نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد چهارم، شماره اول، ۱۳۹۳
http://ejsms.gau.ac.ir

بررسی اثرات زیستی قارچ‌کش ویتاواکس R-34 بر رشد و ماندگاری باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه جنس *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم*

*علی‌اشرف سلطانی طولارود[۱]، پیمان عباس‌زاده دهجی[۲]، کاظم خاوازی[۳]، هادی اسدی رحمانی[۴] و ملک‌حسین شهریاری[۵]

[۱]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، [۲]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان، [۳]استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب، [۴]دانشیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب، [۵]استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه خلیج‌فارس بوشهر

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۱۳

چکیده

استفاده از آفت‌کش‌ها در کشاورزی می‌تواند اثرات مضری بر موجودات خاکزی داشته باشد. یک گروه مهم از این موجودات باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌باشند که می‌توانند به‌عنوان کود بیولوژیک مورد استفاده قرار گیرند. در این پژوهش جهت بررسی تأثیر قارچ‌کش ویتاواکس بر رشد و ماندگاری دو باکتری *سودوموناس پوتیدا* و *آزوسپیریلوم برزیلنس* دو آزمایش در شرایط آزمایشگاهی و گلدانی انجام شد. آزمایش اول در قالب یک طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با فاکتورهای سه سطح زمان (۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه)، مصرف و عدم مصرف قارچ‌کش در سه تکرار طراحی شد. نتایج به‌دست آمده از تیمار بذور گندم با قارچ‌کش و مایه‌تلقیح باکتری‌های مورد مطالعه نشان داد که استفاده از قارچ‌کش باعث کاهش جمعیّت باکتری‌های *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* در سطح یک درصد گردید و گذشت زمان تأثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) بر کاهش جمعیّت داشت. جمعیّت در حضور قارچ‌کش در مقایسه با عدم حضور قارچ‌کش در زمان ۱۲۰ دقیقه تقریباً ۱۰۰ برابر کاهش پیدا کرد. نتایج کشت گیاه گندم در شرایط استریل نشان داد که در حضور قارچ‌کش جمعیّت باکتری *سودوموناس* در ریزوسفر و اندوریزوسفر افزایش (به‌ترتیب تقریباً ۱۰ و ۸ برابر) ولی جمعیّت

*مسئول مکاتبه: ali_soltani_t@yahoo.com

آزوسپیریلوم کاهش (به‌ترتیب ۲/۵ و ۲/۳ برابر) یافت ولی این کاهش کمتر از کاهش جمعیّت باکتری بر روی بذر در حضور قارچ‌کش بود. نتایج بررسی پارامترهای رویشی گیاه گندم شامل وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی بیانگر عدم تأثیر معنی‌دار حضور قارچ‌کش بر کاهش رشد این گیاه بود.

واژه‌های کلیدی: *آزوسپیریلوم برزیلنس*، *سودوموناس پوتیدا*، اندوریزوسفر، ریزوسفر و گندم

مقدمه

کودهای بیولوژیک مواد نگهدارنده‌ای با انبوه متراکم یک یا چند موجود زنده مفید خاکزی و یا فرآورده‌های متابولیک این موجودات می‌باشند که صرفاً به‌منظور تأمین عناصر غذایی موردنیاز گیاه، تولید می‌شوند. نخستین کود میکروبی با نام تجارتی نیتراژین[1] (دارای باکتری‌های ریزوبیوم) حدود یک قرن پیش به بازار آمد. مایه تلقیح‌های میکروبی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه از انواع رایج و پرمصرف کودهای بیولوژیک در بخش کشاورزی می‌باشند که در چند دهه اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند (خاوازی و همکاران، ۲۰۰۵). باکتری‌های محرک رشد گیاه[2] به گروه نامتجانسی از باکتری‌های ریزوسفری اطلاق می‌شوند که با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص موجب بهبود شاخص‌های رشد و نمو گیاه می‌گردند (بلیموو و همکاران، ۲۰۰۵). به‌طور کلی باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم مختلفی مانند تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، تولید آنزیم ACC- دآمیناز، انحلال ترکیبات نامحلول عناصر غذایی، تولید سیدروفور، تولید آنزیم کیتیناز و اشغال آشیان‌های اکولوژیک باعث افزایش رشد گیاه و میزان تولید در واحد سطح می‌شوند (عباس‌زاده و همکاران، ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰؛ گلیک و همکاران، ۱۹۸۹؛ لمبرچت و همکاران، ۲۰۰۰).

در بیشتر گونه‌های گیاهی به‌منظور جلوگیری از پوسیدگی و آفت‌زدگی بذر در خاک آن‌ها را با یکسری عوامل شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیک تیمار می‌کنند. یکی از رایج‌ترین سمومی که در بخش کشاورزی استفاده می‌گردد، انواع قارچ‌کش‌ها می‌باشد. در دهه ۱۹۷۰ اولین قارچ‌کش‌های سیستمیک برای تیمار بذر جهت کنترل پاتوژن‌های خاکزاد یا موجود در هوا معرفی شدند. گروه‌های پیشرفته و

1- Nitragin
2- Plant growth promoting rhizobacteria

جدیدی از این سموم شیمیایی در دهه ۱۹۹۰ به بازار عرضه گردیدند (ایونس و همکاران، ۱۹۸۹). تیمار کردن دانه حبوبات با قارچ‌کش‌ها، شکل‌گیری بیماری‌های دانه‌ای را در محصولات کاهش می‌دهد و دانه را از پوسیدن به‌وسیله قارچ‌های بیماری‌زا حفاظت می‌نماید. همچنین بعضی از قارچ‌کش‌های سیستمیک جوانه‌های گیاهی را از اسپورهای قارچی موجود در هوا برای هفته‌های اولیه رشد حفاظت می‌کنند (سوماسگاران و هوبن، ۱۹۹٤).

امروزه در کشاورزی به‌منظور جلوگیری از پوسیدگی و آفت‌زدگی بذرها و گیاهچه‌ها و کاهش پاتوژن‌های گیاهی به‌طور متناوب از قارچ‌کش‌ها استفاده می‌شود، اما ذکر این نکته قابل توجه است که مصرف این سموم می‌تواند تأثیرات بسیار مضری بر میکروفلور خاک داشته باشند (آیانسینا و اوسو، ۲۰۰٦). با توجه به اهمیّت موضوع، پژوهش‌های مختلفی در زمینه بررسی تأثیر قارچ‌کش‌ها بر فعالیّت و جمعیّت باکتری‌های خاکزی صورت گرفته است. کی‌بوآهن و همکاران (۲۰۰۱) بقا *ریزوبیوم سیسیری* در روی دانه‌های نخود تیمار شده با چهار قارچ‌کش تجاری Crown، Apron، Arrest و Captan را تحت شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند. آن‌ها گزارش کردند که تیمار بذور با قارچ‌کش تعداد ریزوبیوم‌های فعال را بر روی بذور کاهش می‌دهد. همچنین این پژوهش‌گران نشان دادند که تیمار بذور با قارچ‌کش Crown به‌طور معنی‌داری گره‌زایی، درصد تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و وزن خشک ریشه را کاهش داد. نتایج به‌دست آمده از پژوهش کی‌بوآهن و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که تیمار بذور با استفاده از دو قارچ‌کش Arrest و Captan نیز وزن خشک گره و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن را کاهش داد. در پژوهش‌های دیگر، پژوهش‌گران مختلفی تأثیرات منفی آفت‌کش‌ها را بر رشد و خصوصیات محرک رشدی باکتری‌های ریزوسفری بررسی کرده‌اند (وانی و همکاران، ۲۰۰۵؛ احمد و خان، ۲۰۱۰ و ۲۰۱۱). مطالعه یافته‌های پژوهشی پژوهش‌گران مختلف نشان می‌دهد که یکی از اهداف مهم بررسی تأثیر مواد شیمیایی مانند آفت‌کش‌ها بر جمعیّت ریزموجودات و فعالیّت آن‌ها، یافتن سویه‌های مقاوم به این مواد شیمیایی برای کاربرد در کشاورزی می‌باشد (احمد و خان، ۲۰۱۱).

در کاشت گیاهان زراعی به‌منظور بهبود کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی مصرف سموم شیمیایی در برخی مواقع امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. چون در صورت عدم مصرف در برخی از محصولات زراعی، این محصولات توسط آفات و بیماری‌ها به‌طور کامل از بین می‌رود. از طرف دیگر در این بخش به‌منظور کاهش اثرات مضر زیست‌محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، سعی بر جایگزینی این کودها با کودهای زیستی می‌باشد. در کشاورزی یکی از رایج‌ترین و مهم‌ترین روش‌های

مصرف کودهای زیستی تهیه شده با باکتری‌های محرک رشد، استفاده بذرمال این مواد می‌باشد (خاوازی و همکاران، ۲۰۰۵). با توجه به روش بذرمال مصرف قارچ‌کش‌ها و اثرات مخرب این ترکیبات روی باکتری‌ها، بررسی اثرات متقابل قارچ‌کش و باکتری‌های دارای صفات محرک رشدی[1] که به‌صورت تیمار به بذر اضافه می‌گردند دارای اهمیّت می‌باشد چرا که نتیجه این بررسی‌ها می‌تواند ما را به استفاده هرچه بهتر و صحیح‌تر از این باکتری‌ها و قارچ‌کش‌ها در افزایش تولید محصول در واحد سطح رهنمون سازد. در مورد اثرات متقابل باکتری‌های غیرهمزیست دارای صفات محرک رشدی (به‌طور مثال *سودوموناس‌ها*، باکتری‌های حل کننده فسفات، *تیوباسیلوس*، *ازتوباکتر* و...) با قارچ‌کش در ایران پژوهش‌های کمی انجام شده است و اطلاعات لازم در این خصوص کم می‌باشد. بنابراین هدف این پژوهش، بررسی اثرات بیوزیستی قارچ‌کش ویتاواکس (به‌دلیل کاربرد زیاد این آفت‌کش در کشاورزی) بر رشد دو باکتری محرک رشد گیاه *سودوموناس پوتیدا* و *آزوسپیریلوم برزیلنس* است. امید است این پژوهش بتواند اطلاعات مناسبی را در اختیار پژوهش‌گران داخل و خارج و همچنین بخش اجرایی کشور قرار دهد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی بذرهای گندم: ابتدا مقدار مناسب بذر یکدست شده گندم (رقم چمران) تهیه شده از مؤسسه پژوهش‌های اصلاح و تهیه نهال و بذر انتخاب گردید (بذرها عاری از قارچ‌کش بودند). بذرهای انتخابی با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۵ درصد (به‌مدت ۵ دقیقه) استریل سطحی گردیدند (صالح‌زاده و همکاران، ۲۰۰۹).

آماده‌سازی مایه تلقیح: برای تهیه مایه تلقیح دو سویه *سودوموناس پوتیدا* و *آزوسپیریلوم برزیلنس* به‌عنوان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (تهیه شده از مؤسسه پژوهش‌های خاک و آب کشور- صفات محرک رشدی آن‌ها که قبلاً اندازه‌گیری شده در جدول ۱ آورده شده است) از محیط کشت عمومی Nutrient Broth (N.B) استفاده شد. پس از گذشت مدت زمان لازم برای رشد کامل باکتری (٤٨ ساعت، جمعیّت 10^8)، به‌طور اسپتیک ۳۷۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر باکتری به‌صورت جداگانه با ۱۲۵ گرم پرلیت استریل (به‌عنوان ماده حامل[2]) مخلوط گردید. بعد از تهیه مایه تلقیح

1- PGPRs
2- Carrier

به‌منظور اطمینان از حصول به جمعیّت موردنظر، تراکم جمعیّت باکتری در مایه تلقیح تهیه شده با روش Plate Count (باشان و همکاران، ۲۰۱۱) و با استفاده از محیط کشت N.B تعیین گردید.

تیمار بذرها با قارچ‌کش: در این مرحله بذرهای استریل سطحی شده با استفاده از قارچ‌کش کربوکسین‌تیرام (ویتاواکس‌تیرام) تهیه شده از شرکت خدمات حمایتی کشاورزی به نسبت ۲ در ۱۰۰۰ تیمار گردیدند (سادات‌نوری و همکاران، ۲۰۰۸).

تیمار بذرها با مایه تلقیح: قبل از تیمار بذرها با مایه تلقیح به‌منظور ایجاد یک پوشش مناسب از باکتری، بذرهای موجود در کیسه‌های پلاستیکی هر دو تیمار، با استفاده از صمغ عربی ٤٠ درصد به نسبت ۱۵ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم (ذبیحی و همکاران، ۲۰۱۱) بذر تیمار گردیدند. بعد از این مرحله مایه تلقیح تهیه شده به نسبت ۳۰ گرم برای هر کیلوگرم بذر به کیسه‌های پلاستیکی مربوط به تیمار قارچ‌کش- باکتری و تیمار باکتری اضافه گردید. پس از آماده شدن نمونه‌ها عمل شمارش باکتری‌های موجود در روی بذر با استفاده از روش Plate Count و محیط کشت N.B در زمان‌های ۳۰، ٦۰ و ۱۲۰ دقیقه در ۳ تکرار برای هر دو تیمار انجام شد.

آزمون گلخانه‌ای: پس از اضافه کردن مایه تلقیح از هر تیمار (مایه تلقیح به تنهایی و مخلوط مایه تلقیح- قارچ‌کش) دو عدد بذر در لوله‌های دارای شن استریل شده در ۳۰ تکرار کشت گردید (این طرح در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و سی تکرار انجام شد). بعد از ۳۰ روز، از هر تیمار ٤ لوله (هر لوله دارای دو گیاه) به‌طور تصادفی انتخاب شد. دو گیاه به آرامی از لوله خارج و پس از جداسازی اندام هوایی و ریشه وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری گردید. بعد از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها در دمای ٦۵ درجه سانتی‌گراد در درون آون (٤٨ ساعت) قرار داده شدند و وزن خشک ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری گردید.

در این مرحله علاوه‌بر اندازه‌گیری فاکتورهای رویشی، جمعیّت باکتری در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه اندازه‌گیری گردید (استارز و همکاران، ۱۹۹۷). پس از جداسازی ریشه‌ها و جدا کردن کلیه ذرات شن از سطح ریشه، ۲ گرم ریشه مرطوب (مخلوط ریشه‌های ۳ تیوب) همراه با ۵ گرم گلوله شیشه‌ای و ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به‌مدت ۳۰ دقیقه به‌منظور اندازه‌گیری جمعیّت ریزوسفری شیک شدند (در ٤ تکرار و مجموعاً ۱۲ تیوب در این مرحله از آزمایش استفاده شد). به‌منظور اندازه‌گیری جمعیّت در اندوریزوسفر مخلوط ریشه‌های ۳ تیوب هر تیمار با هم مخلوط شده

و با الکل ٩٦ درصد به‌مدت ٣٠ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ١٠ درصد به‌مدت چهار دقیقه استریل سطحی گردید. بعد از این مرحله ٢ گرم از ریشه‌های استریل سطحی شده در درون لوله آزمایش دارای ٥٠ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به کمک یک میله شیشه‌ای به‌خوبی له گردید. بعد از له شدن جمعیّت باکتری در اندوریزوسفر ریشه‌ها در هر تیمار شمارش گردید (در ٤ تکرار).

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر زمان، مصرف و عدم مصرف قارچ‌کش و همچنین اثر متقابل این دو تیمار تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر جمعیّت *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* داشت (جدول ٢). در مورد هر دو باکتری *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم*، تیمار بذر با مایه تلقیح و قارچ‌کش باعث افت جمعیّت باکتری‌ها در سطح بذر گردید (جدول ٣). همچنین اختلاف معنی‌داری بین جمعیّت باکتری‌های دو تیمار در زمان‌های ٣٠، ٦٠ و ١٢٠ دقیقه وجود داشت (جدول ٣). گذشت زمان باعث کاهش جمعیّت در هر دو تیمار برای هر دو باکتری گردید که این کاهش در بذر تیمار شده با مایه تلقیح و قارچ‌کش بیشتر از بذر تیمار شده با مایه تلقیح بود. با توجه به‌این نتایج می‌توان بیان کرد که هرچه فاصله زمانی بین تیمار بذر و کاشت آن‌ها کمتر باشد راندمان مصرف مایه تلقیح افزایش پیدا می‌کند.

تغییرات جمعیّت باکتری *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه گندم در دو تیمار مایه تلقیح به تنهایی و مایه تلقیح و قارچ‌کش در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ٤). تغییرات جمعیّت باکتری‌های *آزوسپیریلوم* و *سودوموناس* در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه گندم در جدول ٥ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد در باکتری *آزوسپیریلوم* جمعیّت در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه تیمار شده با مایه تلقیح بیشتر از گیاه تیمار شده با مایه تلقیح و قارچ‌کش است و اختلاف معنی‌داری بین جمعیّت باکتری‌های دو تیمار وجود دارد. امّا در مورد باکتری *سودوموناس* نتیجه کاملاً عکس باکتری *آزوسپیریلوم* می‌باشد، به‌طوری که جمعیّت در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه تیمار شده با مایه تلقیح و قارچ‌کش خیلی بیشتر از گیاه تیمار شده با مایه تلقیح می‌باشد و اختلاف بین جمعیّت باکتری‌ها نیز معنی‌دار است (جدول ٥).

نکته قابل توجه دیگر این است که مقایسه نتایج و داده‌های قبل از کشت و بعد از کشت نشان می‌دهد که کاهش جمعیّت باکتری‌ها *آزوسپیریلوم* در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه در حضور

قارچ‌کش کمتر از کاهش جمعیّت این باکتری تلقیح شده بر روی بذر در زمان‌های مختلف قبل از کشت بود. از طرف دیگر با وجود این که اختلاف معنی‌داری بین جمعیّت باکتری‌های ریزوسفری و اندوریزوسفری هر دو باکتری وجود دارد مقایسات وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه دو تیمار نشان می‌دهد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین این خصوصیات رویشی وجود ندارد (جدول ٦). این نتایج بیانگر این است که هر چند اضافه کردن قارچ‌کش باعث کاهش فاکتورهای رویشی گیاه شده است، ولی حضور باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش این فاکتورهای رویشی و عدم اختلاف معنی‌دار با شرایط عدم حضور اقارچ‌کش شده است.

بحث

استفاده از آفت‌کش‌ها در کشاورزی می‌تواند اثرات بسیار منفی بر موجودات ریزوسفری شامل باکتری‌های محرک رشد گیاه و مکانیسم‌های زیستی آن‌ها داشته باشد (سرینیواس و همکاران، ۲۰۰۸؛ احمد و خان، ۲۰۱۰). در این پژوهش استفاده از قارچ‌کش ویتاواکس باعث کاهش جمعیّت باکتری‌های *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* بر روی بذر شد و این کاهش جمعیّت در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. پژوهش‌گران مختلفی نقش بازدارندگی قارچ‌کش‌های کاپتان، تیرام و ویتاواکس را بر رشد باکتری‌های مختلف گزارش کرده‌اند (گالوری و همکاران، ۱۹۹۱؛ رولین و همکاران، ۱۹۹۳؛ تایوو و اوسو، ۱۹۹۷؛ دانفیلد و همکاران، ۲۰۰۰). افزایش جمعیّت *سودوموناس* در ریزوسفر و اندوریزوسفر در تیماری که قارچ‌کش به آن اضافه شده بود بیانگر نقش افزایش دهنده قارچ‌کش بر رشد این باکتری دارد. تعدادی از پژوهش‌گران تأثیر آفت‌کش‌های مختلف را بر افزایش رشد ریزموجودات گزارش کرده‌اند. پل و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که ۱۵ درصد از ٥٤ آفت‌کش تست شده اثر بازدارندگی و ۱۱ درصد اثر محرک بر رشد باکتری‌های خاک داشتند. افزایش جمعیّت باکتری *سودوموناس* را درحضور قارچ‌کش را می‌توان به‌وجود مواد غذایی در این آفت‌کش نسبت داد. در بعضی موارد وجود مواد غذایی در محیط پایه آفت‌کش می‌تواند اثرات مضر آن را کاهش و رشد ریزموجودات مانند باکتری‌ها را افزایش دهد (مارتنسون، ۱۹۹۲). همچنین *سودوموناس*‌ها از جمله باکتری‌هایی هستند که توانایی استفاده از منابع مختلف کربنی را دارا هستند. برخی از گونه‌های *سودوموناس* قادر به مصرف بیش از ۱۵۰ ترکیب آلی به‌عنوان منبع کربن و انرژی هستند (تودار، ۲۰۰٤) و به‌این طریق این باکتری‌ها می‌توانند در شرایط مختلف (حضور قارچ‌کش) به حیات خود ادامه داده و حتی جمعیّت

خود را افزایش دهد. کاهش جمعیّت باکتری *آزوسپیریلوم* در اثر اضافه کردن قارچ‌کش بر روی بذر بیشتر از ریزوسفر و اندوریزوسفر بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ریزوسفر تأثیر سم روی جمعیّت باکتری‌ها را تا حد زیادی کاهش می‌دهد. تیمار مستقیم قارچ‌کش بر روی بذر می‌تواند باعث کاهش جمعیّت باکتری تیمار شده شود درحالی‌که در صورت حضور گیاه میزبان باکتری این اثر منفی قارچ‌کش تعدیل می‌گردد (کلبوآهن و همکاران، ٢٠٠١). نتایج تلقیح دو سویه باکتری به گندم نشان داد که وجود قارچ‌کش در مقایسه با عدم وجود این آفت‌کش تأثیر معنی‌داری بر کاهش پارامترهای رویشی گیاه نداشت. پژوهش‌گران گزارش کردند که استفاده از قارچ‌کش‌ها در مقدار توصیه شده بازدارندگی بسیار کمی دارند درحالی‌که مقدار زیادتر می‌تواند علاوه‌بر کاهش رشد، خصوصیات محرک رشدی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه مانند تولید اکسین و حل‌کنندگی فسفات را نیز کاهش دهد (احمد و خان، ٢٠١٢). با توجه به نتایج فوق می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از قارچ‌کش ویتاواکس با سویه‌های موردنظر نه تنها تأثیری منفی بر رشد گیاه ندارد، بلکه با توجه به‌وجود قارچ‌های بیماری‌زای مختلف در خاک در شرایط طبیعی، می‌تواند تولید محصول سالم را بهبود بخشد.

جدول ١- صفات محرک رشدی دو سویه برتر انتخاب شده از مؤسسه پژوهش‌گران خاک و آب.

نام جدایه	سیدروفور	حل‌کنندگی فسفات	حل‌کنندگی فسفات	اکسین
	هاله به کلونی		$mg.L^{-1}$	
سودوموناس پوتیدا	١/٤٧	٢/٤٠	٤٥٦	١٤/٢
آزوسپیریلوم برزیلنس	٠/٨	١/٠٣	١٢١	٤/١

جدول ٢- تجزیه واریانس تغییرات جمعیّت باکتری *سودوموناس* و *آزوسپیریلم* در زمان‌های مختلف در حضور و عدم حضور قارچ‌کش.

		میانگین مربعات	
منابع تغییر	درجه آزادی	جمعیت *سودوموناس*	جمعیت *آزوسپیریلوم*
زمان	٢	٢٥×١٠^{١٢}**	$٣/٢\times١٠^{١٠}$**
قارچ‌کش	١	١٦×١٠^{١٢}**	$١/٣\times١٠^{٧}$**
اثرات متقابل	٢	٣١×١٠^{١١}**	$٨/٣\times١٠^{١٠}$**
خطا	١٢	٥٦×١٠^{٧}	$٨/٨\times١٠^{٥}$
ضریب تغییرات		١٥/٧	١٦/٨

** معنی‌دار بودن در سطح ١ درصد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل زمان و قارچ‌کش بر جمعیّت باکتری *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم*.

باکتری	تیمار	زمان (دقیقه)		
		۳۰	٦۰	۱۲۰
سودوموناس	مایه تلقیح	$۵/۹۵\times۱۰^{۶a}$	$۱/۱۵\times۱۰^{۶c}$	$۱/۰۹\times۱۰^{۶d}$
	مایه تلقیح و قارچ‌کش	$۲/۳۸\times۱۰^{۶b}$	$۱/۱۲\times۱۰^{۵e}$	$۱/۹۵\times۱۰^{٤f}$
آزوسپیریلوم	مایه تلقیح	$۲/۱۱\times۱۰^{۵a}$	$۲/۰۰\times۱۰^{۵c}$	$۱/۹۸\times۱۰^{۵c}$
	مایه تلقیح و قارچ‌کش	$۲/۰۷\times۱۰^{۵b}$	$۱/۲۵\times۱۰^{۵d}$	$۳/۱۰\times۱۰^{۳e}$

در هر باکتری میانگین‌های دارای حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ٤- تجزیه واریانس تغییرات جمعیّت باکتری *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه گندم در دو تیمار مایه تلقیح و مایه تلقیح و قارچ‌کش.

باکتری	منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
			جمعیّت در ریزوسفر	جمعیّت در اندوریزوسفر
سودوموناس	قارچ‌کش	۱	$۹/۱\times۱۰^{۱۵**}$	$۷/٦\times۱۰^{۱٦**}$
	خطا	۳	$۱/٤\times۱۰^{۱۳}$	$۲/۵\times۱۰^{۱۳}$
	ضریب تغییرات		۱۸/۷	۱۷/۱
آزوسپیریلوم	قارچ‌کش	۱	$٤/۱\times۱۰^{۱۱**}$	$۲/٤\times۱۰^{۱٤**}$
	خطا	۳	$۱/۷\times۱۰^{۸}$	$۱/۱\times۱۰^{۱۱}$
	ضریب تغییرات		۱٤/۵	۱۳/۸

** معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر قارچ‌کش بر جمعیّت باکتری *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* در ریزوسفر و اندوریزوسفر گیاه گندم.

باکتری	تیمار	ریزوسفر	اندوریزوسفر
سودوموناس	مایه تلقیح	$۲/٤۰\times۱۰^{۷a}$	$۱/۰۱\times۱۰^{۷c}$
	مایه تلقیح و قارچ‌کش	$۲/۵۰\times۱۰^{۸b}$	$۸/۵۰\times۱۰^{۷e}$
آزوسپیریلوم	مایه تلقیح	$۱/۰۱\times۱۰^{۷a}$	$۲/۲۳\times۱۰^{۷c}$
	مایه تلقیح و قارچ‌کش	$۳/۵۸\times۱۰^{۶b}$	$۹/٦۷\times۱۰^{۶d}$

در هر تیمار باکتری و هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ٦- تأثیر تلقیح دو باکتری *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* بر پارامترهای رویشی گیاه گندم در حضور و عدم حضور قارچ‌کش.

باکتری	تیمار	وزن تر ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی
		g.tube^{-1}		mg.tube^{-1}	
سودوموناس	مایه تلقیح	۰/۷۲^{a}	۰/٦٦^{a}	۷۲^{a}	۱۰۲^{a}
	مایه تلقیح و قارچ‌کش	۰/٦۷^{a}	۰/٦٦^{a}	٦۹^{a}	۹۸^{a}
آزوسپیریلوم	مایه تلقیح	۰/۷٦^{a}	۰/٤۲^{a}	٦۲^{a}	۸۰^{a}
	مایه تلقیح و قارچ‌کش	۰/۷۳^{a}	۰/٤۰^{a}	۵۷^{a}	۷۲^{a}

در هر تیمار باکتری و هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

منابع

1.Abbas-Zadeh, P., Asadi-Rhmani, H., Saleh-Rastin, N., Khvazi, K., and Soltani, A.A. 2009. Evaluation of auxin production from fluorescent pseudomonads and their effects on canola (*Brassica napus* L.). Iran. J. Soil Water Sci. 22(2): 203-215.

2.Abbas-Zadeh, P., Saleh-Rastin, N., Asadi-Rahmani, H., Khavazi, K., Soltani, A., Shoary-Nejati, R., and Miransari, M. 2010. Plant growth-promoting activities of fluorescent pseudomonads, isolated from the Iranian soils. Acta. Physiol. Plant 32: 281–288.

3.Ahemad, M., and Khan, M.S. 2010. Influence of Selective Herbicides on Plant Growth Promoting Traits of Phosphate Solubilizing *Enterobacter asburiae* Strain PS2. Res. J. Microbiol. 5: 849-857.

4.Ahemad, M., and Khan, M.S. 2011. Assessment of plant growth promoting activities of rhizobacterium *Pseudomonas putida* under insecticide-stress. Microbiol. J. 1(2): 54-64.

5.Ahemad, M., Khan, M.S. 2012. Biotoxic impact of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate-solubilizing *Klebsiella* sp.isolated from mustard (*Brassica campestris*) rhizosphere. J. Pest. Sci. 85: 29–36.

6.Ayansina, A.D.V., and Oso, B.A. 2006. Effect of two commonly used herbicides on soil microflora at two different concentrations. African J. Biotech., 5(2): 129-132.

7.Bashan, Y., Trejo, A., and de-Bashan, L.E. 2011. Development of two culture media for mass cultivation of *Azospirillum* spp. And for production of inoculants to enhance plant growth. Biol. Fertil. Soils 47: 963–969.

8.Belimov, A.A., Hontzeas, N., Safronova, V.I., Demchinskaya, S.V., Piluzza, G., Bulitta, S., and Glick, B.R. 2005. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. czern.).Soil Biol. Biochem. 37: 241-250.

9.Dunfield, K.E., Siciliano, S.D., and Germida, J.J. 2000. The fungicide Thiram and Captan affect the phenotypic characteristics of *Rhizobium leguminosarum* strain C1 as determine by FAME and Biolog analysis. Biol. Fertile. Soils. 31: 303-309.
10.Evans, J., O'Connor, G.E., Griffith, G., and Howieson, J. 1989. Rhizobial inoculant for iprodione treated lupine seed: evaluation of an iprodin-resistant *Rhizobium lupini* .Aust. J. Agric. 29(5): 641-646.
11.Gallori, E., Casalone, E., Cloella, C.M., Daly, S., and Polsinelli, M. 1991. 1, 8 Naphthalic anhydride antidotes enhance the toxic effect of Captan and Thiram fungicides on *Azospirillum brasilense* cells. Res. Microbiol., 42: 1005-1007.
12.Glick, B.R., Butler, B.J., Mayfield, C.I., and Pastemak, J.J. 1989. Effect of transformation of *Azotobacter vinelandii* with the low copy number plasmid Prk290. Curr. Microbiol. 19: 143-146.
13.Kel-Boahen, S., Slinkard, A.E., and Walley, F.L. 2001. Rhizobial survival and nodulation of chickpea as influenced by fungicide seed treatment. Can. J. Microbiol. 47(6): 585-589.
14.Khavazi, K., Asadi-Rhmani, H., Malakouti, M.J. 2005. Necessity for the production of biofertilizers in iran. Sana publication. Tehran. Iran.
15.Lambrecht, M., Okon, Y., Broek, A.V., and Vanderleyden, J. 2000. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interaction. Tren. Microbial. 8: (7): 298-300.
16.Martensson, A.M. 1992. Effects of Agrochemical and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small seeded legumes. Soil. Biol. Biochem. 24(5): 435-445.
17.Pell, M., Stenberg, B., and Torstensson, L. 1998. Potential denitrification and nitrification tests for evaluation of pesticide effects in soil. Ambio. 1: 24-28.
18.Revellin, C., Leterme, P., and Catroux, G. 1993. Effect of some fungicide seed treatments on the survival of *Bradyrhizobium japonicum* and on the nodulation and yield of soybean [*Glycine max*. (L) Merr.]. Bio. Fertil. Soils, 16: 211-214.
19.Sadat-Noori, S.A., Mottaghi, S., and Lotfifar, O. 2008. Salinity tolerance of maize in embryo and adult stage. American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci. 3(5): 717-725.
20.Salehzade, H., Shishvan, M.I., Ghiyasi, M., Forouzin, F., and Siyahjani, A.A. 2009. Effect of Seed priming on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). Res. J. Biol. Sci. 4(5): 629-631.
21.Somasegaran, P., and Hoben, H.J. 1994. Handbook for Rhizobia. Springer-Verlag, Newyork.
22.Srinivas, T., Sridevi, M., and Mallaiah, K.V. 2008. Effect of pesticides on Rhizobium and nodulation of green gram *Vigna Radita* (L.) Wilczek. ICFAI J. Life Sci. 2: 36-44.

23.Sturz, A.V., Christie, B.R., Matheson, B.G., and Nowak, J. 1997. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. Biol. Fertil. Soils 25: 13–19.
24.Taiwo, L.B., and Oso, B.A. 1997. The influence of some pesticide on soil microbial flora in relation to changes in nutrient level, rock phosphate solubilization and P-release under laboratory conditions. Agric. Ecosystem. Environ. 65: 59-68.
25.Todar, K. 2004. Pseudomonas and its relatives. http://www.text book of bacteriology. net/pseudomonas.etc.html
26.Wani, P.A., Zaidi, A., Khan, A.A., and Khan, M.S. 2005. Effect of Phorate on Phosphate Solubilization and Indole Acetic Acid Releasing Potentials of Rhizospheric Microorganisms. Ann. Plant Prot. Sci. 13: 139-144.
27.Zabihi, H.R., Savaghebi, G.R., Khavazi, K., Ganjali, A., and Miransari, M. 2011. Pseudomonas bacteria and phosphorous fertilization, affecting wheat (*Triticum aestivum* L.) yield and P. uptake under greenhouse and field conditions. Acta. Physiol. Plant. 33: 145–152.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 4(1), 2014
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Evaluation of Vitavax ®-34 fungicide biological effects on growth and survival of plant growth promoting rhizobacteria genus *Pseudomonas* and *Azospirillum*

***A.A. Soltani Tolarod[1], P. Abbaszadeh Dahaji[2], K. Khavazi[3], H. Asadi Rahmani[4] and M.H. Shahriari[5]**

[1]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, [2]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, [3]Associate Prof., Dept. of Soil and Water Institute of Iran, [4]Associate Prof., Dept. of Soil and Water Institute of Iran, [5]Assistant Prof., Dept. of Horticalture Science, Persian Gulf University of Bushehr

Received: 02/23/2013 ; Accepted: 06/03/2013

Abstract

The use of fungicides in agriculture can have harmful effects on soil organisms. An important group of soil organisms are plant growth-promoting rhizobacteria that can be used as biofertilizer. In this research in order to evaluate the effects of Vitavax ®-34 fungicide on growth and survival of *Pseudomonas putida* and *Azospirillum brasilense,* two experiments were conducted in in vitro and pot conditions. The first test was designed in a factorial experiment based on completely randomized design with time, use and non-use of fungicide factors in three replications. Results of wheat seeds treatment with fungicide and bacterial inoculants used, revealed that the use of Vitavax ®-34 fungicide declined the population of viable *Pseudomonas putida* and *Azospirillum brasilense* on seeds of wheat and time had significant impact on the bacterial population reduction. In 120 minutes bacterial populations were reduced about 100 times in the presence of fungicide compared to its absence. Results for wheat cultivation showed that in the presence of fungicide, the rhizosphere and endorhizosphere population of *Pseudomonas putida* increased (approximately 10 and 8 times respectively) whereas, Azospirillum brasilense rhizosphere and endorhizosphere population decreased (about 2/5 and 2/3 times repectively). However, this decrease was less than the reduction of the bacterial population on seeds treated with fungicide. Evaluation of vegetative parameters of wheat indicated that the use of Vitavax ®-34 fungicide had no significant effect on plant growth.

Keywords: *Pseudomonas putida, Azospirillum brasilense,* Rhizosphere, Endorhizosphere and wheat

* Corresponding Authors; Email: ali_soltani_t@yahoo.com