پاسخ فیزیولوژیکی کاهو لولوروسا به استفاده باکتری *Bacillus subtilis* و فسفر در شرایط کشت بدون خاک

ادریس شعبانی*[۱]

[۱] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: edris.shabani@scu.ac.ir

چکیده

امروزه استفاده از محرک‌های زیستی به منظور کاهش مصرف کودهای کشاورزی مورد توجه قرار گرفته است. علیرغم مطالعات زیادی که در زمینه تاثیر باکتری‌ها بر واکنش های فیزیولوژیک و عملکرد گیاهان در کشت خاکی انجام شد اما گزارش‌های اندکی در زمینه تاثیر باکتری‌ها بر این واکنش‌ها در کشت هیدروپونیک وجود دارد. در این راستا آزمایشی به منظور ارزیابی اثر باکتری *Bacillus subtilis* UTB96 و غلظت‌های مختلف فسفر محلول غذایی (۱۲،۵، ۲۵، ۳۷،۵، ۵۰ و ۶۲،۵ میلی گرم بر لیتر) بر شاخص‌های فتوسنتزی کاهو لولوروسا در ۳ تکرار انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از باکتری در بسترهای کشت به تنهایی سبب افزایش ۲۳،۴۱٪ نرخ فتوسنتز در گیاهان کاهو لولوروسا گردید. همچنین استفاده مجزای تیمارهای فسفره نشان داد که تیمار استاندارد فسفر در مقایسه با پایین ترین سطح فسفر (۱۲،۵ میلی گرم بر لیتر) سبب افزایش ۶۱،۲۷٪ نرخ فتوسنتز گردید. بیشترین مقادیر نرخ فتوسنتز و هدایت روزنه ای در تیمار استاندارد رش (۵۰ میلی گرم بر لیتر) مشاهده گردید. داده های اثر متقابل باکتری و غلظت‌های مختلف فسفر محلول غذایی نشان داد که همانند تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر، کاهش ۲۵ درصدی مصرف فسفر (غلظت ۳۷،۵ میلی گرم بر لیتر) نیز در تیمارهای با تلقیح باکتریایی سبب بروز بالاترین مقادیر نرخ فتوسنتز در ترکیب های تیماری B_1P_3 (تلقیح باکتریایی و فسفر ۳۷،۵ میلی گرم بر لیتر) و B_1P_4 (تلقیح باکتریایی و فسفر ۵۰ میلی گرم بر لیتر) گردید. بنابراین می توان با استفاده از باکتری *Bacillus subtilis* در شرایط کشت هیدروپونیک و با کاهش ۲۵ درصدی مصرف کودهای فسفره، نتایج مطلوبی را از نظر واکنش های فیزیولوژیک گیاه انتظار داشت.

واژه‌های کلیدی : باکتری، فتوسنتز، فسفر، کاهو لولوروسا، کشت هیدروونیک، هدایت روزنه ای.

مقدمه

فسفر یکی از اجزای مهم آنزیم‌ها، پروتئین‌ها، ATP، RNA، DNA و فیتین می‌باشد. فسفر از معادن سنگ فسفات به دست می آید و همانند نفت از منابع تجدید ناپذیر است. گزارش پژوهشگران نشان می دهد که ذخایر سنگ فسفات می تواند طی ۱۰۰-۵۰ سال آینده به اتمام برسد. نزدیک به ۹۰ درصد تقاضای جهانی فسفر برای تولید مواد غذایی است که شامل ۱۴۸ میلیون تن سنگ فسفات می شود (Smil, 2000). یافته‌های میدانی ما در بازار کود ایران نشان می‌دهد که تنها در فاصله مرداد تا آذر ۱۳۹۹ قیمت کود منوپتاسیم فسفات و سوپرفسفات تریپل (به‌ترتیب به عنوان منابع اصلی تامین فسفر محصولات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای) رشد ۵-۴ برابری داشته است. با توجه به موارد مطرح شده، انجام پژوهش‌های کاربردی در راستای کاهش مصرف کودهای فسفری امری ضروری به نظر می‌رسد.

امروزه یکی از راهکارهای کاهش ورود کودهای شیمیایی به سیستم‌های باغبانی استفاده از میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات‌ها می باشد که با افزایش کارایی استفاده آب و عناصر غذایی و افزایش ظرفیت جذب عناصر سبب حفظ بهره‌وری محصول می‌شود (Ruzzi and Aroca, 2015). ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR) بسته به سبک زندگی به سه دسته تقسیم می شوند: باکتری‌های زنده ای که در اطراف منطقه ریشه (rhizosphere) زندگی می کنند، باکتری‌هایی که سطح ریشه را کلونیزه می کنند (rhizoplane) و باکتری‌های اندوفیتیک که در داخل ریشه‌ها زندگی می کنند. با این حال، این تقسیم‌بندی منحصر به فرد نیست زیرا بسته به شرایط محیط کشت و شرایط گیاه میزبان، باکتری می‌تواند هر سه سبک زندگی را اتخاذ کند (Mitter *et al.*, 2013). بنابراین PGPRها شامل تمام باکتری‌هایی است که در ریزوسفر و ریزوپلان زیست می کنند و سبب بهبود رشد می شوند. بهبود رشد گیاه با استفاده از کلونیزه کردن ریشه گیاهان توسط *Bacillus subtilis* کاملاً شناخته شده است. این باکتری با تاثیر بر تولید و ترشح اسیدهای آلی از ریشه گیاهان کلونیزه شده سبب حلالیت بیشتر فسفات‌های معدنی می گردند. نتایج رهی (۱۳۹۵) در

ریحان نشان داد که کودهای بیولوژیک سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در مقایسه با شاهد گردید.

کشت سبزی‌ها در گلخانه‌ها و تونل‌های پلاستیکی می تواند گزینه کارآمدتری برای استفاده از زمین و سایر منابع باشد. از دیگر مزایای کشت‌های گلخانه‌ای، کاهش ۳۱ درصدی میزان آب مصرفی نسبت به مزرعه است. با افزایش ۱۰ درصدی میزان کارایی مصرف آب، می توان حدود ۸ میلیارد متر مکعب آب صرفه‌جویی نمود، که از مجموع آب مصرفی در بخش‌های شرب و صنعت بیشتر است (رهی، ۱۳۹۵). تولید این محصول در استان‌های جنوبی ایران به ویژه در فصول پاییز و زمستان به دلیل تامین شدت نور کافی و برخورداری از دمای مناسب با اقبال ویژه ای روبرو بوده است، اما متاسفانه روند افزایشی و غیرقابل انتظار قیمت کودهای فسفره سبب بروز مشکلات مختلف در تولید این محصول خاص گردیده است. بنابراین به نظر می‌رسد انجام پژوهش-های متکی بر کاهش مصرف کودهای شیمیایی به ویژه کودهای فسفره امری اجتناب‌ناپذیر است. امروزه تلفیق دانش تغذیه گیاه با کودهای زیستی به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی توجه ویژه ای را به سمت خود جلب کرده است. به عنوان اولین گزارش این پژوهش سعی دارد با معرفی روشی نوین مانند استفاده از سوسپانسیون های باکتریایی در کشت‌های هیدروپونیک گامی موثری را در کاهش مصرف کودهای فسفره، کاهش آلودگی‌های زیست محیطی و کمک به توسعه کشاورزی پایدار ایفا نماید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مجموعه گلخانه‌ای گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز با موقعیت جغرافیایی ۲۰´ ۳۱° عرض شمالی و ۴۱´ ۴۸° طول شرقی، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرارطی زمستان ۱۳۹۹ اجرا گردید. گلخانه دارای سازه فلزی، پوشش پلی کربنات و فاقد سیستم گرمایشی بود. گیاهان در طول این آزمایش تحت دمای °C ۲۰±۲ روز و °C ۱۱±۲ شب، رطوبت نسبی ۵±۶۵ و نور طبیعی خورشید رشد یافتند. جوانه زنی بذرهای کاهو برگ قرمز لولوروسا (*Lactuca sativa* 'Lollo Rosso') رقم کنکورد RZ شرکت رکزوان هلند (var. Concorde RZ, Rijk Zwaan, Netherland) در شرایط اتاق انجام پذیرفت. بذرهای جوانه زده به سینی‌های نشا منتقل و فرآیند تولید نشاء تحت شرایط گلخانه صورت پذیرفت. نشاها در مرحله ۳ برگ حقیقی به گلدان های پلاستیکی ۹ لیتری با نسبت ۷۵:۲۵ کوکوپیت به پرلیت منتقل گردید. به منظور ارزیابی دقیق اثر باکتری مورد نظر، تمام بسترهای مورد استفاده در این آزمایش جهت حذف تمام میکروارگانیسم ها در دمای °C ۱۲۱ و فشار یک اتمسفر استریل گردیدند. گلدان ها با تراکم ۶٫۶ بوته در مترمربع در فضای گلخانه چیده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت های مختلف فسفر (۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵، ۵۰ و ۶۲/۵ میلی گرم بر لیتر) و وجود و عدم وجود کود زیستی باکتریایی (فاقد باکتری (B_0) و دارای باکتری (B_1)) بود. کود زیستی باکتری باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) از فرمولاسیون پروبیو ۹۶® شرکت بایوران© تامین گردید. مطابق پیشنهاد شرکت فوق و به منظور آماده سازی این محلول زیستی جهت اعمال تیمارهای باکتریایی، ۳۰ میلی لیتر از محلول باکتریایی پروبیو ۹۶ در یک لیتر آب مقطر حل گردید. قبل از انتقال نشا، گیاهان مرتبط با تیمار کودهای زیستی در محلول حاوی باکتری *Bacillus subtilis* سویه UTB96 به مدت ۵ دقیقه غوطه ور شدند ($CFU=5\times10^8$ mL^{-1}, EC (1:10) = 4.4 dS m^{-1} and pH (1:10) = 6.2). در ۲۰ روز پس از انتقال نشا نیز هر یک از گیاهان مجدداً ۲۵ میلی لیتر از محلول فوق را دریافت نمودند. تمام گلدان‌ها در طول فصل رشد با محلول غذایی هاوارد رش (N=180، K=210، Ca=180، Mg=40، Fe=3، B=0.5، Mn=0.5، Zn=0.1، Cu=0.1 و Mo=0.05 میلی‌گرم بر لیتر) (Resh, 2012) و بر اساس غلظت فسفر مختص هر تیمار تغذیه گردیدند و اثر ۵ غلظت فسفر از کود منوپتاسیم فسفات (KH_2PO_4) (۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵، ۵۰ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) در شرایط وجود و عدم وجود کود زیستی باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت. محلول‌های غذایی دارای سطوح مختلف فسفر در ۵ بشکه ۵۰ لیتری تهیه گردید. به منظور اعمال تیمارهای حاوی فسفر هر گلدان در دو هفته اول ۲۰۰ میلی لیتر، در دو هفته میانی ۳۰۰ میلی لیتر و در دو هفته پایانی ۴۰۰ میلی لیتر از محلول غذایی خاص خود دریافت نمود. در طول فصل رشد و طی دو مرحله شاخص‌های فتوسنتزی مانند نرخ فتوسنتز خالص، نرخ تعرق و هدایت روزنه ای توسط دستگاه LCi-SD ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری گردید. در تمامی بوته‌ها از برگ‌های توسعه‌یافته جهت نمونه‌برداری استفاده شد تا اندازه‌گیری در شرایط یکسانی انجام شده باشد. در پایان آزمایش داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گردید. نمودار نیز به کمک نرم افزار Excell رسم گردید.

نتایج و بحث

نتایج مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که استفاده از باکتری *B. Subtilis* سبب افزایش معنی‌دار نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه ای، در سطح احتمال ۱ درصد گردید و بر میزان تعرق کاهو لولوروسا معنی دار نبوده است (جدول ۱).

نتایج این آزمایش نشان داد که افزایش غلظت فسفر محلول غذایی سبب افزایش شاخص‌های فتوسنتزی و فیزیولوژیکی کاهو لولوروسا رقم کنکورد گردید (جدول ۱). بر اساس داده‌های جدول مقایسات میانگین، بیشترین مقادیر نرخ فتوسنتز و هدایت روزنه ای در تیمار استاندارد رش (۵۰ میلی گرم بر لیتر) مشاهده گردید (جدول ۱). تیمار استاندارد فسفر در مقایسه با پایین ترین سطح فسفر (۱۲,۵ میلی گرم بر لیتر) سبب افزایش ۶۱,۲۷٪ نرخ فتوسنتز گردید (جدول ۱).

جدول ۱- اثرات اصلی باکتری (B) *Bacillus subtilis* **و فسفر** (P) **بر نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و نرخ تعرق کاهو لولوروسا**

تیمارها	نرخ فتوسنتز ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	هدایت روزنه‌ای ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	نرخ تعرق ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)
B			
B_0	۲,۵۲ b	۰,۰۸ b	۱,۸۴
B_1	۳,۱۱ a	۰,۲۹ a	۲,۰۳
معنی داری	**	**	Ns
P			
P_1	۲,۰۴ c	۰,۰۷۱ d	۱,۴۱ b
P_2	۲,۷۳ b	۰,۰۸۵ d	۱,۸۸ ab
P_3	۳,۲۴ a	۰,۱۶۰ b	۲,۰۵ ab
P_4	۳,۲۹ a	۰,۵۱۳ a	۲,۳۶ a
P_5	۲,۷۷ b	۰,۱۲۰ c	۱,۹۹ ab
معنی داری	**	**	Ns

** و Ns به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱ ٪ و عدم معنی داری.

جدول ۱- اثرات متقابل باکتری (B) *Bacillus subtilis* **و فسفر** (P) **بر نرخ فتوسنتز، هدایت‌روزنه ای و نرخ تعرق کاهو لولوروسا**

تیمارها	نرخ فتوسنتز ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	هدایت روزنه‌ای ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	نرخ تعرق ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)
BP			
B_0P_1	۱,۴۴ c	۰,۰۴۳ e	۱,۱۴
B_0P_2	۲,۶۵ b	۰,۰۵۳ e	۱,۸۶
B_0P_3	۲,۸۵ b	۰,۰۹۳ d	۲,۰۳
B_0P_4	۲,۹۲ b	۰,۱۳۶ c	۲,۲۱
B_0P_5	۲,۷۶ b	۰,۰۹۶ d	۱,۹۵
B_1P_1	۲,۶۴ b	۰,۱۰۰ d	۱,۶۷
B_1P_2	۲,۸۲ b	۰,۱۱۶ cd	۱,۹۰
B_1P_3	۳,۶۳ a	۰,۲۲۶ b	۲,۰۶
B_1P_4	۳,۶۷ a	۰,۸۹۰ a	۲,۵۱
B_1P_5	۲,۷۸ b	۰,۱۴۳ c	۲,۰۳
معنی داری	*	**	Ns

*، ** و Ns به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و عدم معنی داری.

داده‌های اثر متقابل *B. Subtilis* UTB96 و غلظت‌های مختلف فسفر محلول غذایی در بسترهای کشت کاهو لولوروسا نشان داد که نرخ فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای به طرز چشمگیری تحت تاثیر تلقیح باکتری و استفاده فسفر قرار گرفت (جدول ۲). اثر متقابل باکتری و فسفر بر میزان تعرق برگ‌های لولوروسا معنی‌دار نبود. در تمام سطوح فسفر، تلقیح گیاهان با باکتری *B. Subtilis* در قیاس با تیمارهای بدون باکتری سبب افزایش معنی‌دار این صفات گردید (جدول ۲). یافته‌های این پژوهش به‌وضوح نشان داد که همانند

تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر، کاهش ۲۵ درصدی مصرف فسفر (غلظت ۳۷,۵ میلی گرم بر لیتر) نیز در تیمارهای با تلقیح باکتریایی سبب بروز بالاترین مقادیر نرخ فتوسنتز در ترکیب‌های تیماری B_1P_3 و B_1P_4 گردید (جدول ۲). همچنین در تمام سطوح فسفر استفاده از باکتری *B. subtilis* UTB96 سبب افزایش هدایت روزنه‌ای کاهو لولوروسا گردید (جدول ۲).

یافته‌های منصوری (۱۳۹۲) نشان داد که کودهای زیستی فسفاته از طریق توسعه ریشه گیاه و تسهیل در جذب آب و عناصر غذایی سبب بهبود عملکرد و شاخص برداشت در گندم می شوند. امروزه اثرات مثبت این باکتری‌ها بر عملکرد گیاهان به تاثیر آن‌ها در بهبود رشد ریشه (رهی، ۱۳۹۵) ، افزایش جذب عناصر غذایی مانند فسفر (Turom et al., 2007)، تولید هورمون‌های رشد مانند اکسین و جیبرلین (Ruzzi and Aroca, 2015)، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی (رهی، ۱۳۹۵) و حفظ کارایی فتوسنتزی (Wang *et al.*, 2012) نسبت داده می شود. بنابراین مطابق نتایج این پژوهش اثرات مثبت این باکتری بر شاخص‌های فتوسنتزی می‌تواند به دلیل توانایی آن‌ها در افزایش جذب فسفر (داده‌ها نشان داده نشده است) در کاهو لولوروسا باشد که بصورت غیرمستقیم با اثرگذاری بر رشد ریشه و افزایش کارایی فتوسنتزی سبب بهبود ویژگی‌های فوق گردید.

منابع

رهی، ع. ۱۳۹۵. تاثیر کودهای بیولوژیک سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ریحان (*Ocimum basilicum* L.). علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. ۷ (۲۶): ۱۳۵-۱۲۵.

منصوری، ا. ۱۳۹۲. بررسی واکنش لاین امیدبخش N8119 گندم به کاربرد کودزیستی فسفات. به زراعی کشاورزی. ۱۵ (۱): ۱۳۴-۱۲۵.

Mitter, B., Petric, A., Shin, M.W., Chain, P.S.G., Hauberg-Lotte, L., Reinhold-Hurek, B., Nowak, J., Sessitsch, A., 2013. Comparative genome analysis of *Burkholderia phytofirmans* PsJN reveals a wide spectrum of endophytic lifestyles based on interaction strategies with host plants. Frontiers of plant science, 4: 120.

Resh, H.A. 2012. Hydroponic food production: a definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower. CRC Press.

Ruzzi, M., Aroca, R. 2015. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. Scientia Horticulturae, 196: 124-134.

Smil, V. 2000. Feeding the World: A Challenge for the 21st Century. The MIT Press, Cambridge.

Turom, M., Ataglu, N., Sahni, F. 2007. Effect of bacillus FS-3 on growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants and availability of phosphorus in soil. Plant, Soil and Environment, 53(2): 58-64.

Wang, C.J., Yang, W., Wang, C., Gu, C., Niu, D.D., Liu, H.X., Wang, Y.P., Guo, J.H. 2012. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting *Rhizobacterium* strains. PLoS One, 7: 1-10.

Physiological Response of ‘Lollo Rosso’ Lettuce to the Use of *Bacillus subtilis* and Phosphorus in Soilless Culture Conditions

Edris Shabani[1*]

[1] Assistant Professor of Horticulture science, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

[*]*Corresponding Author: edris.shabani@scu.ac.ir*

Abstract

Nowadays, the use of biostimulants to reduce the consumption of fertilizers has been considered. Despite many studies on the effect of bacteria on physiological reactions and plant performance in soil culture, there are few reports on the effect of bacteria on these reactions in hydroponic culture. In this regard, an experiment was performed to evaluate the effect of *Bacillus subtilis* UTB96and different concentrations of nutrient phosphorus (12.5, 25, 37.5, 50 and 62.5 mg L^{-1}) on photosynthetic indices of ‘Lollo Rosso’ lettuce in 3 replications. The results of this study showed that the use of bacteria in media alone increased the photosynthesis rate by 23.41% in lettuce plants. Also, the separate use of phosphorus treatments showed that the standard phosphorus treatment increased the photosynthesis rate by 61.27% compared to the lowest level of phosphorus (12.5 mg L^{-1}). The highest values of photosynthesis rate and stomatal conductance were observed in standard Resh treatment (50 mg L^{-1}). Interaction data of bacteria and different concentrations of phosphorus in the nutrient solution showed that, like the 50 mg L^{-1} treatment, a 25% reduction in phosphorus consumption (37.5 mg L^{-1}) caused the highest photosynthesis rates in BS_1P_3 (Bacterial inoculated and 37.5 mg L^{-1} of phosphorus) and BS_1P_4 (bacterial inoculation and 50 mg L^{-1} phosphorus). Therefore, using *Bacillus subtilis* bacteria in hydroponic culture conditions and with a 25% reduction in phosphorus fertilizer application can be expected favorable results in terms of physiological reactions of the plant.

***Keywords*:** Bacteria, Hydroponic culture, Lettuce, Phosphorus, Photosynthesis, Stomatal conduction.