Archive of SID

فصلنامه

دانش میکروب شناسی

سال اول، شماره ۳، تابستان ۱۳۸۸

اثر مواد افزودنی در فرمولاسیون کودهای بیولوژیک بر جوانه زنی بذور پنبه

پرستو رجبعلی جماعت[۱]،احمد اصغر زاده[۲]، اشرف السادات نوحی[۱]، میترا صالحی[۱]، کاظم خاوازی[۲]،عباس اخوان سپهی[۱]

۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال ۲. عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب

a_asgharzadeh_2000@yahoo.com

چکیده

استفاده از انواع میکروارگانیسم‌ها در کشاورزی دارای سابقه صد ساله می‌باشد. در دهه‌های گذشته استفاده وسیع از آنها در کشورهای روسیه، چین و هندوستان با وسعت بیشتری انجام شده است. برای افزایش ماندگاری این میکروارگانیسم‌ها در حامل‌های مورد استفاده از مواد افزودنی متفاوتی استفاده می‌گردد. به همراه این مواد افزودنی، مخلوط سه جنس ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپریلوم لیپوفروم و سودوموناس فلورسنت که جزء مهمترین باکتری های محرک رشد گیاه بوده و اصطلاحاً Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) نامیده می شوند بر روی جوانه زنی پنبه در شرایط استریل و غیراستریل مورد استفاده قرار گرفت. ترکیبات مختلفی از کیتوزان، ساکارز، Fe-EDTA، گلیسرول و ملاس به عنوان مواد افزودنی به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت و معلوم گردید این افزودنی ها می توانند اثرات متفاوت و مثبت و منفی بر جوانه زنی بذر پنبه داشته باشند. در شرایط غیراستریل صمغ عربی بالاترین درصد (۴۸/۴) جوانه زنی را داشت ولی در شرایط استریل بذر، اثرات مواد افزودنی متفاوت از حالت غیراستریل بود، به طوریکه اضافه کردن اکثر مواد افزودنی، اثرات مثبت (۳۶/۱) بر جوانه زنی مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: بیولوژیکی، بذرپنبه، باکتری محرک رشد گیاه.

مقدمه

در سالهای اخیر تعداد زیادی میکروارگانیسم شناخته شده‌اند که دارای پتانسیل مصرف به عنوان کود بیولوژیک هستند، از جمله این میکروارگانیسم‌ها که در چند سال اخیر مطرح شده‌اند گروه باکتریهای محرک رشد گیاه یا Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) می‌باشند، این گروه از باکتریها به گروه وسیعی از باکتریهای خاک تعلق دارند. هرگاه این گروه از باکتریها به گیاهان مورد نظر زراعی و باغی تلقیح گردند با انواع روشها سبب افزایش رشد آنها می‌شوند. روشهایی که این گروه از باکتریها سبب تحریک رشد می‌شوند شامل تثبیت بیولوژیک ازت هوا، افزایش عناصر غذایی در محیط ریزوسفری، افزایش سطح رشد گیاهان، افزایش سایر همزیستی‌ها با گیاهان وترکیبی از روشهای فوق می‌باشد. شاید از مهمترین جنس‌های باکتریایی این گروه، بتوان از جنس‌های ازتوباکتر، آزوسپریلوم و سودوموناس نام برد (۱). این باکتریها هر یک به تنهایی اغلب صفات PGPR را برای گیاه اعمال می‌نمایند ولی مطالعات اخیر نشان داده است که تاثیر ترکیب این باکتریها حتی بهتر از عمکرد تک تک آنها بر رشد گیاهان بوده است و از اینرو در سالهای اخیر تحقیقات زیادی در زمینه استفاده از این باکتریها در ترکیب با سایر باکتریها انجام شده است و گزارشهای متعددی در این زمینه منتشر شده است (۲و۳). تمامی این گزارشها و تحقیقات نشانگر مفید بودن این باکتریها به

www.SID.ir

Archive of SID

عنوان کود و عوامل کنترل بیولوژیک می باشند. تمامی این تلاش‌های جهانی ضرورت توجه به این گروه از باکتریها را در کشور نیز ضروری ساخته است (۴).

ولی مشکلی که در زمینه استفاده تجارتی و صنعتی از این گروه از باکتریها وجود دارد، فقدان اسپور و عدم وجود ماندگاری مایه تلقیح‌های تولیدی این گروه از کودهای بیولوژیک می‌باشد(۶ و۵). زیرا موفقیت در تولید صنعتی یک کود بیولوژیک علاوه بر انتخاب بهترین سویه، مستلزم داشتن حامل مناسب، امکان تولید انبوه، فرمولاسیون مناسب همراه با بسته بندی و بازاریابی مناسب می‌باشد. برای اینکه این گروه از باکتریها که فاقد اسپور می‌باشند بتوانند با موفقیت در کشاورزی مورداستفاده قرار گیرند لازم است که فرمولاسیون مناسبی از آنها تهیه گردد که قدرت ماندگاری حداقل ۲۴-۶ ماه را داشته باشند (۶). اغلب برای دستیابی به این ماندگاری مناسب، لازم است مواد افزودنی متعددی به مواد حامل این گروه از باکتریها اضافه گردد که در نتیجه کود بیولوژیک تولیدی بتواند در شرایط نامساعد خاک و یا سطح بذر زنده مانده و تا ظهور ریشه‌ها و تلقیح آنها حیات خود را حفظ نماید (۵). ولی تا حال اثرات این مواد افزودنی بر روی جوانه زنی بذر مطالعه نشده است و مطالعات موجود بر روی تاثیرات کودهای بیولوژیک بر جوانه زنی نیز بر روی بذور استریل سطحی شده به انجام رسیده است. در این تحقیق سعی شده است که اثر استریل کردن بذر پنبه بر میزان جوانه زنی و اثرات مواد افزودنی مورد استفاده در فرمولاسیون کود بیولوژیک ترکیبی حاوی ازتوباکتر کروکوکوم، آزوسپریلوم لیپوفرم و سودوموناس فلورسنس بر جوانه زنی بذر پنبه در شرایط استریل و غیراستریل بذر پنبه مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

برای مطالعه اثرات استریل سطحی بذر پنبه بر درصد جوانه زنی، تعداد مناسبی بذر(حدود ۱۰۰۰ بذر) سالم و کرک دار پنبه که لیته برداری نشده بودند، انتخاب و سپس در زیر هود لامینار و در شرایط مناسب، مقدار کافی الکل °۹۶ بر روی بذور در ارلن استریل ریخته شد به طوری که تمامی بذور با الکل پوشانده شود و پس از ۲۰ ثانیه الکل اضافی دور ریخته شد. بر روی بذور وایتکس ۲/۵٪ ریخته شده و به مدت ۳ دقیقه استریل سازی بذور همراه با هم زدن انجام شد. سپس ۶ مرتبه بذور با آب استریل شستشو شدند و بذور استریل و غیراستریل به مدت حدود ۳۰ دقیقه در داخل آب استریل قرار گرفتند و سپس به تعداد سه تکرار ۵۰ عددی از بذورپنبه استریل، داخل پلیت‌های آب آگار۱٪ ریخته شده و در انکوباتور۲۸Ĉ نگهداری شدند و بعد از ۴۸ ساعت نتایج اندازه گیری شدند.

برای کشت باکتریهای جنس ازتوباکترکروکوکوم سویه ۵، آزوسپریلوم لیپوفرم سویه of و سودوموناس فلورسنس سویه P۲۱ در محیط‌های جامد به ترتیب از محیط‌های کشت LG، RC و King B استفاده گردید (۷ و۸).

پس از کشت انفرادی باکتریها، پس از ۴۸ ساعت جمعیت آنها به روش Plate Count و بر روی محیط های اختصاصی شمارش گردید و سپس حجم مساوی از آنها با یکدیگر مخلوط شده و مجددا" جمعیت در محیط کشت مشترک شمارش شده و سپس تیمارها انجام گردید.

پس از اضافه نمودن ۱۰ گرم در لیتر صمغ عربی همراه با آلژینات سدیم به عنوان ماده چسباننده به محیط کشت مایع ترکیب باکتریها، یازده تیمار زیر بر روی بذور استریل و غیراستریل اعمال گردید و سپس از هر تیمار تعداد ۳ تکرار با ۵۰ عدد بذر در هر پلیت آب آگار ۱٪ تهیه گردیده در دمای ۲۸Ĉ به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد و پس از ظهور جوانه‌ها درصد جوانه زنی محاسبه گردید.

در این آزمایش تیمارهای اعمال شده به شرح ذیل بودند:

محیط کشت حاوی سه جنس باکتری به همراه ماده چسباننده (صمغ عربی به مقدار ۱۰g/L)

۱. تیمار اول+ کیتوزان ۱٪
۲. تیمار اول + ساکارز ۲۰ گرم در لیتر
۳. تیمار اول + FeEDTA 200 µm
۴. تیمار اول + گلیسرول ۱۰ میلی لیتر در لیتر
۵. تیمار اول + تیمار دوم و سوم
۶. تیمار اول + تیمار دوم ، سوم و چهارم
۷. تیمار اول + تیمار دوم ، سوم چهارم و پنجم
۸. تیمار اول + ۵۰ گرم در لیتر ملاس نیشکر
۹. شاهد (مخلوط باکتریها بدون ماده چسباننده)
۱۰. مخلوط باکتریها بدون ماده چسباننده + رنگ طبیعی به مقدار۰/۱ گرم در لیتر برای جلوگیری از اثرات

www.SID.ir

Archive of SID

مضر ترشحات سطح بذور، قبل از اعمال تیمارهای فوق به استثنای تیمارهای۱۰ و ۱۱ مابقی تیمارها با محلول محافظ (PVP) پلی ونیل پریلیدون ۲۰ گرم در لیتر مرطوب شدند و سپس بذرها در محلول حاوی تیمارهای حاوی باکتری فرو برده شدند و پس از گذشت حدود نیم ساعت، محلول پلیمری همراه با ۲۰ گرم در لیتر پرلیت بر روی تیمارها به صورت یکسان اضافه گردید وسپس برای شروع فرایند پلیمریزاسیون بر روی کلیه تیمارها به جز تیمارهای۱۰ و ۱۱ $CaCl_2$ با غلظت ۶g/L به عنوان آغازگر پلیمریزاسیون پاشیده شده و بذور با پرلیت استریل خشک شدند. در شکل۱ نمایی از تیمارهای اعمال شده پس از جوانه دار شدن بذور نشان داده شده است .

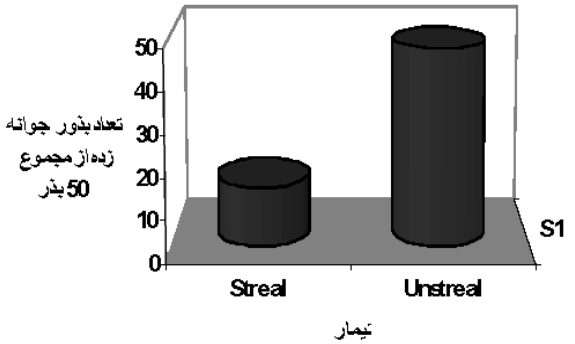
شکل۱. نمایی از تیمارهای اعمال شده بر بذور پنبه

محاسبه آماری

بخش عمده این تحقیق بررسی اثر انواع مواد افزودنی و اثرات متقابل نوع فرمولاسیون بر جوانه زنی بذور پنبه با استفاده از تجزیه واریانس اسپلیت و اسپلیت پلات و مقایسه میانگین ها با استفاده از نمودارهای Excell می باشد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده های حاصل از جوانه زنی بذر پنبه در شرایط استریل سازی و شرایط غیراستریل (جدول ۱) نشان می دهد که استریل سازی در مقایسه با شرایط غیراستریل میزان جوانه زنی بذور را به شدت کاهش داده و این کاهش از نظر آماری معنی دار است. همچنانکه شکل ۲ نشان می دهد در حالتی که بذور پنبه لیته دار استریل سطحی نگردند اغلب بذور در محیط مرطوب آب آگار۱ درصد به خوبی جوانه می زنند.



نمودار۲. رابطه بین تیمارهای اعمال شده با جوانه زنی بذر پنبه.
LSD5% = 1.97 و LSD1%=2.07

ولی در حالتی که بذور استریل سطحی گردند به دلیل اثرات مضر مواد ضدعفونی کننده مقدار زیادی از بذور جوانه نخواهند زد. جدول۱ تجزیه واریانس اثرات استریل سازی در مقایسه با تیمار غیراستریل را پس از اعمال تیمارها بر جوانه زنی بذر پنبه را نشان می‌دهد که از لحاظ تعداد بذور جوانه‌زده در پنبه برای شرایط آزمایش (استریل و غیراستریل) به عنوان کرت اصلی، تیمار(تلقیح) و اثرات متقابل شرایط آزمایش و تیمار دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال۱ درصد می باشند (جدول۲).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثرات استریل سازی در مقایسه با تیمار غیر استریل بر جوانه زنی بذر پنبه در تیمارهای مختلف ۱۱ گانه

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F
شرایط آزمایش (استیل و غیر استیل)	۱	۴۳۰۱/۸	۴۳۰۱/۸	۸۶/۸**
خطای فرعی (کرت اصلی)	۴	۱۹۸/۳	۴۹/۶	-
تیمار (تلقیح)	۱۰	۲۲۵۷/۵	۲۲۵/۸	۶/۲**
شرایط آزمایش * تیمار	۱۰	۲۲۲۷/۴	۲۲۰/۸	۶/۱**
خطای اصلی	۴۰	۲۲۰۷/۷	۳۶/۴	-
کل	۶۵	۸۹۷۸/۲	۱۳۸/۱	
ضریب تغییرات (درصد)	۵۱/۰			

www.SID.ir

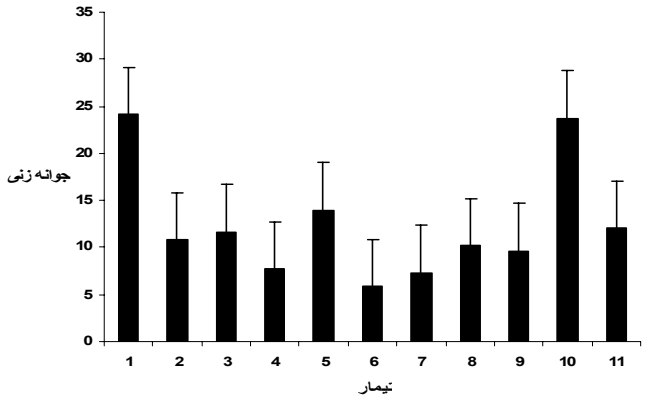
Archive of SID

جدول ۲. تجزیه واریانس اثرات استریل سازی بذر پنبه در مقایسه با غیر استریل

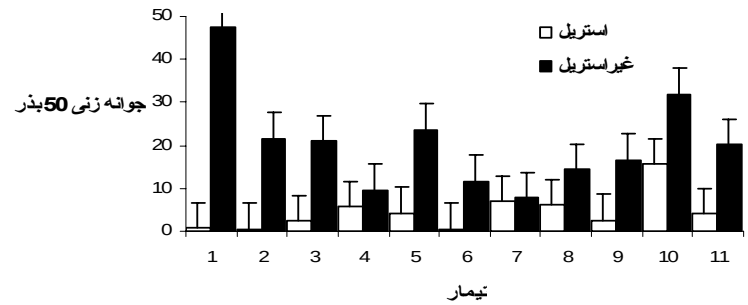
منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F
تیمار	۱	۱۶۳۳/۵۰	۱۶۳۳/۵۰	۱۹۶۰/۲**
خطا	۴	۳/۳۳	-	-

مقایسه میانگین داده‌ها مربوط به دو سطح استریل (٪۸/۷۸ =۲ ×۳۹ / ۴) و غیراستریل(٪۴۱/۰۸= ۲ × ۲۰/۵۴) شرایط آزمایش نشان می‌دهد که در شرایط غیراستریل تعداد جوانه زنی ۳۶۸ درصد بیشتر از شرایط استریل است (شکل ۲). به عبارت دیگر انجام عمل تلقیح در شرایط غیراستریل برای جوانه‌زنی بیشتر بذور پنبه مفیدتر از شرایط استریل به نظر می‌رسد. به عبارتی بهتر است که تیمار بذور پنبه با باکتری در شرایط غیر استریل بذر انجام گیرد.

مقایسه میانگین داده‌ها برای سطوح مختلف تیمارهای اعمال شده نشان می‌دهد که از بین ۱۱ تیمار تلقیح، بیشترین تعداد جوانه‌زنی بذور با مقادیر ۴/ ۴۸٪ و۴۷/۴٪ به ترتیب برای تیمارهای شماره ۱ و۱۰ و کمترین آن به تعداد ۱۰/۶٪ مربوط به تیمار۶ در حالت غیر استریل است (شکل ۳). همچنین این نتایج نشان می‌دهد که اعمال تیمارهای تلقیح در این پژوهش تنها در ۳ تیمار۱، ۵ و۱۰ باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذور پنبه شده است. این در حالی است که در اغلب موارد (۵۷ درصد) اعمال تیمارهای تلقیح به دلیل نوع خاص فرمولاسیون باعث پائین آمدن درصد جوانه‌زنی بذور گردیده است.



نمودار ۳. رابطه بین تیمارهای اعمال شده با جوانه‌زنی بذور پنبه در شرایط غیراستریل (LSD5% = 4.98 و LSD1% = (6.66. ۱. تیمار اول+ کیتوزان ۱٪ ۲. تیمار اول + ساکارز ۲۰ گرم در لیتر ۳. تیمار اول + FeEDTA ۲۰۰ میکرومول ۴. تیمار اول + گلیسرول ۱۰ میلی لیتر در لیتر ۵. تیمار اول + تیمار دوم و سوم ۶. تیمار اول + تیمار دوم ، سوم و چهارم ۷. تیمار اول + تیمار دوم ، سوم چهارم و پنجم ۸. تیمار اول + ۵۰ گرم در لیتر ملاس نیشکر ۹. شاهد (مخلوط باکتریها بدون ماده چسباننده) ۱۰. مخلوط باکتریها بدون ماده چسباننده + رنگ طبیعی به مقدار۰/۱ گرم در لیتر



نمودار ۴. اثرات متقابل شرایط آزمایش با تیمارهای اعمال شده بر روی جوانه‌زنی بذور پنبه در شرایط استریل و غیر استریل (LSD5% = 4.98 و LSD1% = 6.66). ۱. تیمار اول+ کیتوزان ۱٪ ۲. تیمار اول + ساکارز ۲۰ گرم در لیتر ۳. تیمار اول + FeEDTA ۲۰۰ میکرومول ۴. تیمار اول + گلیسرول ۱۰ میلی لیتر در لیتر ۵. تیمار اول + تیمار دوم و سوم ۶. تیمار اول + تیمار دوم ، سوم و چهارم ۷. تیمار اول + تیمار دوم، سوم چهارم و پنجم ۸. تیمار اول + ۵۰ گرم در لیتر ملاس نیشکر ۹. شاهد (مخلوط باکتریها بدون ماده چسباننده) ۱۰. مخلوط باکتریها بدون ماده چسباننده + رنگ طبیعی به مقدار۰/۱ گرم در لیتر

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه اثر استریل کردن سطح بذر پنبه با استفاده از هیپوکلرید سدیم ۲/۵ درصد نشان داد که در صورت استفاده از بذر استریل سطحی شده در آزمایشها اثرات استریل سازی سطح بذر به قدری شدید است که ممکن است اثرات اصلی تیمارها را تحت تاثیر قرار داده و نتایج را مورد خدشه قرار دهد. نتایج آزمایش نشان داد که جوانه زنی بذور پنبه غیراستریل چندین برابر بذور استریل سطحی است و این اختلاف در سطح یک درصد آماری معنی دار بود و لذا با وجود مشکلات استفاده از بذور غیراستریل نتایج حاصل نشان داد که لازم است از بذور غیراستریل در آزمایشها استفاده گردد. این در حالی است که دراغلب مطالعات مشابه استریل کردن بذور مورد تاکید قرار میگیرد. به طوری که Beck و همکاران (۱۹۹۳) استفاده از کلرید جیوه اسیدی را به همراه شستشوی اولیه با الکل ۹۶ درجه را به عنوان روش موثر در استریل سازی بذر در مطالعات تلقیح بذر توصیه نموده اند (۱۱). همچنین Motsara و همکاران (۱۹۹۵) نیز استریل سازی بذرها را قبل از مطالعات تلقیح بذر توصیه کرده اند (۱۲). آنها از هیپوکلرید سدیم و حتی اسید کلریدریک را برای ضد عفونی بذور استفاده نموده اند. Somasegaran و Hoben نیز از کلرید جیوه اسیدی و همچنین هیپو کلرید سدیم را برای این کار استفاده کرده اند (۱۳). Sharma (۲۰۰۲) نیز استریل سازی بذور را با کمک انواع مواد ضد عفونی کننده مورد تاکید قرار داده است (۱۴). البته از آنجا که هدف اغلب این محققین مطالعه اثر تلقیح ریزوبیوم ها در شرایط آزمایشگاه بر روی لگوم ها بوده است، لذا تعمیم نتایج آنان برای بذور دیگر نیاز مند اصلاحات ا ست. به نظر میرسد که بذور پنبه کرک دار به دلیل داشتن الیاف سلولزی مقدار زیادی مواد ضد عفونی کننده را در خود نگه میدارد که خارج کردن آن از لابلای این کرک ها مستلزم روش خاصی باشد. البته در استریل کردن بذور لگوم ها نیز مخصوصاً وقتی که بذور تازه نباشند در اثر ترک خوردن پوسته بذر در اثر استریل شدن، تعداد زیادی از بذور پتانسیل جوانه زنی خود را از دست میدهند و در استریل سازی بذور نخود به دلیل وجود تعداد زیادی اسپور در زیر پوسته بذرهای کهنه بعد از اعمال عملیات استریل سازی بذر نیز در موقع جوانه زنی دچار پوسیدگی ناشی از رشد این باکتری های بذر زاد میگردند و در صورت افزایش زمان استریل سازی نیز تعداد زیادی از بذرها توان جوانه زنی را از دست میدهند. در اغلب مواد استریل سازی بذر این گیاه سبب آسیب به جوانه های نوظهور این گیاه میگردد. آنچه سبب شده است استریل کردن بذور لگوم ها در مطالعات همزیستی گوم ـ ریزوبیوم اجباری باشد فقدان یک محیط کشت اختصاصی برای ریزوبیوم ها است.

همچنین به علت وجود ریزوبیوم های بومی محل رشد این گیاهان و دیگر میکروارگانیسم ها در سطح بذور لگوم ها، در صورت عدم استریل سازی بذر داده های حاصل مخدوش میگردد ولی در آزمایش هایی چون پوشش دهی بذور پنبه با باکتری های محرک رشد گیاه Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) به دلیل وجود محیط های کشت اختصاصی برای اغلب این باکتری ها و تنها با لحاظ نمودن یک شاهد امکان انجام آزمایش بدون استریل سازی سطح بذور نیز امکان پذیر میباشد که به نظر میرسد در این صورت دادهای حاصل قابل اعتماد تر خواهند بود.

استفاده از مواد افزودنی برای بهبود ماندگاری انواع میکروارگانیسم ها و افزایش کارایی آنها بسیار مرسوم بوده و بدون استفاده از این مواد مایه تلقیح های تهیه شده در حامل ها و در سطح بذر، گیاهان و خاکهای تیمار شده ،با افت شدید جمعیتی روبرو خواهند شد (۵ و۱۵). از اینرو تحقیقات زیادی در زمینه مطالعه اثرات این نوع مواد افزودنی بر ماندگاری میکروارگانیسم های مفید مورد استفاده در کشاورزی و پزشکی انجام شده است و مقادیر این مواد نیز برحسب نوع میکروارگانیسم مورد استفاده و گیاه و شرایط مصرف بهینه سازی شده است. به طوری که استفاده از آلژینات سدیم، PVP، انواع صمغ ها و نشاسته و دیگر مواد محافظ در تولید و مصرف مایه تلقیح ها، کودهای بیولوژیک و مواد کنترل بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته است (۵و۹و۱۰).

همچنین در مطالعاتی تاثیر برخی از آنها بر رشد و تحریک رشد گیاهان مختلف و در نهایت افزایش محصول در مزرعه نیز مطالعه شده است. Maksimove و همکاران (۱۹۹۶) گزارش نموده اند که کیتوزان در صورتی که به مقدار بسیار اندک به صورت بذر مال استفاده گردد سبب افزایش محصول به مقدار ۳۵-۲۱ درصد در گیاهان

www.SID.ir

Archive of SID

زراعی می گردد (۱۶). Manjula و Podile (۲۰۰۱) گزارش نموده اند که استفاده از فرمولاسیون حاوی کیتین همراه با باسیلوس سوبتیلیس سبب افزایش کارایی این باکتری در کنترل بیولوژیک فوزاریوم در خاک میگردد (۱۷). با وجود این مطالعات و مشاهده اثرات مثبت انواع باکتریها تا حال مطالعه روشنی در خصوص اثرات این افزودنی ها بر جوانه زنی بذر مطالعه نشده است.

اعمال یازده تیمار حاوی انواع مختلفی از مواد افزودنی که دارای پتانسیل افزایش ماندگاری باکتریها در محیط های پر استرس همانند سطح بذر در حالت استریل و غیراستریل نشان داد که در حالت استریل و غیر استریل رفتار این مواد متفاوت می باشد (جداول ۵ و۴). نتایج این آزمایش نشان داد که اعمال تیمارهای مختلف نیز دارای اثرات متفاوت بوده و اختلاف بین تیمارها نیز از نظر آماری در سطح یک درصد نیز معنی دارمیباشد و این امر نشانگر اثرات بسیار متفاوت مواد افزودنی بر جوانه زنی بذور می باشد و اثرات متقابل بین مواد افزودنی و شرایط اعمال آزمایش (استریل یا غیر استریل بودن بذر پنبه) نیز از نظر آماری در سطح یک درصد آماری کاملا" معنی داراست.

تیمارهای۱ و۱۰ در شرایط غیر استریل که تیمار۱ دارای صمغ عربی همراه سه جنس باکتری است و تیمار۱۰ فاقد هر نوع ماده افزودنی بوده و تنها دارای همان جمعیت باکتری از سه جنس می باشد دارای بیشترین درصد جوانه زنی هستند و نتایج نشان دهنده اثرات مثبت صمغ عربی در مقایسه با فقدان آن در شرایط غیر استریل است، ولی در شرایط استریل بذر تیمار۱۰ بهتر از تیمار۱ بوده است. در بین مواد افزودنی مورد استفاده در این تحقیق برای افزایش ماندگاری باکتری ها بر سطح بذر پنبه گلیسرول دارای کمترین تاثیر منفی بر درصد جوانه زنی بذر در شرایط غیر استریل می باشد و دیگر مواد افزودنی در این شرایط تقریبا در یک سطح عمل نموده اند.

ولی در شرایط استریل بذر اثرات مواد افزودنی متفاوت از حالت غیر استریل است به طوریکه افزودن اکثر مواد افزودنی به استثنای تیمار ۲و ۶ ما بقی تیمارها دارای اثرات مثبت بر جوانه زنی بوده اند. اگر چه درشرایط غیر استریل ماده چسباننده مورد استفاده فاقد اثر بازدارندگی بر جوانه زنی بود و حتی سبب افزایش جوانه زنی نیز شده است ولی در شرایط استریل بذر ماده چسباننده نیز اثرات باز دارندگی بر جوانه زنی بذر از خود نشان داده است ولی اکثر مواد افزودنی مورد استفاده دارای اثرات مثبت بر جوانه زنی بودند و این موضوع استفاده از بذور غیر استریل را در آزمایش تاثیرات انواع باکتری ها در جوانه زنی را تایید می کند ولی حصول نتایج مناسب مستلزم استفاده از محیط های کشت اختصاصی برای جلوگیری از اثرات انواع آلودگی ها بر نتایج نهایی می باشد.

منابع

1- Vessey J. K, (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and soil. **255**: 571-586.
2- Bashan y; Levanony H, (1990). Current status of Azospirillum inoculation technology: Azospirillum as a challenge for agriculture. Canadian journal of microbiology.; **36**: 591-608.
3- Kennedy I. R; Chaudhury A.T.M.A; kecskes M. L., (2004). Non-symbiotic bacterial potential for plant growth promotion be better exploited. Soil biology and biochemistry. **36:**1229-1244.
4- K. Khavazi; Asadi Rahmani; M. J. Malakouti; Necessity for the production of biofertilizers in Iran, 2005.
5- Burges H. D, (1998). Formulation of Microbial Biopesticides Kluwer Academic publishers.
6- Xavier I. J; Holloway Leggett M, (2004). Development of rhizobial inoculant formulation. Crop Management on line.
7- K.Khavazi; M.J.Malakouti; Necessity for the production of biofertilizers in Iran, 2002.
8- Subba Rao N.S, (1988). Biofertilizers in Agriculture Second Edition. Oxford and IBH. New Delhi.
9- Lakkis, J. (2007). Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems .Backwell .
10- Anonymous, (2006). Biofertilizer manual. Forum for Nuclear Cooperation in Asai (FNCA). Published by Japan Atomic Industrial Forum.
11- Beck D. P; Materon L .A; Afandi F, (1993). Practical Rhizobium – Legume Technology Manual. Technical Manual No.19.ICARDA Syria.

www.SID.ir

Archive of SID

12- Motsara M. R; Bhattacharyya P; Srivastava B, (1995). Biofertilizer Technology, Marketing and Usage.A Sourcebook–Cum-Glossary.Fertilizer Development and Consultation Organization. New Delhi.

13- Somasegaran P; Hoben H.j., (1994). Handbook for Rhizobia. Method in Legume – Rhizobium Technology .Springer – Verlay .USA.

14- Sharma A. K, (2002). Biofertilizers for Sustanable Agriculture. Central Arid Zone Research Institute. Agrobios India.

15- Hegde S.V; Brahmaprakash, (1992). A dry granular inoculants or rhizobium for soil application plant and soil.; **144**: 309-311.

16- Maksimove V. I; Rodoman V. E; Luntsevich V. G, (1997). Phytoactive chitin derivatives (Review). Applied Biochemistry and Micriobiology. **33**(4): 315-321.

17- Manjula K; Podile A.R, (2001).Chitin supplemented formulation improve biocontrol and plant growth promoting efficiency of *Bacillus subtilis* AF1. Canadian journal of Microbiology.

www.SID.ir