک، تلفیقی و شیمیائی) بر روی عملکرد علوفه و خصوصیات داروئی گیاه کنگر فرنگی. رساله دکتری. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- Adesemoye, A. O., Torbert, H. A. and Kloepffer, J. W. (2010) Increased plant uptake of nitrogen from 15N-depleted fertilizer using plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied Soil Ecology* 46: 54-58.
- Banchio, E., Bogino, P. C., Zygaldo, J. and Giordano, W. (2008) Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 36: 766-771.
- Deinum, B. (1988). Genetic and environmental variation in digestibility of forage maize in Europe and the prospects for breeding. *Netherland Journal of Agricultural Sciences* 36:400–403.
- Edwards, S. G., Peter, J., Young, W. and Fitter, A. H. (1998) Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere. Original Research Article. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Microbiology Letters* 166: 297-303.
- Esitken, A., Hilal, Y., Ercisli, S., Figen Donmez, M., Tyran, M. and Gunes, A. (2010) Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae* 124:62.66
- Jafari, A., Connolly, V., Frolich, A. and Walsh, E. K. (2003) A note on estimation of quality in perennial ryegrass by near infrared spectroscopy. *Irish journal of agricultural and food research* 42: 293-299.
- Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D. and Samiyappan, R. (2010). Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil and Ecology* 45: 71-77.

- Weinberg, Z. G., Landau, S. Y., Bar-Tal, A., Chen, Y., Gamburg, M., Brener, S. and Dvash, L. (2005) Ensiling safflower (*Carthamus tinctorius*) as an alternative winter forage crop in Israel. In: Proceedings of the 15th International Silage Conference. Belfast, Northern Ireland.
- Zaied, K. A., Abd-El-Hady, A. H., Afify, A. H. and Nassef, M. A. (2003) Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of *rhizobacteria*. Pakistan Journal of Biological Science 6: 344-358.
- Smith, S. (1998) Agronomy research report. progress report 402. University of Kentucky, Lexington, KY.
- Ward, J. D., Redfearn, D. D., McCormick, M. E. and Cuomo, G. J. (2001) Chemical composition, ensiling characteristics, and apparent digestibility of summer annual forages in a subtropical double-cropping system with annual ryegrass. Dairy Science Journal 84: 177-182.
- Weinberg, Z. G., Bar-Tal, A., Chen, Y., Gamburg, M., Brener, S., Dvash, L., Markovitz, T. and Landau, S. (2007) The effects of irrigation and nitrogen fertilization on the ensiling of safflower (*Carthamus tinctorius*). Animal Feed Science and Technolog 134: 152–161.