(۷)

۴۶

بسمه‌تعالی

شماره ثبت :	شماره مصوب:

۴-۱۰۰-۴۷۰۰۰۰-۰۲-۰۰۰۰-۸۳۰۰۷

(در موسسه /مرکز ملی تکمیل می‌شود)

ثبت فروست ۸۳/۲/۷۵ ۲۴۲۷۵

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
شناسنامه طرح تحقیقاتی

فارسی: مطالعه اثر چند باکتری مفید در گرانول سازی بذر پنبه و اثر ان در افزایش محصول

عنوان طرح :

انگلیسی: Studing The Effect of some Beneficial Bacteria on Cotton seed Coating and Its yeild

الف) - اجرای این طرح در جلسه ..... مورخ .....شورای تحقیقات و آموزش استان ..... مورد تایید قرار گرفت.

نام‌و نام‌خانوادگی رییس شورا:.....

امضاء:

ب - ۱) اجرای این طرح در جلسه بررسی کمیته زراعت مورخ ۸۲/۱۱/۱۵ کمیته علمی فنی موسسه/ تحقیقات خاک و آب .....

مورد تایید قرار گرفت نام‌ونام‌خانوادگی رییس کمیته: کاظم خاوازی.....

امضاء:

ب-۲) اجرای این طرح در جلسه .....مورخ .....کمیته علمی فنی موسسه / مرکز .....

مورد تایید قرار..... نام‌ونام‌خانوادگی رییس کمیته:.....

امضاء:

ب- ۳) اجرای این طرح در جلسه کمیته زراعت مورخ .....کمیته علمی فنی موسسه / مرکز تحقیقات کشاورزی استان کرمان .

مورد تایید قرار..... نام‌ونام‌خانوادگی رییس کمیته: هوشنگ بانشی

امضاء:

ج) - اجرای این طرح در جلسه هشتاد و هشتم مورخ ۸۲/۱۲/۲۵ کمیسیون بررسی وهماهنگی طرحهای تحقیقاتی برای اولین بار

مطرح و مورد تایید قرار ..... نام‌ونام‌خانوادگی رییس کمیسیون: غلامرضا سرمدی

امضاء:

توضیح: طرح تلی است که در پیش از شروع کار باید شود و پیمان آنرا با عمل ضربت آنرا باید تجدید نظر نمود.

مرقیت: از تنظیم شناسنامه گذشت ۳ ماه آیین نامه تکمیل گردد و لیست رسیده صورتجلسه شماره ۲۷ (از ۱۰ ماه ۱۰) صرف شود که با تکمیل گردد و لیست رسیده است.

بسمه تعالی

شماره ثبت :	شماره مصوب:

۴-۱۰۰-۴۷۰۰۰۰-۰۲-۰۰۰۵-۸۲۰۰۷

(در موسسه /مرکز ملی تکمیل می‌شود)

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
شناسنامه طرح تحقیقاتی

فارسی: مطالعه اثر چند باکتری مفید در گرانول سازی بذر پنبه و اثر ان در افزایش محصول

۱- **عنوان طرح :**

انگلیسی: **Studing The Effect of some Beneficial Bacteria on Cotton seed Coating and Its yeild**

فارسی:

۲- **عنوان پروژه:**

انگلیسی:

۳- **شماره مصوب پروژه:**

۴- **نوع طرح : مشترک** □ **ملی** ■ **مستقل** □ **خاص** ■ **شورای تحقیقات وفناوری** □

۵- **ماهیت طرح : کاربردی** ■ **بنیادی** □ **توسعه‌ای** ■

۶- **پیش‌بینی کاربرد نتایج طرح : استانی** □ **منطقه‌ای** □ **ملی** ■ **بین‌المللی** □

۷- **واحد/ واحدهای پیشنهاد دهنده:** مؤسسه تحقیقات خاک و آب

۸- **واحد/ واحدهای اجرا:**

۹- **واحد/ واحدهای همکار:**

۱۰- **محل اجرا :** بخش بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب و استانهای گلستان،خراسان

۱۱- **نام‌و نام‌خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به طرحهای ملی و مشترک دارد):** احمد اصغرزاده

۱۲- **نام و نام‌خانوادگی مجری/ مجریان:** کاظم خاوازی، هادی اسدی رحمانی

۱۳- **تاریخ شروع پیشنهادی : سال:** ۸۲ **ماه:** ۱۲

۱۴- **مدت اجرا:** ۳ **سال و** **ماه (مدت اجرای طرح نباید بیش از ۵ سال باشد)**

۱۵- **کل اعتبار طرح (پیشنهادی):** ۳۴۶ میلیون ریال

۱۶- **درصد مشارکت مالی واحدهای اجرا:**

۱۷- **چکیده:** کودهای بیولوژیک که انواع مختلفی را شامل می شوند شامل ماده نگهدارنده ای می باشند که تعداد زیادی از میکرو ارگانیسم های مورد نظر یا فرآورده های متابولیکی آنها را در بر دارند. واژه PGPR در بر گیرنده طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها با عملکرد های متفاوت است. این واژه در سال ۱۹۷۸ توسط Kloepper and Schroth وضع گردید و تا سالهای متمادی تنها برای انواع کنترل کننده آفات گیاهی (Biological Control) استفاده می گردید. محققین بعدی از جمله Kapulnik(1991) با محسوب کردن اثرات مفیدی که از سوی باکتریهای ریزوسفری از طریق مستقیم بر رشد گیاه اعمال میشود (تولید فیتوهورمونها، سیدروفورها، اسیدهای آلی و آنزیم های مؤثر در افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی) گستره گروه PGPR را وسعت بخشیدند. انواع شناخته شده PGPR به جنسهای Pseudomonas، Bacillus، Flavobacterium و غیره تعلق دارند.

در این تحقیق ابتدا مناطق عمده کشت پنبه، در کشور مشخص شده و سپس اکیپ هایی برای نمونه برداری خاک از این مناطق اعزام می شوند. مختصات جغرافیایی نمونه برداری شده توسط دستگاه GPS مشخص خواهد گردید.

باکتریهای مفید فلورسنت با روشهای ذکر شده در کتب و مقالات از نمونه های خاک جداسازی شده و سپس خصوصیات مفید آنها مانند حل کنندگی فسفات و تولید هورمونهایی مانند IAA و یا تولید سیدروفور مورد مطالعه قرار خواهد گرفت. در ادامه آزمایش تاثیر این باکتریها در افزایش رشد و عملکرد پنبه در آزمایشات گلخانه ای و سپس مزرعه ای بررسی خواهد گردید. در پایان باکتریهای مؤثر در افزایش محصول پنبه به صورت پوشش بر روی بذر، Coat خواهند شد مواد و روشهای مؤثر در افزایش جمعیت و نگهداری آن در پوشش و محصول حاصل از این بذرها بررسی خواهد شد.

۱۸- **واژه‌های کلیدی:** پنبه، مایه تلقیح ، گرانوله سازی، پوشش دار کردن، بذر پوش‌دار

۱۹- مشخصات دست‌اندرکاران طرح:

۱-۱۹- مشخصات مجری مسئول (فقط در مورد طرحهای ملی یامشترک تکمیل گردد):

ردیف	نام ونام خانوادگی	آخرین مدرک تحصیلی	رشته تحصیلی	مرتبه علمی	محل خدمت	امضاء
۱	احمد اصغرزاده	دکتری	میکروبیولوژی خاک	استادیار	تهران	

۲-۱۹- مشخصات مجری/ مجریان:

ردیف	نام ونام خانوادگی	آخرین مدرک تحصیلی	رشته تحصیلی	مرتبه علمی	محل خدمت	امضاء
۱	کاظم خاوازی	دکتری	میکروبیولوژی خاک	استادیار	تهران	
۲	هادی اسدی رحمانی	دکتری	میکروبیولوژی خاک	استادیار	تهران	
۳						
۴						
۵						
۶						
۷						

۳-۱۹- مشخصات مشاور/مشاورین (در صورتی که طرح واجد مشاور علمی است، تکمیل گردد):

ردیف	نام ونام خانوادگی	آخرین مدرک تحصیلی	رشته تحصیلی	مرتبه علمی	محل خدمت	امضاء
۱						
۲						

۱۹-۴-مشخصات همکاران (پرسنل دارای تخصص‌های اصلی ومرتبط با طرح):

ردیف	نام ونام خانوادگی	آخرین مدرک تحصیلی	رشته تحصیلی	مرتبه علمی	محل خدمت	امضاء
۱	ویدا همتی	لیسانس	شیمی	کارشناس	تهران	
۲	مهدیه شمشیری پور	لیسانس	خاکشناسی	کارشناس	تهران	
۳	نرگس مردانلو	لیسانس	زیست شناسی	کارشناس	تهران	
۴	مهناز اردبیلی	کارشناسی ارشد	شیمی خاک	کارشناس	تهران	
۵	مینو آقامانی	کارشناسی ارشد	خاکشناسی	کارشناس	تهران	

۲۰- شرح‌وظایف‌دست‌اندرکاران طرح(بترتیب‌شامل مجری مسئول، مجری‌یا مجریان ،مشاورین وهمکاران):

ردیف	نام ونام خانوادگی	سمت در طرح	وظایف محوله
۱	احمد اصغرزاده	مجری مسئول	هماهنگی طرح و جداسازی، شناسایی و اجرای طرح
۲	کاظم خاوازی	مجری	مساعدت در اجرای آزمایشگاهی طرح
۳	هادی اسدی رحمانی	مجری	مساعدت در اجرای آزمایشگاهی طرح
۴			
۵			
۶			
۷			
۸			
۹			
۱۰			
۱۱			
۱۲			
۱۳			
۱۴			
۱۵			
۱۶			

۲۱- پروژه‌ها /طرحهای اجراشده یا دردست اجرا ی مجری مسئول یا مجری در پنج سال اخیر(درصورتی که طرح ملی یا مشترک است سوابق مجری مسئول و درغیر اینصورت سوابق مجری درج شود.):

ردیف	عنوان پروژه / طرح	سمت در اجرای پروژه /طرح	سال شروع	سال پایان	تاریخ ارایه گزارش نهایی
۱					
۲					
۳					
۴					
۵					
۶					
۷					
۸					
۹					
۱۰					
۱۱					
۱۲					
۱۳					
۱۴					
۱۵					
۱۶					
۱۷					
۱۸					
۱۹					
۲۰					

۲۲- هدف / اهداف پروژه (درصورتی که شناسنامه حاضر جزو طرحهای زیر پروژه می‌باشد تکمیل شود):

۲۳- هدف / اهداف طرح:

هدف نهایی این طرح دستیابی به باکتریهای افزایش دهنده رشد گیاه است که پس از طی مراحل جداسازی و شناسایی و بررسی صفات در آزمایشگاه، مراحل گلخانه و مزرعه بتواند در بذرهای پوشش دار شده باقی مانده و در مزرعه سبب افزایش محصول پنبه گردد و در نهایت قابلیت استفاده صنعتی در تولید بذور پوشش دار خاوی میکروارگانیسم های مفید را داشته باشد.

۲۴- ضرورت ، اهمیت و توجیه اقتصادی و اجتماعی طرح:

ارزش اقتصادی پنبه و اهمیت آن از لحاظ تولید الیاف مورد نیاز نساجیها بر کسی پوشیده نیست. سطح پنبه کشور حدود ۲۴۶ هزار هکتار برآورد شده است که ۹۰/۸ درصد آن آبی و بقیه به صورت دیم کشت می شود. کشت دیم فقط در سه استان گلستان، مازندران و خراسان رایج است.

استانهای گلستان و خراسان هر یک به ترتیب با ۳۲/۴ و ۳۱/۹ درصد سطح پنبه کشور در رتبه های اول و دوم قرار دارند.

میزان تولید پنبه در کشور حدود ۴۹۷ هزار تن برآورد شده است که ۹۴/۴ درصد آن از اراضی آبی به دست می آید استانهای خراسان و گلستان از نظر میزان تولید نیز همانند سطح به ترتیب مقامهای اول و دوم را دارند، راندمان تولید پنبه اراضی آبی کشور ۲۰۹۹ کیلوگرم و عملکرد دیم ۱۲۳۵ کیلوگرم در هکتار است (آمارنامه کشاورزی تیرماه، ۱۳۸۰). یکی از مشکلات کشت پنبه کلاف شدن الیاف های بذر پنبه و ایجاد مزاحمت در کشت ردیفی آن و تجمع بذرها در یک مکان است که علاوه بر هدر رفت بذر و هزینه مصرف بذر اضافی، هزینه مضاعف دیگری را از لحاظ تک تک کردن نیز بر کشاورز تحمیل می نماید. در سالهای اخیر برای غلبه بر این مشکل تکنیک پوشش دار کردن بذر پنبه به عنوان یک راه حل ارائه شده است که ضمن هم شکل کردن بذرها و امکان کشت یکنواخت تر بذر، زمینه مساعدی را برای تولید بذرهای پوشش دار با مواد معدنی مفید مهیا نموده است. گرچه تولید بذرهای پوشش دار چندین سال است که در کشورهای پیشرفته مرسوم شده است ولی پوشش دار کردن بذور با انواع میکروارگانیسم های مفید سابقه چندان طولانی نداشته ولی تحقیق در این زمینه در سالهای اخیر مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است و نتایج رضایت بخشی در تولید بذور پوشش دا چغندرقند، هویج، پیاز، فلفل، گوجه فرنگی، ذرت و خیلی از دیگر محصولات داشته است به طوری که در حال حاضر اغلب بذور تولیدی در ژاپن و اروپا از نوع پوشش دار می باشد. پوشش بذور با استفاده از میکروارگانیسم های مفیدی چون Bacillus ،Streptomyces ،Pseudomonas fluorescens ،Pseudomonas putida ،Trichoderma ،Phythium oligandrum و Enterobacter توسط محققین مختلف گزارش شده است که در اکثر موارد موفقیت آمیز بوده است. گرچه این نوع تحقیقات اکثراً با هدف اقتصادی انجام شده و نتایج آنهاب ه صورت محرمانه باقی می ماند ولی گزارش های متعددی در خصوص موفقیت این روش ها و ترکیبات مختلف به کار رفته وجود دارد که امیدواریم بتوانیم در کشور برای اولین بار در این زمینه گام برداشته و زمینه تولید پوشش دار بذور دیگر محصولات زراعی را نیز مهیا نمائیم. در غیر این صورت برای همیشه مجبور به وارد کردن بذور پوشش دار حاوی میکروارگانیسم های مفید متعدد خواهیم بود. به نظر می رسد که با زمینه علمی و کلکسیون خوبی که در بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک وآب وجود دارد بتوانیم قدم در راه ناپیموده ای بگذاریم که افق روشنی برای آن متصور است.

دستیابی به کشاورزی پایدار در کنار افزایش عملکرد محصولات کشاورزی و تامین سلامت جامعه از اهداف مسئولین و محققین شاغل در بخش کشاورزی است. با وجود اینکه دیرزمانی است بشر کشاورزی را بعنوان صنعتی مفید و با هدف تامین غذا برای خود آغاز نموده است ولی در دو سده اخیر افزایش جمعیت انسانی و کاهش زمینهای مرغوب، موجب شده است تا کشاورزی سنتی پاسخگوی همه این مسائل نباشد. ایران از کشورهایی است که از تولید مناسبی در واحد سطح برخوردار نیست. به عبارت دیگر کارایی مصرف کودهای شیمیایی (FUE) در ایران نسبت به اکثر کشورها کم بوده و علاوه بر تحمیل هزینه های اضافی به کشاورز و بالا بردن هزینه های تولید سبب آلودگیهای زیست محیطی و مخاطرات ناشی از آن میشود. استفاده از کودهای بیولوژیک که از راه کارهای اساسی حل معضلات ذکر شده میباشد از حدود یک قرن پیش آغاز شده و در اکثر کشورهای دنیا در حال انجام است.

با توجه به اهمیت سه محصول پنبه در تامین پروتئین، روغن و منسوجات کشور و با عنایت به اینکه کشور ما یکی از بزرگترین وارد کنندگان روغن در جهان می باشد، هر تلاشی برای افزایش عملکرد و بهبود خصوصیات کیفی این محصولات می تواند در صرفه جویی ارزی و افزایش درآمد ناخالص ملی کمک نماید. از طرف دیگر فوایدی که استفاده از کودهای بیولوژیک به لحاظ صرفه جویی در مصرف کودهای شیمیایی و نیز حفظ محیط زیست بدنبال دارد، ضرورت تحقیق در این زمینه را مشخص می سازد. قیمت اندک کودهای بیولوژیک و توان ساخت آنها در داخل کشور از دیگر جنبه های مفید آنها می باشد و پوشش دار کردن

بذور پنبه ضمن کاهش مصرف بذر، سهولت استفاده از بذرکار و کاهش هزینه، سبب می گردد که از مصرف کودهای شیمیایی و حتی سموم مصرفی نیز می گرد و از ایرو حائز اهمیت زیادی می باشد.

۲۵- سوابق تحقیق در داخل و خارج از کشور با تاکید بر نتایج آنها :

تیمار بذور قبل از کشت برای محافظت بذور از آفات و بیماریها و همچنین افزایش ماندگاری و سازگاری محصولات از مدتها قبل در جهان رایج شده است. سالیان زیادی است که بذور گیاهان برای محافظت آنها بر علیه عوامل بیماریزای خاکزاد قارچی با قارچ کش تیمار می شوند (Maude, 1995) این تیمارها برای بذور معمول و برای بذور گران قیمت باغبانی برای اهداف متعدد استفاده می گردد. (taylor and Horman, 1990).

روشهای متعددی برای پوشش دادن بذور مورد استفاده قرار می گیرد ولی همیشه برای چسباندن پوشش از مواد چسباننده ای چون محصولات سلولزی، پلی وئیل استات (Polyvinyl acetate)، الکل، پیریلدون(Pyrrolidone) ، کمپلکس چسباننده تترا پلیمرهای با پایه نشاسته همانند Proprietary به اشکال جامد یا مایع مورد استفاده قرار می گیرد. با استفاده از این ترکیبات و یا ترکیبات دیگر عمل پوشش دار کردن یا پلت کردن بذور برای اهدافی چون شکل دهی به بذر، افزایش وزن یا اندازه آن با فرمولاسیون های شیمیائی و یا اخیراً فرمولاسیون با انوع میکروارگانیسم های زنده به عنوان تلقیح کننده برای افزایش کارایی مورد استفاده قرار می گیرد.

پلت کردن اغلب با مرطوب کردن بذور شروع می شود و سپس پودرهای ریزمواد مورد نظر به همراه رطوبت وارد محیط شده و تا رسیدن اندازه بذر به حد مورد نیاز در دستگاه گرانول ساز ادامه دارد که اغلب برای پلت کردن از پودر زغال، رس، دیاتومیت، پرلیت، شن، ورمیکولیت، پیت و فیبر چوب و دیگر مواد آلی استفاده می شود (Bureges, 1998). که فاز آبی مورد استفاده می تواند حاوی انواع حلالها و چسباننده باشد. و اندازه پودرهای مورد استفاده نباید بیش از μm ۱۰۰ باشد چون در غیر این صورت خود ذرات می توانند به عنوان هسته عمل کرده و تشکیل گرانول نمایند که فاقد بذر می باشند. سپس دمای محیط ۱۰ درجه افزایش داده می شود و بذور پوشش دار از محیط اول خود خارج شده و در خشک کن بر حسب مقاومت فیزیولوژیکی بذور در دمای بین ^0C ۳۰-۵۰ خشک می شوند. در صورتی که بذرها حاوی ۵۰ درصد رطوبت باشند بر حسب نوع بذر در مدت زمان ۳۰۰-۳۰ دقیقه خشک می شوند (Burrges, 1998).

در همین مرحله می توان از مایه تلقیح های میکروارگانیسم های متعدد بهره گرفت. عوامل بیولوژیکی می توانند در سطح خود بذر و یا به فاصله یک پوشش از چسبانده شوند. با وجود اینکه در این روش ها مایه تلقیح حاوی میکروارگانیسم ها مدتی در محیط چسبناک، باقی مانده و سپس به سطوح بذر چسبانیده شده و سپس در مدت زمان کوتاهی خشک می شوند ولی محققین توانسته اند با موفقیت عوامل بیولوژیکی متعددی چون Phythium oligandrum و Trichoodermа (Legro and satter, 1995). همچنین سودوموناس پوتیدا را (Shah-Smith and Burns, 1996, 1997) و باکتریهای Bacillus و همچنین اکتینومیت Streptomyces را با موفقیت بر سطوح بذور مستقر نمایند.

همچنین با استفاده از روش کپسول سازی با ژل (Gel – encapsulation) نیز که اغلب به صورت پتنت بیان شده اند توانسته اند P. fluorescens، Brady rhizobium japonicum و قارچهای عامل بیوکنترل را با موفقیت برای پوشش دادن بذر استفاده نمایند. در این روش ها از محلولهای متعددی چون Laminaria، آلژینات سدیم، کائولین و دیگر مواد با pH مشخص استفاده شده است (Lumsden and Lewis, 1989).

در این روش اول بذور در داخل دو محلول غشاء ساز جداگانه پوشش داده می شوند و سپس یک لایه متشکل از باکتری موردنظر به همراه مواد پلی ساکاریدی حاصل از جلبک پوشش داده شده و این پوشش نیز توسط لایه دیگر که حاوی آلژینات سدیم و کائولن است پوشانده می شود. سپس سریعاً بذور پوشش دار شده در داخل محلول ژل کننده ای همچون محلول Calcium gluconate ریخته شده و سپس خشک شده و با بتونیت پوشش مجدد دریافت می نمایند که پس از این مرحله آماده استفاده می باشند اغلب بذور حاصل تازه، دارای $۱۰^۸$-$۱۰^۷$ سلول میکروارگانیسم زنده در هر بذر می باشند (یک ساعت در ^0C ۴۰) ولی پس از رسیدن رطوبت بذور به رطوبت نگهداری (۱۰٪ - ۸) جمعیت به $۱۰^۵$ کاهش می یابد که هنوز مورد قبول می باشد (Burges, 1998). البته در تهیه بذور پوشش دار مسائل متعددی از جمله فشار اسمزی باید رعایت گردد (Taylor and Harman, 1990). البته شرکت های متعدد برای حفاظت میکروارگانیسم ها و چسباندن آنها به سطوح بذر و حفظ ماندگاری آنها از مواد متعددی چون Gum arabic، کربوکسی متیل سلولز، نیتریگوم Nitrigum، پلیمر Polyvinyl pyrrolidone / Vinylacetate و ترکیب PVP/VA - S- 630 به همراه گام عربی و انواع رنگ دانه های مختلف استفاده می نمایند (Burges, 1998).

آنچه در اینجا حائز اهمیت است نوع میکروارگانیسم ها هستند که برای پوشش مورد استفاده قرار می گیرند شاید بهترین آنها انواع PGPR ها باشند.

سودوموناسهای فلورسنت از باکتریهایی هستند که بطور معمول در خاک و ریزوسفر دیده میشوند. تلقیح بذور گیاهان با این باکتریها سبب افزایش رشد گیاهان و یا کاهش جمعیت میکروارگانیسم های مضر در آزمایشات گلخانه ای و مزرعه ای شده است (Baddr 1991).

محققین هندی نشان دادند که تلقیح نخود با ریزوبیوم های همزیست و سودوموناسهای فلورسنت سبب افزایش وزن خشک قسمت هوایی بمقدار ۱۰۰ درصد نسبت به ریزوبیوم تنها شده است .

(Sindhu et al.2002). باکتریهای PGPR و مخصوصاً سودوموناسهای فلورسنت اغلب سبب افزایش تحرک عناصر معدنی نامحلول در خاک می گردند و در نتیجه جذب این عناصر توسط گیاه را بهبود می بخشند

(Lifshitz et al. 1987). این باکتریها همچنین قادر به تولید تنظیم کننده های رشد گیاهی و کاهش تعداد میکروارگانیسم های مضر در ریزوسفر گیاه می باشند (Derylo and Skorupska 1993; Dubeikovsky et al. 1993; Weller 1988; Weller and Thomashow 1993)). خاصیت آنتاگونیستی این باکتریها علیه پاتوژنهای گیاهی در نتیجه تولید آنتی بیوتیکها (Hebbar et al. 1992; Thomashow et al. 1990)، ترکیبات کلات کننده آهن یا سیدروفورها (Loper and Buyer 1991) و متابولیت های ثانویه ای مانند HCN (Voisard et al. 1989) است.چنین نتایجی در مورد یونجه (Knight and Langston-Unkefer 1988)، لوبیا (Grimes and Mount 1984) و سویا (Dashti et al. 1998) نیز گزارش شده است.

برخی محققین عقیده دارند استفاده عملی از سودوموناسهای فلورسنت برای افزایش رشد گیاه از موفقیت کمی برخوردار بوده است ودلیل این امر را عدم شناخت کافی از دینامیک جمعیتی این باکتری در طبیعت میدانند (Parret and DeMot 2000). اگر سودوموناس بتواند بصورت مایه تلقیح سبب افزایش رشد گیاه شود نشانه رقابت آن با جمعیت بومی خاک است. در مطالعه رقابت این باکتریها توجه خاصی به باکتریوسین ها شده است. این مواد آنتی بیوتیک هایی از جنس پروتئین هستند که توسط یک باکتری ترشح میشود و فقط روی گونه ها یا سویه های نزدیک آن باکتری تاثیر دارد.

بر خلاف نظر فوق محققینی مانند Kloepper et al. 1980 و Schroth and Hancock 1981 عقیده دارند تلقیح گیاهان با سودوموناسها در اکثر اوقات سبب افزایش عملکرد شده است.

Lugtenberg et al. 1996 با مطالعه ۱۵۰ ایزوله سودوموناس فلورسنت به این نتیجه رسیدند که ۴۰ درصد از آنها سبب افزایش عملکرد گندم، ۴۰ درصد موجب کاهش عملکرد و ۲۰ درصد تاثیری در این زمینه نداشتند. Anderson et al 1988 عقیده دارند گاه باکتریهای PGPR جدا شده از یک گیاه تاثیرات متفاوتی را روی گیاه دیگر اعمال می کنند که بدلیل پتانسیل کلونی زایی متفاوت آنها روی گیاهان مختلف است.

ریحانی و همکاران(۱۳۸۰) با جداسازی باکتریهای سودوموناس فلورسنت (دو گونه فلورسنس و پوتیدا) از خاکهای زراعی استان تهران با استفاده از روشهای بیوشیمیایی به شناسایی آنها پرداختند. این محققین سپس به مطالعه تاثیر تلقیح گندم با این باکتریها در دو خاک استریل و غیر استریل پرداختند و به این نتیجه رسیدند که پاسخ گندم به تلقیح در اکثر موارد مثبت بوده است. این باکتریها سبب افزایش معنی دار در ارتفاع گیاه، تعداد خوشه و پنجه شدند. بر اساس نظر بیشتر محققین تاثیر این باکتریها در گیاهان با دوره رشد کوتاه مشخص تر است.

در هر حال با توجه به ضرورت افزایش تولید محصولات کشاورزی در برنامه ایران ۱۴۰۰ و اینکه تاکنون مطالعه تفصیلی بر روی باکتریهای افزایش دهنده رشد در ایران انجام نشده است در این تحقیق سعی خواهد شد ضمن پاسخگویی به سوالات در این زمینه امکان استفاده عملی از این باکتریها به عنوان پوشش بذور و در نهایت تولید بذور پوشش دار پنبه که قابلیت استفاده در مزرعه را داشته باشند، فراهم گردد.

۳۶- روش تحقیق (اشاره به روش و مواد تحقیق و تشریح مدل آماری شامل نحوه نمونه‌برداری، جمع‌آوری‌داده‌ها ، شیوه تجزیه و تحلیل و ... الزامی است):

در این تحقیق ابتدا مناطق عمده کشت پنبه در کشور مشخص شده و سپس اکیپ هایی برای نمونه برداری خاک از این مناطق اعزام می شوند. مختصات جغرافیایی نمونه برداری شده توسط دستگاه GPS مشخص خواهد گردید.

نمونه های خاک تهیه شده سریعاً به آزمایشگاه منتقل شده و با استفاده از محیط کشت نیمه انتخابی و پس از تهیه سریهای رقت، باکتریهای مفید دو گونه P. putida و P. fluorescent با استفاده از لامپ اشعه ماورای بنفش (UV Lamp 365 nm) و دیگر باکتریها با استفاده محیط های اختصاصی از سایر گونه ها منفک شده و بر روی پلیت های حاوی محیط کشت‌های اختصاصی خالص سازی میشوند و در نهایت در لوله های حاوی محیط کشت NA نگهداری میشوند. جهت حصول اطمینان، از ازمایشات بیوشیمیایی ذکر شده در کتب مرجع مانند Bergeys Manual of Determinative Bacteriology استفاده خواهد شد.

در این قسمت آزمایشاتی مانند اکسیداز و کاتالاز، مصرف قندها و اسیدهای آمینه، MR-VP و غیره استفاده خواهند شد.

در مرحله بعدی تحقیق خواص مفید سویه های باکتری جدا شده مورد مطالعه قرار خواهد گرفت. قابلیت حل کنندگی فسفر در دو محیط مایع و جامد، تولید هورمونهای محرک رشد گیاه در محیط کشت توسط این باکتریها با استفاده از روش کیفی سنجیده خواهد شد.

ابتدا تاثیر سویه های منتخب ابتدا در شرایط گلخانه ای و سپس در شرایط مزرعه ای و حداقل در دو استان مطالعه خواهد شد. در پایان با توجه به داده های آزمایشات چند ساله، باکتریهایی که بتوانند تاثیرات مثبت در محصول پنبه داشته و توانمندی بقاء در پوشش بذور پنبه را داشته باشند معرفی و در مزرعه آزمایش خواهند شد و در نهایت باکتری مناسب توصیه خواهد شد.

۲۸- آیا نتایج طرح قابل انتقال به بخش اجرا، ترویج و مراکز آموزشی هست؟ بلی ■ خیر □ اگر پاسخ مثبت است نحوه و زمان آنرا بیان نمایید:

پس از اتمام تحقیقاتی طرح، طرحهای تحقیقی ترویجی و on farm برای اشاعه نتایج ترتیب داده خواهد شد.

۲۹- منابع مورد استفاده :

۱ آمار نامه کشاورزی. ۱۳۸۰. وزارت جهاد کشاورزی. معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی دفتر آمار و فناوری اطلاعات

۲- ریحانی تبار، ع.و ناهید صالح راستین. ۱۳۷۹ .

3- Anderson, A. J., Habibzadegah-Tari, P. and Tepper, C. S. 1988. Molecular studies on the role of a root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida*. Appl. Environ. Microbiol. 54, 375-380.

4- Bakker, P. A. H. M., Van Peer, R. and Shippers, B. 1991. Suppression of soil-borne plant pathogens by fluorescent *Pseudomonas*: mechanisms and prospects. In: Beemster, A. B. R., Bollen, M., Gerirch, M., Ruissen, M. A., Schippers, B., Tempel, A. (Eds), Biotic Interactions and Soil-Borne Diseases. Elsevier, Amsterdam, pp. 221-230.

5- Burges, H. D., 1998. Formulation of microbial Biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic publishers, Dordresht.

6- Dashti, N., Zhang, F., Hynes, R. and Smith, D. L. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean [Glycine max (L.) Merr.] under short season conditions. Plant Soil 200, 205-213.

7- Deryło, M. and Skorupska, A. 1993. Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-screening fluorescent *Pseudomonas*. Plant and Soil 154, 211-217.

8- Dubeikovsky, A. N., Mordukhova, E. A., Kochetkov, V. V., Polikarova, F. Y. and Boronin, A. M. 1993. Growth promotion of black currant softood cuttings by recombinant strain *Pseudomonas fluorescens* Bsp53a synthesyzing an increased amount of indole-3-acetic acid. Soil Biol. Biochem., 25, 1277-1281.

9- Grime, H. D. and Mount, M. S., 1984. Influence of *Pseudomonas putida* nodulation of *Phaseolus vulgaris*. Soil Biol. Biochem., 16, 27-30.

10- Hebbar, K. P., Davey, A. G. and Dart, P. J. 1992. Rhizobacteria of maize antagonistic to *Fusarium moniliforme*, a soil-borne fungal pathogen: Colonization of rhizosphere and roots. Soil Biol. Biochem., 24, 989-997.

11- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M. N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. Nature, 286, 883-884.

12- Knight, T. J. and Langston-Unkefer, P. J. 1988. Enhancement of symbiotic dinitrogen fixation by a toxin-releasing plant pathogen. Science, 241, 951-994.

13- Legro, B., and Satter, H., 1995. Biological control of pythium through seed coating and seed priming with Trichoderma. In Proceeding of the 4th National symposium on stand Establishment of Horticultural.

14- Lifshitz, R., Kloepper, J. W., Kozlowsky, M., Simonson, C., Carlson, J., Tipping, E. M., Zaleska, I. 1987. Growth promotion of Canola (rape seed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. Can. J. Microbiol., 33, 390-395.

15- Loper, J. E. and Buyer, J. S. 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. Mol. Plant-Microbe Interact., 4, 5-13.

16- Lugtenberg, B. et al. 1996. Molecular basis of rhizosphere colonization by Pseudomonas bacteria. In: Stacey, G., Mullin, B. and Gresshof, P. M. (Eds), Biology of Plant-Microbe Interactions. St. Paul, Minnesota, USA.

17- Lumsden, R. D., and Lewis, L. A., 1989. Selection, Production, formulation and commercial use of plant disease biocontrol fungi: problems and progress. In Biotechnology of Fungi for Improving plant Growht, M. Whipps and R. D. Lumsden (eds). Cambridge University press, cambidge pp. 90-171.

18- Maude, R. B. (1995). Desease control: eradication and reduction of inoculim by seed treatment. In seed borne Diseases and teir Control: Principles and practice, CAB International, Walling, pp. 78-117.

19- Parret, A. H. A. and De Mot, R. 2000. Novel bacteriocins with Predicted tRNase and pore-forming activities in *Pseudomonas aeroginosa* PAO1. Mol. Microbiol., 35, 472-473.

20- Schroth, M. N. and Hancock, J. G. 1981. Selected topics in biological control. Annu. Rev. Microbiol., 35, 453-476.

21- Shah-Smith, D. A., and Burns, R. G., 1997. Shelf-life of a biocontrol Pseudomonas Puticla applied to suger beet seeds using commercial coatings. Biocontrol. Science Technology, 7: 65-74.

22- Shah-Smith, D. A., and Burns, R. G., 1996. Biological control of damping- off of sugarbeet by pseudomonas petiole applied to seeds. Plant pathology. 45:82-572.

23- Sindhu, S. S., Suneja, S., Goel, A. K., Prmar, N. and Dadarwal, K. R. 2002. Plant growth promoting effects of *Pseudomonas* sp. on coinoculation with *Mesorhizobium* sp. *Cicer* strain under sterile and wilt sick soil conditions. Applied Soil Ecology, 19, 57-64.

24- Taylor, A. G., and Harman, G. E., 1990 Concepts and taylor, A. G., and Harman, G. E., 1990 Concepts and technologies of selected seed treatments. Annual Review Phyto pathology. 28:39-321.

25- Thomashow, L. S., Weller, D. M., Bonsall, R. F. and Pierson, I. S. 1990. Production of antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. Appl. Environ. Microbiol., 56, 908-912.

26- Thompson, J. P. and Skerman, V. B. D. Azotobacteraceae: The taxonomy and ecology of the aerobic nitrogen-fixing bacteria. Academic Press, 417 pp.

27- Voisard, C., Keel, C., Hass, D. and Defago, G. 1989. Cyanid production by Pseudomonas fluorescens helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions.

۲-۳۰- هزینه‌های ماموریت به تفکیک سالهای اجرا: (ارقام به هزارریال)

ردیف	نوع همکاری در طرح	مدت ماموریت به روز	هزینه‌های ماموریت					
			سال اول	سال دوم	سال سوم	سال چهارم	سال پنجم	جمع کل
۱	مجری مسئول	۲۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰			
۲	مجری	۱۰	۱۵۰۰	۱۵۰۰	۱۵۰۰			
	جمع کل		۴۵۰۰	۴۵۰۰	۴۵۰۰			۱۳۵۰۰

۳-۳۰- هزینه لوازم مصرف نشدنی به تفکیک سالهای اجرا: (ارقام به هزار ریال)

ردیف	نام لوازم ووسایل	تعداد	قیمت واحد	سال اول	سال دوم	سال سوم	سال چهارم	سال پنجم	جمع کل
۱	انکوباتور	۱	۲۰،۰۰۰	۲۰،۰۰۰	-	-			
۲	شیر	۱	۴۰،۰۰۰	-	۴۰،۰۰۰	-			
۳	یخچال بزرگ	۱	۵۰۰۰	-	۵۰۰۰	-			
۴	شیرانکوباتور	۱	۸۰،۰۰۰	-	-	۸۰،۰۰۰			
	جمع کل			۲۰،۰۰۰	۴۵،۰۰۰	۸۰،۰۰۰			۱۴۵،۰۰۰

*این جدول محل درج لوازم جزیی بوده و انجام طرح منوط به تامین آنها نیست.

۳۰-٤- هزینه‌های لوازم و مواد مصرف شدنی به تفکیک سالهای اجرا: (ارقام به هزار ریال)

ردیف	نام لوازم ووسایل	مقدار/تعداد	قیمت واحد	سال اول	سال دوم	سال سوم	سال چهارم	سال پنجم	جمع کل
۱	مواد شیمیائی	-	-	۵۰،۰۰۰	٤۰،۰۰۰	۳۰،۰۰۰			
۲	شیشه آلات	-		۲۰،۰۰۰	۲۰،۰۰۰	۲۰،۰۰۰			
جمع کل				۷۰،۰۰۰	۶۰،۰۰۰	۵۰،۰۰۰		۰	۱۸۰،۰۰۰

۳۰-۵- هزینه های آزمایشگاهی: (ارقام به هزار ریال)

سال	عنوان آزمایش	تعداد	هزینه‌انجام هر آزمایش	محل انجام آزمایش یا عنوان آزمایشگاه	کل مبلغ
اول	تجزیه خاک	۱۰۰	۱۰۰	آزمایشگاه شیمی تهران و کرج	۱۰،۰۰۰
دوم	تجزیه خاک	۱۰۰	۱۰۰	آزمایشگاه شیمی تهران و کرج	۱۰،۰۰۰
سوم	تجزیه خاک	۱۰۰	۱۰۰	آزمایشگاه شیمی تهران و کرج	۱۰،۰۰۰
	تجزیه گیاه	۵۰۰	۱۰۰	آزمایشگاه شیمی تهران و کرج	۵۰،۰۰۰
چهارم					
پنجم					
جمع‌کل					

۶-۳۰- هزینه‌های اطلاع‌رسانی، تایپ، تکثیر وصحافی ·

(ارقام به هزار ریال)

ردیف	موردهزینه	سال اول	سال دوم	سال سوم	سال چهارم	سال پنجم	جمع کل
۱	خدمات اطلاع رسانی	-	۲۰۰۰	۲۰۰۰			۴۰۰۰
۲	تایپ	-	۲۰۰۰	۲۰۰۰			۴۰۰۰
۳	تکثیر	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰			۳۰۰۰
۴	صحافی			۱۰۰۰			۱۰۰۰
۵	جمع کل						۱۲۰۰۰

۷-۳۰- جمع هزینه‌ها به تفکیک سالهای اجرا:

(ارقام به هزارریال)

ردیف	نوع هزینه	سال اول	سال دوم	سال سوم	سال چهارم	سال پنجم	جمع کل
۱	هزینه‌های پرسنلی	۱۲۰۰۰۰	۱۲۰۰۰۰	۱۲۰۰۰۰			۳۶۰۰۰۰
۲	هزینه‌های ماموریت	۴۰۵۰۰	۴۰۵۰۰	۴۰۵۰۰			۱۳۰۵۰۰
۳	هزینه لوازم مصرف نشدنی	۲۰۰۰۰۰	۴۵۰۰۰۰	۸۰۰۰۰۰			۱۴۵۰۰۰۰
۴	هزینه لوازم و مواد مصرف‌شدنی	۷۰۰۰۰۰	۶۰۰۰۰۰	۵۰۰۰۰۰			۱۸۰۰۰۰۰
۵	هزینه‌های آزمایشگاهی	۱۰۰۰۰۰	۱۰۰۰۰۰	۶۰۰۰۰۰			۸۰۰۰۰۰
۶	هزینه‌های اطلاع‌رسانی، تایپ، تکثیر و صحافی	۱۰۰۰	۵۰۰۰	۶۰۰۰			۱۲۰۰۰
۷	هزینه‌های متفرقه(حداکثر ۱۰ درصدکل اعتبار مورد نیاز طرح)						۱۰۰۰۰
۸	جمع کل						۳۳۶۰۰۰
۹	جمع کل اعتبار مورد نیاز طرح به حروف (هزار)ریال) سی و چهار هزار و ششصد						