اثر غلظت های مختلف شوری و برخی از سموم رایج بر روی میزان رشد و تثبیت نیتروژن ملکولی جدایه های بومی *Azospirillum* استان گلستان

ام لیلا خسروی*[۱]، محمد حسین ارزانش[۲]

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

[۲] استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان

مقدمه

Azospirillum. Spp یکی از معروف ترین میکروارگانیسم هائی است که می تواند در ریزوسفر غلات و اطراف ریشه آنها کلنی تشکیل دهد. سالهاست که باکتری جنس ***Azospirillum*** به عنوان عامل محرک رشد گیاه **(PGPR[۲۱])** شناخته شده است(۲). اثرات مفید این باکتری بر روی محصولات زراعی چه در محیط گلخانه و چه در مزرعه به اثبات رسیده است(۳). از ویژگی های مفید این باکتری می توان به تثبیت نیتروژن ، تولید هورمون های محرک رشد گیاه ، در نتیجه بهبود جذب آب و عناصر غذایی ، افزایش حلالیت فسفات های نامحلول ، تولید سیدروفور ، تولید انواع ویتامین ، کنترل عوامل بیماری زا، رابطه سینرژیستی با سایر باکتری های مفید خاکزی ، تولید نیتریت ، تولید محصولات صنعتی ، زیست پالایی فاضلاب و تجزیه بقایای سمی اشاره کرد. در حالت مستقیم انواع **PGPR** با استفاده از مکانیسم های مختلفی مستقیما در افزایش رشد و عملکرد گیاه ایفای نقش می کنند(۵). اما مطالعات نشان داد که شوری و استفاده برخی از سموم شیمیائی می تواند روی باکتری های مختلف یا روی فعالیت آنها اثر بازدارندگی داشته باشد(۱). بیشترین کارایی ***Azospirillum*** تحت شرایط مزرعه ای معمولاً در حالت پایین تر از حد مطلوب (**Sub Optimal**)می باشد. کشاورزی در شرائط نیمه خشک نیز علاوه بر شرایط **Sub Optimal** با افزایش شوری نیز ممکن است همراه باشد(۶). بنابراین مقاومت به شوری برای یک گونه خاص اهمیت زیادی در تلقیح گیاهان با ***Azospirillum*** دارد. به طور مثال بیش از نیمی از اراضی زیر کشت استان گلستان تحت تاثیر تنش شوری قرار دارد. همچنین به دلیل شرایط آب و هوائی این منطقه آفات زیادی نیز شایع است که برای کاهش اثرات آنها از سموم مختلفی برای مقابله با آن استفاده می شود.

لذا در این تحقیق سعی گردیده تاثیر غلظت های مختلف شوری بر رشد و فعالیت تثبیت کنندگی نیتروژن (ایجاد هاله به طور غیرمستقیم نشان دهنده فعالیت نیتروژنازی این جنس از باکتری است) ۱۰ جدایه بومی با ۴ جدایه خارجی (شرکت**DSMZ**[۲۲]) در شرایط درون شیشه ای(***in vitro***) بررسی گردد.

مواد و روش ها

به منظور بررسی تاثیر غلظت های مختلف شوری بر میزان رشد و فعالیت نیتروژنازی باکتری جنس ***Azospirillum*** ، ده جدایه بومی ***Azospirillum*** از مجموعه باکتری های آزمایشگاه بیولوژی و بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان(جدایه های بومی ریزوسفر برنج از مناطق مختلف استان گلستان) به همراه ۴ جدایه خارجی (شرکت **DSMZ**) انتخاب شدند. این جدایه ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه روی محیط **RC**[۲۳] کشت داده شدند. با استفاده از لوپ سوزنی مقداری از کلنی جدایه های ***Azospirillum*** به داخل لوله های حاوی **ml** ۵ از محلول **NFb** نیمه جامد با غلظت های مختلف شوری (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴و ۵ درصد) برده شدند(۳ تکرار). همزمان مقداری از همان کلنی بر روی پلیت های **NFb**[24] جامد بعلاوه ۰/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر برده شدند(۵

---

1. Plant Growth Promoting Root

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

[23] Congo Red Medium

4. Nitrogen Free blue

تکرار). پلیت ها و لوله های تلقیح شده به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد نگهداری و میزان رشد آنها روی محیط **NFb** جامد و ایجاد هاله در محیط **NFb** نیمه جامد مقایسه گردیدند.

آزمایش دیگری نیز جهت بررسی اثر سموم شیمیایی مختلف(سوین، بوتاکلر، اگزادیازون، بنومیل، تری سیکلازول) بر روی همان ده جدایه ***Azospirillum*** انتخابی صورت گرفت. برای انجام این آزمایش با توجه به مقدار مصرف سموم در هکتار مقدار مشخصی از سموم به محیط کشت **NFb** نیمه جامد و **NFb** جامد به علاوه ۰/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر اضافه گردید و ده جدایه باکتری در سه تکرار به این محیط ها تلقیح شدند. سپس این محیط ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد نگهداری و میزان رشد آنها روی محیط **NFb** جامد و ایجاد هاله در محیط **NFb** نیمه جامد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که شوری و برخی از سموم شیمیائی می تواند روی جدایه های مختلف یا روی فعالیت آنها اثر بازدارندگی داشته باشد. بر این اساس بین جدایه های بومی از لحاظ مقاومت به شوری تفاوت های زیادی وجود داشت، به طوریکه در غلظت های ۵٪ کلرید سدیم هیچ جدایه بومی قادر به رشد و تشکیل هاله ای در محیط **NFb** نیمه جامد نبود . جدایه **AZR-6** در غلظت های ۱-۵٪ در محیط جامد**NFb** کلونی تشکیل داده ولی در محیط نیمه جامد قادر به تثبیت نیتروژن نبود. جدایه بومی **AZR-8** در غلظت ۲و ۳٪ و **AZR-9** نیز در ۳و ۴٪ نمک توانائی تثبیت نیتروژن را نداشتند. در غلظت ۴٪ نیز تنها یک جدایه بومی(**AZR-3**) قادر به رشد و تشکیل هاله در محیط کشت **NFb** نیمه جامد و تثبیت نیتروژن بود. حساسترین جدایه (**AZR-4**) توانایی تشکیل هاله در محیط **NFb** نیمه جا مد حتی ۰/۵٪ **NaCl** را نداشت. (جدول ۱)

جدول ۱- توانایی ایجاد هاله جدایه های بومی ***Azospirillum*** در غلظت های مختلف کلرید سدیم

نام جدایه	گونه منسوب	غلظت کلرید سدیم (درصد)						
		۰	۰/۵	۱	۲	۳	۴	۵
AZR-1	*A.lipoferum*	+	+	+	+	+	-	-
AZR-2	*A.lipoferum*	+	+	+	+	+	-	-
AZR-3	*A.lipoferum*	+	+	+	+	+	+	-
AZR-4	*A.lipoferum*	+	-	-	-	-	-	-
AZR-5	*A.lipoferum*	+	+	+	+	+	-	-
AZR-6	*A.lipoferum*	+	+	-	-	-	-	-
AZR-7	*A.lipoferum*	+	+	+	+	+	-	-
AZR-8	*A.lipoferum*	+	+	+	+	-	-	-
AZR-9	*A.lipoferum*	+	+	+	+	-	-	-
AZR-10	*A.irakense*	+	+	+	+	-	-	-
DSMZ1690	*A.brasilense*	-	-	-	-	-	-	-
DSMZ 1691	*A.lipoferum*	+	+	-	-	-	-	-
DSMZ 3675	*A.halopraeferens*	+	+	-	-	-	-	-
DSMZ 11586	*A.irakense*	+	+	+	-	-	-	-

از لحاظ تحمل به شوری نیز در بین گونه های مختلف تفاوت وجود دارد به طوری که از لحاظ تحمل به نمک گونه های ***A. amazonese*** ، ***A. lipoferum*** و ***A. brasilense*** به ترتیب افزایش می یابد.(۴)

همچنین نتایج استفاده از سموم رایج منطقه روی میزان رشد و تثبیت نیتروژن ملکولی نشان داد که سم سوین بیشترین تاثیر بازدارندگی را روی رشد نیتروژنازی جدایه های باکتری ***Azospirillum*** داشت و این جدایه ها رشد

کمتری نشان دادند. سموم بنومیل و تری سیکلازول کمترین تاثیر را روی رشد این جدایه ها داشتند. تاثیر سموم بوتاکلر و اگزادیازون بر روی جدایه **AZR-1** و سم اگزادیازون بر روی جدایه **AZR-3** نشان داد که این سموم بر روی رشد باکتری تأثیر ندارد اما می تواند بر روی فعالیت نیتروژنازی آنها تأثیر گذاشته و مانع از تشکیل هاله در محیط **NFb** نیمه جامد گردد. (جدول شماره ۲).

جدول ۲- توانایی ایجاد هاله جدایه های بومی ***Azospirillum*** تحت تاثیر سموم شیمیایی رایج منطقه

نام جدایه	گونه منسوب	سموم شیمیایی رایج منطقه					
		شاهد	سوین	بوتاکلر	اگزادیازون	بنومیل	تری سیکلازول
AZR-1	*A.lipoferum*	+	-	-	-	+	+
AZR-2	*A.lipoferum*	+	-	-	-	+	+
AZR-3	*A.lipoferum*	+	-	-	+	+	+
AZR-4	*A.lipoferum*	+	-	-	-	+	+
AZR-5	*A.lipoferum*	+	-	+	+	-	-
AZR-6	*A.lipoferum*	+	-	+	+	+	+
AZR-7	*A.lipoferum*	+	-	+	+	+	+
AZR-8	*A.lipoferum*	+	+	-	-	+	-
AZR-9	*A.lipoferum*	+	-	+	+	+	+
AZR-10	*A.irakense*	+	-	-	-	+	+
DSMZ1690	*A.brasilense*	+	-	+	+	+	+
DSMZ 1691	*A.lipoferum*	+	-	+	+	+	+
DSMZ 3675	*A.halopraeferens*	-	-	-	-	-	-
DSMZ 11586	*A.irakense*	+	+	+	+	+	+

فهرست منابع

1. Bashan, Y. Holguin,. G. (1993) Anchoring of *Azospirillum brasilense* to hydrophobic Polystyrene and wheat roots. Journal of general microbiology. 139: 379-385.
2. Bashan. Y. Holguin, G., de-Bashan, L.E. 2004. *Azospirillum*- plant relationship: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Can. J. Microbial. 50: 521- 577
3. Dobereiner. J. I. E. Marriel and M. Nery. 1976. Ecologjcal distribution of *Azospirillum lipoferum Beijerinck*. Can. J. Microbial. 22: 1464-1473.
4. Hartmann, A., Prabhu, S.R., and Galinski,E.A. 1991. Osmotolerance of diazotrophic rhizospher bacteria. Plant Soil, 137: 105-109.
5. Kloepper, J. W., Lifshitz, R. and Zablotwicz, R. M.1989. Free-living bacterhal inocula for enhancing crop productivity. Trends Biotechnol. 7: 39-43.
6. Matsuoto, S. Zhao, Q,. Yang, j., Zhu, S., and Li, L. 1994. Salinization and its environmental hazards on sustainable agriculture in east Asia and its neighboring regions. In Transactions of the 15th Word congress of sil Science, 10-16 july 1994, Acapulco. Vol. 3a. Edited by j.d. Etchevers. International Society of Soil Science, Mexico City, Mexico. Pp. 236-255