نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 30، شماره 6، بهمن – اسفند 1395، ص. 1953-1941

Journal of Water and Soil
Vol. 30, No. 6, Jan.-Feb. 2017, p. 1941-1953

تأثیر قارچ‌کش کربوکسین تیرام بر روابط همیاری گونه های *آزوسپیریلوم* با گندم رقم چمران

فرهاد رجالی[1*] - اشرف اسمعیلی زاد[2]- کبری ثقفی[3]- ویدا همتی[4]

تاریخ دریافت: 1393/01/25
تاریخ پذیرش: 1395/02/19

چکیده

از مهمترین انواع باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، جنس *آزوسپیریلوم* می‌باشد. این باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلف از جمله تولید هورمون‌های محرک رشد و افزایش سطح جذب ریشه و همچنین افزایش مقاومت گیاه به بیمارگرهای خاکزی موجب افـزایش رشـد و عملکـرد گیـاه میزبان می‌گردند. با انجام یک آزمون گلخانه‌ای، تأثیر قارچ‌کش کربوکسین تیرام در دو سطح مصرف (با غلظت 2 در هزار) و عدم مصرف بر همیاری پنج گونه *آزوسپیریلوم* (*A.brasilense*، *A.lipoferum*، *A.halopraeferense*، *A.irakense*، *A.sp*) در دو فرمولاسیون مایه تلقیح پودری و مایـه تلقیح مایع، به طور جداگانه بر برخی شاخص‌های رشد گیاه گندم رقم چمران مورد بررسی قرار گرفت. اثر متقابل فرمولاسیون باکتری در قارچ‌کش اثر معنی‌داری را بر تعداد پنجه، فاصله میانگره‌ای، طول برگ پرچم، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه، وزن خشک اندام هوایی در سـطح احتمـال 1 درصد، و بر وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال 5 درصد داشته است. در تیمارهای استفاده از قارچ‌کش، فاصله میانگره‌ای و وزن خشک انـدام هـوایی تحت تأثیر به کارگیری *A. lipoferum* با فرمولاسیون پودری بیشترین درصد افزایش (به ترتیب 47/24% و 31/729%) را نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده داشتند. طول برگ پرچم و وزن دانه در خوشه در تیمار به کارگیری *A. halopraeferense* با فرمولاسیون مایع بیشترین درصد افـزایش (بـه ترتیب 265/36% و 77/619%) و تعداد دانه در خوشه و وزن تر اندام هوایی در تیمار به کارگیری *A. halopraeferense* پـودری بیشـترین درصـد افزایش (به ترتیب 21/7% و 7/48%) را نسبت به تیمار شاهد تلقیح نشده نشـان دادنـد. در مجمـوع بـه کـارگیری بـاکتری *A.lipoferum* و بـاکتری *A.halopraeferense* با هر دو فرمولاسیون پودری و مایع، سازگاری بالایی را با قارچ‌کش کربوکسین تیرام، در بروز تمامی صفات مورد مطالعه این بحث (به خصوص صفات عملکردی مهم مانند تعداد پنجه، وزن دانه در خوشه و وزن خشک اندام هوایی) از خود نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: *آزوسپیریلوم*، فرمولاسیون مایه تلقیح، قارچ‌کش کربوکسین تیرام، گندم

مقدمه

در دنیای کنونی کودهای بیولوژیک بـه عنـوان جـایگزین بـرای بخشی از کودهای شیمیایی، به منظور افزایش حاصلخیزی خـاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح شده‌اند (20). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR)[5] گروه مهمی از باکتری‌هـای آزادزی هستند که ریزوسفر را کلنیزه می‌کنند یا به عبـارت دیگـر بـا حضور در فضای اطراف ریشه اثرات مفیدی بر رشد گیاهان دارند (9). در حال حاضر در سراسـر دنیـا ایـن بـاکتری‌هـا در غالـب کودهـای بیولوژیک برای افزایش محصول مورد استفاده قـرار مـی‌گیرنـد (10). اهمیت جوامع میکروبی به دلیل نقش مهمی است که ایـن جوامـع در فرآیندهای بیولوژیکی فعال در خاک که تعیین کننده سطح تولید گیاه می‌باشند، ایفا می‌نمایند (19). باکتری به نام *آزوسپیریلوم*[6] به صورت همیاری با ریشه گیاهان خانواده غلات مثل گنـدم، نیتـروژن هـوا را تثبیت می‌کند. همچنین نقش این باکتری‌ها در توسعه سریع سیسـتم ریشه‌ای، تقویت بنیه بیشتر گیاهچه‌ها در مراحل اولیه رشـد، افـزایش درصد جوانه‌زنی، افزایش سطح سبز مزرعه، افزایش قدرت تحمل گیاه به تنش‌های محیطی غیر زنده (خشکی و شوری و ...) و عوامل زنده (بسیاری از بیماری‌های خاکزاد) و نهایتا افزایش عملکرد محصول به اثبات رسیده است (10). این باکتری در همیـاری بـا گیاهـانی ماننـد گندم، سورگوم و ذرت افزایش عملکردی حدود 10 تا 30 درصد نشان داده است که البته این افزایش عملکرد را علاوه بر تولید نیتروژن، به

۱ - ، 2، 3 و 4- به ترتیب دانشیار، کارشناس ارشد میکروبیولوژی، کارشناس ارشد زراعت و کارشناس شیمی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: f.rejali@yahoo.com
DOI: 10.22067/jsw.v30i6.33522

5- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

6- *Azospirillum*

تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه از جمله اکسین‌ها نیز نسبت داده‌اند. این باکتری‌ها سبب افزایش تعداد و طول ریشه‌های فرعی و تارهای کشنده و در نهایت افزایش سطح جذب ریشه که نتیجه آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه است می‌شوند (18).

امروزه عقیده بر این است که روابط متقابل بین ریشه گیاه و ریز موجودات خاک توسط مداخلات انسان از طریق فعالیت‌های کشاورزی و صنعتی تحت تأثیر قرار گرفته است (11). بنابراین کیفیت خاک نه تنها به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن وابسته است بلکه ارتباط بسیار نزدیکی با خصوصیات بیولوژیکی آن نیز دارد (6). کشاورزی مدرن به طور گسترده بر کاربرد وسیع مواد شیمیایی کشاورزی مانند انواع کودهای غیرآلی و آفت‌کش‌ها تکیه دارد. با وجود اهمیت آفت‌کش‌ها تأثیر آنها بر روی ارگانیزم‌های غیر هدف بسیار مورد نگرانی است، زیرا استفاده از آنها تهدیدی برای وارد شدن آنها به سیستم اکولوژیکی است (8). در این میان، قارچ‌کش‌ها نیز ممکن است تأثیر نامطلوب بر میکروفلور خاک و بالاخص انواع میکروارگانیسم‌های موجود در مایه تلقیح‌هایی بگذارد که به صورت بذرمال مورد استفاده قرار می‌گیرند. قارچ‌کش‌ها مسیرهای بیولوژی مختلفی را مورد هدف قرار می‌دهند که باعث از هم‌گسستگی عملکردهای سلولی اولیه می‌شوند و باعث بلوکه شدن بیوسنتز لیپیدهای قارچی (مانند ارگوسترول[1])، بیوسنتز پروتئین‌ها (مانند بیوسنتز توبولین[2]) یا آنزیم‌های ضروری (به عنوان مثال سیتوکروم ردوکتاز) می‌شوند (4). تحقیقات انجام شده در خصوص باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌کش‌ها بسیار محدود بوده است. در این خصوص تحقیقی انجام شده است که تأثیر قارچ‌کش‌های رایج در کشت گندم در پاکستان را بر روی 20 سویه PGPR مورد بررسی قرار داده است. نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌کش دارزول[3] رشد باکتری آگروباکتریوم سویه Ca-18 و قارچ‌کش مانکوزب[4] رشد باکتری‌های *آزوسپیریلوم* و *سودوموناس* را محدود ساخت. این در حالی بود که سایر سویه‌های مورد آزمایش به همه قارچ‌کش‌ها مقاومت نشان دادند. نتایج شمارش باکتری‌ها در محیط کشت‌هایی که با قارچ‌کش غنی شده بودند نیز مؤید نتایج قبل بود. همچنین این محقق تأثیر قارچ‌کش‌ها را بر روی بعضی از صفات مهم PGP بررسی کرد. نتایج بدین شرح بود که قارچ‌کش‌های مانکوزب، آلرت پلاس[5] و و دارزول اثرات منفی و قارچ‌کش بنلیت[6] اثر محرک رشدی بر روی سویه‌های مورد مطالعه داشتند که این تغییر راندمان فیزیولوژیکی از سویه‌ای به سویه دیگر متفاوت بود (14). برتولت و کلارک (1985) جلوگیری از گره‌زایی در باقلا را پس از استفاده از آفت‌کش‌های تریفلورالین[7] و متری بوزیم[8] گزارش کردند (3).

در حال حاضر، قارچ‌کش کربوکسین تیرام[9] پر مصرف‌ترین و رایج‌ترین قارچ‌کشی است که در ایران برای ضدعفونی بذر گندم استفاده می‌شود. قارچ‌کش کربوکسین تیرام با نام تجاری ویتاواکس تیرام[10] قارچ‌کش مختلط با طیف اثر گسترده متشکل از یک ترکیب سیستمیک (کربوکسین از گروه اکساتین‌ها) و یک ترکیب تماسی (تیرام از گروه دی‌تیوکاربامات‌ها) می‌باشد. نحوه اثر کربوکسین از طریق اختلال در تنفس سلولی است و تیرام با ایجاد اختلال عمومی در کار آنزیم‌ها اثر خود را اعمال می‌کند که استفاده از آن برای مبارزه با بیماری سیاهک آشکار و پنهان گندم امری ضروری است (7).

بنابراین با توجه به اثرات مفیدی که باکتری‌های محرک رشد گیاه و بالاخص آزوسپریلوم‌ها در تولید گندم در کشور دارند و همچنین درک بیشتر از اثرات متقابل قارچ‌کش و کودهای بیولوژیک یا مایه تلقیح‌های باکتریایی و قارچی موجود در بازار، این تحقیق طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

ابتدا به منظور تهیه خاک گلدان‌ها، نمونه‌برداری از عمق صفر تا 30 سانتی‌متری از خاک یکی از قطعات مزرعه مؤسسه تحقیقات خاک و آب که چندین سال به صورت آیش باقی مانده بوده انجام و نمونه خاک پس از هوا خشک شدن، از الک 5 میلی‌متری عبور داده شد. از خصوصیات فیزیکی خاک مورد آزمون، بافت خاک به روش هیدرومتری، از خصوصیات شیمیایی pH و EC خاک با استفاده از روش گل اشباع، پتاسیم قابل جذب گیاه با استفاده از روش استات سدیم نرمال با pH معادل 7، فسفر قابل جذب گیاه با استفاده از روش اولسن، کربن آلی خاک با استفاده از روش اکسیداسیون با دی کرومات پتاسیم و مقدار آهن، مس، منگنز و روی قابل جذب گیاه از طریق عصاره‌گیری با DTPA و قرائت با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (1) (جدول 1).

برای تهیه مایه تلقیح‌ها، پنج گونه از باکتری *آزوسپیریلوم* موجود در کلکسیون بخش تحقیقات بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب، که در تحقیقات گذشته از صفات مناسب محرک رشدی و یا تأثیرات مطلوبی بر رشد گیاه برخوردار بودند انتخاب شدند. این گونه‌ها عبارت بودند از: *A.irakense*، *A.halopraeferense*، *A.lipoferum*، *A.brasilense*، *A.sp*

1- Ergosterol
2- Tubulin
3- Darsol
4- Mancozeb
5- Alert Plus
6- Benlate
7- Trifluralin
8- Metribuzim
9- Carboxin Thiram
10- Vitavax Thiram

جدول 1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده در آزمون (عمق 30-0 سانتی‌متر)

Table 1- Some of physical and chemical properties of used soil sample in test (0-30 cm depth)

بافت Tex.	Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	OC	CCE	SP	EC ($dS\ m^{-1}$)	pH	C.E.C ($Cmol_c.kg^{-1}$)
	($mg.kg^{-1}$)						(٪)					
لوم Loam	1.02	7.88	0.46	2.16	233	7.9	0.72	8.2	32.5	1.01	7.7	13.3

باکتری‌های مورد نظر پس از بازکشت‌های متوالی در محیط کشت RC، خالص شده و برای آزمایشات بعدی به اسلنت منتقل شدند. برای تکثیر باکتری‌های خالص شده، یک لوپ آزمایشگاهی از سویه کشت داده شده بر روی پلیت، تحت شرایط استریل، به ارلن 100 میلی‌لیتری حاوی 25 میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث اضافه شد. سپس ارلن‌های فوق بر روی شیکر با سرعت 120 دور در دقیقه و دمای 28 درجه سانتی‌گراد با مدت زمان 72 ساعت قرار داده شدند. برای تعیین جمعیت آزوسپیریلوم از روش تهیه سری‌های رقت در محیط کشت RC (12) استفاده گردید. سپس از باکتری‌های مورد نظر (10^8 CFU/ml)، به منظور تهیه مایه تلقیح با فرمولاسیون مایع، از هر سوسپانسیون آماده شده، 25 میلی‌لیتر در شرایط استریل به ارلن 50 میلی‌لیتری استریل منتقل شد و 2/5 میلی‌لیتر از محلول چسباننده شامل CMC و Na-Alginate (1 گرم از هر کدام در 100 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و پس از حل شدن کامل استریل گردید) به آن اضافه گردید. برای تهیه مایه تلقیح با فرمولاسیون پودری، 18 میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با 6 گرم پرلیت استریل (به عنوان ماده حامل) مخلوط گردید. بنابراین از هر باکتری دو نوع مایه تلقیح ساخته شد که جهت تیمار بذور با آن‌ها، استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا مقدار مناسبی بذر گندم رقم چمران یک دست شده با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم (3 درصد) به مدت 6-5 دقیقه استریل سطحی شده و پس از هواخشک شدن نیمی از آن‌ها با استفاده از قارچ‌کش کربوکسین تیرام تهیه شده از شرکت خدمات حمایتی کشاورزی (با غلظت 2 در هزار) تیمار و سپس به مقدار 10 گرم در کیسه‌های پلاستیکی مربوطه منتقل شدند.

برای فرمولاسیون مایع، به نسبت 100 میلی‌لیتر برای هر 1000 گرم بذر به کیسه‌های پلاستیکی مربوط به تیمار قارچ‌کش+ باکتری و تیمار باکتری بدون قارچ‌کش اضافه گردید. در فرمولاسیون پودری، قبل از تیمار بذرها با مایه تلقیح پودری، به منظور ایجاد یک پوشش مناسب از باکتری، بذرهای موجود در کیسه‌های پلاستیکی هر دو تیمار (حاوی قارچ‌کش و فاقد قارچ‌کش)، با استفاده از صمغ عربی 40% به نسبت 15 میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم بذر تیمار گردیدند. بعد از این مرحله، مایه تلقیح تهیه شده به نسبت 30 گرم برای هر کیلوگرم بذر به کیسه‌های پلاستیکی مربوط به هر دو تیمار اضافه و پس از گذشت زمان30 دقیقه، نسبت به کاشت بذور گندم اقدام گردید.

با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی شامل دو فاکتور تلقیح باکتری (در 5 سطح تلقیح در دو نوع فرمولاسیون مایع و پودری و یک سطح عدم تلقیح) و قارچ‌کش کربوکسین تیرام (در دو سطح استفاده به میزان دو در هزار گرم و عدم استفاده) و با 4 تکرار برای هر تیمار و جمعا 96 واحد آزمایشی کاشت بذور تیمار شده انجام گرفت. به تعداد 10 بذر از هر تیمار، در گلدان‌های پلاستیکی 7 کیلوگرمی محتوی خاک تهیه شده برای آزمون، کشت شدند. پس از دو هفته تعداد 7 گیاهچه نگهداری و بقیه حذف شدند. گیاهان در گلخانه با دمای 25^{0C} تا 28^{0C} به مدت چهار ماه رشد کردند. گلدان‌ها با آب معمولی و از ماه دوم هفته‌ای یک بار با محلول غذایی هوگلند بر اساس 80% ظرفیت مزرعه آبیاری شدند، و تنها یک بار از کود اوره به میزان 0/14 گرم به ازاء هر گلدان در مرحله ظهور سنبله‌ها استفاده به عمل آمد.

اندازه‌گیری اجزاء عملکردی گیاه شامل تعداد پنجه، طول خوشه، ارتفاع بوته، طول برگ پرچم، فاصله میانگره‌ای و تعداد خوشه در متر مربع در زمان رسیدگی فیزیولوژیک گندم یعنی 5 ماه پس از کاشت انجام شد. همچنین با گذشت چهار ماه از شروع آزمایش و با رسیدن کامل گیاهان گندم، بوته‌ها از سطح خاک قطع و وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه و وزن هزار دانه اندازه‌گیری شد.

داده‌ها با نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شده و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید. همچنین مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون Tukey انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمون در جدول شماره 1 آورده شده است. با توجه به جدول تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده (جدول 2)، مشاهده شد که استفاده از فرمولاسیون‌های مایع و پودری گونه‌های مختلف باکتری‌های *آزوسپیریلوم* از 11 صفت بررسی شده، 8 صفت وزن دانه در خوشه

($p< 0.05$) و تعداد پنجه، طول ساقه، طول خوشه، فاصله میانگره‌ای، طول برگ پرچم، تعداد خوشه در متر مربع، وزن دانه در خوشه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی ($p<0.01$) را معنی‌دار کرد. اثر مستقل قارچ‌کش نیز تنها دو صفت تعداد دانه در خوشه و وزن دانه در خوشه را ($p< 0.01$) تحت تأثیر قرار داد و بر وزن خشک و تر اندام هوایی گیاه و سایر صفات تأثیر معنی‌داری را در برنداشت.

اثر متقابل فرمولاسیون باکتری در قارچ‌کش نیز تعداد پنجه، فاصله میانگره‌ای، طول برگ پرچم، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه و وزن خشک اندام هوایی ($p< 0.01$) و وزن تر اندام هوایی ($p< 0.05$) را معنی‌دار نمود و بر طول ساقه، طول خوشه، تعداد خوشه در متر مربع، و وزن هزار دانه تأثیر معنی‌داری نداشت. با توجه به هدف در نظر گرفته شده برای این پژوهش از بین منابع تغیرات، اثر متقابل فرمولاسیون باکتری در قارچ‌کش از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و سعی می‌شود تجزیه و تحلیل اطلاعات به دست آمده بیشتر پیرامون این بخش صورت گیرد.

از لحاظ صفت تعداد پنجه، بر اساس جدول مقایسه میانگین اثر اصلی فرمولاسیون باکتری در صفات مورد بررسی در آزمایش گلخانه‌ای (جدول 3) بیشترین مقدار در تیمارهای شاهد بدون تلقیح و *A.lipoferum* با فرمولاسیون پودری، و کمترین مقدار در تیمار *A.brasilense* با هر دو فرمولاسیون پودری و مایع مشاهده گردید. با مشاهده جدول مقایسه میانگین اثر متقابل فرمولاسیون باکتری در قارچ‌کش در صفات مورد بررسی در آزمایش گلخانه‌ای (جدول 5)، تعداد پنجه در تیمار *A.lipoferum* با فرمولاسیون پودری در حضور قارچ‌کش، تیمار شاهد بدون تلقیح در حضور قارچ‌کش و تیمار شاهد بدون تلقیح در عدم حضور قارچ‌کش (هر سه با میزان عددی 11/25) از بیشترین مقدار و در تیمار *A.brasilense* با فرمولاسیون پودری درحضور قارچ‌کش به تعداد 4 عدد، از کمترین میزان برخوردار گردید که نشان دهنده سازگاری بهتر *A.lipoferum* نسبت به *A.brasilense* با قارچ‌کش کربوکسین تیرام است. همچنین مشخص شد که در تیمارهای به کارگیری *A.lipoferum*، *A.halopraeferense*، *A.irakense* در فرم پودری و *A.irakense* و *A.sp* در فرم مایع در حضور قارچ‌کش، در مقایسه با تیمارهای مشابه ولی در عدم حضور قارچ‌کش تعداد پنجه افزایش داشته است که این امر نشانگر عملکرد مثبت‌تر این تیمارها در بروز این صفت در صورت استفاده از قارچ‌کش کربوکسین تیرام است.

در رابطه با صفت فاصله میانگره‌ای، بر اساس اطلاعات جدول 3، بیشترین مقدار در تیمارهای *A. halopraeferense* با هر دو فرمولاسیون پودری و مایع و در تیمارهای *A.irakense* و *A.sp* به فرم مایع، و کمترین مقدار در تیمار *A.brasilense* پودری مشاهده شد. بر اساس اطلاعات جدول 5، بیشترین مقدار در بروز این صفت در تیمار *A.lipoferum* به فرم پودری و سطح استفاده از قارچ‌کش با مقدار عددی 15/06 و کمترین آن در تیمار *A.brasilense* پودری در سطح استفاده از قارچ‌کش با مقدار عددی 9/08 مشاهده گردید که این امر نشانگر برتری گونه *A.lipoferum* نسبت به *A.brasilense* در سازگاری با کربوکسین تیرام و در رابطه با این صفت است. همچنین مشخص شد که در تیمارهای به‌کارگیری *A.lipoferum*، *A.halopraeferense*، *A.irakense* و *A.brasilense* در فرم پودری و *A.lipoferum* و *A.brasilense* در فرم مایع در حضور قارچ‌کش، در مقایسه با تیمارهای مشابه ولی در عدم حضور قارچ‌کش فاصله میانگره‌ای افزایش داشته است (جدول 5).

طول برگ پرچم تحت استفاده از تیمار *A.sp* به فرم مایع، از بیشترین و در تیمار شاهد بدون تلقیح از کمترین مقدار خود برخوردار گردید (جدول 3). بر اساس نتایج حاصله از جدول (5) بیشترین مقدار در بروز این صفت در تیمار *A.sp* به فرم مایع و سطح عدم استفاده از کربوکسین تیرام با مقدار عددی 21/15 و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بدون تلقیح در همین سطح با مقدار عددی 13/56 می‌باشد. در تیمارهایی که کربوکسین تیرام استفاده شده بود تیمار *A.sp* به فرم پودری، از نظر مقدار کمترین و تیمار *A.halopraeferense* مایع بیشترین مقدار و در نتیجه بیشترین سازگاری را با کربوکسین تیرام برای این صفت از خود نشان داد. همچنین مشخص شد که در تیمارهای به کارگیری *A.lipoferum*، *A.halopraeferense* و *A.brasilense* در فرم پودریشان و *A.lipoferum*، *A.halopraeferense*، *A.irakense* و *A.brasilense* در فرم مایع و شاهد بدون تلقیح در حضور قارچ‌کش، در مقایسه با تیمارهای مشابه ولی در عدم حضور قارچ‌کش طول برگ پرچم افزایش داشته است (جدول 5).

صفت تعداد دانه در خوشه، در تیمار *A.halopraeferense* با فرمولاسیون مایع بیشترین و در تیمارهای *A.irakense* پودری، *A.sp* پودری و شاهد کمترین مقدار را دارا شد. بر اساس اطلاعات جدول 5، مشخص شد که بیشترین تعداد دانه در خوشه در سطح بدون قارچ‌کش در تیمار *A.halopraeferense* با فرمولاسیون مایع و به مقدار 33/25 و کمترین آن در تیمارهای شاهد با مقدار عددی 15/5 و در تیمار *A.sp* به فرم پودری با مقدار عددی 16 و هر دو با استفاده از قارچ‌کش به دست آمد. همچنین مشخص شد که در تیمارهای به کارگیری *A.halopraeferense* و *A.brasilense* در فرم پودری و *A.lipoferum* در فرم مایع در حضور قارچ‌کش، در مقایسه با تیمارهای مشابه ولی در عدم حضور قارچ‌کش تعداد دانه در خوشه افزایش داشته است (جدول 5).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش گلخانه‌ای
Table 2- ANOVA table of measured traits in greenhouse test

		میانگین مربعات (MSE)										
S.O.V	d.f	تعداد پنجه/گلدان No. of Tillers/pot	طول ساقه Plant Height	طول خوشه Spike Length	فاصله میانگره Node interface	طول پرچم Flag Length	تعداد خوشه/مترمربع No. of Spike/m^2	تعداد دانه/خوشه No. of grain/spike	وزن دانه/خوشه Grain weight /spike	وزن هزاردانه 1000 grain weight	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight
فرمولاسیون مایه تلقیح باکتری Bacteria Inoculants Formulation	10	20.381**	58.398**	1.36^{ns}	17.39**	10.688**	7838.162**	39.245^{ns}	0.074*	21.735^{ns}	18.522**	14.671**
قارچ کش Fungicide	1	5.011^{ns}	0.172^{ns}	1.595^{ns}	0.032^{ns}	4.906^{ns}	3134.966^{ns}	336.181**	0.319**	19.311^{ns}	0.41^{ns}	3.311^{ns}
فرمولاسیون مایه تلقیح باکتری* قارچ کش Bacteria Inoculants Formulation*Fungicide	10	11.736**	30.443^{ns}	1.747^{ns}	3.747**	14.733**	4423.005^{ns}	87.881**	0.088**	21.185^{ns}	15.254*	7.632**
Error	66	2.791	16.287	1.6	0.98	3.637	2627.308	29.25	0.033	12.733	6.903	2.444
C.V (%)		18.923	8.68	13.987	7.581	11.702	17.36	22.556	22.494	9.947	13.428	11.51

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و ns معنی دار نیست

* and * *: significant at the 5% and 1% level of probability, respectively and ns: non significant

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر اصلی فرمولاسیون باکتری در صفات مورد بررسی در آزمایش گلخانه‌ای

Table 3- Average comparison of bacteria formulation with measured traits in greenhouse test

تیمار فرمولاسیون مایه تلقیح باکتری Bacterial Inoculants Formulations	تعداد پنجه No. of Tillers.pot	طول ساقه Plant Height	طول خوشه Spike Length	فاصله میانگره Node interface	طول پرچم Flag Length	تعداد خوشه در متر مربع No. of Spike.m^2	تعداد دانه در خوشه No. of grain.spike	وزن دانه در خوشه Grain weight.spike	وزن هزاردانه 1000 grain weight	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight
	(cm)							(g)			
A.brasilense powdery	6.25e	46.775ab	8.931a	8.943c	16.093ab	274.68bc	23.875ab	0.766b	35.392ac	17.631bc	12.361ce
A.brasilense liquid	6.625de	44.244bc	10.118a	13.062ab	16.293ab	222.92c	24.25ab	0.798b	35.392ac	17.359c	11.052e
powdery *A.halopraeferense*	8.125cd	49.525a	8.887ab	14.006a	16.481ab	314.49ab	25.5ab	0.869b	38.14ab	21.715a	14.247ab
A.halopraeferense liquid	8.375cd	48.094ab	8.675ab	13.962a	17.393ab	283.35ab	29.375a	1.072a	38.951a	20.649ab	14.698ab
A.irakense powdery	8.625c	48.069ab	8.975ab	13.993a	15.5bc	309.26ab	22.75b	0.785b	35.392ac	19.524ac	14.11ab
A.irakense liquid	9.125c	47.106ab	9.081ab	3.55ab	16.552ab	294.58ab	23.25ab	0.839b	35.682ac	20.083ac	14.462ab
A.lipoferum powdery	11.125ab	48.006ab	9.131ab	13.593ab	16.7ab	342.35a	23.25ab	0.77b	33.491c	20.385ab	15.218a
A.lipoferum liquid	10ac	47.713ab	9.3ab	13.337ab	16.906ab	314.49ab	23.75ab	0.83b	35.228ac	40.438ab	14.626ab
A.sp powdery	8.25cd	43.944bc	8.55b	12.625ab	15.337bc	274.68ab	22.75b	0.769b	37.415ac	17.119c	11.746ed
A.sp liquid	9.375bc	47.856ab	9.006ab	14.112a	18.218a	302.54ab	24.625ab	0.785b	34.105bc	20.581ab	13.955ac
Blank	11.25a	40.081c	8.825ab	13.5b	13.8c	314.49ab	20.375ab	0.692b	35.392ac	19.741ac	12.927bd

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) و ($P<0.01$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P<0.01$) , ($P<0.05$)

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر اصلی قارچ کش در صفات مورد بررسی در آزمایش گلخانه‌ای
Table 4- Average comparison of fungicide effect with measured traits in greenhouse test

سطوح قارچ‌کش Fungicide Levels	تعداد پنجه No. of Tillers Pot	طول ساقه Plant Height	طول خوشه Spike Length	فاصله میانگره Node interface	طول پرچم Flag Length	تعداد خوشه در متر مربع No. of Spike.m^2	تعداد دانه در خوشه No. of grain.spike	وزن دانه در خوشه Grain weight.spike	وزن هزار دانه 1000 grain weight	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight
		(cm)							(g)		
با قارچ کش Fungicide-applied	9.068a	46.447a	9.178a	13.081a	16.534a	301.22a	25.932a	0.876a	36.339a	19.634a	13.776a
بدون قارچ کش Fungicide- nonapplied	8.59a	46.536a	8.909a	13.043a	16.061a	289.29a	22.023b	0.756b	35.402a	19.497a	13.388a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ($P<0.05$) و ($P<0.01$) نمی‌باشند
Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P<0.01$) , ($P<0.05$)

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل فرمولاسیون باکتری در قارچ‌کش در صفات مورد بررسی در آزمایش گلخانه‌ای

Table 5- Average comparison of interaction between bacteria and fungicide with measured traits in greenhouse test

Fungicide treatment تیمار قارچ-کش	تیمار مایه تلقیح باکتری Bacterial Inoculants Formulations	تعداد پنجه No. of Tillers.pot	طول ساقه Plant Height	طول خوشه Spike Length	فاصله میانگره Node interface	طول پرچم Flag Length	تعداد خوشه در متر مربع No. of Spike.m^2	تعداد دانه در خوشه No. of grain.spike	وزن دانه در خوشه Grain weight.spike	وزن هزاردانه 1000 grain weight	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight
				(cm)						(g)		
با قارچ‌کش Fungicide-applied	*A.brasilense* powdery	4e	47.275	9.062	9.087g	17.075be	238.847	26ad	0.825bf	35.392	16.985bc	11.972df
	A.brasilense liquid	4.5e	44.212	8.912	13.687ae	17.387bc	238.847	22.5bf	0.68cf	35.392	17.03bc	11.067ef
	powdery *A.halopraeferense*	8.25bd	49.787	9.062	13.65ae	17.212bd	310.505	29.5ab	0.891ad	36.742	22.27a	14.747ac
	A.halopraeferense liquid	8cd	46.687	8.05	13.437ae	19.125ab	264.157	25.5ad	1ab	39.247	31.02ab	13.147ce
	A.irakense powdery	9.75ad	48.312	9.262	14.55ac	14.937cf	318.467	20.75bf	0.755bf	35.392	20.637ab	14.937ac
	A.irakense liquid	10.75ac	45.712	9.187	13.137bf	17.462bc	318.467	19.5df	0.686cf	35.972	2.217a	15.017ac
	A.lipoferum powdery	11.25a	50.475	9.487	15.062a	17.675bc	326.43	21.75bf	0.83bf	36.725	20.285ab	15.847ab
	A.lipoferum liquid	9.5ad	47.937	9.287	13.425ae	17.725bc	334.39	25.25ad	0.913ad	38.425	21.507ab	15.265ac
	A.sp powdery	7.25d	39.875	8.262	11.712f	13.95ef	278.655	16ef	0.597ef	37.377	14.387c	9.645f
	A.sp liquid	10ad	48.237	8.575	13.625ae	15.287cf	350.31	20cf	0.57f	33.675	18.915ab	13.595ae
	Blank	11.25a	43.387	8.85	12.1ef	14.037df	334.39	15.5f	0.563f	35.392	20.72ab	12.03df
بدون قارچ‌کش Fungicide-nonapplied	*A.brasilense* powdery	8.5ad	46.275	8.8	8.8g	15.112cf	310.507	21.75bf	0.706bf	35.392	18.277ac	12.75ce
	A.brasilense liquid	8.75ad	44.275	11.325	12.437df	15.2cf	207	26ad	0.916ad	35.392	17.688bc	11.037ef
	powdery *A.halopraeferense*	8cd	49.262	8.712	14.362ac	15.75cf	318.467	21.5bf	0.847af	39.537	21.16ab	13.747ad
	A.halopraeferense liquid	8.75ad	49.5	9.3	14.487ac	15.662cf	302.542	33.25a	1.144a	38.655	20.277ab	16.25a
	A.irakense powdery	7.5d	47.825	8.687	13.437ae	16.062bf	300.042	24.75ae	0.815bf	35.392	18.41ac	13.282be
	A.irakense liquid	7.5d	48.5	8.975	13.962ad	15.642cf	270.692	27ad	0.992ac	35.391	17.947ac	13.907ad
	A.lipoferum powdery	11ab	45.537	8.775	12.125ef	15.725cf	358.275	24.75ae	0.709bf	28.557	20.485ab	14.59ad
	A.lipoferum liquid	10.05ac	47.487	9.312	13.25bf	16.087bf	294.582	22.25bf	0.746bf	33.73	19.367ab	13.987ad
	A.sp powdery	9.25ad	48.012	8.837	13.537ae	16.725bf	270.695	29.5ab	0.941ad	37.452	19.85ab	13.847ad
	A.sp liquid	8.75ad	47.475	9.437	14.6ab	21.15a	254.772	29.25ac	1ab	34.535	22.247a	14.315ad
	Blank	11.25a	36.775	8.8	12.9cf	13.562f	294.58	25.25ad	0.822bf	35.392	18.762ab	13.825ad

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) و ($P<0.01$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P<0.01$) , ($P<0.05$)

بـر اسـاس اطلاعـات جـدول 3، وزن دانـه در خوشـه در تیمـار *A.halopraeferense* به فرم مایع از اولین رتبه و در بقیه تیمارها از دومین رتبه به طور یکسـان برخـوردار گردیـد. همچنـین بـر اسـاس اطلاعات جدول 5، تیمـار *A.halopraeferense* بـا فـرم مـایع و در سطح عدم استفاده از قارچ‌کش، وزن دانه در خوشـه را بـه بیشـترین مقدار یعنی 1/14 و تیمار شاهد در استفاده از قارچ‌کش این مقدار را به کمترین میزان عددی یعنی 0/563 رسانید. همچنین مشخص شد که در تیمارهای بـه‌کـارگیری *A.lipoferum*، *A.halopraeferense*، و *A.brasilense* در فرم پودریشان و *A.lipoferum* در فـرم مـایع در حضور قارچ‌کش، در مقایسه با تیمارهای مشابه ولی در عـدم حضـور قارچ‌کش، وزن دانه در خوشه افزایش داشته است (جدول 5).

بالاترین وزن تر اندام هوایی در تیمار *A.halopraeferense* بـه فرم پودری و پایین‌ترین مقدار نیز در تیمـار اسـتفاده از فـرم پـودری *A.sp* به دست آمد (جدول 3). بر اساس اطلاعات جدول 5، بالاترین وزن تـر انـدام هـوایی، در سـه تیمـار *A.halopraeferense* بـا فرمولاسـیون پـودری و بـا اسـتفاده از قـارچ‌کـش (22/27 گـرم)، *A.irakense* با فرمولاسیون مایع و با استفاده از قارچ‌کش (22/217 گرم) و تیمار *A.sp* به فرم مایع و سطح عـدم اسـتفاده از قـارچ‌کـش (22/247 گرم) مشاهده شد. کمترین وزن تر اندام هوایی نیز در سطح استفاده از قارچ‌کش در تیمار *A.sp* به فرم پودری (14/387 گرم) بـه دست آمد که نشان می‌دهد که در صورت استفاده از کربوکسین تیرام، تیمار *A.sp* تیمار مناسبی در رابطه با وزن تر اندام هوایی نمی‌باشد، در صـورتی کـه تیمارهـای *A.halopraeferense* و *A.irakense* سازگارترین تیمارها با قارچ‌کش کربوکسین تیرام در بروز این صـفت هسـتند. همچنـین مشـخص شـد کـه در تیمارهـای بـه کـارگیری *A.halopraeferense*، *A.irakense* بـه فـرم پودریشـان و *A.halopraeferense*، *A.irakense* و *A.lipoferum* به فرم مـایع آن‌ها و همچنین در تیمار شاهد بدون تلقیح در حضور قارچ‌کـش، در مقایسه با تیمارهای مشابه ولی در عدم حضور قارچ‌کش، وزن تر اندام هوایی افزایش داشته است (جدول 5).

طبق نتایج جدول 3، بیشترین وزن خشک اندام هوایی در تیمـار *A.lipoferum* با فرمولاسـیون پـودری و کمتـرین مقـدار در تیمـار *A.brasilense* به فرم مایع مشاهده شد. با استفاده از اطلاعات جدول 5، مشاهده می شود که کمترین وزن خشک انـدام هـوایی در تیمـار *A.sp* به فرم پودری و در حضور قارچ‌کش (9/645 گرم) و بیشـترین مقدار در تیمار *A. halopraeferense* با فرمولاسیون مایع و در عدم حضور قارچ‌کش، با میزان عددی 16/25 گرم به دست آمد. لـیکن در صورت استفاده از قارچ‌کش این مقدار با 3 گرم کاهش در وزن خشک اندام هوایی، به 13/147 گرم تقلیل یافت که نشان دهنده حساسـیت این فرمولاسیون باکتری به قارچ‌کش کربوکسین تیرام مـی‌باشـد. از طرفی، دومین رتبه وزن خشـک انـدام هـوایی، در تیمـار اسـتفاده از *A.lipoferum* با فرمولاسیون پودری ولی در حضور قارچ‌کش یعنـی 15/847 گرم به دست آمد، که این عدد حدود 1 گرم بیشتر از موقعی است که این تیمار را در عدم حضور قارچ‌کش استفاده کردیم (14/59 گرم). این نشان می‌دهد که فرمولاسیون پودری باکتری حاوی گونـه *A.lipoferum* سازگاری بسیار خوبی با قارچ‌کش کربوکسـین تیـرام داشته و استفاده از این فرمولاسـیون در حضـور قـارچ‌کـش از لحـاظ صفت وزن خشک انـدام هـوایی قابـل توصـیه مـی‌باشـد. همچنـین مشخص شد که در تیمارهای بـه کـارگیری *A.halopraeferense*، *A.irakense* و *A.lipoferum* به فرم پودریشان و نیز بـه کـارگیری تیمارهای *A.irakense*، *A.lipoferum* و *A.brasilense* به فرم مایع آن‌ها در حضور قارچ‌کش، در مقایسه با تیمارهای مشابه ولی در عدم حضور قارچ‌کش، وزن خشک اندام هوایی افزایش داشته است (جدول 5).

دلیل افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه گندم در برخی از تیمارهای باکتریایی را می‌توان ناشی از دو علت دانست. یکی تأثیری که قارچ‌کش بر کنترل عوامل بیماری‌زایی خاکزی داشته و باعث شده است تا تأثیر گونه‌هایی از بـاکتری *آزوسـپیریلوم* کـه بـا قـارچ‌کـش سازگاری بیشتری دارند بتوانند تأثیر خود را به نحو مؤثری در افزایش رشد و عملکرد گیاه گندم اعمال نمایند. عامل دیگر خصوصیت خـود قارچ‌کـش کربوکسـین‌تیـرام بـه عنـوان یـک قـارچ‌کـش تماسـی–سیستمیک است که به دلیل اینکه وارد پیکره گیاه می‌شود به احتمال زیاد با تأثیر بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه گندم رشد و عملکـرد را تحت تأثیر خود قرار داده است. با توجه به نتایج و با درنظـر گـرفتن هدف این تحقیق که بررسی تأثیر منفی یا عدم تأثیر منفی قارچ‌کش بر کارایی باکتری‌های به کار رفته در مایه تلقیح مـی‌باشـد مشـاهده می‌شود که در برخی مـوارد حتـی قـارچ‌کـش توانسـته اسـت باعـث بیشترین کارایی باکتری به کار رفته در مایه تلقیح گردد، بـه عنـوان مثال باکتری *A.lipoferum* در فـرم پـودری در حضـور قـارچ‌کـش توانست تعداد پنجه، طول ساقه و فاصله میانگره‌ای را به طور معنی-داری به بیشترین مقدار افزایش دهند.

همچنین با یک مقایسه عددی بین تیمارهای مشابه در حضور و عدم حضور قارچ‌کش مشاهده می‌شود که حضور قارچ‌کش اگرچه کـه تمامی صفات را در مقایسه با همـان تیمـار مشـابه در عـدم حضـور قارچ‌کش، افزایش نداده است لیکن تأثیر منفی معنی‌داری را در نیز در برنداشته است و حتی در بسیاری از موارد نیز باکتری را طوری تحت تأثیر قرار داده که صفت مورد مطالعـه را از میـزان عـددی بـالاتری برخوردار نموده است. همچنان که چنین موردی را در صفات وزن دانه

در خوشه و وزن هزار دانه مشاهده می‌نماییم که در اکثر تیمارها حضور قارچ‌کش افزایش عددی صفت را نسبت به تیمار مشابه و بدون قارچ‌کش در برداشته است. همچنین با توجه به جدول شماره 5، در یک بررسی مقایسه‌ای در تأثیر قارچ‌کش بر روی اثر باکتری بر کمیت صفات مورد مطالعه در هر دو فرمولاسیون مایع و پودری مشاهده می‌شود که حضور قارچ‌کش در یک باکتری کمیت صفات را در فرمولاسیون پودری و برخی دیگر را با فرمولاسیون مایع افزایش داده است به عنوان مثال حضور قارچ‌کش توانسته است در *A.brasilense* در فرم پودری، صفات طول ساقه، طول خوشه، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه را نسبت به تیمار مشابه و در عدم حضور قارچ‌کش افزایش و در فرم مایع کمیت همان صفات را کاهش دهد، همچنین بتواند فاصله میانگره‌ای و طول برگ پرچم را در هر دو فرمولاسیون افزایش، و یا تعداد خوشه در متر مربع و وزن خشک اندام هوایی را در فرم مایع افزایش و در فرم پودری کاهش داده و وزن هزار دانه را در هر دو فرمولاسیون بدون تغییر نسبت به تیمار مشابه و بدون استفاده از قارچ‌کش باقی بگذارد.

این تأثیرات را تا حدودی می توان به متفاوت بودن خصوصیات فیزیولوژیکی گونه‌های مختلف باکتری‌های *آزوسپریلوم* و حساسیت متفاوت آن‌ها در برابر قارچ‌کش کربوکسین تیرام نیز نسبت داد. موبین (14) و موبین و همکاران (15) به چنین نتایجی در تحقیقات خود اشاره کرده‌اند. مانو و همکاران (13) نیز به چنین تفاوتی در پاسخ گونه‌های مختلف *آزوسپریلوم* در برابر آکاریساید دیکوفول[1] اشاره کرده‌اند. پیوتروسکا- سگت و همکاران (2008) نیز گزارش دادند که کاربرد اکسی تتراسایکلین[2] و کاپتان[3] می‌تواند تأثیر منفی بر میکروارگانیزم‌های غیر هدف خاک و فعالیت آن‌ها داشته باشد (17). برتولت و کلارک (3) نیز عنوان نموده‌اند که تیوبنکارب[4] در سطوح 4 و 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم، از فعالیت *آزوسپیریلوم*، تثبیت‌کننده‌های بی‌هوازی نیتروژن و *ازتوباکتر* در خاک رسوبی جلوگیری کرده است.

بنابر نتایج این تحقیق گونه‌های مختلف باکتری *آزوسپریلوم* می‌توانند پاسخ‌های متفاوتی به استفاده از قارچ‌کش کربوکسین تیرام بدهند و این مطلب لزوم انجام چنین تحقیقاتی برای روشن نمودن استفاده از گونه‌های کارآمد باکتری‌های محرک رشد در شرایط مختلف را نشان می‌دهد.

در بررسی کلی در مورد تأثیر باکتری‌های استفاده شده در این تحقیق بر روی صفات عملکردی مهم مانند تعداد پنجه، وزن دانه در خوشه، وزن خشک اندام هوایی به عنوان جمع‌بندی کل می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که باکتری *A.lipoferum* با فرمولاسیون پودری بیشترین سازگاری را با قارچ‌کش کربوکسین تیرام در بروز این صفات از خود نمایان ساخته است، که این را میتوان به نوعی به وجود خلل و فرج موجود در در ماده پرلیت به عنوان ماده حامل در مایه تلقیح باکتریایی و در نتیجه افزایش قابلیت نگهداری باکتری بر سطح بذر و نیز حفاظت فیزیکی باکتری در برابر قارچ‌کش نسبت داد. لذا استفاده از *A.lipoferum* با فرمولاسیون پودری در هنگام استفاده از قارچ‌کش کربوکسین تیرام قابل توصیه می‌باشد. همچنین باکتری *A.halopraeferense*، با فرمولاسیون پودری در حضور قارچ‌کش، و باکتری *A.lipoferum* (در برخی صفات با هر دو فرمولاسیون‌های پودری و مایع و در برخی با فرمولاسیون پودری و یا با فرمولاسیون مایع) این کارایی را داشتند که در تمام صفات مورد مطالعه، میزان عددی صفات را نسبت به استفاده آن در عدم حضور قارچ‌کش، افزایش دهند. همچنین باکتری *A.irakense* نیز در اکثر صفات مورد مطالعه همین نتیجه را در برداشت که این خود دلیلی برای ارجحیت استفاده همزمان این سویه‌ها با قارچ‌کش کربوکسین تیرام می‌باشد. اگرچه برای تأئید این نتایج تکرار آزمون‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای با مقادیر مختلف قارچ‌کش کربوکسین‌تیرام ضروری می‌باشد.

منابع

1- Ali Ehyayee M., and Behbahani Zadeh A. 1994. Description of soil chemical analysis methods. Soil and Water Research Institute. Vol. 893. 128p. (in Persian)

2- Bashan Y., Harrison K. and Witimoyer R. E. 1990. Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with *Azospirillum brasilense* of mineral uptake. Applied and Environmental Microbiology. 56: 769-775.

3- Bertholet J., and Clark W. 1985. Effect of trifluralin and metribuzin on faba bean growth, development and symbiotic nitrogen fixation. Canadian Journal of Plant Sciences. 65:9-20.

4- Casida J. E. 2009. Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. Chemical Research in Toxicology. 22(4): 609-619.

5- Dobereiner J., and Day J. M. 1976. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms

1- Acaricide Dicofol
2- Captan
3- Oxytetracycline
4- Thiobencarb

and dinitrogen fixing sites. In Proceedings of the First International Symposium on Nitrogen Fixation. Edited by W.E. Newton and C.J. Nyman.Washington State University Press, Pullman, Wash. pp. 518.538.
6- Ebhin Masto R., Chhonkar P. K., Singh D., and Patra A. K. 2006. Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisoil. Soil Biology and Biochemistry. 38: 1577-1582.
7- http://damoonagri.persianblog.ir
8- Kalia A, and Gupta R. P. 2004. Disruption of soil foodweb by pesticides. Indian Journal of Ecology. 31(2):85-92.
9- Kloepper J. W., Lifshitz R., and Zablotwicz R. M. 1989. Free living inocula for enhancing crop producing. Trends in Biotechnology. 7: 39-43.
10- Lucy M., Reed E., and Glick B. R. 2004. Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology. 86: 1–25.
11- Lynch J. M. 2002. Resilience of the rhizosphere to anthropogenic disturbance. Biodegradation. 13: 21-27.
12- Magalhaes F. M., Baldani J. I., Souto S. M., Kuykendall J. R., and Dobereine J. 1983. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. The Brazilian Academy of Sciences. 55: 417-430.
13- Mano D. M. S., Buff K., Clausen E., and Langenbach T. 1996. Bioaccumulation and enhanced persistente of the acaricide dicofol by *Azospirillum lipoferum*. Chemosphere. 33: 1609-1619.
14- Mubben F. 2004. Biochemical and molecular approaches to study the effect of pesticides (Fungicide) on root-associated bacteria in wheat. PhD. thesis, Faculty of Science, The University of Agriculture Faisalabad, Pakistan.
15- Mubeen F., Aslam A., Sheikh M. A., Iqbal T., Malik S., Hameed K. A., and Hafeez F. Y. 2006. Response of wheat yield under combined use of fungicides and biofertilizer. International Journal of Agricultural and Biology. 8:580–582.
16- Okan Y., and Labandera-Gonzalez C. A. 1994. Agronomic applications of Azospirillum: anevaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil* Biology and Biochemistry. 26: 1591-1601.
17- Piotrowska-Seget Z., Engel R., Nowak E., and Kozdroj J. 2008. Successive soil treatment with Captan or oxytetracycline affects non-target microorganisms. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 24: 2843-2848.
18- Saleh Rastin N. 1999. Biological fertilizers, Soil and Water science journal. 12: 1-36. (in Persian with English abstract)
19- Tilak K. V. B. R., Ranganayaki N., Pal K. K., De R., Saxena A. K., Shekhar Nautiyal C., Tripathi A. K., and Johri B. N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science. 89:136-150.
20- Wu S. C., Cao Z. H., Li Z. G., Cheung K. C., and Wong M. H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125:155-166.

Journal of Water and Soil
Vol. 30, No. 6, Jan.-Feb. 2017, p. 1941-1953

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 30، شماره 6، بهمن – اسفند 1395، ص. 1953-1941

The Effects of Carboxin-thiram on Associative Relationships between *Azospirillum* Species and Wheat (Chamran Cultivar)

F. Rejali[1*]- A. Esmaelzad[2]- K. Saghafi[3]- V. Hemati[4]

Received: 14-04-2014
Accepted: 08-05-2016

Introduction: Biofertilizers have been identified as alternative to chemical fertilizers to increase soil fertility and crop production in sustainable farming systems. One of the most useful kind of biofertilizers include plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Azospirillum* is an associative rhizobacteria which can be very useful for plants such as wheat. It can help plant by fixing nitrogen through biological way, causing root development, plant strength improvement in primary phases, causing germination percent increment, improving plant tolerance in stress situations (drought, salinity, soil compaction and pathogens), secreting plant promoting hormones like cytokinin, Oxin and finally yield increment will be observable. Modern agriculture largely relies on the extensive application of agrochemicals, including inorganic fertilizers and pesticides. Although pesticides are important, their effects on nontarget organisms are of great concern because this poses a risk to the entire ecological system. The fungicides may also adversely affect the soil microflora, especially the types of microorganisms that can applied to seeds as bacterial inoculants. Considering useful effects of plant growth promoting rhizobacteria especially *Azospirillum* on Wheat, this study was done in order to survey interaction effects between fungicide and available biofertilizers in Iran market.

Materials and Methods: Effect of carboxin tiram in 2 levels (applied, non-applied) as fungicide, on efficacy of wheat plant (Chamran Cultivar) and final crop yields under association conditions with 5 *Azospirillum* species (*A.brasilense, A.lipoferum, A.halopraeferense, A.irakense, A.sp*) using powdery and liquid formulation were studied in a greenhouse test for four months in Soil and Water Research Institute.At first some properties of used soil, including soil texture, pH, EC,organic carbon and available soil K, P, Fe, Zn, Mn and Cu were measured by laboratory methods.Nutrient Broth medium were used for bacterial inoculum production with 10^8 bacterial cound per ml in final suspention. Using factorial experiment in a Completely Randomized Design (CRD), 2 bacterial inoculants factors (5 inoculation level and a non-inoculation level), CarboxinThiram fungicide levels (applied, non-applied) and two inoculants formulations (liquid and powdery) with four replicates per treatment and a total of 96 experimental units (pots), the most effective contribution of different species of *Azospirillum* bacteria with Chamran wheat varieties were evaluated in the presence of the fungicide. Studied Parameters included number of tillers, node interface, flag length, number of grains per spike, grain weight per spike, shoots wet weight, 1000 grain weight and shoot dry weight of wheat plant. Data were analyzed with SASS and Excel softwares. The comparison was done by Tukey test.

Results and Discussion: Regarding ANOVA table (table 2), liquid and powdery formulations of *Azospirillum* with different species had significant effect on 8 of 11 studied traits including number of tillers, plant hight, spike length, node interface, flag length, number of spikes per square meter , grain weight in spike, shoot wet weight, shoot dry weight. Fungicide had effect on 2 traits such as number of grain per spike and grain weight spike independently. Bacteria and fingicide interaction had significant effect on number of tillers, node interface, flag length, number of grain per spike, shoot dry weight ($p< 0.01$) and shoot wet weight ($p< 0.05$).

Numeric comparsion between similar treatments in presence and absence of fungicide, it can be concluded that although fungicide presence had no significant positive effectson studied traits, it did not have any negative effects eigther.Even it could increase traits quantity by affecting on bacteria. Also, regarding to Table 5, comparing fungicide effect on bacteria with studied trait in two formulations, it can be concluded that fungicide presence with bacteria was effective on quantity of some trait in powdery formulation and some in liquid formulation.These findinds may be the result of fungicide effects in controlling soil born pathogens in compatable treatments with used bacterial inoculums.

Conclusion: As final result, using *A.lipoferum* with both formulations and *A.halopraeferense* with powdery formulation, because of high compatibility with carboxin thiram fungicide can be advised in case of fungicide

1, 2, 3 and 4- Associate Professor, Master of Science in Microbiology, Master of Science in Agronomy and Bachelor of Science in Chemistry, Soil and Water Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, Respectively
(*- Corresponding Author Email: f.rejali@yahoo.com)

application. This advice can have good effects on functional traits such as number of tillers, grain weight in spike and shoot dry weight.To consider the effects of environmental conditions on the final results we propose to do this experiment in field scale in some Iranian provinces with different climatic conditions.The use of different concentrations of carboxin tiram and also different kinds of PGPR and other fungicides must be consider in future experiments.

Keywords: *Azospirillum*, Carboxin-thiram, Inoculant formulation, Wheat