بررسی تنوع گونه ای جدایه های *Azospirillum* بومی خاک های تحت کشت کلزا در نقاط مختلف استان گلستان

نگار قادری*[۱] ، محسن علمائی[۲]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۲] استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

کلزا (***Brassica napus L.***) به راسته ***Rhoedale*** و تیره ***Brassicaceae*** تعلق دارد. این گیاه خودگشن بوده و در شرایط آب و هوایی مساعد به صورت یکساله رشد می نماید [۳]. در استان گلستان بیش از ۷۰۰۰ هکتار از اراضی، زیر کشت کلزا قرار دارند [۲]. این گیاه جزء گیاهانی می باشد که در ناحیه ریزوسفری آن باکتری های **PGPR**[17] از جمله ***Azospirillum*** وجود دارد.

باکتری ***Azospirillum*** یکی از مشهورترین باکتری های **PGPR** است که از خاک های با نیتروژن کم، توسط بیجرینک در سال ۱۹۲۵ جداسازی شد [۷]. از ویژگی های مفید این باکتری می توان به تثبیت نیتروژن، تولید هورمون های محرک رشد گیاه [۱۰]، افزایش حلالیت فسفات های نامحلول [۱۱]، تولید سیدروفور [۹]، تولید ویتامین [۵]، کنترل عوامل بیماریزا [۴] اشاره نمود.

سه گونه معروف از این باکتری شامل ***A.brasilense*** ، ***A.lipoferum*** ، ***A.irakense*** می باشد. دو گونه ***A.brasilense*** و ***A.lipoferum*** اساساً از ریشه غلات اصلی مثل گندم، ذرت، سورگوم و برنج جداسازی شده اند. گونه ***A.lipoferum*** قادر به استفاده از گلوکز بوده و برای رشد خود نیاز به بیوتین دارد. ولی گونه ***A.brasilense*** قادر به رشد در محیط دارای گلوکز نمی باشد [۶]. گونه ***A.irakense*** از ریشه برنج در ناحیه دجله عراق جدا شد که قادر به مصرف ترکیبات قندی مختلف بوده و توانایی رشد در محلول ۱ تا ۳ درصد کلرید سدیم را دارد [۸]. در این تحقیق تنوع گونه ای جدایه های ***Azospirillum*** بومی خاک های تحت کشت کلزا در نقاط مختلف استان گلستان بررسی شده است.

مواد و روشها

از ۳۸ نقطه استان گلستان تعداد ۳۸ نمونه خاک . ریشه گیاه کلزا جمع آوری گردید(۵۸ جدایه). آزمون های مقدماتی شناسایی جنس بر روی ۵۸ جدایه صورت گرفت. این آزمون ها شامل ایجاد هاله در محیط **NFB**[18] نیمه جامد، تولید کلنی سفید رنگ روی محیط **NFB** جامد به علاوه ۰/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر، تولید کلنی قرمز روی محیط **RC**[19] و تولید کلنی صورتی روی محیط **PDA**[4] بودند. آزمون های تکمیلی شناسایی گونه ها براساس نیازمندی به بیوتین، رشد در محیط سه درصد نمک کلرید سدیم و توان استفاده از گلوکز، این جدایه ها را به سه دسته مختلف تفکیک نمود. چهار گونه استاندارد که از مرکز نگهداری میکروارگانیسم ها و کشت های سلولی آلمان **(DSMZ)**[5] خریداری گردیده بودند، تهیه و در این تحقیق جهت مقایسه بکار گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمون های مقدماتی نشان داد که ۵۸ جدایه مذکور توانایی ایجاد هاله در محیط **NFB** نیمه جامد، توانایی رشد و ایجاد کلنی سفید رنگ روی محیط **NFB** جامد، تولید کلنی های قرمز روی محیط **RC** ، تولید کلنی

---

[17] Plant Growth Promoting Rhizobacteria

[18] Nitrogen Free Blue

[3] Congo Red

-[5]Deutsche van Sammlung van Mikroorganismen and Zellkulturen (German collection of mhcroorganisms cell cultures)

صورتی رنگ روی محیط **PDA** را داشتند. آزمون گرم نیز نشان داد که تمام جدایه های مذکور گرم منفی بودند. نتایج آزمون های تکمیلی شناسایی گونه های ***Azospirillum*** (جدول شماره۱) نشان داد که نتایج آزمون های تکمیلی شناسایی گونه های مختلف ***Azospirillum***، نشان داد که از لحاظ رشد در محیط **NFB** جامد حاوی ۳ درصد کلرید سدیم، توانایی استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربنی و نیازمندی به بیوتین برای رشد در محیط نیمه جامد، در سه گروه کلی قابل تقسیم بندی بودند. بیشترین مقدار جدایه ها مربوط به گونه ***A.brasilense*** (۲۸ جدایه) و بعد از آن جدایه های مربوط به گونه های ***A.irakense*** (۲۲ جدایه) و ***A.lipoferum*** (۸ جدایه) در رتبه های بعدی از لحاظ تعداد قرار داشتند.تحقیقات ارزانش و همکاران [۱] در زمینه جداسازی و شناسایی گونه های مختلف ***Azospirillum*** در استان گلستان نیز نشان داد که بیشترین تعداد ***Azospirillum*** بومی جدا شده از ریزوسفر گندم متعلق به گونه ***A.brasilense*** بود که با نتایج به دست آمده با این تحقیق مطابقت دارد.

جدول۱- چندآزمون مربوط به شناسایی گونه های جنس ***Azospirillum***

گونه منسوب (پیشنهادی)	نیازمندی به بیوتین	توانایی استفاده از گلوکز	نیمه **NFB**رشد در محیط **NaCl**جامد بعلاوه ۳ درصد	شماره ایزوله
A.brasilense	-/+	-	-/+	**AC19-I AC20-I AC20-II AC22-IV AC22-V AC26-I AC27-I AC28-II AC28-III AC28-IV AC29-II AC32-I AC34-I AC34-IV AC37-III AC38-II AC38-V AC39-I AC43-II AC43-IV AC46-I AC52-II AC53-III AC54-III AC55-I AC55-III AC56-VI AC56-VII Ab Al Ah**
A.lipoferum	+	-/+	-	**AC39-IV AC45-II AC45-III AC46-III AC47-V AC48-III AC51-II AC19-II Ai**
A.irakense	-/+	+	+	**AC19-V AC21-II AC22-III AC24-I AC24-II AC25-I AC25-II AC26-III AC27-II AC28-I AC29-VI AC32-II AC34-III AC36-IV AC43-III AC45-I AC46-II AC49-VII AC50-IV AC51-III AC51-VI AC51-IX**

فهرست منابع

۱. ارزانش، م. ح.، ح. ا. رحیمیان.، ح. ع. علیخانی و ک. خاوازی. ۱۳۸۶. جداسازی و گروه بندی جدایه های ***Azospirillum*** بومی خاک های استان گلستان. دومین همایش بوم شناسی.

۲. باقری، م.، ر. بهمرام.، ا. فرجی و م. شهبازی. ۱۳۷۸. کلزا. نشر سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان. ص ۵۳-۵۲.

۳. شهیدی، ا و ک. فروزان. ۱۳۷۶. کلزا. نشر شرکت توسعه کشت دانه های روغنی. چاپ اول. تهران. ص ۹-۱۳.

4. Bashan, Y,. and Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-plant relashionships: environmental and physiological advances (1990-1996). Can. J. Microbiol. 43: 103-121.
5. Dahm, H., Ro□zcki, H., Strzelczyk, E, Li, C.Y. 1993. Production of B-group vitamins by *Azospirillum* spp. Grown inn media of different pH at different temperatures. Z. Mikrobiol. 148: 195-203.
6. Dobereiner, J. 1992. The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. In: The Prokaryotes. Eds. A. Balows, H G Truper, M Dworkin, W Harger and K-H Schleifer. pp. 2236-2253. Springer Verlag, New York.

7. Holguin, G., Pby atten, C.L., and Glick, B.R. 1999. Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. Biology and Fertility of soils. 29: 10-23.
8. Khammas, K. M., Ageron, E., Grimont, P.A.D., and Kaiser, P. 1989. *Azospirillum irakense* sp. Nov. A nitrogen fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. Res. Microbiol. 140: 679-693.
9. Kloepper, J.W., Lifshitz, R. And Zablotowicz, R.M. 1989. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. Trends in Biotecnology 7: 39-44.
10. Michiels, K., Vanderleyden, J., Van Gool, A. 1989. *Azospirillum* plant root association: A review. Biology and Fertility of Soils. 8: 356-368.
11. Seshadri, S., Muthukumarasamy, R., Lakshminarasimhan, C., and Ignacimuthu, S. 2000. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferans*.Curr. Sci. 79: 565-567.