

تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه (*Azospirillum* sp.) بر فیزیولوژی و عملکرد گیاه کلزا

محمدحسین ارزانش¹ و ابوالفضل فرجی

استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان؛ mharzanesh@yahoo.com

دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان؛ abolfazlfaraji@yahoo.com

دریافت: 91/11/14 و پذیرش: 93/11/29

چکیده

به منظور بررسی کارایی باکتری‌های محرک رشد گیاه (جنس *آزوسپیریلوم*) بر کلزا، آزمایشی در سال زراعی 89-1388 در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان اجرا شد. هشت سطح کودی شامل 1- شاهد (بدون کود و بدون باکتری)، 2- توصیه کودی با توجه به آزمون خاک (سوپر فسفات تریپل و اوره به میزان 50 کیلوگرم در هکتار از هر کدام)، 3- 50 درصد توصیه کودی 4- تلقیح بذر با جدایه AZ1، 5- تلقیح بذر با جدایه AZ10، 6- تلفیق 50 درصد توصیه کودی با تلقیح بذر با جدایه AZ1 و 7- تلفیق 50 درصد توصیه کودی با تلقیح بذر با جدایه AZ10 و 8- تلفیق 50 درصد توصیه کودی با تلقیح بذر با جدایه‌های AZ1 و AZ10 با دو ژنوتیپ هایولا 401 و لاین 6 به صورت فاکتوریل با یکدیگر ترکیب شدند. بیشترین عملکرد دانه با میانگین 2892 کیلوگرم در هکتار در تیمار توصیه شده کود کامل با استفاده از آزمون خاک تولید گردید ($p > 0.05$). همچنین بین تیمارهای 50 درصد توصیه شده کودی کامل با جدایه AZ1 و 50 درصد کود کامل با دو جدایه با تیمار کود کامل اختلاف آماری معنی‌داری از نظر عملکرد مشاهده نشد ($p < 0.05$). نتایج این مطالعه بیانگر تأثیر مفید باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و اجزای عملکرد کلزا بود.

واژه‌های کلیدی: *آزوسپیریلوم*، کانولا، کود

¹ نویسنده مسئول، آدرس: گرگان، خ شهید بهشتی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، بخش تحقیقات خاک و آب

توسعه ریشه تأثیر می‌گذارند (هولگوئین و همکاران، 1999).

در خاک‌های کشور که عمدتاً واکنش قلیایی دارند، بخش بزرگی از فسفات‌های معدنی محلول که از طریق کودهای شیمیایی به کار می‌روند، به سرعت غیر متحرک و برای گیاهان غیرقابل استفاده می‌شوند. اکثر خاک‌های کشاورزی دارای ذخیره بزرگی از فسفر بوده که بخش قابل ملاحظه‌ای از آن در اثر استفاده مکرر از کودهای فسفاتی تجمع پیدا کرده است. در سال‌های اخیر با استفاده از میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات امکان تأمین فسفر مورد نیاز گیاهان میسر شده است. میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات به گروه نامتجانسی از میکروارگانیسم‌ها اطلاق می‌شود که قادرند عمدتاً از طریق ترشح اسیدهای آلی موجب آزادسازی فسفر از ترکیبات نامحلول شوند (رودریگز و فراگ، 1999). تولید اسیدهای آلی منجر به اسیدی شدن محیط ریشه شده و در نتیجه فسفر از فسفات‌های معدنی آزاد می‌شود. رودریگز و همکاران (رودریگز و همکاران، 2004) کاهش اسیدیته محیط کشت و تولید اسید گلوکونیک را موجب رهاسازی فسفات‌های محلول از منابع معدنی کم محلول توسط باکتری‌های جنس *آزوسپیریوم* دانستند و آن را به عنوان یکی از عوامل تحریک‌کنندگی رشد گیاه گزارش نمودند.

اگرچه در چند مطالعه اهمیت رقم و کود مصرفی روی کلزا در استان گلستان مورد بررسی قرار گرفته است (فرجی و سلطانی، 2007؛ فرجی و همکاران، 2008؛ فرجی و همکاران، 2009). اما مطالعات اندکی در خصوص تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر ارقام کلزا انجام شده است. بنابراین در قالب یک مطالعه زراعی تأثیر این باکتری‌ها روی دو ژنوتیپ کلزا مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی کارایی دو جدایه باکتری محرک رشد گیاه (جنس *آزوسپیریوم*) (جدول 1) روی صفات فنولوژی (شناخت مراحل مختلف نمو گیاه) و رابطه آن‌ها با عملکرد دانه و اجزای عملکرد دو ژنوتیپ کلزا، آزمایشی در سال زراعی 89-1388 در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان اجرا شد. ارتفاع ایستگاه از سطح دریا 5/5 متر، مشخصات جغرافیایی آن به ترتیب 54 درجه و 25 دقیقه طول شرقی و 36 درجه و 45 دقیقه عرض شمالی و میانگین بارندگی سالیان آن 450 میلی‌متر است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. هشت سطح کودی شامل 1- شاهد (بدون کود و بدون باکتری)، 2- توصیه کودی

در ایران مانند بسیاری از کشورهای دیگر دنیا مصرف زیاد نهاده‌های شیمیایی، از جمله کودها، به منظور دستیابی به عملکرد بالا و جبران کمبود عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، سبب افزایش هزینه‌های تولید و تخریب منابع آب و خاک شده است. در این ارتباط استفاده از فرآورده‌های بیولوژیک در جهت تغذیه گیاهان زراعی یکی از راه‌حل‌های مناسب در مسیر دستیابی به بخشی از اهداف کشاورزی پایدار به شمار می‌رود. کودهای زیستی به عنوان نهاده‌های بوم سازگار استفاده شده، که سبب کاهش استفاده از کودهای شیمیایی و بهبود وضعیت حاصلخیزی خاک شده است. این افزایش احتمالاً ناشی از وجود جمعیت‌های میکروبی در خاک یا ریزوسفر است

که به وسیله ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل دسترس ساختن آن، حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و افزایش جذب مواد غذایی باعث افزایش رشد گیاه و در نتیجه عملکرد می‌شوند (دی و همکاران، 2003؛ شهااتا و الخاواز، 2003). باکتری‌های جنس *آزوسپیریوم* که در خاک‌ها و روی سطح ریشه‌های گیاهان مناطق مختلف دیده می‌شوند با بسیاری از گیاهان زراعی و علفی زندگی همیاری برقرار می‌نمایند (باشان و هولگوئین، 1997). تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه (بارتل، 1997)، بهبود جذب آب و عناصر غذایی (جرمن و همکاران، 2000)، افزایش حلالیت فسفات‌های نامحلول (سشاردی و همکاران، 2000) و تولید سیدروفور (شاه و همکاران، 1993) از فواید این باکتری‌ها بوده، که از طریق توسعه فعالیت‌های ریشه‌ای گیاه سبب افزایش توانایی گیاه در جذب عناصر غذایی و در نتیجه افزایش عملکرد می‌شود.

اگرچه بعضی از جدایه‌های جنس *آزوسپیریوم* در گیاهان خاصی دارای تأثیر بیشتری هستند، اما مزیت اصلی این جنس آن است که رابطه اختصاصی با گیاه خاصی نداشته و می‌تواند باعث افزایش رشد در گونه‌های مختلف گیاهان زراعی شوند. به هر حال دامنه تأثیر این باکتری‌ها تحت تأثیر بعضی از عوامل نظیر نوع جدایه باکتری و حضور سوبسترای خاص قرار می‌گیرد. در واقع در اثر استفاده از یک جدایه مناسب عملکرد یا اجزای عملکرد گیاه افزایش می‌یابد (باشان و دی باشان، 2005). باکتری‌های جنس *آزوسپیریوم* عموماً به عنوان تولیدکننده هورمون‌های گیاهی، پلی آمین‌ها و اسیدهای آمینه شناخته شده‌اند. فیتوهورمون‌های ساخته شده توسط *آزوسپیریوم* روی سرعت تنفس، متابولیسم، رشد و

بوته‌های مازاد در مرحله 3-2 برگی انجام شد. تعداد روز تا یک مرحله نمو معین بر اساس تعداد روز از سبز شدن تا زمانی که 50 درصد از گیاهان هر کرت به آن مرحله معین برسند، محاسبه شد. برای تعیین اجزای عملکرد در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی (زمانی که 50 درصد بوته‌های هر کرت غلاف‌های 1/3 پایینی بوته به رنگ قهوه‌ای یا سیاه درآمده و دانه‌ها به رنگ سیاه دیده شوند) از هر کرت 10 بوته به‌طور تصادفی انتخاب و صفات مورد نظر محاسبه شد. جهت تعیین عملکرد دانه، 2 روز پس از رسیدگی فیزیولوژیکی ردیف‌های 2، 3 و 4 با رعایت حاشیه برداشت شدند و پس از خشک شدن در مزرعه، با کمباین مخصوص آزمایش‌ها کلزا کوبیده شدند. در پایان داده‌های به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه 2010 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD (سطح 5 درصد) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

جدایه‌های باکتریایی محرک رشد مورد استفاده در این تحقیق مربوط به دو گونه مختلف از *ازوسپیریوم* به نام‌های *ازوسپیریوم لیپوفرورم* و *ایراکنس* بودند که در جدول 1 ویژگی محرک رشدی آن‌ها آورده شده است. ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک مزرعه در ایستگاه گرگان به صورت زیر بود. همان‌طوری که از جدول مشاهده می‌شود از لحاظ مقدار ماده آلی، فسفر و پتاسیم دارای وضعیت مناسبی بود. همچنین داده‌های آب و هوایی ایستگاه گرگان در طی انجام آزمایش و میانگین بلندمدت آن در جدول 3 ارائه شده است.

با توجه به آزمون خاک، 3-50 درصد توصیه کودی 4- تلقیح بذرها با جدایه AZ1، 5- تلقیح بذرها با جدایه AZ10، 6- تلفیق 50 درصد توصیه کودی با تلقیح بذرها با جدایه AZ1، 7- تلفیق 50 درصد توصیه کودی با تلقیح بذرها با جدایه AZ10 و 8- تلفیق 50 درصد توصیه کودی با تلقیح بذرها با جدایه های AZ1 و AZ10 با دو ژنوتیپ هایولا 401 و لاین 6 (MHA88-6) به‌صورت فاکتوریل با یکدیگر ترکیب شده و 16 تیمار آزمایش را تشکیل دادند. قبل از کاشت گیاه، نمونه‌های مرکب خاک از عمق صفر تا 30 سانتی‌متر از سطح خاک تهیه و بر اساس نتایج تجزیه خاک، مقادیر کودهای فسفر و نیتروژن هرکدام به مقدار 50 کیلوگرم در هکتار تعیین و به ترتیب از منابع کودی سوپر فسفات تریپل و اوره استفاده شد. با توجه به تیمارهای آزمایش، تمام کود فسفر قبل از کاشت و کود نیتروژن به مقدار یک سوم قبل از کاشت، یک سوم در مرحله شروع گل‌دهی مصرف گردید.

کاشت با الگوی 5x20 سانتی‌متر برای به دست آوردن تراکم بوته موردنظر (1000000 بوته در هکتار) به‌صورت خطی و با دست در تاریخ 1388/8/21 انجام شد. برای اطمینان از دست‌یابی به تراکم بوته مورد نظر در موقع کاشت بیش از میزان لازم بذر مصرف کرده و بعد از استقرار بوته‌ها، در موقع تنک کردن فاصله بوته‌ها در هر ردیف تنظیم شد. هر کرت شامل 5 خط کاشت به طول 5 متر بود. خطوط 1 و 5 جهت حاشیه و خطوط 2، 3 و 4 جهت برداشت نهایی مورد استفاده قرار گرفت. فاصله بین تکرارها 3 متر و فاصله بین کرت‌ها دو خط نکاشت در نظر گرفته شد. در طی فصل رشد و در صورت نیاز عملیات وجین غلف‌های هرز به‌صورت دستی به‌وسیله کارگر صورت گرفت. همچنین و اکاری و تنک کردن

جدول 1- نام، گونه باکتری و خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های *ازوسپیریوم*

نام جدایه باکتری	گونه باکتری	توانایی تثبیت نیتروژن (نانو مول بر ساعت)	تولید اکسین (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	حل فسفات کم محلول معدنی (میلی گرم در لیتر)
AZ1	<i>A.lipoferum</i>	34/24	32/28	7/59
AZ10	<i>A.irakense</i>	43	33/76	7/74

جدول 2- نتایج تجزیه شیمیایی و فیزیکی خاک (احیایی و بهیپهانی زاده، 1372) ایستگاه گرگان

ایستگاه گرگان	خصوصیات
30-0	عمق نمونه برداری (cm)
7/9	pH
1/44	هدایت الکتریکی (ds/m)
11/7	آهن (mg/kg)
2/1	روی (mg/kg)
23/5	درصد مواد خثی شونده (TNV)
1/7	کربن آلی (%)
13/2	فسفر قابل جذب (mg/kg)
0/17	میزان نیتروژن کل (%)
342	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)
24	شن (%)
54	سیلت (%)
22	رس (%)
لوم رسی	بافت خاک

جدول 3- داده‌های هواشناسی ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان در بلندمدت (طی سال‌های 1363 تا 1388) و

سال زراعی 1389-1388

ماه	تعداد ساعات آفتابی		متوسط دما (سانتی‌گراد)		تبخیر پتانسیل (میلی‌متر)		بارندگی (میلی‌متر)	
	1388-89	1363-88	1388-89	1363-88	1388-89	1363-88	1388-89	1363-88
مهر	230	207	21/4	21/2	108	109	86/1	51/9
آبان	195	173	17/0	15/8	70/6	65/2	70/0	60/9
آذر	124	136	10/0	10/5	26/8	36/0	73/0	54/0
دی	126	138	11/1	8/0	29/3	28/3	22/0	46/2
بهمن	82	144	8/6	7/9	26/4	39/3	81/0	56/2
اسفند	87	134	11/4	10/0	31/3	53/3	80/1	58/2
فروردین	141	160	13/7	14/3	63/5	84/2	18/8	54/6
اردیبهشت	146	187	19/1	19/1	104/6	124/8	41/4	46/9
خرداد	305	254	27/5	24/7	252/8	199/2	0/0	18/6

تا شروع پر شدن دانه بین 106/2 تا 108/7 روز و تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی بین 175/2 تا 176/5 روز بود (جدول 4).

اثر ژنوتیپ بر روز تا شروع گلدهی، روز تا شروع پر شدن دانه و طول دوره پر شدن دانه معنی‌دار نشد، ولی بر طول دوره گلدهی در سطح یک درصد و روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول 4). در ژنوتیپ‌های هایولا 401 و لاین 6، میانگین تعداد روز تا شروع گلدهی به ترتیب برابر 98/8 و 98/0 روز، میانگین تعداد روز تا شروع پر شدن دانه به ترتیب برابر 107/8 و 107/0 روز و میانگین طول دوره پر شدن دانه برابر 68/2 روز بود (جدول 4). طول دوره گلدهی و

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش در جدول 4 ارائه شده است. مشاهده می‌شود که از بین صفات فنولوژی مورد بررسی، اثر تیمارهای تغذیه تنها بر طول دوره گلدهی در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. بیشترین طول دوره گلدهی (32/2 روز) مربوط به تیمار کود کامل با آزمون خاک و تیمار 50 درصد کود کامل به علاوه باکتری جدایه AZ1 و کمترین طول دوره گلدهی (29/0 روز) مربوط به تیمار شاهد بود (جدول 4). تیمار 50 درصد کود کامل با تلقیح جدایه AZ10 بیشترین تعداد روز تا شروع پر شدن دانه (108/7 روز) و رسیدگی فیزیولوژیکی (176/5 روز) را داشت (جدول 4). دامنه تغییرات تعداد روز تا شروع گلدهی بین 97/2 تا 99/7 روز، تعداد روز

میانگین تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 175/9 و 175/2 روز بود (جدول 4).

تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک در هیبرید هایولا 401 به‌طور معنی‌داری بیشتر از لاین 6 بود (جدول 4). میانگین طول دوره گلدهی در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 33/3 و 28/2 روز بود (جدول 4). همچنین

جدول 4- جدول آنالیز واریانس صفات اندازه‌گیری شده مربوط به فنولوژی کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	روز تا گلدهی	طول دوره گلدهی	روز تا شروع پر شدن دانه	روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	طول دوره پر شدن دانه	عملکرد دانه
تکرار	2	6/44 ^{ns}	1/40 ^{ns}	6/01 ^{ns}	17/0 ^{**}	21/3 [*]	21683 ^{ns}
تغذیه	7	6/23 ^{ns}	9/57 [*]	6/12 ^{ns}	1/56 ^{ns}	4/81 ^{ns}	467993 ^{**}
ژنوتیپ	1	6/75 ^{ns}	305 ^{**}	6/50 ^{ns}	6/75 [*]	0/01 ^{ns}	727422 ^{**}
کود*ژنوتیپ	7	2/04 ^{ns}	5/50 ^{ns}	6/04 ^{ns}	0/89 ^{ns}	4/62 ^{ns}	46414 ^{ns}
خطا	30	6/46	3/91	6/45	1/33	5/27	93357
ضریب تغییرات (درصد)		2/58	6/42	2/37	0/66	3/37	12/8

ns غیر معنی‌دار و * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح آماری 5 و 1 درصد

جدول 5- میانگین صفات اندازه‌گیری شده مربوط به فنولوژی کلزا

عوامل آزمایشی	روز تا گلدهی	طول دوره گلدهی (روز)	روز تا شروع پر شدن دانه	روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	طول دوره پر شدن دانه (روز)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
تغذیه						
شاهد	99/3 ^a	29/0 ^c	108/3 ^a	175/2 ^a	66/8 ^a	2135 ^d
کود کامل با آزمون خاک	97/3 ^a	32/2 ^a	106/3 ^a	175/2 ^a	68/8 ^a	2892 ^a
50 درصد کود کامل	98/7 ^a	30/2 ^{abc}	107/7 ^a	176/2 ^a	68/5 ^a	2228 ^{cd}
AZ1 باکتری جدایه	98/2 ^a	29/2 ^{bc}	107/2 ^a	175/3 ^a	68/2 ^a	2315 ^{bcd}
AZ10 باکتری جدایه	99/7 ^a	30/5 ^{abc}	108/7 ^a	176/5 ^a	67/8 ^a	2037 ^d
50AZ1 درصد کود با	97/2 ^a	31/3 ^{ab}	106/2 ^a	175/5 ^a	69/3 ^a	2598 ^{ab}
50AZ10 درصد کود با	99/3 ^a	32/2 ^a	108/3 ^a	175/3 ^a	67/0 ^a	2305 ^{bcd}
50 درصد کود با دو جدایه	97/3 ^a	31/7 ^a	106/3 ^a	175/2 ^a	68/8 ^a	2541 ^{abc}
ژنوتیپ						
هایولا 401	98/8 ^a	33/3 ^a	107/8 ^a	175/9 ^a	68/2 ^a	2258 ^b
لاین 6	98/0 ^a	28/2 ^b	107/0 ^a	175/2 ^b	68/2 ^a	2504 ^a

* اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت آماری در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون LSD هستند.

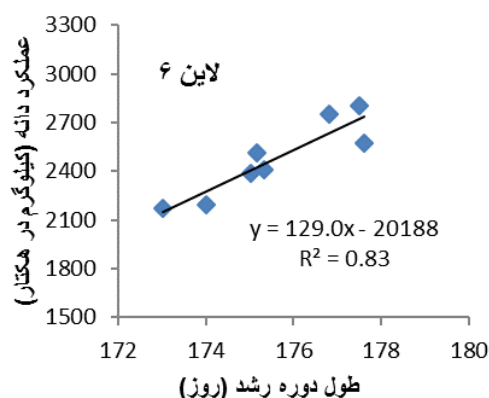
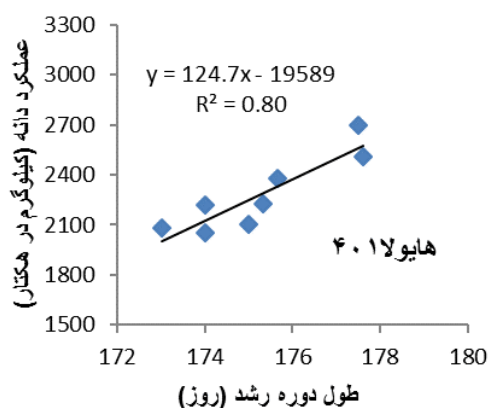
همچنین لاین امیدبخش شماره 6 از نظر عملکرد دانه برتری معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به هیبرید هایولا 401 داشت (جدول 5). میانگین عملکرد دانه در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 2258 و 2504 کیلوگرم در هکتار بود (جدول 5). این داده‌ها با یافته‌های اکرم و همکاران (2012) که اظهار داشتند بین لاین‌های مختلف کلزا از لحاظ عملکردی تفاوت معنی‌دار وجود دارد مطابقت می‌کند (کومارو همکاران، 2001). در واقع واکنش لاین یا ارقام مختلف می‌تواند متفاوت باشد. مقدار نیتروژن می‌تواند روی رشد گیاه و افزایش مقدار پروتئین دانه در کلزا نقش مهمی داشته باشد (38). به طور مثال شارما و همکاران (1997)، کومار و همکاران (2001)

اثر تیمارهای تغذیه‌ای بر عملکرد دانه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول 4). تیمار کود کامل با آزمون خاک با میانگین 2892 کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد دانه ($p < 0.05$) را تولید کرد. بین تیمارهای 50 درصد کود کامل با جدایه AZ1 و 50 درصد کود کامل با دو جدایه با تیمار کود کامل با آزمون خاک اختلاف آماری معنی‌داری از نظر عملکرد دانه مشاهده نشد و هر 3 تیمار یادشده در یک گروه آماری قرار گرفتند، که این مسئله نشان‌دهنده تأثیر مثبت باکتری جدایه AZ1 در افزایش عملکرد دانه کلزا بود. در واقع نتایج عملکرد دانه نشان داد جدایه AZ1 می‌تواند جایگزین 50 درصد از کود مصرفی نیتروژن در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شود (جدول 5).

بررسی قرار دادند. در مطالعه آن‌ها، از 130 باکتری جداسازی شده درجات مختلفی از حلالیت تری کلسیم فسفات مشاهده شد. رودریگز و همکاران (2004) گزارش کردند که کاهش pH محیط کشت و تولید گلوکونیک اسید موجب رهاسازی فسفات‌های محلول از منابع معدنی کم محلول توسط باکتری‌های *A. brasilense* و *A. lipoferum* شد، که در نتیجه باعث تحریک رشد گیاه می‌شود. در واقع مکانیسم تأثیر تثبیت نیتروژن، آزادسازی فسفر کم محلول و توانایی تحریک رشد گیاه به‌تنهایی یا به‌صورت توأمان به‌عنوان عوامل مؤثر در اثربخشی این جنس معرفی شده است (12 و 5).

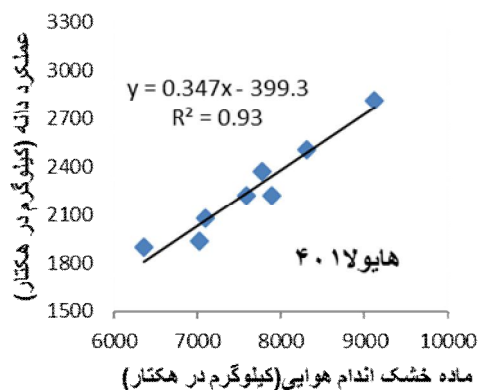
بین طول دوره‌های مختلف نمو و عملکرد دانه کلزا همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. رابطه رگرسیونی خطی بین طول دوره رشد و عملکرد دانه در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب 80 و 83 درصد از تغییرات را توجیه کرد (شکل 1). برای مثال هابکو (1997) رابطه معنی‌داری را بین افزایش طول دوره‌های نمو با عملکرد گزارش نمود (کروزو و همکاران، 1988؛ تایو و مورگان، 1979). این رابطه نشان می‌دهد که افزایش طول دوره بین سبز شدن تا رسیدگی فیزیولوژیکی سبب افزایش تجمع ماده خشک و در نتیجه عملکرد دانه کلزا خواهد شد. به ازای هر روز افزایش طول دوره بین سبز شدن تا رسیدگی فیزیولوژیکی عملکرد دانه کلزا در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 124/7 و 129/0 کیلوگرم در هکتار افزایش یافت (شکل 1).

میلر و همکاران (2003) و احمد و همکاران (2007) رابطه خوبی بین مقدار کود نیتروژنی با عملکرد کلزا را گزارش کردند. استفاده از ترکیب کود معدنی و کودهای زیستی باعث افزایش بیشتر غلاف در گیاه شد (یساری و همکاران، 2009). یکی دیگر از ویژگی‌های *آزوسپیریوم* توان حل فسفات کم محلول است (واو و همکاران، 2005). مطالعات ارزانش و همکاران (1387)، رجب‌زاده و همکاران (1388) و عرب و همکاران (1384) نشان داد که جدایه‌های بومی *آزوسپیریوم* توانایی حل فسفات از بخش کم محلول خاک را داشته و در نتیجه با افزایش قابلیت دسترسی گیاه به فسفر عملکرد افزایش می‌یابد. رودریگوئز و همکاران (2004) نیز گزارش کردند که باکتری‌های حل‌کننده فسفات قادرند شرایط را برای افزایش راندمان استفاده از کود فراهم کنند. سازوکار اصلی این باکتری‌ها، تولید اسیدهای آلی توسط اکسایش ناقص قندهاست، که باعث افزایش حلالیت فسفر محیط می‌شوند. همچنین این باکتری‌ها سبب کاهش تثبیت فسفر در خاک می‌شوند که این امر موجب افزایش فسفر قابل‌دسترس گیاه می‌شود. تولید اسیدهای آلی منجر به اسیدی شدن محیط اطراف می‌شود که در نتیجه فسفر از فسفات‌های معدنی از طریق جانشینی پروتون به‌جای کلسیم آزاد می‌شود. هامپدا و همکاران (2008) گزارش کردند که پنج جدایه باکتری با توانایی حل‌کنندگی فسفات و دیگر عوامل تحریک‌کننده رشد باعث افزایش ماده خشک گیاه شد. پیرز و همکاران (2007) نقش باکتری‌های حل‌کننده فسفات معدنی در چرخه فسفر را در خاک‌های اسیدی غنی از آهن مورد

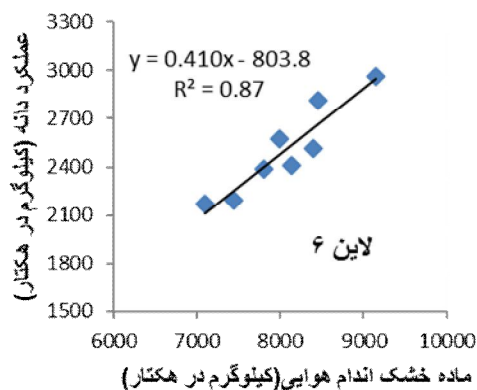


شکل 1- رابطه بین طول دوره رشد و عملکرد دانه

کلزا در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 0/347 و 0/410 کیلوگرم در هکتار افزایش یافت (شکل 2). تایو و مورگان (1979) نیز گزارش کردند که تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف به وسیله توانایی گیاه جهت فراهم کردن کربن مورد نیاز برای گل آذین در دوره 3 هفته پس از گرده‌افشانی تنظیم می‌شود. کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش تولید ماده خشک طی دوره گلدهی و تشکیل دانه می‌تواند از طریق کاهش یک یا تعداد بیشتری از اجزای عملکرد بر عملکرد دانه تأثیر بگذارد.



رابطه رگرسیونی قوی بین میزان ماده خشک اندام‌های هوایی در رسیدگی فیزیولوژیکی و عملکرد دانه (شکل 2) نیز مؤید تأثیر مثبت افزایش ماده خشک ناشی از افزایش طول دوره رشد هست که می‌تواند منجر به افزایش عملکرد دانه شود (لازم به ذکر است که هر نقطه از نقاط رگرسیونی میانگین 3 داده است). رابطه رگرسیونی خطی قوی بین ماده خشک اندام‌های هوایی و عملکرد دانه در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب 93 و 87 درصد از تغییرات را توجیه کرد (شکل 2). به ازای افزایش هر کیلوگرم افزایش ماده خشک اندام هوایی، عملکرد دانه

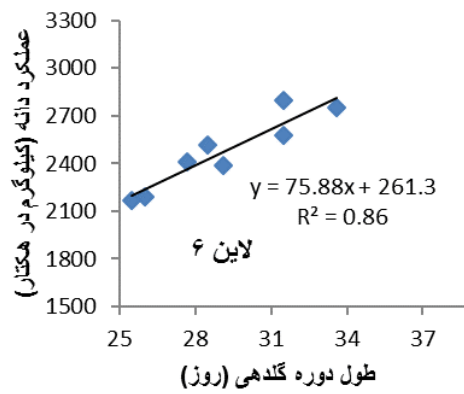
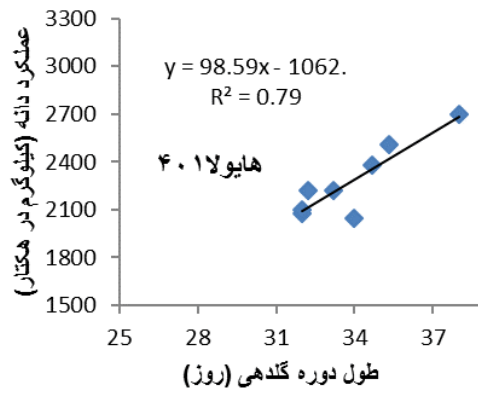


شکل 2- رابطه بین میزان ماده خشک اندام‌های هوایی در رسیدگی فیزیولوژیکی و عملکرد دانه

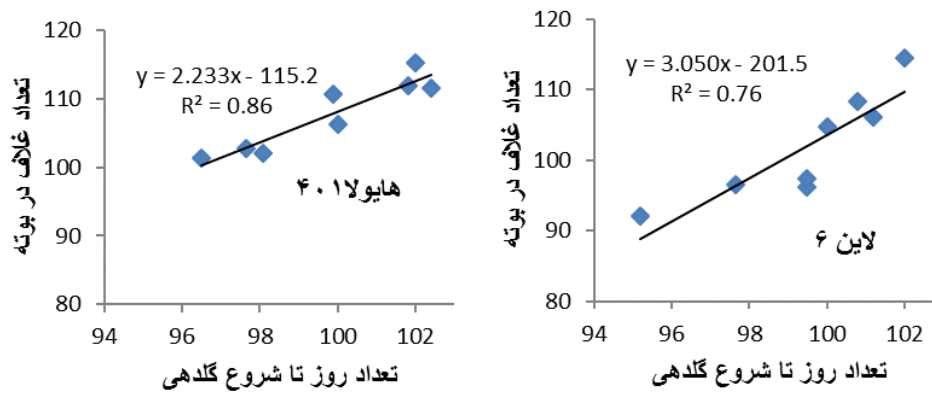
درصد از تغییرات را توجیه کرد. این رابطه نشان می‌دهد که به ازای هر روز افزایش تعداد روز تا شروع گلدهی، تعداد غلاف در بوته در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 2/233 و 3/05 عدد افزایش یافت (شکل 4). به همین ترتیب بین طول دوره گلدهی با تعداد غلاف در بوته نیز رابطه رگرسیونی خطی قوی مشاهده شد که این رابطه در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب 85 و 70 درصد از تغییرات را توجیه کرد (شکل 5). این رابطه نشان می‌دهد که به ازای هر روز افزایش طول دوره گلدهی، تعداد غلاف در بوته کلزا در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 2/49 و 3/465 عدد افزایش یافت (شکل 5).

از طرفی با افزایش طول دوره گلدهی عملکرد دانه نیز در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه افزایش یافت. شکل 3 نشان می‌دهد که رابطه رگرسیونی خطی مثبت قوی بین طول دوره گلدهی و عملکرد دانه در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب 79 و 86 درصد از تغییرات را توجیه کرد. این رابطه نشان می‌دهد که به ازای هر روز افزایش طول دوره گلدهی، عملکرد دانه کلزا در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 98/6 و 75/9 کیلوگرم در هکتار افزایش یافت (شکل 3). این روابط نشان‌دهنده اهمیت طول دوره‌های مختلف فنولوژیکی در افزایش عملکرد دانه کلزا است.

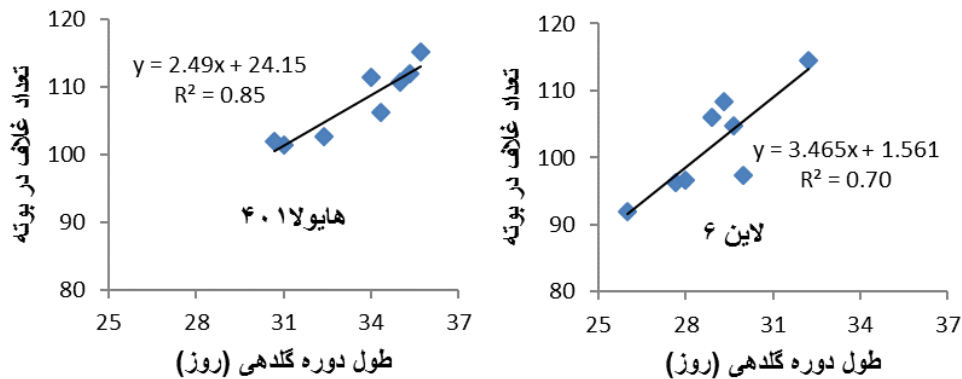
تأثیر مثبت افزایش طول دوره‌های مختلف فنولوژیکی از طریق افزایش جزئی از عملکرد که طی آن دوره تشکیل و نهایی می‌شود سبب افزایش عملکرد دانه کلزا شده است. به عنوان مثال تعداد غلاف در بوته تحت تأثیر تعداد روز تا شروع گلدهی و طول دوره گلدهی قرار گرفت. بین تعداد روز تا شروع گلدهی با تعداد غلاف در بوته رابطه رگرسیونی خطی مثبت قوی مشاهده شد که این رابطه در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب 86 و 76



شکل 3- رابطه بین طول دوره گلدهی و عملکرد دانه



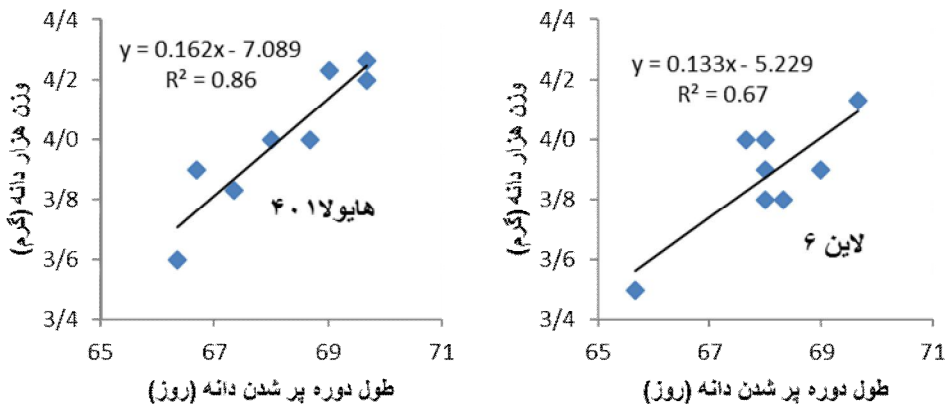
شکل 4- رابطه بین تعداد روز تا شروع گلدهی با تعداد غلاف در بوته



شکل 5- رابطه بین طول دوره گلدهی با تعداد غلاف در بوته

درصد از تغییرات را توجیه کرد (شکل 6). این رابطه نشان می‌دهد که به ازای هرروز افزایش طول دوره پر شدن دانه، وزن هزار دانه کلزا در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب برابر 0/162 و 0/133 گرم افزایش یافت (شکل 6).

وزن هزار دانه به عنوان آخرین جزء عملکرد تحت تأثیر طول دوره پر شدن دانه قرار می‌گیرد. در این مطالعه بین طول دوره پر شدن دانه و وزن هزار دانه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه رابطه مثبت معنی‌داری مشاهده شد که این رابطه در هیبرید هایولا 401 و لاین 6 به ترتیب 86 و 67



شکل 6- رابطه بین طول دوره پر شدن دانه و وزن هزار دانه

مهم‌ترین عوامل محیطی تأثیرگذار بر فنولوژی گیاهان زراعی بوده و فیزیولوژی گیاه به‌ویژه وضعیت هورمونی از عوامل درونی تأثیرگذار محسوب می‌شوند. همچنین عوامل زیستی به‌ویژه موجودات زنده‌ای که با گیاهان رابطه متقابل دارند رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. ریز جانداران محیط اطراف ریشه به‌ویژه باکتری‌های افزایشنده رشد گیاهان نیز از طریق سازوکارهای مختلف فعالیتشان رشد و نمو گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. از این رو رویدادهای نموی گیاهان زراعی از پدیده‌های زیستی هستند که تحت تأثیر فعالیت باکتری‌های محرک رشد گیاه واقع می‌شوند. به‌عنوان مثال لین و همکاران (1989) ظهور زودتر کاکل ذرت در اثر تلقیح بذر با این باکتری‌ها را گزارش کرده‌اند. هابکوت (1997) اظهار

فنولوژی دانش مطالعه پدیده‌های زیستی موجودات زنده از جمله گیاهان زراعی است که تحت تأثیر عوامل مختلف مانند شرایط اقلیمی به‌ویژه دما قرار می‌گیرد (استوارت و همکاران، 1998). میزان توسعه و نمو گیاه در هر یک از مراحل فنولوژیک میزان نمو را مشخص ساخته و بررسی میزان نمو گیاه زراعی در ارتباط با شرایط محیطی فنولوژی گیاه زراعی نامیده می‌شود. تاریخ ظهور گیاهچه - ها، شروع و پایان گلدهی و رسیدگی فیزیولوژیکی از مهم‌ترین مراحل فنولوژیکی کلزا محسوب شده و اهمیت ویژه‌ای در رشد و نمو و عملکرد آن دارند.

به‌طور کلی عوامل مختلف درونی و بیرونی فنولوژی گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. دما، فتوسنتز، محیط، حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه و تراکم بوته از

آب و هوایی مناسب داشته باشد، همواره مد نظر محققین اصلاح نباتات و فیزیولوژی گیاهان زراعی قرار گیرد و انتظار بر این است که بتوان از مدل‌های ارائه شده در ارتباط با واکنش نمو ارقام به شرایط محیطی استفاده کرد.

به هر حال جنس *آزوسپیریلوم* عموماً به عنوان باکتری‌های تولیدکننده هورمون‌های گیاهی، پلی آمین‌ها و اسیدهای آمینه در محیط کشت شناخته شده است. هورمون‌های گیاهی ساخته شده توسط باکتری‌های جنس *آزوسپیریلوم* روی سرعت تنفس، متابولیسم، رشد و توسعه ریشه تأثیر می‌گذارند و در نتیجه جذب آب و عناصر غذایی در گیاهان تلقیح شده را افزایش می‌دهد، که این عمل می‌تواند منجر به افزایش اجزای عملکرد و در نتیجه عملکرد شود (محمدمدی و همکاران، 2010). باشان و همکاران (1997) گزارش کردند باکتری‌های محرک رشد می‌توانند نقش کنترل‌کنندگی روی عوامل بیماری‌زای خاک‌زی داشته باشند. در مطالعه آن‌ها مهم‌ترین باکتری غیر همزیست محرک رشد گیاه مربوط به جنس *آزوسپیریلوم* بود. این باکتری می‌تواند باعث افزایش رشد گیاهان با مکانیسم‌های مختلف شود (ارزانش و همکاران، 1387). اگرچه بعضی از جدایه‌های *آزوسپیریلوم* برای گیاهان خاص تأثیر بیشتری دارند. اما مزیت اصلی این جنس این است که رابطه اختصاصی با گیاه خاصی نداشته و می‌تواند باعث افزایش رشد در گونه‌های مختلف گیاهان شود. به‌رحال دامنه تأثیر این ویژگی‌ها تحت تأثیر بعضی از عوامل همچون نوع جدایه باکتری، گونه و نوع رقم مورد مطالعه، شرایط محیطی و خاکی و همچنین حضور سوبسترای خاص قرار دارد.

داشت که در دوره بین سبز شدن تا شروع گلدهی در کلزا، دما، فتوپریود و بهاره سازی عوامل مؤثر بر نمو کلزا هستند، درحالی‌که نمو کلزا از کاشت تا سبز شدن و از شروع گلدهی تا رسیدگی فیزیولوژیک تنها تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد. ناندا و همکاران (1996) مشاهده کردند که به ازای هر روز تأخیر در کاشت کلزا از 13 اکتبر، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک 0/62 روز کاهش یافت. در همین مطالعه، با کاهش دمای هوا از 24 به 2 درجه سانتی‌گراد، زمان حرارتی تجمعی از سبز شدن تا ظهور غنچه کاهش یافت. مقدار زمان حرارتی تجمعی از سبز شدن تا ظهور غنچه‌های گل معادل 350 درجه روز بود، که در ارقام مختلف به ازای هر درجه کاهش دما، میزان کاهش آن بین 22 تا 41 درجه روز متفاوت بود.

اگرچه تمام مراحل نموی تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد، ولی حساسیت مراحل مختلف نمو گیاهان به دما متفاوت است. در گندم، گزارش شده است که حساسیت به دما در مراحل رویشی کمتر از مراحل زایشی است. آدای و پیرسون (1992) مشاهده کردند که رابطه بین دما با طول دوره کاشت تا سبز شدن و طول دوره پر شدن دانه خطی بود. در مطالعه اسلافر و راوسون (1995) رابطه بین نمو گیاه از سبز شدن تا گرده‌افشانی با دما طی این مرحله با توجه به رقم مورد مطالعه متفاوت بود و در تعدادی از ارقام خطی و در تعدادی دیگر غیرخطی بود. به هر حال، درک واکنش نمو ژنوتیپ‌های کلزا به شرایط محیطی مختلف جهت مدل‌سازی نمو آن‌ها ضروری است. توانایی گیاه جهت تطبیق مراحل حساس نموی با شرایط عدم تنش در طی فصل رشد می‌تواند سبب فرار گیاه از این تنش‌ها شود. این مسئله سبب می‌شود که انتخاب و معرفی ژنوتیپ‌هایی که مراحل حساس فنولوژیک آن‌ها تطابق بیشتری با شرایط

فهرست منابع:

1. احیائی، م.ع. و بهبهانی زاده، ع. 1372. شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک، نشریه 893، موسسه تحقیقات خاک و آب، 90 صفحه
2. ارزانش م.ح.، علیخانی، ح.ع.، رحیمیان، ح.ا.، خاوازی، ک.بی. همتا، م.ر. (1387) بررسی پتانسیل کاربرد برخی از جدایه‌های *آزوسپیریلومی* محرک رشد گیاه بر عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L) در سطوح مختلف خشکی 208 صفحه. پایان نامه دوره دکتری. دانشگاه تهران. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی. دانشکده مهندسی آب و خاک
3. رجب زاده، ف.، ارزانش، م.ح.، علمایی، م.، قربانی، ر. 1388. معرفی یک محیط مناسب برای بررسی توان حلالیت فسفات‌های نامحلول توسط باکتری‌های *Azospirillum spp.* مجموعه مقالات یازدهمین کنگره علوم خاک ایران (مدیریت خاک و امنیت غذایی). پردیس کشاورزی و منابع طبیعی گلستان. گرگان

4. عرب، س. م.، غ. ع.، اکبری، ح. ع.، علیخانی، م. ح.، ارزانش، ا.، اله‌دادی و ر. عباسی. 1384. توانایی انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی توسط باکتری‌های بومی جنس *Azospirillum* و تأثیر آن بر ذرت. اولین همایش ملی گیاهان علوفه‌ای کشور، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، تهران. ش. 2، ص. 73.
5. Addae, P.C. and Pearson, C.J. 1992. Thermal requirements for germination and seedling growth of wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 43: 585-594.
6. Ahmad, G., Jan, A., Arif, M., Jan, M. T., & Khattak, R. A. 2007. Influence of nitrogen and sulfur fertilization on quality of canola (*Brassica napus* L.) under rainfed conditions. *Journal of Zhejiang University Science* 8(10): 731-737
7. Akram, N. A. (2012). Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (*Brassica juncea* L.). *African Journal of Biotechnology*, 11(11):2694-2703
8. Arzanesh M.H., H.A.Alikhani, K. Khavazi, H.A. Rahimian, Miransar, M. 2009. In vitro growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings, inoculated with *Azospirillum* sp., under drought stress. *International journal of Botany* 5(3): 244-249.
9. Bartel, B. 1997. Auxin biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 51-66.
10. Bashan, Y. and De-Bashan, L.E. 2005. Plant Growth-Promoting. In: *Encyclopaedia of soil in the environment*. (Editor-in-chief) D. Hillel, Elsevier, Oxford, U.K. 1: 103-115
11. Bashan, Y. and Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). *Canadian Journal of microbiology* 43: 103–121.
12. Bashan, Y., Levanony, H. and Ziv-Vecht, O. 1997. The fate of field-inoculated *Azospirillum brasilense* Cd in wheat rhizosphere during the growing season. *Can. J. Microbiol.* 33: 1074–1079.
13. Bashan, Y., Ream, Y., Levanony, H., and Sade, A. 1989. Nonspecific responses in plant growth, yield, and root colonization of noncereal crop plants to inoculation with *Azospirillum brasilense* Cd. *Canadian Journal of Botany* 67: 1317–1324.
14. Chandrasekar, B.R., Ambrose, G. and Jayabalan, N. 2005. Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of *Echinochloa frumentacea* (Roxb) Link. *Journal of Agriculture technology* 1: 223-234.
15. Crozier, A., Arruda, P., Jasmin, J.M., Monteiro, A.M. and Sandberg, G. 1988. Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 2833-2837
16. Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M., and Chauhan, S.M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research* 159: 371-394
17. Faraji, A. and Soltani, A. 2007. Evaluation of yield and yield components of canola spring genotypes, in two different climate condition years. *Seed and Plant* 23: 191-202 (In Farsi text).
18. Faraji, A., Latifi, N., Soltani, A. and Shirani Rad, A.H. 2008. Effect of high temperature stress and supplemental irrigation on flower and pod formation in two canola (*B. napus* L.) cultivars at Mediterranean climate. *Asian Journal of Plant Sciences* 7: 343-351
19. Faraji, A., Latifi, N., Soltani, A. and Shirani Rad, A.H. 2009. Seed yield and water use efficiency of canola (*B. napus* L.) as affected by high temperature stress and supplemental irrigation. *Agricultural Water Management* 96: 132-140
20. German, M.A., Burdman, S., Okon, Y. and Kigel, J. 2000. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. *Biology and Fertility of Soils* 32: 259–264.

21. Habekotte, B. 1997. Evaluation of seed yield determining factors of winter oilseed rape (*B. napus* L.) by means of crop growth modeling. *Field Crops Research* 54: 137-151.
22. Hameeda, B., Harini, G., Rupela, O.P., Wani, S.P. and Reddy, G. 2008. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiological. Research* 163(2):234-42
23. Holguin, G., Patten, C.L. and Glick, B.R. 1999. Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. *Biol. Fertil. Soils* 29: 10-23
24. Kumar A, Singh DP, Bikram S, Yadav Y. 2001. Effects of nitrogen application on partitioning of biomass, seed yield and harvest index in contrasting genotype of oilseed brassicas. *Indian Journal of Agronomy* 46: 162-167
25. Lin ,C.J., Jane, S.Y. and Kue, H.Y. 1989. The effect of inoculating maize seed with free-living N-fixing bacteria on growth and yield of maize. *Journal Agriculture Research China* 38:395-404
26. Miller PR, Angadi SV, Androsoff GL, McConkey BG, McDonald CL et al. 2003. Brandt, H.W. Cutforth, M.H. Entz and K.M. Volkmar, 2003. Comparing Brassica oilseed crop productivity under contrasting N fertility regimes in the semiarid Northern Great Plains. *Canadian Journal of Plant Science* 83: 489-497
27. Mohammadi, R., Olamaee, M., Ghorbani Nasrabadi, R. and Chakeralhossaini, M.R. 2010. Effects of urea fertilizer, organic matter and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on N uptake and yield of wheat (*Triticum aestivum* C.V Alvand). *Journal of Plant Production* 17: 77-92
28. Nanda, R., Bhargava, S.C., Tomar, D.P.S. and Rawson, H.M. 1996. Phenological development of *B. campestris*, *B. juncea*, *B. napus* and *B. carinata* grown in controlled environments and from 14 sowing dates in the field. *Field Crops Research* 46: 93-103
29. Perez , E., Sulbaran , M., Ball, M. and Andres, L. 2007. Isolation and characterization of mineral phosphate –solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern venezuelan region. *Soil Biology and Biochemistry* 39: 2905-2914
30. Rodriguez, H., and Frage, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319-339
31. Rodriguez, H., Gonzalez, T., Goire, I. and Bashan, Y. 2004. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. *Naturwissenschaften* 91: 552- 555
32. Seshadri, S., Muthukumarasamy, R., Lakshminarasimhan, C. and Ignacimuthu, S. 2000. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferens*. *Current Science* 79: 565-567
33. Shah, S., Rao, K.K. and Desai, A. 1993. Production of catecholate type of siderophores by *Azospirillum lipoferum* M. *Indian Journal of Experimental Biology* 31: 41-44
34. Sharma S.K., Rao R.M. and Singh D. P. 1997. Effects of crop geometry and nitrogen on quality and oil yield of Brassica species. *Indian Journal of Agronomy* 42: 357-360
35. Shehata, M.M. and EL-Khawas, S.A. 2003. Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower yield. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6: 1257-1268
36. Slafer, G.A. and Rawson, H.M. 1995. Rates and cardinal temperatures for processes of development in wheat: effects of temperature and thermal amplitude. *Australian Journal of Plant Physiology*. 22: 913-923
37. Stewart, D.W., Dwyer, L.M. and Carrigan, L. 1998. Phenological temperature responses of maize. *Agronomy Journal* 90:73-79
38. Tayo, T.O. and Morgan, D.G. 1979. Factors influencing flower and pod development in oilseed rape (*B. napus*). *Journal of Agricultural Science Cambridge* 92: 363-373

39. Vanblue, E., Marshal, K., Lambrecht, M., Mathys, J. and Vander Leyden, J. 2004. Annotation of the Prhico plasmid of *Azospirillum brasilense* reveals its role in determining the outer surface composition. FEMS Microbiol. Letters 232: 165-172
40. Wu, SC., Cao, Z.H., Li, Z.G. and Cheung, K.C. 2005. Effect of biofertilizer containing N-fixers, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125: 155-166
41. Yasari, E., Azadgoleh, M. A. E., Mozafari, S. and Alashti, M.R. 2009. Enhancement of growth and nutrient uptake of rapeseed (*Brassica napusL.*) by applying mineral nutrients and biofertilizers. Pakistan Journal of Biological Sciences 12(2): 127-133

