بررسی فراوانی و فعالیت ازوسپیریلوم در برخی از خاکهای ایران

محمد جواد روستا، ناهید صالح راستین و مهناز مظاهری اسدی

به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیارگروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی

دانشگاه تهران و استادیارمرکز پژوهشهای علمی و صنعتی ایران

تاریخ پذیرش مقاله ۷۷/۱/۲۶

خلاصه

ازوسپیریلوم به دلیل توان تثبیت ازت مولکولی در ارتباط همیاری باگیاهان مهم زراعی مانند انواع غلات و همینطور تولید هورمونهای محرک رشد گیاه، در سالهای اخیر بسیار مورد توجه واقع شده و برای تولید نوعی کود بیولوژیک مورد استفاده قرارگرفته است. به همین دلیل تحقیق در مورد وجود و پراکنش این باکتری در خاکهای ایران و ارزیابی فعالیت سویه‌های بومی، هدف این بررسی قرارگرفت.به این منظور، ۵۲ نمونهٔ گیاهی شامل ذرت، گندم و چند نوع گرامینهٔ علفی از چهار استان تهران، سمنان، فارس و قزوین جمع آوری گردیدند. جداسازی باکتری از خاک ریزسفری و قطعات ریشه این گیاهان با استفاده از محیطهای کشت انتخابی و تشخیص جنس و گونه‌های آن بر اساس آزمایش‌های میکروسکپی، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیتروژناز و آزمون‌های بیوشیمیایی انجام گرفت. در نهایت ۲۳ سویه جداسازی و شناسایی شدند و از بین آنها ده سویه که سرعت رشد و فعالیت نیتروژناز آنها بیشتر بود، به عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرارگرفتند. در یک آزمایش گلخانه‌ای بذر هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ ذرت و بذر گندم بهارهٔ رقم فلات در شرایط استریل جوانه دار شده و سپس گیاهچه‌ها هنگام کاشت با ۱۰ سویهٔ بومی و سه سویهٔ شناخته شدهٔ خارجی تلقیح گردیدند.نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که تلقیح با ازوسپیریلوم نسبت به شاهد تلقیح نشده، در غالب موارد موجب افزایش ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی گیاهان ذرت و گندم گردید و در ضمن، افزایش انشعابات ریشه و انبوهی تارهای موئین و بطور کلی گسترش سیستم ریشه‌ای را نیز به همراه داشت.سویه‌های بومی غالباً نسبت به سویه‌های خارجی، تاثیر بیشتری در رشد قسمتهای مختلف گیاهان مورد آزمایش نشان دادند.

واژه های کلیدی : ازوسپیریلوم، تثبیت ازت مولکولی، کود بیولوژیک و سویه های بومی

مقدمه

کودهای بیولوژیک که با استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاک تولید می‌شوند، در سالهای اخیر مورد توجه بیشتری قرار گرفته‌اند (۴ ، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۲۱ و ۳۲).

مشکلات اقتصادی ناشی از افزایش روبه رشد بهای کودهای شیمیایی از یک سو و مسائل زیست محیطی مرتبط با مصرف غیر اصولی این کودها از قبیل ایجاد آلودگیهای محیطی، افت سطح حاصلخیزی خاک و کاهش ارزش کیفی فرآورده‌های گیاهی از سوی دیگر، موجبات اصلی این حسن توجه را فراهم آورده‌اند. تلاش برای بهره‌گیری از سیستم‌های بیولوژیک تثبیت کنندهٔ ازت به عنوان مناسبترین جایگزین برای کودهای ازتی، ابعاد گسترده‌تری یافته و جلوه‌های روشنی از امکان تحقق آرمان دیرینهٔ محققین برای استفاده از این پدیدهٔ مفید در کشت محصولات استراتژیک مانند انواع

غلات، ظاهر شده است.

از سال ۱۹۷۲ که اولین مورد ارتباط همزیستی بین یک باکتری دی ازوتروف باگیاهی از خانوادهٔ گندمیان (گرامینه)، شناسایی شد (۱۲)، مطالعات گسترده‌ای در ریزسفر و اندوریزسفر گیاهان این خانواده در کشورهای مختلف جهان آغاز گردیده و لیست انواع باکتریهایی که قادر به برقراری رابطهٔ همیاری تثبیت کنندهٔ ازت[1] با این گیاهان هستند، همچنان رو به گسترش است (۱۵ و ۴۱).

در بین این باکتریها، از وسپیریلوم[2] به دلیل پراکنش وسیع جغرافیایی، وسعت دامنهٔ گیاهان میزبان و بویژه توان برقراری ارتباط همزیستی با گیاهان مهم زراعتی مانند گندم، برنج، ذرت، سورگوم، نیشکر و .. موردتوجه‌بیشتری قرارگرفته و به عنوان یک کود بیولوژیک به مرحلهٔ تولید انبوه و عرضهٔ تجارتی رسیده‌است (۱۱،۳۶،۳۸، ۴۰و۴۱).

توان تثبیت ازت این باکتری که قبلا" در جنس اسپیریلوم[3] طبقه بندی شده بود، در سال ۱۹۶۳ توسط بکینگ[4] با استفاده از روش ایزوتوپی (^{15}N) ، مشخص گردید (۱۴ و ۳۰). در سال ۱۹۷۸ تاراند و همکاران[5] با تعیین درصد مولی گوانین و سیتوزین این باکتری که برابر ۶۹ تا ۷۱ بدست آمد و بسیار بیشتر از جنس اسپیریلوم بود، نام ازوسپیریلوم را برای این جنس پیشنهاد کردند(۱۴) و تاکنون ۵ گونه به اسامی برازیلنس[6] لیپوفروم[7]، آماز و ننس[8]، هالوپرفرنس[9] و ایراکنس[10] برای آن شناسایی و مورد تایید قرار گرفته‌اند(۲۲ و ۲۶).

وجود از وسپیریلوم در خاک و ریز و سفر گیاهان مناطق سرد، معتدل و گرم ، گزارش شده است(۸ ، ۱۰ و ۱۱) ولی بر اساس مطالعات انجام شده ، فراوانی این باکتری در مناطق گرم، خیلی بیشتر است (۱۳ و ۴۱).

از وسپیریلوم شیمیوارگانوتروف و هوازی است ولی تثبیت ازت را فقط در شرایط میکروائروبیک انجام می‌دهد و بهمین دلیل کانون اصلی فعالیت این باکتری معمولا در ریز سفر و اندوریزسفر گیاهان میزبان است. باکتری با نفوذ در موسیژل ریشه و وارد شدن به فضاهای بین سلول‌های اپیدرمی و پوست ریشه و پیشروی تا نزدیک لایهٔ اندودرم، هم مواد کربنی ساده راکه برای متابولیسم تثبیت ازت ضروری هستند، از ترشحات ریشه‌ای دریافت می‌کند و هم از فشار بالای اکسیژن که فعالیت آنزیم نیتروژناز را متوقف می‌سازد، در امان می‌ماند (۱۸، ۲۸، ۳۴، ۳۸، ۳۹ و ۴۱).

اهمیت این باکتری علاوه بر توان تثبیت ازت مولکولی به دلیل تولید و ترشح فیتوهورمونهایی است که در توسعه و گسترش سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان موثر هستند، تولید ترکیبهایی از نوع اکسین، سیتوکینین، ژیبرلین و همینطور تولید اسید آبسیسیک و برخی از فاکتورهای رشد شناسایی نشده، در محیط کشت سویه‌های مختلف از وسپیریلوم ، گزارش شده است (۶ ، ۷، ۱۵ و ۲۰).

بررسیها نشان داده‌اند که پس از تلقیح گیاه با ازوسپیریلوم، تعداد ریشه‌های فرعی و همینطور تعداد تارهای موئین و انشعابهای آنها افزایش پیدا می‌کند و در نتیجه موجب بهبود جذب آب و.عناصر غذایی توسط گیاه می‌گردد (۴، ۶، ۱۵، ۲۵ و ۲۷). تولید انواعی از سیدروفورها و همینطور ترشح برخی از مواد ضد باکتری نیز در کشت برخی از سویه‌های از وسپیریلوم، مشخص شده است(۱۵).

به دلیل پتانسیل فعالیتهای مفید از وسپیریلوم و نتایج مثبتی که از تلقیح آن به گیاهان مختلف خانوادهٔ گندمیان در کشورهای مختلف جهان بدست آمده است، ضرورت بررسی این باکتری در خاکهای ایران، روشن می‌گردد.

این تحقیق باهدف مطالعهٔ وجود این باکتری در خاکهای زیر کشت گندم و ذرت در چند استان کشور و بررسی اثرات تلقیح سویه‌های بومی این باکتری روی برخی از شاخص‌های رشد این گیاهان، انجام گرفته است. بدان امید که با ادامهٔ این قبیل بررسیها در سطح گسترده‌تری از خاکهای ایران و با یافتن سویه‌های فعالتر و مؤثرتر این باکتری، امکان بهره گیری از این کود بیولوژیک به منظور افزایش بازده محصولات مهمی چون گندم و ذرت، کاهش مصرف کودهای شیمیایی ازتی و حفظ بهداشت محیط زیست فراهم‌گردد.

1 - Associative Nitrogen Fixation
2 - Azospirillum
3 - Spirillum
4 - Becking
5 - Tarrand et al
6 - brasilense
7- lipoferum
8 - amazonense
9 - halopraeferens
10-irakense

مواد و روشها

نمونه برداری:

با توجه به وضعیت آب و هوایی نقاط مختلف کشور، شهرهای قزوین از استان قزوین، کرج و ورامین از استان تهران، گرمسار از استان سمنان و مرودشت و داراب از استان فارس جهت نمونه برداری از مزارع گندم و ذرت انتخاب شدند. در این مناطق چند مزرعه بطور تصادفی انتخاب و از آنها نمونه برداری گردید. در هر مزرعهٔ گندم ۴ تا ۵ نقطه و از هر نقطه ۳ تا ۴ بوتهٔ گندم و در هر مزرعه ذرت ۴ تا ۵ نقطه و از هر نقطه، یک بوتهٔ ذرت انتخاب شد و سیستم ریشه‌ای گیاه همراه با خاک ریزسفری و مقداری خاک غیر ریزسفری برای تعیین برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک برداشت گردید. همچنین از زمینهای غیر زراعی این مناطق تعدادی نمونهٔ گرامینه وحشی نیز جمع آوری گردید.

جدا سازی ازوسپیریلوم و تهیهٔ کشت خالص ایزوله‌ها:

برای این منظور از هر نمونه ۴ تا ۵ قطعهٔ ریشه به طول ۱/۵ تا ۲ سانتی متر همراه یا بدون خاک ریزسفری، در لوله‌های حاوی محیط کشت نیمه جامد فاقد ازت قرار داده شدند. این محیط توسط اوکن و همکاران (۳۳) معرفی شد و سپس تغییراتی بصورت اضافه کردن ۱ گرم در لیتر لاکتات سدیم و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر بیوتین در آن داده شده است (۴۱). لوله‌های تلقیح شده در انکوباتور با دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت نگهداری شدند و بعد از گذشت این مدت مورد بررسی قرار گرفتند. از علائم رشد از وسپیریلوم، تشکیل یک غشاء نازک سفید رنگ در زیر سطح محیط کشت نیمه جامد فاقد ازت می‌باشد، زیرا این باکتری فقط در شرایط میکروائروبیک قادر به تثبیت ازت مولکولی است. با برداشت نمونه از پردهٔ تشکیل شده و تکرار چند کشت متوالی روی همان محیط، اقدام به حذف آلودگیها و تهیه کشت خالص باکتری گردید. سپس با استفاده از محیط کشت جامد RC(۳۷) کلنی‌های خالص و تیپیک از وسپیریلوم که دارای سطح خشک و ناهموار، حاشیهٔ چین دار و با رنگ صورتی تا قرمز تیره بودند، انتخاب و کشت خالص هر ایزوله روی محیط نیمه جامد بدون ازت جهت انجام آزمایشهای بعدی، نگهداری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیتروژناز:

لوله‌های ۱۵ میلی لیتری حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت نیمه جامد بدون ازت، پس از تلقیح با کشت خالص هر ایزوله، در انکوباتور با دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت، در شرایط استریل، در پوشهای پنبه‌ای لوله‌ها با در پوشهای پلاستیکی استریل جایگزین شدند و پس از اینکه ۱۲ درصد ازهوای داخل هر لوله کشیده شد به همان حجم استیلن استاندارد به هر لوله تزریق شده‌ودرانکوباتوربادمای قبلی‌قرارداده‌شدند(۱۳و۲۶). بعد از ۲۴ ساعت، ۰/۵ میلی‌لیتر از هوای داخل هر لوله با سرنگ کشیده شد و به دستگاه کرماتوگرافی گازی (GC) تزریق گردید. در این دستگاه مادهٔ پر کنندهٔ ستون شیشه‌ای، سیلیکاژل و آشکار ساز آن F.I.D بود. دمای ستون ۱۰۰، دمای محل تزریق ۱۱۰ و دمای آشکار ساز ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت گاز حامل (N_2) ۵۰ میلی‌لیتر در دقیقه، فشار هوا ۰/۴ اتمسفر و فشار گاز هیدروژن ۰/۹ اتمسفر تنظیم شد و پیک اتیلن، ۳/۴ تا ۳/۶ دقیقه بعد از تزریق مشاهده گردید.

نشانهٔ فعالیت آنزیم نیتروژناز در کشت باکتری درون لوله‌ها، تبدیل گاز استیلن به اتیلن است و وجود گاز اتیلن، در هوای هرلوله به عنوان تأییدی بر توان تثبیت ازت مولکولی توسط ایزولهٔ تلقیح شده به آن لوله، تلقی می گردد. برای محاسبه مقدار اتیلن تولید شده توسط ایزوله‌ها، غلظتهای مشخص گاز اتیلن خالص به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) تزریق و ارتفاع پیک و سطح زیر پیک بوجود آمده در هر غلظت یادداشت گردید. سپس با استفاده از این اطلاعات، ارتفاع یا سطح زیر پیک در مقابل غلظت اتیلن تزریق شده، ترسیم و با استفاده از این منحنی استاندارد و معادله رگرسیون مربوط به آن و با داشتن ارتفاع یا سطح زیر پیک اتیلن مربوط به ایزوله‌ها،مقداراتیلن‌تولید شده توسط هر ایزوله محاسبه گردید (۱۹).

در این بررسی، اندازه گیری فعالیت نیتروژناز در دو مرحله، ابتدا بر روی تمامی ایزوله‌هابرای تشخیص جنس باکتری و در مرحلهٔ نهایی بر روی گونه‌های شناسایی شده به منظور مقایسهٔ توان تثبیت ازت سویه‌ها و انتخاب بهترین آنها، انجام گرفت.

بررسیهای میکروسکوپی:

از لوله‌های مثبت از نظر احیای استیلن، گستره‌های میکروبی تهیه شد و در زیر میکروسکوپ نوری، نحوه واکنش باکتریها به

رنگ آمیزی گرم و همچنین شکل ظاهری و حرکت مارپیچی آنها بررسی گردید.

لوله هایی که از نظر احیای استیلن مثبت بوده و دارای باکتریهای گرم منفی با شکل خمیده و یا S مانند و حاوی دانه‌های پلی بتا هیدورکسی بوتیرات (PHB) بودند وحرکت مارپیچی داشتند، به عنوان کشت خالص از وسپیریلوم برای آزمایشهای بعدی نگهداری شدند.

آزمایشهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک:

برای تأیید شناسایی جنس از وسپیریلوم و تفکیک گونه‌های این جنس بر اساس مشخصات ذکر شده در کتاب طبقه‌بندی باکتریها(۲۲و۲۶)، فعالیت کاتالاز، اکسیداز، اوره آز و ژلاتیناز هر ایزوله و همینطور تولید ایندول، تبدیل یون نیترات به نیتریت و یا به گازهای ازتی (نیترات زدایی) (۱و۳)، تولید آمونیم در محیط کشت نیمه جامد بدون ازت (۵)، تحمل باکتری در محیط کشت حاوی ۳ درصد نمک (۳۸)، نیاز به مصرف بیوتین و توانایی استفاده از قندهای مختلف در شرایط تثبیت ازت (محیط نیمه جامد بدون ازت) مورد بررسی قرار گرفت. در آزمون توانایی استفاده از قندهای مختلف (گلوکز، ساکارز و مالتوز) به محیط کشت نیمه جامد بدون ازت به جای اسید مالیک، ۱۰ گرم در لیتر از این قندها اضافه شد.

بررسی اثرات تلقیح گیاهچه‌های گندم و ذرت با ازوسپیریلوم :

پس ازانجام آزمایشهای لازم برای تأیید جنس و تشخیص گونهٔ مربوط به ۲۳ ایزولهٔ خالص شده، از بین آنها ۱۰ ایزوله که دارای فعالیت نیتروژناز زیاد، توان رشد سریع در محیط کشت نیمه جامد بدون ازت و فعالیت نیترات زدایی کمتری بودند و ۳ سویهٔ غیر بومی (Cd و Sp7 از گونهٔ برازیلنس و Br17 از گونهٔ لیپوفروم) برای تهیهٔ مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفتند.

تکثیر هر یک از ۱۳ نمونهٔ باکتری بطور مجزا روی محیط کشت اختصاصی (۴۱)، بدون آگار و با اضافه کردن مقدار ۱ گرم در لیتر کلرور آمونیم، به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت بر روی بهم زن با سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه و در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد انجام گرفت. کدورت مایه‌های تلقیح تهیه شده، با استفاده از محلولهای استاندارد مک فارلند (۳) به نحوی تنظیم گردید که تراکم باکتری درهمهٔ آنها به حدود 10^8 سلول در میلی‌لیتر برسد.

به منظور تهیهٔ بذرهای بدون آلودگی، مقدار کافی از بذر گندم بهارهٔ رقم فلات، ابتدا به مدت ۵ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم (۱ درصد) ضدعفونی سطحی شد و بذر ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ نیز به مدت ۲۰ دقیقه با این مایع ضد عفونی سطحی گردید. سپس این بذرها ٦ - ۵ بار با آب مقطر استریل شسته شده و در ظروف پتری حاوی کاغذ صافی استریل قرار داده شدند (۲۱ و ۲۹). کاغذ صافی با آب مقطر استریل مرطوب گردید و ظرفهای پتری حاوی بذر در انکوباتور بادمای ۲۸ تا ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند. بذرهای گندم پس از ۴۸ ساعت و بذرهای ذرت پس از ۷۲ ساعت جوانه زده و برای کاشت آماده شدند.

بررسی تاثیر ایزوله‌ها در عملکرد گیاه گندم و ذرت در شرایط کشت گلدانی با در نظر گرفتن ۱٦ تیمار (شامل ۱۰ ایزولهٔ خالص شده، مخلوطی از این ده ایزوله، سویه‌های Cd و Sp7 از گونهٔ برازیلنس و سویهٔ Br17 از گونهٔ لیپوفروم به عنوان سویه‌های مرجع، تیمار بدون تلقیح و با ۳۵ پی پی ام ازت به صورت محلول نیترات آمونیوم و شاهد بدون تلقیح و بدون ازت) در ۴ تکرار در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی برای هر کدام از گیاهان گندم و ذرت بطور جداگانه اجرا گردید.

در هر گلدان پلاستیکی با قطر ۱۷ و ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر، ۴ کیلوگرم خاک دارای بافت لوم شنی و فقیر از ازت ریخته و با آب مقطر، رطوبت خاک به حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی رسانده شد. درهر گلدان ۵ گیاهچه کاشته شد و هر گیاهچه با یک میلی‌لیتر از مایه تلقیح مربوط به ایزولهٔ مورد نظر تلقیح گردید (۲۷، ۲۹ و ۳۱).

بدلیل فقیر بودن خاک و برای اصلاح میزان عناصر غذایی، به هر گلدان ۱۰ میلی‌گرم ازت به صورت محلول نیترات آمونیوم (به عنوان شروع کننده)، حدود ۲۳ میلی‌گرم فسفر و ۲۹ میلی‌گرم پتاسیم به صورت KH_2Po_4 و همینطور یک میلی‌لیتر از محلول عناصر غذایی کم مصرف به ازای هر کیلو گرم از خاک گلدان‌ها داده شد(۲۸).

یک هفته پس از کاشت گیاهچه‌ها، تعداد گیاهان هر گلدان به ۴ گیاه رسانده شد. در تیمار ازتی، مقدار ازت لازم، در سه نوبت به فواصل ۱۰ روز داده شد. در طول دورهٔ رشد با آبیاری گلدانها رطوبت آنها در حدود ۷۰ درصد ظرفیت زراعی تأمین گردید.

برای جلوگیری از آلودگیهای بعدی، سطح گلدانها باشن شسته شده در محلول اسید کلریدریک رقیق و استریل شده در آون،

پوشانده شد. درجه حرارت گلخانه در طول دورهٔ رشد گیاه ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و طول روز ۱۳ تا ۱۴ ساعت بود و نور لازم توسط لامپهای ۴۰۰ وات بخار سدیم و بخار جیوه در حد ۹۰۰۰ لوکس تأمین گردید.

بعد از مدت ۵ هفته، برای بررسی تأثیر تیمارهای مختلف بر ارتفاع گیاه، قبل از برداشت گیاهان، ارتفاع آنها اندازه گیری شد. به منظور تعیین وزن خشک اندام هوایی، قسمت هوایی هر گیاه قطع گردید و بخش هوایی مجموع گیاهان هر گلدان در داخل پاکت در درجه حرارت ٦٥ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ تا ۹٦ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت در آون قرار داده شد.

همچنین ریشه گیاهان با دقت از خاک جدا گردید و بعد از شستشو، در پاکت قرار داده شد و به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در آون با درجه حرارت ٦٥ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس جداول تجزیهٔ واریانس و آزمون مقایسهٔ میانگین‌ها به روش دانکن توسط نرم افزار SAS انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج بررسی فراوانی از وسپیریلوم در ریزسفر و سطح ریشه نشان می‌دهد که از ۵۲ نمونه مورد بررسی، ۲۲ مورد یا ۴۲ درصد از کل نمونه‌ها، از نظر وجود از وسپیریلوم، در حدی که قابل جداسازی باشد، مثبت هستند ولی درصد فراوانی این باکتری در مناطق مختلف متفاوت می‌باشد. فراوانی نسبی این باکتری را می‌توان در خاکهای استان فارس حدود ۵۷، استان قزوین حدود ۴۱، استان تهران حدود ۴۰ و در استان سمنان حدود ۱٦/۵ درصد، برآورد نمود.

بنظر می‌رسد شرایط آب و هوایی استان فارس، جهت ایجاد همیاری بین باکتریهای جنس از وسپیریلوم و گیاه ذرت مساعدتر باشد (جدول ۱). از طرف دیگر، فعالترین سویه از نظر تثبیت ازت از خاکهای این منطقه جداسازی گردید. بنابراین امکان یافتن سویه‌های مؤثر برای تهیه مایه تلقیح از آنها در این منطقه بیشتر می‌باشد (شکل ۱).

با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که از ۵ گونهٔ شناخته شدهٔ جنس از وسپیریلوم، فقط دو گونهٔ برازیلنس ولیپوفروم به فراوانی در خاکهای مورد بررسی وجود دارند. سایر گونه‌ها که شناسایی دقیق آنها نیاز به بررسیهای وسیعتر دارد، فراوانی نسبی کمتری نشان می‌دهند.

بررسی سویه‌ها از نظر توان نیترات زدایی نشان داد که اکثر آنها کم و بیش قادر به انجام این فرآیند هستند، رایج بودن این خصوصیت در بین سویه‌های از وسپیریلوم توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۳۵و۳۹).

از شکل ۱ چنین بر می‌آید که اکثر سویه‌های بومی، نسبت به سه سویهٔ مرجع یعنی Sp7,Cd و Br17 توانایی تثبیت ازت بیشتری دارند و همچنین می‌توان با توجه به شرایط آزمایش، سویهٔ FZ_1 را به عنوان فعالترین سویه معرفی نمود. بعلاوه، مشاهده می‌شود که هر منطقه دارای سویه‌ای است که از نظر تثبیت ازت قابل توجه می‌باشد به عنوان مثال می‌توان FZ_1 از فارس، KW_2 از کرج، VW_1 از ورامین و GW_3 را از گرمسار نام برد.

نتایج آزمایش گلخانه‌ای بر روی گندم بهاره (رقم فلات) نشان می‌دهد که تلقیح گندم با سویه‌های مختلف، اغلب باعث افزایش ارتفاع بوته، افزایش وزن خشک اندام هوایی، افزایش وزن خشک ریشه و افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی گردیده است ولی بیشتر این افزایشها، از نظر آماری درحد معنی‌داری نمی‌باشد. تمام سویه‌های مورد بررسی در مقایسه با شاهد تلقیح نشده، تأثیر بیشتری در افزایش ارتفاع بوتهٔ گندم نشان داده‌اند و از این لحاظ اختلاف معنی‌داری با تیمار ازتی نداشته‌اند در حالیکه بین شاهد تلقیح نشده(C) و تیمار ازتی(N35) تفاوت به حد معنی‌دار می‌رسد (شکل ۲).

بطور متوسط، سویه‌های مرجع (خارجی) نسبت به شاهد ارتفاع بوته را به مقدار ۹/٦ درصد افزایش داده‌اند. در صورتیکه سویه‌های ایرانی باعث افزایشی در حدود ۱٦ درصد در ارتفاع بوته شده‌اند. بعضی از محققین نیز افزایش ارتفاع بوتهٔ گندم در اثر تلقیح با ازوسپیریلوم را گزارش نموده‌اند (۲۴و ۴۱).

سویهٔ FZ_2 بیشترین تأثیر را در افزایش وزن خشک اندام هوایی گندم داشته است که این افزایش نسبت به شاهد، برابر با ۱۹ درصد و تقریبا" معادل با تیمار ازتی است (شکل ۳).

سویه‌های Cd، FZ_5 و GW_3 باعث زودتر ظاهر شدن پنجه در گندم شدند. پنجهٔ ظاهر شده در تیمار مربوط به سویهٔ FZ_5

جدول ۱ـ برخی از مشخصات خاک، نوع گیاه و محل نمونه‌برداری مربوط به هر یک ازسویه‌های ازوسپیریلوم

علامت اختصاری سویه	محل نمونه برداری	نوع گیاه	بافت خاک	PH	E.C ds/m	N %	$CaCo_3$ %	O.M %
QW_1	قزوین ـ کیلومتر ۲۵ شهر قزوین	گندم	لوم	۸/۱	۰/۵	۰/۰۷۳	۷	۱/۰۰
QW_3	قزوین ـ نرسیده به شرکت کشت و و صنعت شریف آباد	گندم	لوم	۸/۱	۰/۶۱	۰/۰۷۷	۲/۸	۱/۱۷
QW_5	قزوین ـ شهر صنعتی البرز	گندم	لوم ـ رسی	۸/۳	۱/۱۶	۰/۱۰۸	۹/۲	۱/۵۱
QZ_2	قزوین ـ شرکت کشاورزی و دامپروری مگسال	ذرت	رسی	۸/۴	۰/۵۸	۰/۰۹۹	۵/۶	۱/۶
QZ_4	قزوین ـ حصار	ذرت	لوم ـ رسی	۸/۱	۰/۳۷	۰/۰۶۸	۱۲/۷	۱/۰۰
KW_2	کرج ـ یوسف آباد	گندم	لوم ـ رسی	۸/۲	۰/۴۷	۰/۱۱۵	۸/۵	۱/۹۳
KW_3	کرج ـ مزرعه آموزشی دانشکده کشاورزی	گندم	لوم ـ رسی	۸/۳	۰/۴۸	۰/۱۰۶	۸/۸	۱/۷۶
KG_1	کرج ـ دانشکده کشاورزی	علف باغی	لوم	۸/۱	۰/۴۲	۰/۱۵	۳/۵	۳/۵۳
KG_2	کرج ـ دانشکده کشاروزی	مرغ	لوم ـ رسی	۸/۵	۰/۵۶	۰/۲۷۸	۳/۲	۵/۳۷
KZ_3	کرج ـ مزرعه آموزشی دانشکده کشاروزی	ذرت	لوم ـ رسی	۸	۰/۵۱	۰/۰۶۶	۵	۰/۸۴
VW_1	ورامین ـ کریم آباد قشلاق	گندم	لوم ـ رسی	۸/۳	۱/۱۸	۰/۰۹۲	۱۰/۶	۱/۲۶
VW_3	ورامین ـ حیدر آباد	گندم	لوم ـ رسی	۸/۳	۰/۶۳	۰/۱۱۹	۱۵/۶	۱/۸۵
VZ_3	ورامین ـ ده وین	ذرت	لوم ـ رسی	۸/۲	۱/۱	۰/۰۸۷	۱۵/۹	۱/۲۶
GW_3	گرمسار ـ کوشک	گندم	رسی ـ سیلتی	۸/۳	۲/۱۴	۰/۱۰۳	۲۶/۹	۱/۶۸
FZ_1	فارس ـ مرودشت ـ خبریزار سنجان	ذرت	رسی ـ سیلتی	۷/۹	۵/۹۱	۰/۰۸۵	۳۲/۶	۱/۶
FZ_2	فارس ـ مرودشت ـ کمال آباد	ذرت	لوم ـ رسی سیلتی	۸	۲/۲۱	۰/۰۹۱	۳۸/۹	۱/۶
FZ_4	فارس ـ مرودشت ـ حسئین آباد	ذرت	رسی ـ سیلتی	۸/۳	۱/۶۹	۰/۰۹۲	۳۶/۱	۱/۶
FZ_5	فارس ـ مرودشت ـ جمال آباد	ذرت	رسی ـ سیلتی	۸/۴	۱/۲۲	۰/۰۹۸	۲۶/۲	۱/۶۸
FZ_7	فارس ـ مرودشت ـ علی آباد	ذرت	لوم ـ رسی سیلتی	۸	۲/۲۹	۰/۰۷۳	۳۸/۲	۱/۰۹
FZ_8	فارس ـ مرودشت ـ رحمت آباد	ذرت	لوم ـ رسی سیلتی	۸/۲	۱/۷۹	۰/۰۸۵	۳۶/۱	۱/۶
FZ_{12}	فارس ـ مرودشت ـ علی آباد ملک	ذرت	لوم ـ رسی سیلتی	۷/۹	۹/۴	۰/۱	۳۳/۳	۱/۶
FZ_{13}	فارس ـ داراب ـ امامزاده پیرمراد	ذرت	لوم	۸	۱/۶۷	۰/۰۱۱	۴۰	۱/۸۵

بزرگتر از تیمارهای مربوط به دو سویهٔ دیگر بود. افزایش تعداد پنجه‌ها در واحد سطح به دنبال تلقیح گیاه گندم در شرایط مزرعه با ازوسپیریلوم توسط محققین مختلف گزارش شده‌است(۲۴،۳۸و۴۱)

اکثر سویه‌ها، وزن خشک ریشهٔ گندم را در مقایسه با شاهد تلقیح نشده افزایش داده‌اند که بیشترین افزایش مربوط به سویه KW_2 می‌باشد (شکل ۴).

جدول ۲ـ نتایج برخی از آزمون‌های بیوشیمیایی و نام گونهٔ پیشنهادی مربوط به هر سویه

علامت اختصاری سویه	کاتالاز	اکسیداز	ژلاتیناز	تولید ایندول	اوره آز	تحمل شوری ۳٪*	تولید آمونیوم	تبدیل نیترات به نیتریت	نیترات زدایی*	مصرف گلوکز	مصرف ساکارز	مصرف مالتوز	گونه پیشنهادی
QW_1	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	لیپوفروم
QW_3	+	+	+	-	+	-	-	+	++	-	-	-	برازیلنس
QW_5	+	+	+	-	+	-	-	+	++	+	-	-	لیپوفروم
QZ_2	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	برازیلنس
QZ_4	+	+	+	-	+	++	-	+	+	-	-	-	برازیلنس
KW_2	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	برازیلنس
KW_3	+	+	+	-	+	++	-	+	+	+	+	+	ایراکنس؟
KG_1	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	لیپوفروم
KG_2	+	+	+	-	+	+	-	+	++	-	-	-	برازیلنس
$K\dot{Z}_3$	+	+	+	-	+	-	-	+	++	-	-	-	برازیلنس
VW_1	+	+	+	-	+	-	-	+	++	-	-	-	برازیلنس
VW_3	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	لیپوفروم
VZ_3	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	برازیلنس
GW_3	+	+	+	-	+	-	-	+	++	+	-	-	لیپوفروم
FZ_1	+	+	+	-	+	+	-	+	++	+	+	+	ایراکنس؟
FZ_2	+	+	+	-	+	+	-	+	++	+	-	-	لیپوفروم
FZ_4	+	+	+	-	+	-	-	+	++	+	-	-	لیپوفروم
FZ_5	+	+	+	-	+	-	-	+	++	+	-	-	لیپوفروم
FZ_7	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	لیپوفروم
FZ_8	+	+	+	-	+	-	-	+	++	-	-	-	برازیلنس
FZ_{12}	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	برازیلنس
F_1Z_{13}	+	+	+	-	+	-	-	+	+++	+	+	+	ایراکنس؟
F_2Z_{13}	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	برازیلنس

* علائم: -،+،++،+++ به ترتیب نشانهٔ واکنش منفی، ضعیف، متوسط و قوی هستند.

با محاسبهٔ نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی گندم مشخص شد که سویه‌های QW_1,KW_2,SP_7 و KG_1 در مقایسه با تیمار شاهد این نسبت را به ترتیب به مقدار ۴۷/۶،۲۴/۴،۱۹/۲ و ۱۷/۴ درصد افزایش داده‌اند. کاپولنیک و همکاران (۲۵) نیز افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی گندم را به مقدار ۵ درصد نسبت به شاهد، در نتیجهٔ تلقیح با ازوسپیریلوم گزارش نموده‌اند.

در تلقیح گیاه ذرت (هیبرید سینگل کراس ۷۰۴) باازوسپیریلوم، سویهٔ KZ_3 در مقایسه با تیمار شاهد، ارتفاع بوته را بطور متوسط ۱۳/۴ درصد افزایش داده است. پس از آن، سویه‌های QW_1 و GW_3 ارتفاع بوته را به ترتیب ۸/۳ و ۷/۷ درصد افزایش داده‌اند. از میان سویه‌های مرجع، فقط سویهٔ Cd افزایشی برابر با ۶/۴ درصد را در ارتفاع بوته باعث شده است. با این حال تاثیر تلقیح بر ارتفاع بوتهٔ ذرت، نسبت به شاهد تلقیح نشده، معنی‌دار نیست و بر خلاف مورد گندم تیمار ازتی از این لحاظ نسبت به تیمارهای تلقیحی، برتری معنی داری را نشان می‌دهد (شکل ۵).

سویهٔ KW_2 با افزایشی برابر با ۱۵/۵ درصد در وزن خشک اندام هوایی ذرت، در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را موجب شده است ولی تفاوت سایر تیمارهای تلقیحی با تیمار شاهد، از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (شکل ۶).

کوهن و همکاران (۹)، حجازی و مونیب (۲۱) و برخی محققین نیز افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه ذرت را در اثر تلقیح با ازوسپیریلوم، گزارش نموده‌اند.

در مقایسه با تیمار شاهد، تلقیح گیاه ذرت با سویهٔ FZ_2 وزن خشک ریشه را به مقدار ۲۹/۵ درصد افزایش داده که این افزایش حتی بیشتر از افزایش وزن خشک ریشه در تیمار ازتی (۲۵/۹ درصد) می‌باشد، هر چند از نظر آماری این دو تیمار با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند ولی اختلاف تیمار تلقیحی با شاهد تلقیح نشده کاملا" معنی‌دار می‌باشد (شکل ۷).

سویهٔ SP_7، تیمار MIX و سویهٔ QW_1 نیز وزن خشک ریشه را به ترتیب به مقدار ۱۵/۶، ۱۵/۲ و ۹/۹ درصد افزایش داده‌اند که در مقایسه با شاهد، این افزایشها معنی‌دار نشده است.

فالیک واوکن (۱۶) نیز گزارش کردند که تلقیح بذر ذرت باازوسپیریلوم، باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی و افزایش وزن خشک ریشهٔ ذرت شده ولی این افزایش درحد معنی‌دار نبوده است.

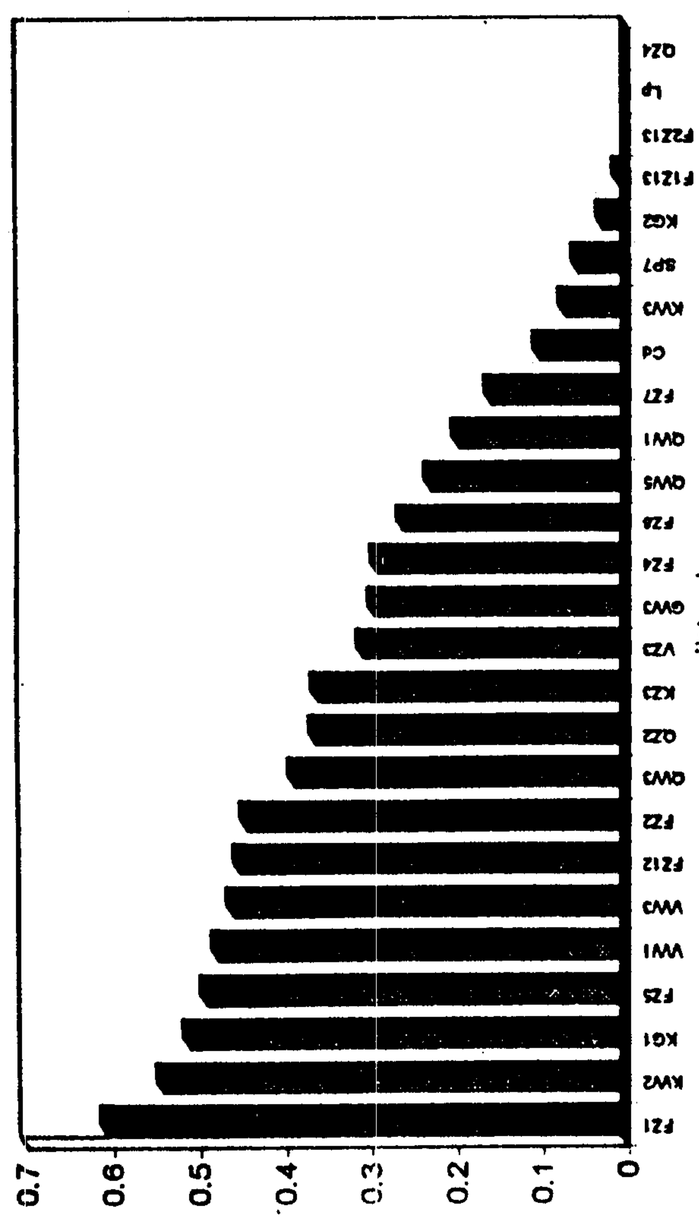
نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی گیاه ذرت، فقط در نتیجهٔ تلقیح با سویهٔ FZ_2 به مقدار معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد وحتی نسبت به تیمار ازتی افزایش یافته و این افزایش به ترتیب برابر با ۳۴/۴ و ۳۶/۴ درصد می‌باشد (شکل ۸).

نکته جالب توجه، توسعه و گسترش سیستم ریشه‌ای گیاهان گندم و ذرت تلقیح شده با اغلب سویه‌های ازوسپیریلوم می‌باشد، بطوریکه در گیاهان تلقیح شده، افزایش طول ریشه، ازدیاد انشعابات فرعی و همینطور افزایش تعداد تارهای موئین، به وضوح قابل تشخیص بود. اکثر محققین نیز توسعهٔ بیشتر سیستم ریشه‌ای گیاه در نتیجهٔ تلقیح باازوسپیریلوم را گزارش کرده واین تاثیر را به ترشح فیتوهورمونهای مختلف (مانند اکسین، سیتوکینین و ژیبرلین) و ترکیبات ناشناخته، توسط سویه‌های این باکتری نسبت داده‌اند (۴، ۱۵، ۲۳ و ۴۲).

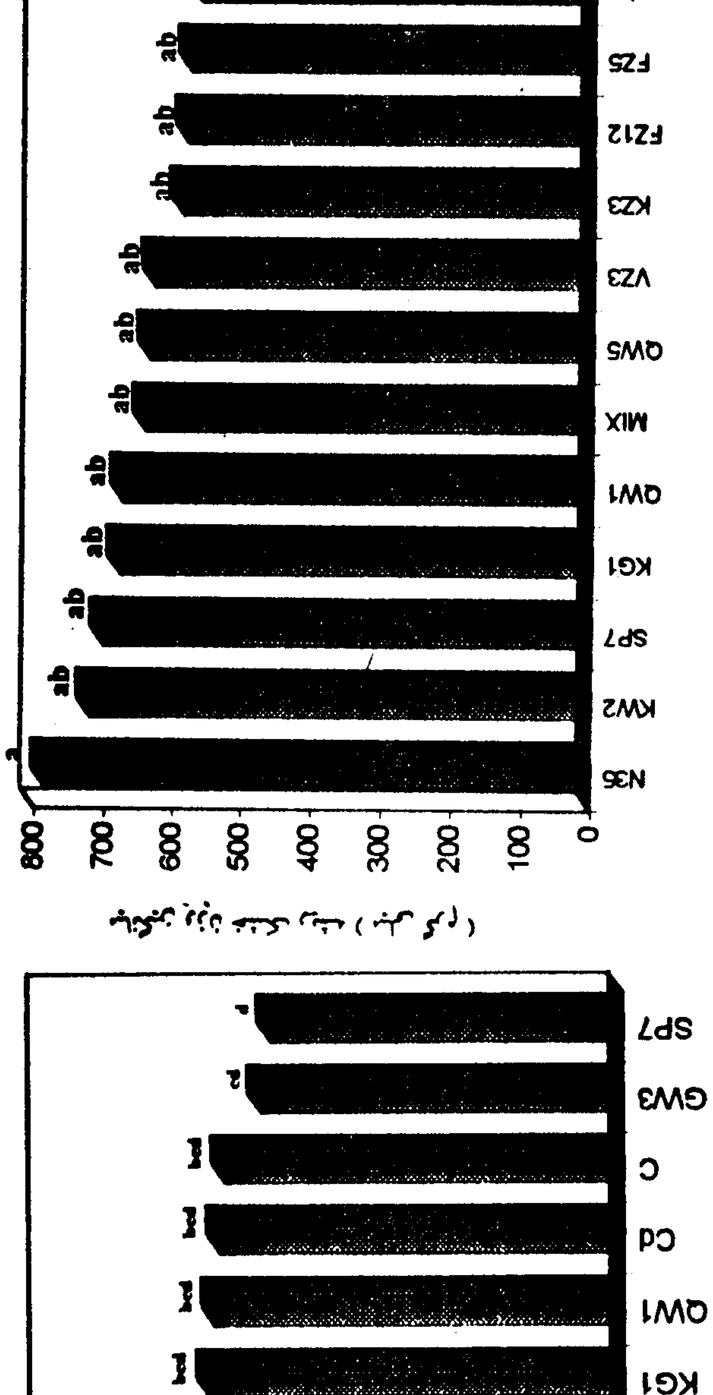
افزایش رشد گیاهان تلقیح شده ممکن است تا حدودی مربوط به انجام تثبیت ازت توسط این سویه‌ها و همینطور به دلیل افزایش جذب نیترات و سایر عناصر غذایی بوسیله سیستم ریشه‌ای گیاهان تلقیح شده باشد.

در مورد تاثیر تلقیح باازوسپیریلوم بر عملکرد گیاهان مختلف از جمله گندم و ذرت، نتایجی در جهات مثبت و یا منفی گزارش شده‌اند (۲۹). در ارتباط با نتایج مثبت، بر اساس شرایط انتخابی مانند تعداد باکتریهای موجود در مایهٔ تلقیح، زمان تلقیح، مقدار مادهٔ آلی و معدنی خاک، مخلوط کردن سویه‌های مختلف و نوع گیاه میزبان، افزایش عملکردی از ۱۰ تا ۳۰ درصد در عملکرد دانه و وزن خشک گیاهان گندم و ذرت گزارش شده است(۲، ۲۹و ۳۸).

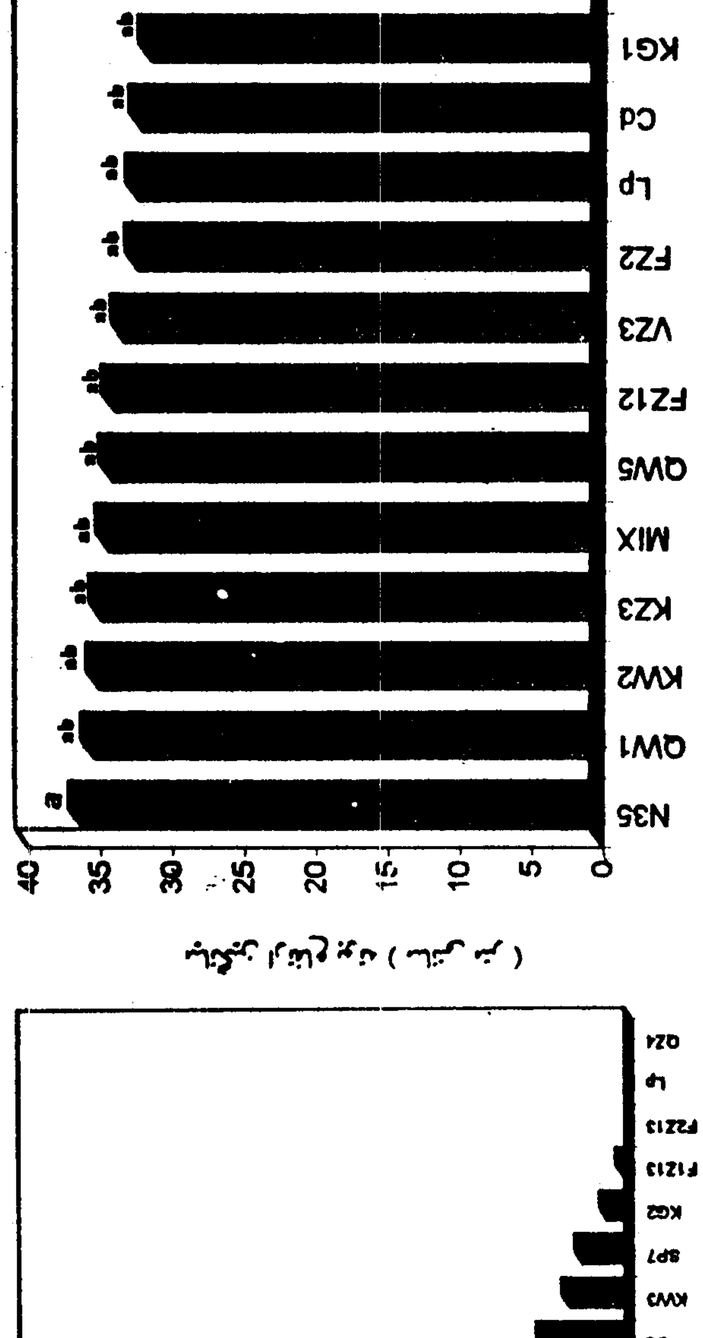
در این تحقیق گلخانه‌ای نیز موارد افزایش وزن خشک گیاهان گندم و ذرت تلقیح شده، تقریبا" در همین دامنه قرار می‌گیرد. در مورد نتایج منفی هم به عواملی مانند زیاد بودن تعداد باکتریهای موجود در مایهٔ تلقیح، وجود سویه‌های بومی از وسپیریلوم در خاک واثر آنتاگونیستی سایر میکروارگانیسم‌ها، اشاره شده است. بعلاوه، برخی از محقیقن احتمال اختصاصی بودن سویه‌های ازوسپیریلوم برای گیاه میزبان را مطرح کرده‌اند و عقیده دارند که باکتری جدا شده از ریزوسفرهر گیاه لزوما" باید برای تلقیح همان گونهٔ گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (۱۴، ۱۵ و ۳۲).



شکل ۱ - میزان اتیلن تولید شده توسط سویه‌های بومی و غیر بومی از وسپیریلوم

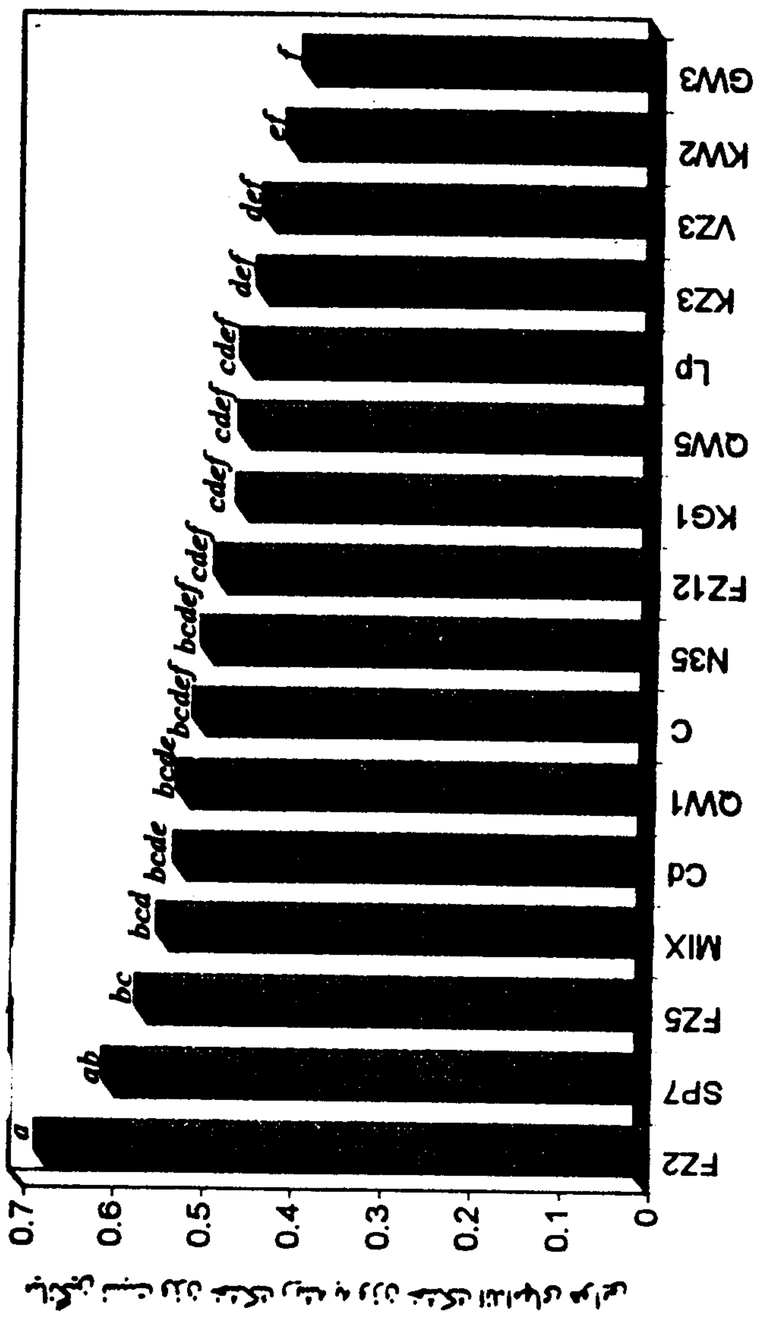


شکل ۳ - اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک اندامهای هوایی گندم
(C.V.= ۱۷/۴)



شکل ۲ - اثر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته گندم
(C.V.= ۱۲/۴)

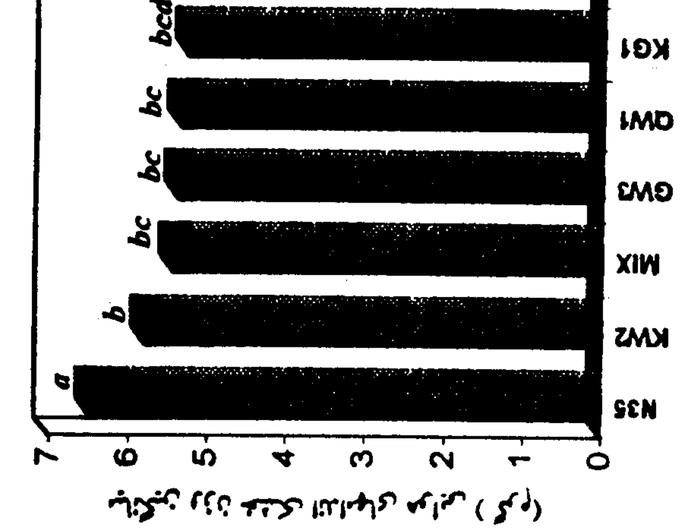
شکل ۴ - اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشه گندم
(C.V.= ۳۲/۵)



شکل ۸ - تاثیر تیمارهای مختلف بر نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندامهای هوایی ذرت

تیمار

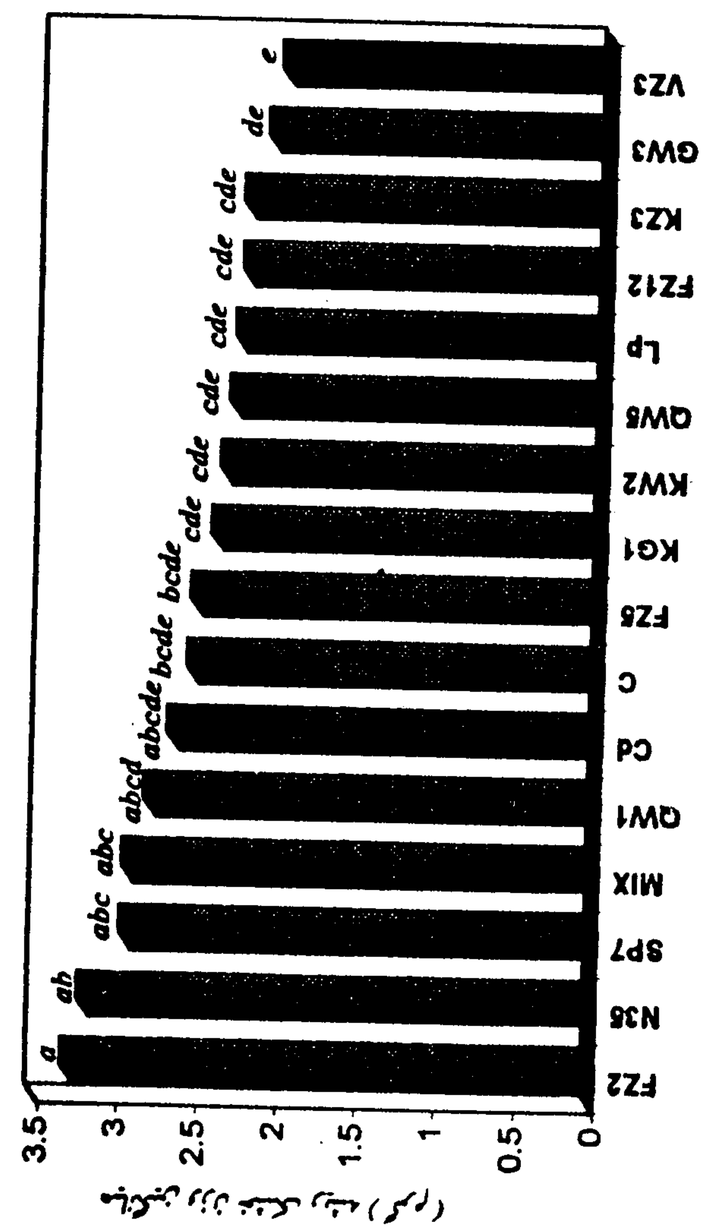
(C.V. = ۱۲/۵)



شکل ٦ - تاثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک اندامهای هوایی ذرت

تیمار

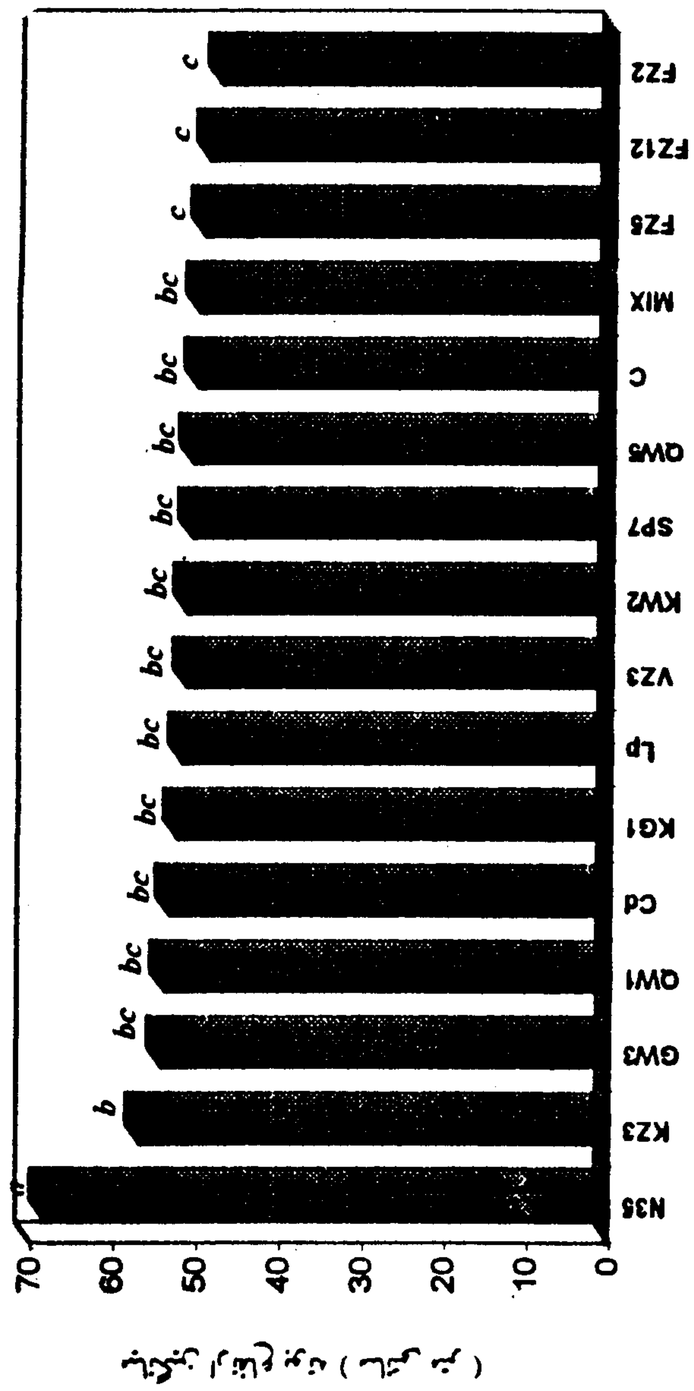
(C.V. = ۸/۸)



شکل ۷ - تاثیر تیمارهای مختلف بر وزن خشک ریشه ذرت

تیمار

(C.V. = ۱۲/۸)



شکل ۵ - تاثیر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته ذرت

تیمار

(C.V. = ۷۸)

در این بررسی نیز شاید بتوان موارد مثبت نبودن پاسخ گیاه به تلقیح را به همولوگ نبودن سویه‌های تلقیح شده نسبت داد زیرا به دلیل محدودیت شرایط کار، این آزمایش فقط بر روی یک واریته از گیاهان گندم و ذرت انجام شده است. بنابراین نمی‌توان کلیهٔ نتایج حاصل را به سایر واریته‌ها تعمیم داد و ضروری است که اثرات متقابل سویه‌های ازوسپیریلوم با واریته‌های مختلف این گیاهان مورد مطالعه قرار گیرد. در ضمن اگر شرایط کشت گلدانی اجازه دهد، بهتر است که آزمایش تا پایان مراحل رشد گیاه و رسیدن دانه‌ها، ادامه پیدا کند تا شاید نمود تاثیر تلقیح مشخص‌تر گردد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه تهران انجام گرفته است و بدین وسیله از مساعدتهای معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و دانشکده کشاورزی قدردانی می‌شود.

ازمساعدتهای بیدریغ آقای مهندس احمداحمدی مربی گروه باغبانی برای همکاری دراستفاده ازدستگاه کروماتوگرافی گازی نیز تقدیر می‌گردد.

REFERENCES

1- Atlas, R.M., A.E.Brown, K.W.Dobra & L.Miller. 1983. Experimental Microbiology. Macmillan Publishing Company,'New York: 606 PP.

2- Baldani, V.L.D., J.I.Baldani & J.Dobereiner. 1983. Effect of Azospirillum inoculation on root infection and nitrogen incorporation on wheat. Can.J.Microbiol., 29:924-929.

3- Benson, H.J. 1994. Microbiological Applications. 6th. Ed.Wm. C.Brown Publishers, U.S.A. : 355 PP.

4- Bhattarai, T. &D.Hess. 1993. Yield responses of Nepalese spring wheat cultivar to inoculation with Azospirillum spp. of Nepalese origin. Plant and Soil, 151:67-76.

5- Black. C.A., D.D.Evans,L.E.Ensminger, J.L.White & F.E.Clark (eds.)1965. Methods of Soil Analysis. part 2. American Society of Agronomy, Inc. Publisher, Madison, U.S.A. :1572 PP.

6- Boddey, R.M., V.L.D.Baldani, J.I.Baldani & J.Dobereiner. 1986. Effect of inoculation of Azospirillum spp. on nitrogen accumulation by field-grown wheat. Plant and Soil, 95:109-121.

7- Bottini, R., M.Fulchieri, D.Pearce & R.P.Pharis. 1989. Identification of Gibberellins A_1,A_3 and Iso- A_3 in cultures of Azospirillum lipoferum. Plant Physiol. 90:45-47.

8- Broughton, W.J.& S.Puhler (eds.) 1986. Nitogen Fixation, Vol 4. Clarendon Press, Oxford: 321 PP.

9- Cohen, E.,Y.Okon, J.Kigel, I.Nur & Y.Henis. 1980. Increase in dry weight and total nitrogen content in Zea mays and Setaria italica associated with nitrogen-fixing Azospirillum. Plant Physiol., 66:746-749.

10- Coninck, D.K., S.Horemans, S.Randombage & K.Vlassak. 1988. Occurrence and survival of Azospirillum spp. in temperate regions. Plant and Soil. 110:213-218.

11- Dixon, R.O.D.& C.T. Wheeler. 1986. Nitrogen Fixation in Plants. Blackie, London: 157 PP.

12- Dobereiner, J., J.M. Day & P.J. Dart. 1972. Nitrogenase activity and oxygen sensivity of the Paspalum notatum-Azotobacter paspali association. Journal of General Microbiology, 71:103-116.

13- Dobereiner, J., I.E. Marriel & M.Nery. 1976. Ecological distribution of Spirillum lipoferum Beijerinck. Can. J.Microbiol.,22:1464-1473.

14- Elmerich, C. 1986.Azospirillum. In: Broughton. W.J. and S.Puhler (eds.), Nitrogen Fixation, Vol.4, Clarendon Press, Oxford, PP. 106-126.

15- Elmerich, C.,W. Zimmer & C.Vieille. 1992. Associative Nitrogen - Fixing Bacteria. In: Stacey, G.et al. (eds.) Biological Nitrogen Fixation. Chapman and Hall, New York, PP. 212-258.

16- Fallik, E. & Y.Okon. 1988. Growth response of maize roots to Azospirillum inoculation: Effect of soil organic matter content, number of rhizosphere bacteria and timing of inoculation. Soil Biol. Biochem., 20:45-49.

17- Giller, K.E. & K.J. Wilson. 1991. Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems. C.A.B. International, UK:311 PP.

18- Hamdi, Y.A. 1982. Application of Nitrogen Fixing Systems in Soil Management. FAO Soils Bulletin, No. 49, Rome:199 PP.

19- Hardy, R.W.F., R.D.Holston , E.K.Jackson & R.C.Burns. 1986. The acetylene- ethylene assay for N_2-fixation: Laboratory and Fields Evaluation. Plant Physiol., 43:1185-1207.

20- Hartmann, A., M.Singh & W.Klingmuler. 1983. Isolation and characterization of Azospirillum mutants excreting high amounts of indole acetic acid. Can.J. Microbiol., 29:916-923.

21- Hegazi, N. A. & M.Monib. 1983. Response of maize plants to inoculation with Azospirillum and (or) straw amendement in Egypt. Can. J.Microbiol., 29:888-894.

22- Holt, J.G., N.R.Krieg, P.H.A.Sneath, J.T.Staley & S.T.Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th. Ed. Williams and Wilkins Publishers, U.S.A.: PP. 40 & 56.

23- Jain D.K. & D.G. Patriquin. 1985. Characterization of a substance produced by Azospirillum which causes branching of wheat root hairs. Can. J.Microbiol., 31:206-210.

24- Kapulnik, Y., J.Kigel, Y.Okon, I.Nur & Y.Henis. 1981. Effect of Azospirillum inoculation of some growth parameters and N-content of wheat, sorghum and panicum. Plant and Soil, 61: 65-70.

25- Kapulnik, Y., R.Gofny & Y.Okon. 1983. Effect of Azospirillum spp. inoculation on root developement and NO_3^- uptake in wheat in hydroponic Systems. Can.J. Bot., 63:627-631.

26- Krieg, N.R. & J.G.Holt. 1984. Bergey's Manual of systematic Bacteriology, Vol I, Williams and Willkins, Baltimore, PP. 94-104.

27- Lin, W., Y.Okon & R.W.F.Hardy. 1983. Enhanced mineral uptake by Zea mays and Sorghum bicolor roots inoculated with Azospirillum brasilense. Appl. Environ. Microbiol., 45: 775-779.

28- Lucia, V.L.D. & J.Dobereiner. 1980. Host- plant especificity in infection cereals with Azospirillum spp. Soil Biol. Biochem., 12: 433-436.

29- Mertens, T. & D.Hess. 1984. Yield increases in spring wheat (Triticum aestivum L.) inoculated with Azospirillum lipoferum under greenhouse and field conditions of a temperate region. Plant and Soil, 82:87-99.

30- Mortimer, P.S. et al. (eds.) 1986. The Prokaryotes. Vol I. Springer. U.S.A.: PP.804-808.

31- Nur, I., Y.Okon & Y.Henis. 1980. An increase in nitrogen content of Setaria italica and Zea mays inoculated with Azospirillum. Can. J.Microbiol., 26:482-485.

32- O'Hara, G.W., M. R.Davey & j.A.Lucas. 1981. Effect of inoculation of Zea mays with Azospirillum brasilense strains under temperate conditions. Can. J. Microbiol., 27:871-877.

33- Okon, Y., S.L. Albrecht & R.H.Burris. 1977. Methods for growing Spirillum lipoferum and for counting it in pure culture and in association with plants. Appl. Environ. Microbiol., 33: 85-88.

34- Patriquin, D.G. & J.Dobereiner. 1978. Light microscopy observation of tetrazolium reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. Can. J.Microbiol., 24: 734-742.

35- Patriquin, D.G. 1982. New Developments in Grass- Bacteria Associations. In:Subba Rao, N.S. (ed.) Advances in Agricultural Microbiology. Oxford and IBH Publishing Co, New Dehli, PP. 139-190.

36- Rai, S.N. & A.C.Gaur. 1982. Nitrogen fixation by Azospirillum spp. and effect of Azospirillum lipoferum on the yield and N-uptake of wheat crop. Plant and Soil, 69:233-238.

37- Rodriques-Caceres, E.A. 1982. Improved medium for isolation of Azospirillum spp. Appl. Environ. Microbiol., 44: 990-991.

38- Skinner, F.A., R.M.Boddey & I. Fendrik (eds.) 1989. Nitrogen Fixation with Non-Legumes. Klumer Academic Publishers , Netherlands: 336PP.

39- Umali- Garcia, M., D.H. Hubbell, M.H. Gaskins & F.B.Dazzo. 1980. Association of Azospirillum with grass roots. Appl. Environ. Microbiol., 39:219-226.

40- Vlassak, K. & L. Reynders. 1980. Association of free- living nitrogen-fixing bacteria with plant roots in temperate regions. In: Loutit. M. W. and J.A.R. Miles(eds.) Microbial Ecology. Springer- Verlag, New York.

41- Vose, P.B. & A.P. Ruschel (eds.) 1981. Associative N_2 - Fixation, Vol I. CRC Press, Florida: 215 PP.

42- Zaady, E., A. Perevolotsky & Y.Okon. 1993. Promotion of plant growth by inoculum with aggregated and single cell suspensions of Azospirillum brasilense cd. Soil Biol. Biochem., 25: 819-823.

Occurrence and Activity of Azospirillum in Some Soils of Iran

M. J. ROUSTA, N. SALEH RASTIN AND M. MAZAHERI ASSADI

Former Graduate Stident, Associate Professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, University of Tehran and Assistant Professor of Iranian Research organization for Science & Technology

Accepted, 15 April 1998

SUMMARY

Currently there is much interest in soil bacteria of the genus Azospirillum, which lives in association with important crops such as cereals. These bacteria is now used as a biofertilizer for its potential to fix dinitrogen and to produce plant growth hormones. To determine the occurrence and activity of this bacteria in some soils of IRAN, 52 root and rhizospheric soil samples of maize, wheat and some grasses were collected from four provinces(Tehran, Semnan, Fars and Qhazvin). Isolation of bacteria was carried out by selective media. Genus and species identification was performed based on microscopic examinations, acetylene reduction assay and biochemical tests. Twenty three strains were isolated and identified as Azospirillum and 10 strains that showed better growth and nitrogenase activity were selected for inoculation.In a greenhouse experiment,corn (single cross hybrid 704) and wheat (falat variety) seeds were germinated in sterile conditions and in time of planting,seedlings were inoculated with three foreign and 10 selected native strains of Azospirillum.Results obtained in this study showed that inoculation with Azospirillum mostly increased the height, shoot and root dry matter and root to shoot dry matter ratio of wheat and maize plants compared with control (uninoculated).Inoculation with Azospirillum, also enhanced the root branching and generally improved the root system. Most of the native strains had batter effects on different growth indices of inoculated plants (height, root and shoot dry matter) than foreign strains.

Key Words: Azospirillum, Dinitrogen Fixation, Biofertilizer & Native Strains