Archive of SID

نشریه زیست‌شناسی خاک / جلد 3 / شماره 2 / 1394

# غربالگری جدایه‌های بومی *Azotobacter chroococcum* به منظور بررسی تأثیر تلقیح جدایه‌های انتخابی بر رشد گندم

هوشنگ خسروی[1]

استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ **hkhosravi@swri.ir**

دریافت: **93/8/11** و پذیرش: **94/8/10**

## چکیده

**باکتری *Azotobacter* متعلق به رده گاما-پروتئوباکتری‌ها و خانواده سودوموناداسه بوده و دارای 7 گونه می‌باشد. فاقد توان اسپورزایی است ولی معمولاً تشکیل کیست می‌دهد. *Azotobacter* قادر به تثبیت نیتروژن مولکولی به صورت غیر همزیست می‌باشد. این باکتری می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی و توان حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد. در این پژوهش از مزارع زیر کشت گندم در استان‌های آذربایجانشرقی، آذربایجانغربی، کردستان، گلستان، فارس و خراسان نمونه‌برداری و از نظر وجود *Azotobacter chroococcum* مورد بررسی قرار گرفتند. توانایی تولید اکسین (ایندول استیک اسید)، سیانید هیدروژن (HCN) و توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول توسط جدایه ها مورد بررسی قرار گرفتند. آزمون گلخانه-ای برای بررسی اثرات تلقیح جدایه‌های بومی ازتوباکتر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی شامل تیمارهای تلقیحی و نیتروژنی (35 و 70 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع نیترات آمونیوم) بر رشد گندم اجرا شد. نتایج مراحل نمونه‌برداری و آزمایشگاهی نشان داد که از تعداد 362 نمونه خاک، تعداد 217 جدایه ازتوباکتر از نمونه‌های خاک جداسازی و 102 جدایه از آنها برای بررسی‌های بیشتر انتخاب شدند. همچنین نتایج نشان داد که همه جدایه‌های مورد تأیید، گرم منفی، دارای توان تشکیل کیست و توانایی تولید رنگدانه قهوه‌ای تا سیاه نامحلول در آب بودند. مقدار اکسین تولیدی توسط جدایه‌های انتخابی بین صفر تا 4 میکروگرم بر میلی‌لیتر محیط کشت در 24 ساعت بود. در هیچ یک از جدایه‌های انتخابی تولید HCN مشاهده نشد. در این جدایه‌ها توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های آلی و معدنی نامحلول بر اساس نسبت قطر هاله به کلنی بین صفر تا 1/3 محاسبه شد. بر اساس آزمایشات فوق 37 جدایه برای بررسی‌های گلخانه‌ای انتخاب شدند. نتایج آزمون گلخانه‌ای نشان داد، تلقیح بر وزن خشک اندام هوایی و جذب نیتروژن تأثیر معنی‌داری داشته است اما در مورد جذب فسفر و پتاسیم تأثیر قابل توجهی مشاهده نشد. بر اساس نتایج آزمون گلخانه-ای 11 جدایه برای آزمایشات تکمیلی و مزرعه‌ای انتخاب شدند.**

**واژه‌های کلیدی:** افزاینده رشد، باکتری، تثبیت، نیتروژن، کود زیستی

[1] نویسنده مسئول، آدرس: کرج، مشکین دشت، بلوار امام خمینی، ص. پ. 311-31785

www.SID.ir

Archive of SID



## مقدمه

سطح برداشت گندم در ایران حدود 6/4 میلیون هکتار برآورد شده که سهم اراضی آبی 37/5 و دیم 52/5 درصد است. میزان تولید گندم حدود 9/3 میلیون تن برآورد شده که سهم اراضی آبی 69 و دیم 31 درصد است. عملکرد گندم آبی 2675 و دیم 721 کیلوگرم در هکتار می‌باشد. (وزارت جهاد کشاورزی، 1394). با توجه به نقش گندم در تغذیه مردم، ارائه راهکارهای لازم برای افزایش عملکرد این محصول امری لازم و ضروری است. در این راستا تغذیه گیاه از طریق کودهای شیمیایی از راه-کارهای مؤثری است که هم اکنون رایج است. با توجه به پتانسیل آلوده سازی کودهای شیمیایی و تأثیر سوء بر منابع آب، خاک و گیاه ارائه راهکارهای مناسب و مبتنی بر توسعه پایدار در این مورد دارای اهمیت است. یکی از راهکارهایی که در این زمینه مد نظر است استفاده از پتانسیل بالقوه ریزجانداران خاک و کاربرد کودهای زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد گیاه است. از جمله باکتری‌های PGPR می‌توان به *Azospirillum*، *Azotobacter*، *Bacillus* و *Pseudomonas* اشاره نمود.

یکی از باکتری‌های معروف از گروه PGPR باکتری ازتوباکتر است جنس ازتوباکتر برای اولین بار در سال 1901 توسط مارتینوس بیجرینک[1] میکروبیولوژیست هلندی و از بنیانگذاران میکروبیولوژی محیطی شناسائی شد. ایشان اولین گونه را کروکوکوم[2] نامید. به تدریج سایر گونه‌های آن توسط این محقق و سایرین شناسایی شدند (بیجرینک، 1901 و تامسون و اسکرمن، 1979). گونه‌های آزادزی این جنس شامل chroococcum، vinelandii، beijerinkii، nigricans، salinestris و armeniacus می‌باشد. گونه paspali با واریته تتراپلوئید گیاه پاسپالوم نوتانوم رابطه اختصاصی همیاری دارد. گونه غالب مناطق معتدله همانند ایران گونه کروکوکوم است (گاریتی و همکاران، 2005).

*Azotobacter* یک باکتری گرم منفی، هوازی، شیمیوارگانوتروف، دارای حالت چند شکلی از میله‌ای، کروی و بیضی شکل است. *Azotobacter* قادر به تثبیت نیتروژن مولکولی به صورت غیر همزیست می‌باشد. این باکتری متعلق به رده گاما-پروتئوباکتری‌ها و خانواده سودوموناداسه و دارای 7 گونه می‌باشد. فاقد توان اسپورزایی است ولی معمولاً قادر به تشکیل سیست یا کیست به عنوان مهمترین مشخصه می‌باشد. سیست‌ها در مقایسه با فرم رویشی در برابر شرایط نامساعد محیطی مانند گرما و خشکی مقاوم‌تر هستند. گونه‌های مختلف ازتوباکتر از مناطق بسیار گرم و حاره تا مناطق قطبی و در محدوده pH 3 تا 9 یافت می‌شوند با اینحال عمدتاً در خاک‌های خنثی تا قلیائی یافت می‌شوند. تعداد *Azotobacter* در خاک معمولا کمتر از $10^4$ است (گاریتی و همکاران، 2005). میانگین تعداد *Azotobacter* در برخی خاک‌های ایران $1/5\times10^3$ سلول در هر گرم خاک گزارش شده است (خسروی، 1393). نقش *Azotobacter* در رشد گیاه به واسطه تولید هورمون‌های محرک رشد، توان حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، افزایش جذب عناصر، تثبیت نیتروژن، افزایش مقاومت به تنش‌ها و بیوکنترل عوامل بیماریزای گیاهی می‌باشد. برخی سویه-های *Azotobacter* در زیست‌پالایی اراضی آلوده نیز نقش دارند. بیوماس و پلی‌مرهای میکروبی ازتوباکتر می‌توانند نقش مؤثری در خارج کردن عناصر سنگین از فاضلاب-های کشاورزی و صنعتی داشته باشند (پاستی و همکاران، 1996). نتایج معنی‌داری در مورد اثر تلقیح *Azotobacter* بر رشد محصولات مختلف از جمله غلات، سبزی‌جات و درختان مثمر بدست آمده است (سوباراو، 1988 و خسروی و همکاران، 2009)

متوسط مصرف کود اوره در یک هکتار گندم آبی در سال زراعی 88-87 حدود 197 کیلوگرم و گندم دیم 56 کیلوگرم بوده است. در مجموع حدود یک میلیون و چهار صد هزار تن کود که 793 هزار تن آن کود اوره است در زراعت گندم ایران مصرف می‌شود (وزارت جهاد کشاورزی، 1388). مصرف متعادل کود یکی از راهکارهای تغذیه بهینه محصولات کشاورزی از جمله گندم است. با اینحال هر چه مواد شیمیایی در خاک کمتر مصرف شود، گامی در جهت سلامت خاک، گیاه، دام و در نهایت انسان برداشته خواهد شد.

سنتز انواع هورمون‌ها از جمله ایندول استیک اسید (اکسین توسط ازتوباکتر گزارش شده است (آزکون و باری 1975، گونزالز-لوپز و همکاران 1986 و نیتو و همکاران، 1989).

اثر تلقیح گندم با *A. chroococcum* در آزمون مزرعه‌ای اثرات قابل توجهی بر رشد و عملکرد گندم نشان داد (میلشویچ و همکاران ، 2012).

خسروی و محمودی (1392) اثر تلقیح ازتوباکتر در ترکیب با کود دامی را بر رشد گندم دیم معنی‌دار ذکر نمودند.

---

1. Beijerinck
2. chroococcum

www.SID.ir

Archive of SID



بررسی امکان ارائه مایه تلقیح مناسب از جدایه‌های ازتوباکتر در جهت جایگزینی با حداقل بخشی از کودهای شیمیایی از اهداف این پژوهش بود.

## مواد و روش‌ها

از مناطق عمده تحت کشت گندم شامل استان‌های خراسان (شامل، رضوی، شمالی و جنوبی)، آذربایجانشرقی، آذربایجانغربی، فارس، کردستان و گلستان از خاک ناحیه اطراف ریشه گندم نمونه‌برداری صورت گرفت. برای این منظور از هر مزرعه چند بوته گندم با خاک اطراف ریشه، برداشت و به آزمایشگاه منتقل شد. تعداد نمونه خاک برداشت شده و جدایه خالص شده و انتخاب شده از استان‌های مذکور در جدول یک ارائه شده است.

برای جداسازی *A. chroococcum* از محیط کشت وینوگرادسکی شامل دو جزء به شرح زیر استفاده شد. جزء اول (محلول وینوگرادسکی): فسفات هیدروژن دی پتاسیم، 5، سولفات منیزیم؛ 2/5، کلرید سدیم؛ 2/5، سولفات آهن III؛ 0/05 و سولفات منگنز؛ 0/05 گرم در یک لیتر آب مقطر حل و پ‌هاش محیط در حدود 7/3 تنظیم شد. این محلول به عنوان محلول ذخیره در یخچال نگهداری شد. جزء دوم (محلول عناصر کم مصرف): مقدار 0/05 گرم از هر یک از املاح مولیبدات پتاسیم، برات سدیم، نیترات کبالت، سولفات مس و سولفات روی در یک لیتر آب مقطر حل و به عنوان محلول ذخیره در یخچال نگهداری شد. محیط کشت نهایی شامل 50 میلی-لیتر از محلول وینوگرادسکی، مانیتول 10 گرم، محلول عناصر کم مصرف یک میلی‌لیتر و آگار 15 گرم بود. این محلول با آب مقطر به حجم 1000 میلی‌لیتر رسانده شد (گاریتی و همکاران، 2005). از مهمترین شاخص‌های شناسایی ازتوباکتر کروکوکوم توان تشکیل کیست[1] و تولید تولید رنگدانه قهوه‌ای نامحلول در آب است که در این پژوهش از آنها استفاده شد. کلنی *Azotobacter* بعد از 24 تا 48 ساعت بر روی محیط وینوگرادسکی قابل مشاهده بوده و شکل کلنی‌ها صاف، براق و مات با تحدب کم و چسبنده بودند. رنگدانه نامحلول در آب پس از 72 ساعت در ابتدا کم رنگ و پس یک هفته به طور کامل قهوه‌ای پررنگ تا سیاه مشاهده شد. پس از تهیه کشت‌های فرعی، کلنی‌های خالص بدست آمد. از جدایه‌های خالص شده، جدایه‌هایی که دارای توان رشد بهتر در محیط کشت مایع و کلنی درشت تر و شاخص تری در محیط کشت جامد بودند برای مرحله بعدی انتخاب شدند. برای اندازه‌گیری توان تولید سیانید هیدروژن (HCN) توسط جدایه‌های انتخابی سه تکرار پلیت حاوی محیط کشت YMA برای هر جدایه در نظر گرفته شد. هر پلیت توسط لوپ استریل با جدایه مورد نظر به صورت خطی کشت گردید. یک عدد کاغذ صافی مربع شکل به ابعاد یک سانتیمتر مربع با محلول معرف آغشته شد. محلول معرف شامل کربنات سدیم 10% و اسید پیکریک 1% بود. کاغذ آغشته به این محلول در قسمت درب پلیت قرار داده شد. پلیت‌ها توسط نوار پارافیلم با دقت بسته شد تا از خروج گاز HCN تولیدی توسط جدایه‌ها ممانعت شود. پلیت‌ها در دمای 28 درجه به مدت دو هفته به صورت واژگون در انکوباتور قرار داده شدند. در صورت تولید سیانید هیدروژن و با توجه به مقدار HCN تولیدشده، رنگ کاغذ صافی از زرد کم رنگ به زرد پررنگ، قهوه‌ای، قهوه‌ای تیره و آجری تغییر رنگ می‌دهد. به طور معمول رنگ کرم نشانه حداقل تولید و رنگ آجری نشان دهنده حداکثر مقدار تولید HCN می‌باشد. پلیت‌ها در طول این مدت، هر روز از نظر تغییر رنگ احتمالی کنترل شدند (آلستروم و برنز، 1989).

برای اندازه‌گیری میزان حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی نامحلول از محیط کشت اسپربر، استفاده شد. این محیط شامل گلوکز؛ 10، عصاره مخمر؛ 0/5، $CaCl_2.2H_2O$؛ 0/1، $MgSO_4.7H_2O$؛ 0/25، $Ca_3(PO_4)_2$؛ 2/5 و آگار 15 گرم در لیتر بود. برای این منظور هر جدایه باکتری به تعداد چهار تکرار بر روی پلیت با خلال دندان استریل به صورت نقطه‌ای کشت شد. پلیت‌ها به مدت دو هفته در انکوباتور با دمای 28 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری میزان توان حل‌کنندگی فسفات کلسیم توسط باکتری نسبت قطر هاله شفاف اطراف کلنی و قطر کلنی محاسبه شد (اسپربر، 1968).

آزمون کمی توانایی تولید اکسین یا ایندول استیک اسید (IAA) با استفاده از روش رنگ سنجی در محیط کشت باکتری انجام شد (هارتمن و همکاران، 1981). برای تهیه محلول‌های استاندارد اکسین، مقدار 25 میلی‌گرم IAA در 10 میلی‌لیتر سود 0/1 نرمال حل شد. محلول‌های استاندارد اکسین شامل: 0، 6/25، 12/5، 25، 37/5، 50، 75، 100، 150 و 200 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شدند. محلول‌های استاندارد به مقدار 6 میلی‌لیتر با نسبت 2:1 (4میلی‌لیتر محلول اکسین و 2 میلی‌لیتر محلول سالکوفسکی) تهیه شد. این محلول‌ها دو ساعت قبل از قرائت تهیه شدند. برای تهیه محلول سالکوفسکی، 49/3 گرم محلول پرکلریک اسید (71-70 درصد) با 2 میلی‌لیتر محلول 0/5 مولار کلرور آهن (III) با آب مقطر به حجم

[1] Cyst

www.SID.ir

Archive of SID



100 میلی‌لیتر رسانده شد. برای کشت باکتری از محیط YMBاستفاده شد. محیط‌های کشت تلقیح شده با جدایه-های مورد نظر به مدت 24 ساعت در دمای 28 درجه سانتیگراد بر روی شیکر نگهداری شدند. پس از 24 ساعت 1/5 میلی‌لیتر محیط کشت در 6000 دور بر دقیقه به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول روئی با 0/75 میلی‌لیتر محلول سالکوفسکی مخلوط و پس از دو ساعت مقدار جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذبی در طول موج 530 نانومتر قرائت شد. با استفاده از منحنی استاندارد میزان اکسین تولید شده توسط جدایه‌های مختلف اندازه‌گیری شد.

برای غربالگری و انتخاب جدایه‌های برتر، آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی شامل تیمارهای تلقیح با 37 جدایه باکتری، تیمار نیتروژنی (35 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع نیترات آمونیوم) و تیمار فسفر (به مقدار 35 میلی‌گرم در کیلوگرم از منبع دی‌هیدروژن پتاسیم فسفات) و شاهد بدون تلقیح در چهار تکرار انجام و اثر جدایه‌های انتخابی بر شاخص‌های رشد گندم بررسی شد. متغیرهای وزن خشک اندام هوایی، جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم اندازه‌گیری و میانگین داده‌ها با استفاده از روش دانکن با هم مقایسه شدند. در نهایت جدایه‌های برتر برای آزمایشات تکمیلی و مزرعه‌ای انتخاب شدند. در این پژوهش برخی خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک اندازه‌گیری شدند. نیتروژن کل به روش کجلدال[1]، پتاسیم قابل جذب با روش استات آمونیوم یک نرمال و فسفر قابل جذب با روش اولسن اندازه‌گیری شدند. عناصر روی، آهن، مس و منگنز قابل-جذب با استفاده از روش عصاره‌گیری خاک با DTPA و قرائت عناصر یاد شده در عصاره گرفته شده با استفاده از دستگاه اسپکترومتری جذب اتمی انجام شد. کربن آلی با روش والکی‌بلاک، هدایت الکتریکی (EC) و pH در عصاره اشباع خاک انجام شد درصد شن، سیلت و رس خاک با روش هیدرومتر بایکاس و بافت خاک از طریق مثلث بافت خاک محاسبه شد (علی‌احیایی و بهبهانی‌زاده، 1372).

## نتایج

### مراحل نمونه‌برداری و آزمایشگاهی

#### تعداد نمونه

تعداد نمونه خاک برداشت شده از خاک منطقه اطراف ریشه از مناطق عمده تحت کشت گندم از استان-های مختلف و تعداد جدایه خالص شده و انتخاب شده در جدول یک ارائه شده است.

#### برخی آزمون‌های انجام شده بر روی جدایه‌ها

مقدار اکسین جدایه‌های مختلف بین 0 تا 4 میکروگرم اکسین در میلی‌لیتر محیط کشت در 24 ساعت بود. در هیچ کدام از جدایه‌ها تولید سیانید هیدروژن (HCN) مشاهده نشد. توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی جدایه‌های مختلف بر اساس نسبت قطر هاله به کلنی در جدایه‌های مختلف بین 0 تا 1/3 بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد که همه جدایه‌های مورد تأیید گرم منفی، دارای توان تشکیل کیست و توانایی تولید رنگدانه قهوه‌ای تا سیاه نامحلول در آب را داشتند (داده‌ها نشان داده نشده است). نتایج مربوط به آزمون‌های مربوط به جدایه‌های انتخاب شده در جدول چهار ارئه شده است.

### نتایج آزمون گلخانه‌ای

### برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای

برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای در جدول دو ارائه شده است.

### تأثیر تیمارهای مختلف بر شاخص‌های رشد و جذب عناصر غذایی در گندم

نتایج اثر تلقیح جدایه‌های انتخابی بر رشد و جذب عناصر در گندم در جدول سه ارائه شده است. همانطوری که نتایج نشان می‌دهد از نظر وزن خشک اندام هوایی برخی تیمارهای تلقیحی دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد بدون تلقیح بودند. از نظر اثر بر جذب نیتروژن، فقط تیمار کود نیتروژنی و تلقیح با AFA46 با شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند. در رابطه با جذب فسفر و پتاسیم اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد.

---

[1] Kjeldahl

www.SID.ir

Archive of SID



**جدول 1- تعداد نمونه خاک، جدایه خالص شده و انتخاب شده**

| محل نمونه‌برداری | تعداد نمونه برداشت شده | تعداد ایزوله جدا شده | تعداد جدایه مورد تایید* | تعداد حدایه انتخاب شده برای آزمون گلخانه‌ای* |
|---|---|---|---|---|
| آذربایجانشرقی | 55 | 30 | 15 | 3 |
| آذربایجانغربی | 59 | 22 | 13 | 11 |
| گلستان | 20 | 18 | 12 | 7 |
| کردستان | 29 | 20 | 9 | 2 |
| فارس | 58 | 35 | 18 | 7 |
| خراسان | 141 | 92 | 35 | 7 |
| جمع | 362 | 217 | 102 | 37 |

* انتخاب جدایه‌ها بر اساس موارد ذکر شده در مواد و روش‌ها انجام شده است

**جدول 2- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای**

| بافت | رس | شن | سیلت | TNV | N | $P_{ava}$ | $K_{ava}$ | Fe | Mn | Cu | Zn | $pH_e$ | OC | $EC_e$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | % | | | $mg.kg^{-1}$ | | | | | | | % | $dS.m^{-1}$ |
| لوم | 22/1 | 33/0 | 44/9 | 10/1 | /05 | 9/8 | 294/6 | 4/4 | 16/9 | 1/3 | 7/8 | 7/6 | 0/35 | 0/44 |

**جدول 3- مقایسه میانگین اثر تلقیح جدایه‌های انتخابی بر وزن خشک اندام هوایی و جذب نیتروژن (آزمون دانکن در سطح 5 درصد)**

| ردیف | تیمار | وزن خشک هوایی | جذب نیتروژن | ردیف | تیمار | وزن خشک هوایی | جذب نیتروژن |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | گرم در گیاه | | | | گرم در گیاه | |
| 1 | AAW1 | 1/67 abcd | 0/040b | 21 | AFA57 | 1/54bcde | 0/033b |
| 2 | AAW7 | 1/39e | 0/034b | 22 | AGO5 | 1/65abcde | 0/040b |
| 3 | AAW11 | 1/48cde | 0/033b | 23 | AGO11 | 1/72abc | 0/032b |
| 4 | AAW15 | 1/66abcde | 0/035b | 24 | AGO14 | 1/52bcde | 0/038b |
| 5 | AAW22 | 1/76ab | 0/040b | 25 | AGO15 | 1/59abcde | 0/038b |
| 6 | AAW25 | 1/55bcde | 0/035b | 26 | AGO16 | 1/52bcde | 0/038 b |
| 7 | AAW32 | 1/48cde | 0/036b | 27 | AGO17 | 1/53bcde | 0/041 b |
| 8 | AAW50 | 1/72abc | 0/038b | 28 | AGO18 | 1/66abcde | 0/039b |
| 9 | AAW52 | 1/56abcde | 0/038b | 29 | AKH8 | 1/63abcde | 0/040b |
| 10 | AAW54 | 1/54 bcde | 0/038b | 30 | AKH57 | 1/73abc | 0/038 b |
| 11 | AAW55 | 1/77ab | 0/040b | 31 | AKH64 | 1/73abc | 0/040b |
| 12 | AAE19 | 1/63 abcde | 0/038b | 32 | AKH77 | 1/68abcd | 0/037b |
| 13 | AAE51 | 1/61 abcde | 0/036b | 33 | AKH84 | 1/60abcde | 0/037b |
| 14 | AAE54 | 1/67 abcde | 0/0.36b | 34 | AKH124 | 1/78ab | 0/040b |
| 15 | AFA1 | 1/84a | 0/043b | 35 | AKH131 | 1/60abcde | 0/037b |
| 16 | AFA8 | 1/65abcde | 0/040b | 36 | AKR25 | 1/63abcde | 0/037b |
| 17 | AFA13 | 1/78ab | 0/035b | 37 | AKR27 | 1/75abc | 0/043b |
| 18 | AFA46 | 1/76ab | 0/055a | 38 | N | 1/73abc | 0/063a |
| 19 | AFA53 | 1/70abcd | 0/038b | 39 | P | 1/72abc | 0/038b |
| 20 | AFA54 | 1/77ab | 0/042b | 40 | BLANK | 1/42de | 0/039b |

- اعداد در هر ستون با هم مقایسه شده‌اند و اعداد دارای حرف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند

بر اساس تجزیه و تحلیل نتایج و اطلاعات بدست آمده و به منظور یکسان‌سازی تیمارهای تلقیحی در همه استان‌ها تعداد 11 جدایه جهت اجرای آزمون‌های مزرعه-ای انتخاب شدند. در این انتخاب سعی شد از هر منطقه

www.SID.ir

Archive of SID



حداقل یک جدایه بومی در نظر گرفته شود. محل نمونه-برداری و برخی خصوصیات مرفولوژیک و فیزیولوژیک جدایه‌های انتخاب شده برای اجرای مرحله مزرعه‌ای در جدول چهار ارائه شده است.

**جدول 4- برخی خصوصیات منسوب به محرک رشد گیاه مربوط به جدایه‌های انتخابی**

| ردیف | نام جدایه | محل نمونه‌برداری | مختصات جغرافیایی | واکنش گرم | حل-کنندگی-فسفات | اکسین* | سیانید هیدروژن** | تشکیل کیست | تولیدرنگدانه نامحلول |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | AAE51 | آذربایجانشرقی،شبستر،جاده بندرشرفخانه | 38 11 14 N 45 51 39 E | - | 1/1 | 2 | - | + | قهوه‌ای |
| 2 | AAW22 | آذربایجانغربی،ارومیه، کیلومتر35 جاده مهاباد | 37 14 37 N 45 19 14 E | - | 0 | 4 | - | + | قهوه‌ای |
| 3 | AAW55 | آذربایجانغربی،تکاب،جاده دیوان دره | 36 29 54 N 46 42 49 N | - | 1/1 | 2 | - | + | سیاه |
| 4 | AFA1 | فارس،زرقان | 29 45 23 N 52 43 55 E | - | 1/1 | 1 | - | + | قهوه‌ای |
| 5 | AFA13 | فارس،فسا | 28 57 53 N 53 38 31 E | - | 1/3 | 1/3 | - | + | سیاه |
| 6 | AFA46 | فارس،سعادت‌آباد | 30 35 22 N 53 1124 E | - | 1/1 | 3 | - | + | قهوه‌ای |
| 7 | AFA54 | فارس-درودزن | 30 07 10 N 52 33 01 E | - | 1/1 | 2 | - | + | قهوه‌ای |
| 8 | AGO11 | گلستان | - | - | 1/1 | 0 | - | + | سیاه |
| 9 | AKH57 | خراسان،تربت حیدریه،جاده تربت | 35 28 47 N 59 12 36 E | - | 1/2 | 2 | - | + | سیاه |
| 10 | AKH64 | خراسان، کاشمر،سلطان آباد | 35 14 32 N 58 53 18 E | - | 1/2 | 1 | - | + | سیاه |
| 11 | AKR27 | کردستان، قروه،جاده بیجار | 35 18 36 N 47 42 18 E | - | 1/3 | 1 | - | + | قهوه‌ای |

* میکروگرم اکسین در میلی‌لیتر محیط کشت در 24 ساعت

** تغییر رنگ کاغذ صافی

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که جدایه‌های مختلف دارای توان متفاوت از نظر خصوصیات مختلف منسوب به محرک رشد گیاه بودند. نتایج بررسی توان حل‌کنندگی فسفات-های نامحلول نشان داد که برخی جدایه‌ها دارای این توانایی هستند. همچنین مقدار تولید اکسین توسط جدایه-های مختلف نیز متفاوت بود. اکسین‌ها به عنوان یکی از مهمترین هورمون‌های گیاهی که نقش بسیار مهمی در گسترش و توسعه سیستم ریشه گیاهی و در نتیجه رشد و عملکرد گیاهان دارند گزارش شده‌اند همچنین هیچ کدام از جدایه‌ها توان تولید سیانید هیدروژن را از خود نشان ندادند. HCN اثر بازدارندگی شدیدی بر فعالیت آنزیم سیتوکروم اکسیداز دارد، این آنزیم یکی از عوامل مهم در چرخه تنفسی و چرخه تولید ATP بسیاری از موجودات زنده محسوب می‌شود و لذا HCN به عنوان یک بازدارنده رشد گیاهان گزارش شده است (بیکر و شیپر، 1986). در تحقیقی بذرهای مختلف گندم با سویه‌های مختلف ازتوباکترکروکوکوم تلقیح و نتایج نشان داد که ازتوباکتر با تولید انواع هورمون‌های گیاهی، رشد طولی و تراکم رشد ریشه‌های گندم را افزایش و میزان آلودگی ریشه‌های گندم به میکوریز را در همه رقم‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد. این مساله باعث شد تا راندمان مصرف نیتروژن و فسفر بهبود یافته و میزان عملکرد دانه افزایش یابد (مانسک و همکاران، 1995).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد 12 جدایه مربوط به استان‌های مختلف موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد بدون تلقیح و بدون کود شدند. این افزایش معادل و یا حتی کمی بیشتر از تیمار کود نیتروژنی بود. بیشترین میانگین در مورد اثر بر وزن خشک اندام‌هوایی مربوط به تلقیح با جدایه AFA1 بود. جرک و همکاران (2006) گزارش دادند که در اثر تلقیح گندم بوسیله ازتوباکتر 11-8 درصد عملکرد آن افزایش

www.SID.ir

Archive of SID



یافت. در تحقیق دیگری اثر تلقیح باکتری‌های ازتوباکتر بومی جمع آوری شده از خاک‌های کشاورزی استان تهران بر رشد گندم در آزمون گلخانه‌ای بررسی و گزارش شد تلقیح، اثرات معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی داشته است (خسروی، 1377). همچنین گزارش شده که تلقیح گندم با برخی از سویه‌های بومی *A. chroococcum* موجب افزایش شاخص‌های مختلف رشد در شرایط گلخانه‌ای شدند (رجایی و همکاران،1386).

رای و گاور (1988) اثر ازتوباکتر و آزوسپیریلوم را بر رشد و عملکرد گندم بررسی و گزارش دادند که ازتوباکتر به تنهایی 8/2، آزوسپیریلوم 9/1 و مخلوط این دو 13/9 درصد افزایش عملکرد را نسبت به شاهد بدون تلقیح موجب شد. همانطوریکه نتایج نشان داد سویه AFA46 نسبت به شاهد، جذب نیتروژن اندام هوایی را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد که می‌تواند در تحقیقات تکمیلی مورد توجه قرار گیرد. در این رابطه نتایج عملکرد و جذب نیتروژن گندم پاییزه در اثر تلقیح با باکتری‌های ریزوسفری از جمله *A. chroococcum* قابل توجه ذکر شده است (رناتودفریتاس 2000). علیرغم وجود برخی توانایی‌ها در جدایه‌های انتخاب شده از جمله توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، با اینحال در جذب فسفر توسط گیاه اثر قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. یکی از دلایل این مسئله می‌تواند اینچنین توجیه شود که خاک محیط پیچیده‌ای مرکب از بخش‌های معدنی، آلی و بیولوژیک است که باکتری تلقیح شده به خاک ممکن تحت تأثیر این عوامل قرار گرفته و اثراتی که در محیط آزمایشگاهی بروز می‌کند در خاک مجال و فرصت لازم را نداشته باشد. اصولاً بین نتایج آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در مورد اثربخشی مایه تلقیح‌ها همیشه رابطه مستقیمی وجود ندارد و در مواردی تضاد و عدم تکرارپذیری مشاهده می شود. این مسائل عمدتاً ناشی از تنوع در نوع و ارقام گیاهی، ترکیب خاک، حضور ریزجانداران بومی، آب و هوا، مقدار رطوبت خاک و ... می باشد (وسی، 2003).

با اینحال بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش از هر منطقه حداقل یک جدایه و در مجموع 11 جدایه برای تهیه مایه تلقیح برای پژوهش‌های مزرعه‌ای آتی در نظر گرفته شد.

## فهرست منابع:


1. خسروی ه. 1393. ازتوباکتر و نقش آن در مدیریت حاصخیزی خاک. نشریه مدیریت اراضی، 2(2):94-79.
2. خسروی ه. و ح. محمدی. 1392. بررسی اثرات مایه تلقیح ازتوباکتر به همراه کود دامی بر رشد گندم دیم. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، 3 (2): 219-205.
3. خسروی، ه.، ن. صالح راستین، م. محمودی. 1377. اثر تلقیح ازتوباکتر کروکوکوم به عنوان یک کود بیولوژیک بر رشد و عملکرد گندم. مجله خاک و آب، 12(5): 8-1.
4. رجایی، س.، ح. علیخانی و ف. رئیسی. 1386. اثر پتانسیل محرک رشد سویه های بومی ازتوباکتر کروکوکوم روی رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی گندم. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، 41: 296-285.
5. علی‌احیائی، م. و ع. ا. بهبهانی‌زاده. 1372. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب (جلد اول). نشریه شماره 893. 129 صفحه.
6. وزارت جهادکشاورزی. 1394. آمارنامه کشاورزی جلد اول محصولات زراعی سال زراعی 92- 1391 ، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات. 156 صفحه.
7. وزارت جهاد کشاورزی. 1388. گندم و جو (نتایج طرح آمارگیری نمونه ای سال زراعی 88-1387). معاونت امور برنامه ریزی اقتصادی و بین المللی، دفتر آمار و فناوری اطلاعات، 50 صفحه.
8. Alström, S. and R.G. Burns. 1989. Cyanide production by rhizobacteria as a possible mechanism of plant growth inhibition. Biology and Fertility of Soils; 7:232-238.
9. Azcon, R. and M. Barea. 1975. Synthesis of auxins, gibberelins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter chroococcum* related to effects produced on potato plants. Plant and Soil, 43: 609-619.


www.SID.ir

Archive of SID




10. Bakker, A.W. and B. Schippers. 1986. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and pseudomonas spp. - mediated plant growth-stimulation. Soil Biology and Biochemistry. 19: 451-457.
11. Beijerinck, M.W,. 1901. Über oligonitrophile Mikroben, Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektions krankheiten und Hygiene, Abteilung II, 7: 561–582.
12. Garrity, G.M., Bell, J.A. & Lilburn, T. 2005. Class III.*Gammaproteobacteria* . In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd end, vol. 2 (*The Proteobacteria*), part B (*The Gammaproteobacteria*), p. 1. Edited by D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley & G. M. Garrity. New York: Springer.
13. Gonzalez-lopez, J., V. Salmeron, , J. Moreno, , F. Ballesteros, and A. Ramos-Cormenzana. 1986. Production of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* ATCC 12837 in chemically-defined media and dialyzed soil media. Soil Biology and Biochemistry, 18: 119-120.
14. Hartman, H.T., W.J. Flocker and A.M. Kofranek. 1981. Plant Science: growth, development and utilization of cultivated plants. Printice-Hall Inc. Eaglewood Cliffs, New Jersey, 07632.
15. Jarak, M., R. Protio, S. Jankovio and J. Colo. 2006. Response of wheat to Azotobacter-Actinomycet inoculation and nitrogen fertilizers. Romanian Agriculture Research. Number23.
16. Khosravi. H., M. Samar, E. Fallahi, H. Davoodi, and M. Shahabian. 2009. Inoculation of 'Golden Delicious' apple trees on M9 rootstock with Azotobacter improves nutrient uptake and growth indices. Journal of Plant Nutrition, 32: 946–953.
17. Manske, G.G.B., A.B. Luttger, R.K. Behl and P.L.G. Vlek, 1995. Nutrient efficiency based on VA mycorrhiza (VAM) and total root length of wheat cultivars grown in India. Journal of Applied Botany( Angewandte Botanik), 69: 108-110.
18. Milosevic N., B. Tintor, R. Protic, G. Cvijanovi, T. Dimitrijevic. 2012 . Effect of inoculation with Azotobacter chroococcum on wheat yield and seed quality. Romanian Biotechnological Letters, 17 (3): 7352-7357.
19. Nieto, K.F. and W.T. Frakenberger. 1989. Biosynthesis of cytokinins by *Azotobacter chroococcum*. Soil Biology and Biochemistry. 21: 967-972.
20. Pasetti L, F. Fiorelli, U. Tomati. 1996. Azotobacter biomass production from olive mill wastewater for heavy metal recovery. International Biodeterioration and Biodegradation, 38(3-4):163-4.
21. Rai, S.N. and A.C. Gaur. 1988. Characterization of *Azotobacter spp*. and effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* as inoculants on the yield and N-uptake of wheat crop. Plant and Soil 109: 131-134.
22. Renato de Freitas, J. 2000. Yield and N assimilation of winter inoculated wheat rhizobacteria. Pedobiologia, 44: 97-104.
23. Sperber J.I. 1958. Solution of apatite by soil microorganisms producing organic acids. Australian Journal of Agricultural Research, 9:782-787.
24. Suba Rao, N.S. 1988. Biofertilizers in agriculture. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, 208 p.
25. Thompson, J.P., and V.B.D. Skerman. 1979. Azotobacterceae. Academic press INC (Londen), 417p.
26. Vessey. J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571–586.


www.SID.ir