نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار/ جلد ۲۶ شماره ۴/ زمستان ۱۳۹۵

اثر برخی از جدایه‌های باکتریایی بر رشد ریشه و جذب عناصر غذایی درذرت(*Zea mays* L.)

شکوفه مرادی[۱]، محمدرضا ساریخانی[۲*]، ناصر علی‌اصغرزاد[۳]

تاریخ دریافت: ۹٤/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/٦/۲۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- دانشیار بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
*مسئول مکاتبه: Email: rsarikhani@yahoo.com

چکیده

ریشه‌زایی گیاه می‌تواند ناشی از تلقیح میکروبی و اکسین میکروبی باشد. تولید اکسین توسط باکتری‌ها با ایفای نقش در ریشه‌زایی گیاه به عنوان یکی از ویژگی‌های تحریک‌کننده رشد گیاه شناخته می‌شود. بر این اساس در قالب آزمایش فاکتوریل، توان تولید اکسین برخی از جدایه‌های باکتریایی (۲۵ جدایه) در شرایط درون‌شیشه‌ای مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که تولید اکسین جدایه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای، در حضور و عدم حضور تریپتوفان (به عنوان پیش ماده تولید اکسین) در محیط NF، از ۰/۷۵ تا ۲/۲۸ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بود. بالاترین میزان تولید اکسین متعلق به جدایه Az-3 بود و کمترین میزان در جدایه Az-48 دیده شد. همچنین به منظور بررسی اثربخشی این باکتری‌ها در ریشه‌زایی و رشد عمومی گیاه ذرت در بستر شن استریل، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی به اجرا درآمد. در طول آزمایش تمام عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از طریق محلول غذایی هوگلند تأمین شد. نتایج آزمایش حاکی از آن بود که بیشترین حجم ریشه به مقدار ٤۷/٦۷ و ۳۸/٦۷ سانتی‌متر مکعب در جدایه‌هایAz-13 وAz-73 به دست آمد، در حالی که بیشترین وزن خشک ریشه در جدایه Az-8 مشاهده شد. جدایه Az-48 بیشترین وزن خشک کل بوته را در بین جدایه‌ها به خود اختصاص داد. آنالیز عناصر گیاهی در بافت خشک گیاه نشان داد که جدایه Az-48 با مقادیر ۸۰/٦٦، ۱۰/۸۵، ۲٤۱/۲ و ٤/٦۷ میلی‌گرم بر گلدان به‌ترتیب بیشترین مقادیر عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و آهن را جذب نموده است. نتایج این آزمایش نشان داد هرچند جدایه Az-48 دارای کمترین میزان تولید اکسین بود اما در بهبود رشد عمومی گیاه موثر واقع شده است که به نظر می‌رسد مکانیسمی به‌غیر از تولید اکسین در این امر دخالت داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: اکسین، باکتری، تریپتوفان، ذرت، ریشه‌زایی

The Effect of Some Bacterial Isolates on Root Growth and Nutrient Uptake in Corn (*Zea mays* L.)

Shokufeh Moradi[1], Mohammad Reza Sarikhani[2*], Naser Aliasgharzad[3]

Received: February 1, 2016 Accepted: September 13, 2016
1-MSc Student of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2-Assoc. Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3-Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author: Email: rsarikhani@yahoo.com

Abstract

Root initiation can be influenced by microbial inoculation and microbial auxin. Auxin production is known as one of plant growth promoting characteristics of bacteria. This hormone has main role in root-initiation. Thus, in a factorial experiment the ability of some bacterial isolates (25 isolates) were assessed in in-vitro condition. Results showed that auxin-production by the isolates in NF medium containing 0 and 100 $mg.kg^{-1}$ of tryptophan varied from 0.75-2.28 $mg.l^{-1}$ The highest and lowest amount of auxin were measured by Az-3 and Az-48, respectively. Furthermore, in order to study the effect of isolates inoculation on root initiation and general growth of corn, a completely randomized design experiment were carried out. In the whole period of experiment all nutrient solution were added to the pots via Hogland solution, since the sterile sand or inert medium were used as the bed of pot culture. Maximum volume of roots were observed in the isolates Az-13 and Az-73 by the volume of 47.67 and 38.67 cm^3 respectively, whereas Az-8 had the highest root dry matter. Maximum total dry weight was gained by isolate Az-48. Nutrient analysis in dry tissue of corn showed that Az-48 had highest uptake of nitrogen, phosphorus, potassium and iron with the value of 80.66, 10.85, 241.2 and 4.67 $mg.pot^{-1}$ Our results showed that although Az-48 had lowest auxin-production ability in in-vitro assay but in pot culture it was very efficient and it seems that other mechanisms play the role in this increment.

Keywords: Auxin, Bacteria, Corn, Tryptophan, Root Initiation

مقدمه

استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید در عملیات کشاورزی از ۶۰ سال پیش تا کنون آغاز شده‌است. همچنین افزودن این جمعیت‌های مفید می‌تواند مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی مانند کمبود آب، عناصر غذایی و سمیت عناصر سنگین را افزایش دهد (وو و همکاران ۲۰۰۵). بهبود کیفیت خاک می‌تواند بر اساس شاخص‌های کیفی و کمی جامعه زیستی آن ارزیابی شود. به همین دلیل استفاده از کودهای زیستی از موثرترین شیوه‌های مدیریتی برای حفظ کیفیت در سطح مطلوب محسوب می‌گردد (کوکالیس و همکاران ۲۰۰۶). کشاورزی ارگانیک یک سیستم تولیدی است که در آن

کاربرد کودهای شیمیایی، حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد که به صورت مصنوعی تهیه می‌شوند مجاز نیست و کاربرد گسترده و مناسب کودهای زیستی، بقایای گیاهی، کودهای دامی و کودهای سبز توصیه می‌شود (ارهان و همکاران ۲۰۰٦). هورمون ایندول-۳- استیک اسید (IAA)[۱] مهم‌ترین نوع اکسین طبیعی و اولین هورمون گیاهی بود که در سال ۱۹۸۸ کشف شد و علاوه بر گیاهان، بسیاری از میکروارگانیسم‌ها نیز توانایی سنتز آن را دارا می‌باشند (تیل و همکاران ۲۰۰٦). ایندول-۳-استیک اسید (اکسین) از طریق تحریک نمودن رشد ریشه و افزایش انشعابات آن در تحریک رشد گیاه دخالت دارد (دیکر و همکاران ۲۰۱۱).

یکی از منابع بالقوه برای تولید اکسین در خاک، میکروارگانیسم‌ها هستند. چندین میکروارگانیسم ریزوسفری که توانایی تولید اکسین را دارند توسط محققین مختلف گزارش شده‌است (فرانکوبرگر و ارشد ۱۹۹۵؛ زهیر و همکاران ۱۹۹۷؛ اصغر و همکاران ۲۰۰٤ و زهیر و همکاران ۲۰۰۵). در میان میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه که ظرفیت تولید هورمون‌های گیاهی را دارند می‌توان به *ازتوباکتر*، *سودوموناس*، *آزوسپیریلوم*، *ریزوبیوم*، *باسیلوس*، *انتروباکتر* و قارچ‌های مایکوریز اشاره کرد (هیرش و همکاران ۱۹۹۷). از جمله مهم‌ترین موجودات تولیدکننده IAA، باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشند و به دلیل اینکه اکثراً در ریزوسفر گیاهان و یا در همزیستی با آنها زندگی می‌کنند، به‌عنوان باکتری‌های PGPR[۲] شناخته می‌شوند (تیل و همکاران ۲۰۰٦). ریزوباکترهای محرک رشد گیاه به طور مستقیم یا غیرمستقیم در توسعه و ارتقاء رشد گیاه موثرند و تولید اکسین توسط این باکتری‌ها، یکی از مهم‌ترین دلایل بهبود عملکرد است (حیدریان و ساریخانی ۲۰۱۱؛ خاکی پور و همکاران ۲۰۰۸؛ وسی ۲۰۰۳). طیف گسترده‌ای از باکتری‌های خاکزی در ریزوسفر شناخته شده‌اند که می‌توانند رشد بسیاری از گونه‌های مهم زراعی را بهبود بخشند (قلاوند و همکاران ۲۰۰۷). در یک گزارش جامع، زهیر و همکاران (۲۰۰٤) اعلام کردند پاسخ گیاهان به تلقیح باکتری‌های PGPR، به زمان، نوع کاربرد و خاک‌های مختلف وابسته است. آنها گزارش کردند که تولید اکسین میکروبی یکی از مکانیسم‌های مهم در در بهبود رشد و عملکرد گیاهان به شمار می‌رود. دوکا و همکاران (۲۰۱٤) فاکتورهای موثر بر تولید فیتوهورمون‌ها و نقش IAA در فیزیولوژی باکتری و در واکنش‌های میکروب-گیاه شامل تحریک ریشه گیاه و بیماری‌زایی در گیاه را بررسی کردند و عنوان داشتند که برای سنتز IAA سه راه اصلی وجود دارد: ۱) ایندول-۳-پیرووبک اسید ۲) ایندول-۳-استامید ۳) ایندول-۳-استو نیتریل. گیاهان و برخی از پاتوژن‌های گیاهی و دیگر باکتری‌ها می‌توانند IAA تولید کنند (ژائو ۲۰۱۰). توانایی باکتری‌های ریزوسفری در تولید IAA بر حسب نوع باکتری و شرایط کشت بسیار متفاوت می‌باشد (زهیر و همکاران ۲۰۰۰). اثرات محرک رشدی زادمایه ریزوباکترهای مولد IAA به طور عمده به دلیل تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ساختار ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی می‌باشد (یاسمین و همکاران ۲۰۰۷).

شواهدی وجود دارد که جدایه‌های ریزوبیومی از طریق توسعه سیستم ریشه‌ای، رشد و عملکرد گیاه برنج را افزایش داده‌اند (بیسواس و همکاران ۲۰۰۰). آورورد و همکاران (۲۰۱۰) تولید اکسین را در جدایه‌های ریزوبیوم مورد آزمایش قرار دادند و مقادیر ۰/٤۵ تا ۱۰/۸٦ میلی‌گرم بر لیتر را گزارش کردند. شکری و امتیازی (۲۰۱۲) تولید IAA در ۹ جدایه مختلف ریزوبیوم را به روش کمی بریک (بریک و همکاران ۱۹۹۱) بررسی کردند و نتایج نشان داد که بهترین جدایه که از ریزوسفر نخود جداسازی شده بود دارای بالاترین راندمان تولید به میزان ٤۳۹ میلی‌گرم بر لیتر بود. روی

۱- Indole-3-acetic acid

۲-Plant Growth Promoting Rhizobacteria

و باسو (۲۰۰٤) مقادیر بالایی از تولید اکسین توسط جدایه‌های *ریزوبیوم* در حضور تریپتوفان (حدود ۱٦/٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر) را گزارش کردند. همچنین در آزمایشی دیگر داتا و باسو (۲۰۰۰) تولید اکسین توسط گونه‌های *ریزوبیوم* جداشده از گره‌های ریشه *Canjanus cajan* را بررسی کردند که بالاترین میزان تولید را در حضور تریپتوفان ۹۹/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند. عباس‌زاده دهجی و همکاران (۲۰۰۸) توان تولید اکسین توسط ٤۰ سویه باکتری *سودوموناس فلورسنس* و اثرات آن بر رشد گیاهچه‌های کلزا را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که افزایش تریپتوفان باعث افزایش تولید اکسین گردید. اشفق و همکاران (۲۰۱۱) تولید اکسین در ٤٤ جدایه *ریزوبیا* را در حضور و عدم حضور تریپتوفان اندازه‌گیری کردند و اثرات محرک رشدی ۳٤ جدایه از بین ٤٤ جدایه ریزوبیایی را بر رشد ماش بررسی کردند. نتایج نشان داد که تلقیح با جدایه‌های انتخابی، طول ریشه و بخش هوایی و وزن تر و خشک بخش هوایی را به میزان قابل توجهی افزایش داد. دولتی و همکاران (۲۰۱۲) توانایی تولید اکسین ۳۰ جدایه *ازتوباکتر* را با استفاده از محیط کشت مایع LB-T، بررسی کردند و نشان دادند که حداکثر تولید اکسین در جدایه Az4 به میزان ۲۷/۳ میلی‌گرم بر لیتر و حداقل آن در جدایه Az20 به میزان ۰/۰۱۵ میلی‌گرم بر لیتر بود. احمد و همکاران (۲۰۰۵) تولید ۷۰ میلی‌گرم بر لیتر IAA را در یک سویه *ازتوباکتر* گزارش کردند. فالیک و همکاران (۱۹۸۹) افزایش رشد ریشه ذرت را در اثر ترشح اکسین توسط باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* مشاهده کردند، علاوه بر آن کاربرد مایه تلقیح این باکتری موجب افزایش وزن خشک ذرت شد. اثباتی و همکاران (۲۰۱٤)، باکتری‌های *آزوسپیریلوم* را جداسازی و خالص‌سازی کردند و خصوصیات محرک رشدی آنها را روی گیاه گوجه‌فرنگی بررسی کردند و نشان دادند طول ساقه گیاه در اثر تلقیح بذر با باکتری نسبت به شاهد ۵۳٪ افزایش داشت و همچنین تلقیح با باکتری حجم ریشه و وزن خشک ریشه را نیز به مقدار قابل توجهی افزایش داد. کلودیا و همکاران (۲۰۰۰) به این نتیجه دست یافتند که تلقیح ریشه گوجه‌فرنگی با باکتری *آزوسپیریلوم*، وزن تازه اندام هوایی و ریشه را به ترتیب ٤٪ و ۳٪ افزایش داد. روستا و همکاران (۱۹۹۸) در یک آزمون گلخانه‌ای اثر سویه‌های مختلف *آزوسپیریلوم* را بر رشد گندم و ذرت بررسی و گزارش کردند که تلقیح، تاثیر معنی‌داری بر صفات رشد گیاه گندم نداشت. خاکی پور و همکاران (۲۰۱۲) توانایی تولید اکسین ۵۰ سویه از *P. putida* و *P. fluorecens* و تاثیر تلقیح آنها را بر رشد کلزا مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که این دو باکتری به ترتیب ۲٤/۱ و ۳۱/٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر IAA تولید کردند و همچنین نشان دادند که تلقیح این سویه‌ها موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع اندام هوایی و وزن خشک ریشه شد. زای و همکاران (۱۹۹٦) نشان دادند که تحریک رشد گیاه کلزا به وسیله سویه *P. putida* GR12-2 به علت تولید IAA بود. آنها نشان دادند که تلقیح این سویه‌ها موجب افزایش صفات رشدی گیاه از جمله وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه شد.

هورمون اکسین در ریشه‌زایی نقش مهمی دارد و سیستم ریشه گیاهان، ظرفیت گیاه را برای جذب آب و عناصر غذایی تعیین می‌کند، همچنین ابزاری برای درک شرایط محیطی خاک است. از زمان تشریح هورمون اکسین، رابطه تنگاتنگی بین این هورمون و توسعه و رشد ریشه گیاهان بوده است. با توجه به اهمیت این امر اهداف زیر در این آزمایش دنبال شد: اول آنکه توان تولید اکسین ۲۵ جدایه میکروبی موجود در بانک میکروبی مورد سنجش قرار گیرد و دوم اینکه در بستر شن استریل اثر تلقیح آنها در ریشه‌زایی و رشد عمومی گیاه ذرت مشخص شود. پیش فرض اولیه آن بود که باکتری با توان تولید اکسین بیشتر در شرایط درون شیشه‌ای آزمایشگاه منجر به ریشه‌زایی بیشتر در کشت گیاه خواهد شد و ظرفیت بیشتری را برای جذب عناصر

غذایی توسط گیاه فراهم خواهد نمود و در مجموع رشد عمومی گیاه افزایش خواهد یافت.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های مورد استفاده و سنجش اکسین

در این آزمایش میزان تولید اکسین در ۲۵ جدایه باکتریایی(Az-3، Az-6، Az-8، Az-11، Az-12، Az-13، Az-15، Az-18، Az-19، Az-20، Az-21، Az-29، Az-31، Az-37، Az-48، Az-50، Az-52، Az-59، Az-63، Az-65، Az-68، Az-70، Az-71، Az-73، AC46-I و C16-2O) موجود در بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز بررسی شد. قابل ذکر است که دو باکتری C16-2O و AC46-I به ترتیب متعلق به جنس *سودوموناس* و *آزوسپیریلوم* به عنوان باکتری‌های کنترل در این آزمایش لحاظ شدند و هدف اصلی آزمایش ارزیابی سایر جدایه‌ها بود که برای اولین بار مورد استفاده قرار می‌گرفتند. به‌منظور اندازه‌گیری تولید اکسین توسط جدایه‌ها، از محیط کشت تغییر یافته NF (بالدانی و دوبرینر ۱۹۸۰) در حضور و عدم حضور پیش‌ماده تریپتوفان استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تیمار باکتری (۲۵ جدایه باکتریایی به همراه نمونه شاهد بدون تلقیح) و فاکتور تریپتوفان (در دو سطح۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. ابتدا کشت شبانه از باکتری‌ها در محیط NB تهیه شد، سپس از سوسپانسیون باکتری به مقدار ۵۰۰ میکرولیتر به ۳۰ میلی‌لیتر محیط NF در حضور و عدم حضور تریپتوفان اضافه شد. برای نمونه شاهد ۵۰۰ میکرولیتر از محیط NB استریل به ۳۰ میلی‌لیتر محیط NF افزوده شد. پس از تلقیح باکتری‌ها در محیط NF به مدت ۷۲ ساعت در شیکر انکوباتور در دمای ۲۶ درجه سلسیوس و ۱۲۰ دور در دقیقه نگه‌داری شدند. محتویات ارلن با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ رسوب داده شدند. پس از رسوب دادن نمونه‌ها، ۲ میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی به لوله‌های آزمایش تمیز انتقال داده‌شد و به هرکدام از آنها ۲ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی ($H_2SO_{4(12M)}$+$FeCl_{3(0.5M)}$) اضافه شد. پس از گذشت ۳۰دقیقه OD نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. پس از اضافه کردن معرف سالکوفسکی، شدت تولید رنگ صورتی نشان‌دهنده تولید اکسین خواهد بود. استانداردهای آزمایش از محلول ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ایندول استیک اسید (IAA) در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند (دیکر و همکاران ۲۰۱۱).

کشت ذرت در بستر شن استریل

به منظور بررسی اثر تولید اکسین توسط جدایه‌هابر ریشه‌زایی ورشد گیاه ذرت، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. جهت بررسی بهتر تأثیر جدایه‌های فوق بر ریشه‌زایی از بستر شن استریل به مقدار لازم در گلدان‌های ۲ کیلوگرمی استفاده شد. جهت تلقیح باکتری‌ها در گلدان ابتدا کشت شبانه در محیط NB از باکتری‌ها تهیه شد و سوسپانسیون باکتریایی به‌خوبی با مخلوطی از حامل باگاس و پرلیت (۱:۱) آغشته شدند. بذرهای ذرت مورد استفاده پس از شستشوی کامل با آب مقطر با استفاده از وایتکس ۰/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شدند. بذرها با حامل‌ها آغشته شده و تعداد ٤ بذر در هر گلدان کاشته شد. پس از رشد گیاهچه‌ها، دو گیاه در هر گلدان حفظ شد. آبیاری گلدان‌ها با استفاده از آب مقطر استریل که در ابتدا به صورت یک روز در میان و به تدریج با رشد رویشی گیاه به صورت روزانه انجام شد. عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از طریق محلول غذایی هوگلند در ابتدا دو بار در هفته و در طول دوره رشد با افزایش رشد گیاه به صورت یک روز در میان در اختیار گیاه قرار گرفت (هوگلند و آرنون ۱۹۵۰) در

پایان دوره رشد (دو ماهه) پس از قطع بخش هوایی و جدا کردن بخش هوایی و ریشه، وزن تر بخش هوایی و ریشه توزین شد و حجم ریشه‌ها با استفاده از تغییر حجم آب در استوانه‌ی شیشه‌ای مدرج اندازه‌گیری شد. نمونه‌های گیاهی به مدت ۷۲ ساعت در دمای ٦٠ درجه درون آون نگه‌داری شدند سپس وزن خشک آنها نیز تعیین شد. نمونه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب برقی کاملاً خرد شدند به طوری که به‌راحتی از الک ۰/۵ میلی‌متر عبور کنند. سپس هضم نمونه‌ها به روش خشک‌سوزانی جهت اندازه‌گیری عناصر غذایی در بخش هوایی و ریشه گیاه انجام شد (کارلا ۱۹۹۷ و جونز ۲۰۰۱)

هضم نمونه‌های گیاهی و اندازه‌گیری میزان عناصر موجود در آنها

از روش هضم خشک جهت تهیه عصاره بافت گیاهی برای اندازه‌گیری عناصر فسفر، پتاسیم و آهن استفاده شد. اما در مورد عنصر نیتروژن پس از هضم آن به کمک اسیدسولفوریک، درصد نیتروژن با استفاده از روش تیتراسیون بعد از تقطیر و به کمک دستگاه کجلدال (والینگ و همکاران، ۱۹۸۹؛ راول، ۱۹۹٤) تعیین شد. درصد فسفر با استفاده از روش کالریمتری (رنگ زرد مولیبدات-وانادات) و به کمک دستگاه اسپکتروفتومترو درصد پتاسیم با استفاده از روش نشر شعله‌ای و به کمک دستگاه فلیم‌فوتومتر (بی‌نام ۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. میزان آهن موجود در عصاره‌های گیاهی بااستفاده از دستگاه جذب اتمی (والینگ و همکاران ۱۹۸۹) اندازه‌گیری شد. پس از تعیین غلظت عناصر در بافت گیاهی، مقدار جذب عناصر به صورت میلی‌گرم در هر گلدان گزارش شد ($mg.pot^{-1}$).

تجزیه آماری

طرح آماری مورد استفاده برای سنجش اکسین جدایه‌های باکتریایی در شرایط درون‌شیشه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت آزمایش فاکتوریل انجام گرفت، بعلاوه آزمایش کشت گیاه نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی به اجرا درآمد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری MSTATC استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد، انجام گرفت.

نتایج و بحث

تولید اکسین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که که فاکتورهای مورد آزمایش شامل جدایه‌های باکتریایی و تریپتوفان (دو سطح ۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و همچنین اثر متقابل این دو فاکتور در میزان تولید اکسین، در سطح احتمال ۱٪ با هم اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول۱). میانگین تولید اکسین توسط جدایه‌های باکتریایی در حضور و عدم حضور تریپتوفان در جدول (٤) گزارش شده است. همان‌طور که مقایسه میانگین جدایه‌ها نشان می‌دهد بیشترین میزان تولید اکسین، ۲/۲۸ میلی‌گرم بر لیتر و در جدایه Az-3 مشاهده شد که این جدایه تولید اکسین را در حضور تریپتوفان ۵ برابر افزایش داد وکمترین میزان (۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر) متعلق به جدایه Az-48 بود که افزایش ٦٦٪ نسبت به شاهد نشان داد. برخی دیگر از جدایه‌ها (Az-12، Az-37، Az-50، Az-63 و Az-73) نسبت به بقیه توانستند اکسین به مقدار ۱/۵۱ تا ۲ میلی‌گرم بر لیتر تولید کنند. سقفی و همکاران (۲۰۱٤) میزان تولید IAA را در جدایه‌های *ریزوبیوم* با استفاده از محیط DF بررسی کردند و نشان دادند که تمامی جدایه‌ها توانایی تولید اکسین را با میانگین ۲/۷٦ میلی‌گرم بر لیتر داشتند و مقدار تولید آن از ۱۰/۸٦-۰/٤٥ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بود. سریدوی و همکاران (۲۰۰۷) تولید اکسین به مقدار ٤۲ میلی‌گرم بر لیتر را در یک سویه *ریزوبیوم* و شفیعی و همکاران (۲۰۰۷)، میزان ۱/٤۹ میلی‌گرم بر لیتر را در یک سویه *آزوسپیریلوم* گزارش کردند.

با توجه به نتایج آزمایش مشاهده شد که در تمامی جدایه‌های مورد بررسی، در حضور تریپتوفان

هورمون اکسین بیشتری تولید شد. احمد و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که با افزودن تریپتوفان به محیط کشت باکتری‌ها، توانایی تولید اکسین توسط ۱۱ سویه *سودوموناس فلورسنس* افزایش یافت. بنیزری و همکاران (۱۹۹۸)، گلیک و پتن (۲۰۰۲) و عباس‌زاده دهجی و همکاران (۱۳۸۷) نیز گزارش کردند که در حضور تریپتوفان تولید هورمون اکسین بیشتر بود. در مسیرهای پیشنهادی برای تولید اکسین، تریپتوفان را به عنوان پیش‌ماده سنتز اکسین معرفی می‌کنند (دوکا و همکاران ۲۰۱٤). در این آزمایش نیز در حضور تریپتوفان اغلب جدایه‌ها روند افزایشی در تولید اکسین نشان دادند و بیشترین افزایش معنی‌دار در جدایه کنترل *Pseudomonas* sp. C16-2O و جدایه Az-3 به دست آمد.

تولید اکسین در باکتری‌ها به نوع باکتری، محیط کشت مورد استفاده، مدت انکوباسیون، غلظت تریپتوفان و عوامل دیگر بستگی دارد (دوکا و همکاران ۲۰۱٤). به عنوان نمونه مقدار اکسین تولیدی برای باکتری *Pseudomonas* sp. C16-2O در محیط King-B برابر با ٦/۱ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد.

حجم ریشه

با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها جدایه‌ها از نظر حجم ریشه در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشان دادند (جدول۲). نتایج مقایسات میانگین نشان داد که بیشترین حجم ریشه، ٤٤/٦۷ سانتی‌متر مکعب متعلق به جدایهAz-13 بود که نسبت به شاهد ۲٦٪ افزایش نشان داد و کمترین حجم ریشه، ۱۱/۳۳ سانتی‌متر مکعب در جدایه Az-11 دیده شد که با نمونه شاهد بدون تلقیح اختلاف معنی‌دار نشان داد. جدایه‌هایAZ-8، Az-15، Az-18، Az-37، Az-48 و Az-73 هم مقادیر بالایی از نظر حجم ریشه به خود اختصاص دادند، البته همه این جدایه‌ها با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول٥). حمیدی و همکاران (۲۰۰٦) افزایش حجم ریشه در ذرت‌های تلقیح شده با *آزوسپیریلوم* و *ازتوباکتر* را نشان دادند. فالیک و همکاران (۱۹۸۹) افزایش توسعه ریشه ذرت را در اثر ترشح اکسین به وسیله باکتری *آزوسپیریلوم برازیلنس* مشاهده کردند. اثباتی و همکاران (۲۰۱٤) افزایش ٥٥٪ در حجم ریشه‌های گوجه‌فرنگی را در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های باکتریایی نشان دادند.

وزن خشک ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارها از نظر شاخص وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۱٪ با هم اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول۲). همان‌طور که در جدول (٥) مشاهده می‌شود، بالاترین وزن خشک ریشه، ۲/۹۷۷ گرم متعلق به جدایه Az-8 بود که البته با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند. مقادیر وزن خشک ریشه برای بقیه جدایه‌ها نسبت به شاهد کمتر بود. کمترین مقدار وزن خشک ریشه، ۱/۱۲۷ گرم مربوط به جدایه Az-11 بود که حدود ٦۲٪ نسبت به شاهد کاهش نشان داد. همچنین مقادیر بالایی در جدایه‌هایAz-13، Az-15، Az-18، Az-19،Az-21 وAz-48 دیده شد. افزایش وزن خشک ریشه نشان‌دهنده افزایش رشد ریشه بوده و افزایش رشد ریشه تاثیر بسزایی در جذب و تغذیه بهتر گیاه دارد. اشفق و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که جدایه‌های باکتریایی بیش از ۲٥٪ باعث افزایش وزن خشک ریشه ماش شد. اثباتی و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که تلقیح بذور با جدایه‌های *آزوسپیریلوم* نسبت به گیاهان شاهد، ٦٥٪ وزن خشک ریشه را افزایش دادند. ریبائو و همکاران (۱۹۹۸) و جاکادو و همکاران (۱۹۹۹) افزایش وزن خشک ریشه را در بذور تلقیح شده با جدایه‌های باکتری گزارش کردند. روستا و همکاران (۱۹۹۸) در یک آزمون گلخانه‌ای اثر سویه‌های مختلف *آزوسپیریلوم* را بر رشد گندم و ذرت بررسی و گزارش کردند که تلقیح، تأثیر معنی‌داری بر صفات رشدی گیاه گندم نداشت.

وزن خشک کل بوته

تجزیه واریانس داده‌ها نشـــان داد که تیمارها از نظر شـــاخص گیاهی وزن خشـــک کل بوته در ســـطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار داشـتند (جدول۲). مقایسـه میانگین داده‌ها نشـان داد که بالاترین میزان وزن خشک کل بوته، ۱۱/۱۱ گرم به جدایه Az-48 اختصاص داشت که به میزان ۹٪ نسـبت به شـاهد بیشـتر بود و کمترین مقـدار آن، ٤/٥٧ گرم در جدایه Az-11 به دســت آمد. وزن خشـــک کـل بـوتـه نـمـونـه‌هـای گیـاهی برای جدایـه‌هایAz-8، Az-13، Az-15، Az-18، Az-19 و Az-21 نیز مشـاهده شـد. بررسـی اسـتانکو و همکاران (۱۹۹۲) نشـان داد که در اثر تلقیح ذرت با *آزوسپیریلوم* وزن خشـک کل بوته افزایش یافت. صـادقی و همکاران (۲۰۱۵) نشـــان دادند که وزن خشـــک کل بوته ذرت در تیمارهایی که کود زیستی به کار رفته بود، افزایش یافت.

وزن خشـــک کـل بوتـه یکی از پـارامترهای مهم اندازه‌گیری در آزمایشـــات گلخانه‌ای اســت. با توجه به اینکه باکتری‌هایی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند از نظر جنس و گونه بسـیار متنوع می‌باشد و این نخســـتین آزمـایشـــی بود کـه به منظور بررســـی اثر مایه‌کوبی آنها در این شـرایط خاص مورد استفاده قرار می‌گرفتنـد، مواجـه بـا چنین پاســـخ‌هایی از گیاه دور از انتظـار نیســـت. چرا کـه باکتری‌ها بعد از اســـتقرار در ریزوسـفر اثرات خنثی، سـینرژیسـتی یا بعضـاً منفی بر روی گیـاه میزبـان خود بـاقی می‌گـذارنـد و هـدف این آزمایش نیز مشـــخص ســـاختن این امر و به بیان دیگر غربالگری و انتخاب جدایه‌های کارآمد بوده اسـت. توجه شـود که بستر آزمایش، بستر شن عاری از مواد غذایی بوده و مـایـه‌کوبی بـاکتری‌ها در ریزوســـفر گیاه ذرت می‌توانـد شـــرایط رقابتی بین باکتری و گیاه میزبان در جذب عناصـــر غذایی که به صـــورت محلول هوگلند در طول آزمایش فراهم می‌شد، به وجود آورد.

در حالت ایده‌ال آزمایش‌های رشـد گیاه بایسـتی در شرایطی انجام گیرد که رشد گیاه را محدود نکند. در مطـالعه‌ای که در دانشـــگاه ســـیدنی انجام گرفت اثرات گذرای (3C) *Citrobacter freundii* بر رشد گیاه گندم در ۱۰ روز بعد از کاشـت مشـاهده شـد. گیاهان شـاهد همگی تنهـا دارای ۲ برگ و گیاهان تلقیح شـــده دارای ۳ برگ بودنـد. این در حـالی بود که تفاوت بین تیمارها در روز پانزدهم از میان رفت. در این مطالعه به نظر رشـــد ریشـــه به دلیل اندازه گلدان محدود شـــده اســـت. اثرات بازدارنده بر رشـد ممکن است به‌وسیله محیط‌های رشد محدود شـده تشدید شود. به عنوان نمونه، گیاهان تلقیح شـــده بـا مـایه تلقیحی که دارای $۲/٦ \times ۱۰^{۸}$ باکتری بود رشـد نسـبتاً کمتری نشـان دادند در مقایسـه با گیاهان تلقیح شـــده با مقدار مایه تلقیح کمتر، هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (دیکر و همکاران ۲۰۱۱).

مطـالعـاتی از این دســـت نشـــان می‌دهـد کـه نتیجـه‌گیری در مورد چنین آزمایشـــاتی با احتیاط و با تکرار آزمایشات می‌تواند انجام گیرد.

جذب عناصر غذایی

جذب عناصـــر غذایی در گیاه به غلظت عناصـــر و مقدار ماده خشـک گیاه بسـتگی دارد. انتظار آن است که باکتری‌های مورد استفاده از طریق افزایش جذب عناصر غـذایی و بهبود رشـــد عمومی گیـاه در مجموع مقـادیر بالاتری از جذب عناصـر نیتروژن، پتاسیم، فسفر و آهن را در گیاهان تلقیح شـده به دنبال داشـته باشـند. یکی از سـازوکارهایی که باکتری‌ها می‌توانند موثر واقع شـوند افزایش دادن سـطح جذب عناصـر اسـت و ریشـه گیاه می‌تواند به عنوان ســـطح جذب مناســـبی برای دریافت عناصـر غذایی افزوده شده به گلدان‌ها از محلول هوگلند باشـد. بر این اساس به نتایج به دست آمده از جذب این چـهـار عـنـصـــر پـرداخـتـه مـی شـــود. جـذب عنـاصـــر در هر گلدان که شـــامل دو بوته ذرت بود از رابطـه $mg.kg^{-1} \times kg.pot^{-1}$ محـاســـبـه و در جدول ۵ آورده شده است.

پتاسیم

تجزیه واریانس داده‌ها نشـــان داد که تیمارها از نظر میزان پتاسـیم کل در گیاه، در سـطح احتمال ۱٪ با

هم اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میزان پتاسیم کل در تیمار تلقیح شده با جدایه Az-48 به میزان ۲۴۱/۲ میلی‌گرم در گلدان بود که با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد ۱۲٪ افزایش نشان داد. کمترین میزان پتاسیم کل در تیمار تلقیح شده با جدایه Az-71، ۱۲۲/۲ میلی‌گرم در گلدان بود که با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد ۴۲٪ کاهش نشان داد. در بین تیمارهای تلقیح شده مقادیر جذب نسبتاً بالایی از ۲۰۵ تا ۲۳۴/۲ میلی‌گرم پتاسیم در تیمارهای Az-8، Az-13، Az-15، Az-18، Az-19 و Az-21 هم مشاهده شد (جدول۵). بالا بودن مقدار جذب پتاسیم در جدایه Az-48 به تولید بیشتر بیوماس گیاهی مربوط می‌شود. حضور این جدایه به نظر توانسته باعث توسعه بیشتر ریشه شود و لنگرگاه مناسبی برای استقرار گیاه و جذب عناصر از بستر کشت باشد.

فسفر

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد آزمایش از نظر میزان فسفر کل در گیاه در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۳). مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میزان فسفر کل در تیمار تلقیح شده با جدایه Az-48، ۱۰/۸۵ میلی‌گرم در گلدان بود که با اختلاف معنی‌دار با شاهد حدود ۲۷٪ افزایش نشان داد. پایین‌ترین میزان فسفر هم در تیمار تلقیح‌شده با جدایه Az-11، ۶/۴۴۸ میلی‌گرم در گلدان بود که با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۵). همانطور که در جدول (۵) مشاهده می‌شود تیمارهای تلقیح شده با جدایه‌های Az-18، Az-19، Az-21 و Az-29 هم مقادیر بالای فسفر را جذب نموده که جدایه‌های Az-19 و Az-21 با جدایه Az-48 از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند. لین و همکاران (۱۹۸۳) افزایش جذب فسفر در ذرت ویاهالوم و همکاران (۱۹۸۴) افزایش میزان فسفر را در ذرت و سورگوم در اثر تلقیح با جدایه‌های باکتریایی گزارش کردند. در تحقیقی که اثباتی و همکاران (۲۰۱۴) انجام دادند، افزایش ۷۷٪ را در میزان جذب فسفر در اثر تلقیح با *آزوسپیریلوم* مشاهده نمودند. همانطور که در مورد پتاسیم نیز مشاهده شد، جذب عنصر فسفر تحت تأثیر تلقیح جدایه Az-48 قرار گرفته و به دلیل تولید بیوماس بیشتر گیاهی این صفت نیز در این جدایه بالاترین میانگین را به همراه داشت.

نیتروژن

با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد که تیمارهای آزمایش از نظر میزان جذب نیتروژن در سطح احتمال ۱٪ با هم اختلاف معنی‌دار نشان دادند (جدول۳). مقایسات میانگین تیمارها نشان داد که بالاترین میزان جذب نیتروژن در تیمارهای تلقیح شده با جدایه Az-48 و Az-18 به میزان ۸۰/۶۶ و ۸۱/۹۲ میلی‌گرم در گلدان بود که با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند و به ترتیب ۸٪ و ۱۰٪ افزایش در جذب نیتروژن را نشان دادند. تیمار تلقیح شده با جدایه Az-73 کمترین جذب نیتروژن را داشت (۵۱/۶۳ میلی‌گرم در گلدان) که با شاهد در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفتند. مشاهده می‌شود که تیمارهای تلقیح شده با جدایه‌های Az-8 و Az-59 هم مقادیر بالای جذب نیتروژن در گیاه را نشان دادند که از نظر آماری با تیمارهای Az-48 و Az-18 در یک گروه قرار گرفتند (جدول ۵).

گرچه توانایی تثبیت نیتروژن این جدایه‌ها اندازه‌گیری نشده است، اما قابلیت رشد برخی از این جدایه‌ها در محیط‌های فاقد نیتروژن همانند LG می‌تواند موید ویژگی تثبیت نیتروژن آنها باشد. این امر می‌تواند باعث افزایش جذب نیتروژن در گیاهان تلقیح شده با این باکتری‌ها باشد. در تایید این مطلب، در کشور ویتنام کود زیستی با نام BioGro استفاده می‌شود که در این کود چندین گونه باکتریایی PGPRای از جمله *P. fluorescens*(N1) استفاده می‌شود. سویه N1 اساساً به خاطر توانایی‌اش در رشد روی محیط عاری

از نیتروژن انتخاب شده است، که نشانه‌ای از پتانسیل تثبیت نیتروژن است (دیکر و همکاران ۲۰۱۱). علاوه بر آن بالا بودن بیوماس گیاهی تأثیر مستقیمی بر به دست آمدن مقادیر بالای نیتروژن خواهد شد که این مسأله در جدایه Az-48 همانند دو عنصر پتاسیم و فسفر تکرار شد. اکبری و همکاران (۲۰۰۸) افزایش جذب یون‌های NH_4^+ و NO_3^- را در اثر تلقیح ذرت شیرین با جدایه‌های باکتریایی گزارش کردند.

آهن

با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد که تیمارهای آزمایش از نظر میزان جذب آهن در سطح احتمال ۱٪ با هم اختلاف معنی‌دار نشان دادند (جدول ۳). مقایسات میانگین تیمارها نشان داد که بالاترین میزان جذب آهن در تیمار تلقیح شده با جدایه Az-48 به میزان ٤/٦٧ میلی‌گرم در گلدان بود که با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد ١٤٪ افزایش نشان داد. در تیمار تلقیح شده با جدایه Az-11 کمترین میزان جذب آهن مشاهده شد که ۲/۰٤ میلی‌گرم در گلدان بود و نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. تیمارهای تلقیح شده با جدایه‌هایAz-18، Az-19 و Az-21 هم مقادیر نسبتاً بالایی در جذب آهن از ۳/۹٤۷ تا ٤/۳۹۷ میلی‌گرم در گیاه نشان دادند (جدول ٥). گیاهان می‌توانند از سیدروفورهای تولید شده توسط باکتری‌ها به عنوان عاملی برای تأمین آهن مورد نیاز خود استفاده کنند (احمد و همکاران ۲۰۰٦). اثباتی و همکاران (۲۰۱٤) افزایش ٦٥٪ در جذب آهن را در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های باکتریایی نشان دادند. اردکانی و همکاران (۲۰۱۱) به این نتیجه رسیدند که کاربرد *آزوسپیریلوم*، جذب آهن در گندم های تلقیح شده را افزایش داد. کیم و همکاران (۲۰۱۰) افزایش میزان جذب آهن را در فلفل قرمز، برنج و گوجه‌فرنگی در اثر تلقیح با تیمارهای باکتریایی نشان دادند.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تولید اکسین توسط جدایه‌های باکتریایی در شرایط درون شیشه‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
باکتری	۲٦	۰/۰۸۹**
تریپتوفان	۱	۰/۲۷٥**
باکتری × تریپتوفان	۲٦	۰/۰۱۲**
خطای آزمایشی	٥٤	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات (٪)		١٤/٩

**بیانگراختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ میباشد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات رشد گیاهی شامل حجم ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل بوته

		میانگین مربعات		
منابع تغییر	درجه آزادی	حجم ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک کل بوته
باکتری	۲٥	۱/٦۰۱**	۱/۰٥۲**	۹/٥۲۱**
خطای آزمایشی	٥۲	۰/٦٨٤	۰/۳۰۲	۲/٥٨۰
ضریب تغییرات (٪)		١٦/٤٦	۲۷/۲۲	۲۰/۳٤

** بیانگراختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ میباشد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس عناصر غذایی پتاسیم، فسفر، نیتروژن و آهن‌اندازه‌گیری شده در ذرت

		میانگین مربعات			
منابع تغییر	درجه آزادی	پتاسیم کل	فسفر کل	نیتروژن کل	آهن کل
باکتری	۲۵	۱۵۲۰/٤۷۱**	۲/٤۹۲**	۱۳۱/٤۱۱**	۰/۹۲۷**
خطای آزمایشی	۲٦	۲/۲۰۵	۰/۰۳۵	۳/۸٤۳	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۰/۷۷	۲/۱۵	۲/۹۳	۰/۷٤

** بیانگراختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ میباشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین تولید اکسین توسط جدایه‌های باکتریایی در حضور و عدم حضور تریپتوفان

جدایه‌ها	تولید اکسین در حضور تریپتوفان ($mg.l^{-1}$)	تولید اکسین در عدم حضور تریپتوفان ($mg.l^{-1}$)	میانگین تولید اکسین ($mg.l^{-1}$)
Az-3	۲/۹۵٦^{ab}	۱/٦۰۳$^{c-j}$	۲/۲۸^{ab}
Az-6	۱/۲٦۵$^{g-r}$	۱/۱۹۱$^{h-t}$	۱/۲۲۸^{efg}
Az-8	۱/۵٤٤$^{c-k}$	۰/۹۸۵$^{l-t}$	۱/۲٦۵^{efg}
Az-11	۱/۳۳۸$^{f-n}$	۱/٤۲٦$^{d-m}$	۱/۳۸۲^{def}
Az-12	۱/٦٤۸$^{c-i}$	۱/۳۸۲$^{f-n}$	۱/۵۱۵^{cde}
Az-13	۱/۰۱۵$^{k-t}$	۰/۹۵٦$^{m-u}$	۰/۹۸۵^{gh}
Az-15	۱/۱۱۸$^{i-t}$	۱/۰۵۹$^{j-t}$	۱/۰۸۸^{fgh}
Az-18	۱/۲۰٦$^{h-s}$	۱/۰۷٤$^{j-t}$	۱/۱٤^{fg}
Az-19	۱/۵۱۵$^{c-k}$	۱/۲٦۵$^{g-r}$	۱/۳۹^{def}
Az-20	۰/۹۲٦$^{n-u}$	۰/۷۹٤^{tu}	۰/۸٦^{hi}
Az-21	۱/۰۱۵$^{k-t}$	۱/۰۱۵$^{k-t}$	۱/۰۱۵^{gh}
Az-29	۰/۸۵۳$^{r-u}$	۰/۸۸۲$^{o-u}$	۰/۸٦۸^{hi}
Az-31	۱/۱٤۷$^{h-t}$	۰/۸۵۳$^{q-u}$	۱^{gh}
Az-37	۲/۱۳۲^{bcd}	۱/۱۹۱$^{i-t}$	۱/٦٦۱^{cde}
Az-48	۰/۸۳۹^{stu}	۰/٦٦۱^{uv}	۰/۷۵^{i}
Az-50	۲/۰۷٤$^{b-e}$	۱/٤۵٦$^{d-l}$	۱/۷٦۵^{bcd}
Az-52	۱/۷۰٦$^{c-h}$	۰/۸٦۸$^{p-u}$	۱/۲۸٦^{efg}
Az-59	۱/٤٤۱$^{d-l}$	۱/۳۵۳$^{f-o}$	۱/۳۹۷^{def}
Az-63	۲/۱٦۱^{bc}	۱/۸۵۳$^{c-g}$	۲/۰۰۷^{ab}
Az-65	۱/٤۱۱$^{e-n}$	۱/٤۱۱$^{d-m}$	۱/٤۱۱^{def}
Az-68	۱/۳۰۹$^{f-p}$	۰/۹۸۵$^{l-t}$	۱/۱٤۷^{fg}
Az-70	۱/٤٤۱$^{d-m}$	۱/۰۵۹$^{j-t}$	۱/۲۵^{efg}
Az-71	۱/۲۸$^{f-q}$	۱/۱۷۷$^{h-t}$	۱/۲۲۸^{efg}
Az-73	۱/۹۱۲$^{c-f}$	۱/۸۲٤$^{c-g}$	۱/۸٦۸^{abc}
Control	۰/۵۱۵^{vw}	۰/۳۹۷^{w}	۰/٤۵٦^{j}
C16-2O	۳/۸۸۲^{a}	۱/۳۸۲$^{f-n}$	۲/٦۳۲^{a}
AC46-I	۱/۲٦۵$^{g-r}$	۱/۱۳۲$^{h-t}$	۱/۱۹۹^{efg}

برای هر صفت، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول۵- مقایسه میانگین صفات رشد گیاهی شامل حجم ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل و عناصر غذایی پتاسیم، فسفر، نیتروژن و آهن

جدایه	مقدار آهن کل mg.pot^{-1}	مقدار نیتروژن کل mg.pot^{-1}	مقدار فسفر کل mg.pot^{-1}	مقدار پتاسیم کل mg.pot^{-1}	وزن خشک کل بوته (g)	وزن خشک ریشه (g)	حجم ریشه (cm^3)
Az-3	۲/۳٤٥^{o}	٦۳/۹۱$^{f-j}$	۸/۹٥٦^{cde}	۱۷۲^{m}	٥/٥٦۳^{ef}	۱/۳۳۷^{cd}	۲۰/۳۳^{bc}
Az-6	۲/۳۷۸^{o}	٦٥/٦۹^{fg}	۷/۱٥٤^{j}	۱۸۲/٦^{l}	۷/۷۳۳$^{a-f}$	۲/۲۱۳$^{a-d}$	۲۳/٦۷^{abc}
Az-8	۳/٤۰۹^{g}	۷۹/۲٦^{ab}	۹/۱٥۷^{c}	۲۰٦/۲^{ef}	۹/۹۲۳$^{a-d}$	۲/۹۷۷^{a}	۳۱^{abc}
Az-11	۲/۰٤^{q}	٥٥/۰٦^{lm}	٦/٤٤۸^{k}	۱۳۹/۹^{o}	٤/٥۷۷^{f}	۱/۱۲۷^{d}	۱۱/۳۳^{c}
Az-12	۳/۱^{i}	٦٥/۳۳^{fgh}	۹/۱٦۲^{c}	۱۹۷/٦^{hi}	۷/٥٥۳$^{a-f}$	۱/٦٤۷$^{a-d}$	۲۱^{abc}
Az-13	۳/۰۹٥^{i}	٥۸/٦۷$^{i-l}$	۷/۹۳۹^{hi}	۲۰۷/٥^{e}	۹/۸۳۷$^{a-d}$	۲/۹۱^{ab}	٤٤/٦۷^{a}
Az-15	۳/۲۲۳^{h}	۷۱/۷٦^{de}	۸/٦٤٥$^{c-g}$	۲۰٦/٦^{ef}	۹/٥۳۳$^{a-e}$	۲/۸۳۳^{ab}	۳٦^{ab}
Az-18	٤/۳۹۷^{b}	۸۱/۹۲^{a}	۹/٦۸۸^{b}	۲۱٥/۸^{d}	۹/۸٦۷$^{a-d}$	۲/٥۰۷$^{a-d}$	۳۳/۳۳^{ab}
Az-19	۳/۹٤۱^{d}	۷۳/۳۹^{cd}	۱۰/۷۷^{a}	۲۲۷/٤^{c}	۱۰/۰۷^{abc}	۲/٤۷$^{a-d}$	۲٥/۳۳^{abc}
Az-20	۳/۲۷۱^{h}	٦٥/۱۹^{fgh}	۹/۰۸۹^{cd}	۲۰٥^{ef}	۸/۱۳$^{a-f}$	۲/۰٤۳$^{a-d}$	۲۲/٦۷^{abc}
Az-21	۳/۹٤۷^{d}	٦۹/۳۲^{def}	۱۰/٦۸^{a}	۲۳٤/۲^{b}	۱۰/۳٥^{ab}	۲/٤۸۷$^{a-d}$	۲۳^{bc}
Az-29	۳/۰٥٥^{i}	٥۹/۲۲$^{h-l}$	۹/۹۱۹^{b}	۱۹۰/۳^{k}	٦/٤٦۳$^{b-f}$	۱/٥۱۷^{bcd}	۱٦^{bc}
Az-31	۲/۹٥۹^{j}	٦٥/۸٥^{efg}	۸/٤۳۷$^{e-i}$	۱۹٥/۷^{ij}	۷/٦٦۳$^{a-f}$	۱/٦۳۳$^{a-d}$	۲٤/۳۳^{abc}
Az-37	۲/۷۹٦^{k}	۷۰/۱۷^{def}	۸/٤۷۹$^{e-h}$	۲۰۲/٤^{fg}	۷/۹٤۳$^{a-f}$	۲/۰٤۷$^{a-d}$	۳۰/٦۷^{abc}
Az-48	٤/٦۷^{a}	۸۰/٦٦^{a}	۱۰/۸٥^{a}	۲٤۱/۲^{a}	۱۱/۱۱^{a}	۲/٦۳۷^{abc}	۳۱/۳۳^{abc}
Az-50	۲/۸۷۱^{k}	٦۹/۳٥^{def}	۸/۲۰۳$^{f-i}$	۲۰۰/۳^{gh}	۸/۹۲۳$^{a-e}$	۲/۰۹$^{a-d}$	۲۸^{abc}
Az-52	۲/٥۰۱^{n}	٥۷/٤۳^{kl}	٦/۹۷۷^{j}	۱٤٥/۷^{n}	٦/٥۲$^{b-f}$	۱/۳۲۷^{cd}	۱۸/٦۷^{bc}
Az-59	۲/۲۲۹^{p}	۷۸/۹۲^{abc}	۷/۸٥۸^{i}	۱۷٦/۲^{m}	٦/٤٦۲$^{b-f}$	۱/۷۰۷$^{a-d}$	۲٥/۳۳^{abc}
Az-63	۲/٦۹٥^{l}	٥۸/۱۱^{jkl}	۸/۷۱۳$^{c-f}$	۱۷٦^{m}	٦/۰۱۷$^{c-f}$	۱/۳۲۷^{cd}	۱۸^{bc}
Az-65	۳/۳٦۸^{g}	٦٤/۰۷$^{f-j}$	۸/۰۷۳^{ghi}	۱۹۲/۲^{jk}	۷/۸٦$^{a-f}$	۱/۹۹۳$^{a-d}$	۲٥/٦۷^{abc}
Az-68	۲/٦٦۹^{l}	۷۳/۰۷^{d}	۸/٥۳٥$^{d-h}$	۲۰۹/۲^{e}	۷/۲٤۷$^{a-f}$	۱/۷۲۳$^{a-d}$	۲۳/٦۷^{abc}
Az-70	۲/٦۳۲^{lm}	٦۱/۰۱$^{g-l}$	۸/۳٤۸$^{e-i}$	۱۸۰/۹^{l}	٥/۷۳^{def}	۱/۲۳۷^{cd}	۲٤^{abc}
Az-71	۲/٥۷٤^{mn}	٦۲/٥$^{g-k}$	۸/۳۳۲$^{f-i}$	۱۲۲/۲^{p}	٥/٥۰۷^{ef}	۱/۱۹۳^{cd}	۲۳^{abc}
Az-73	۳/٦٦٤^{e}	٥۱/٦^{m}	۷/۱۱۱^{j}	۱۷٤/۱^{m}	۷/۲۱۳$^{a-f}$	۲/٤۲۷$^{a-d}$	۳۸/٦۷^{ab}
Control	٤/۰۸٦^{c}	۷٤/۰٥^{bcd}	۸/٥۲٤$^{d-h}$	۲۱۳/٥^{d}	۱۰/۱٤^{abc}	۲/۹٦۷^{a}	۳٥/۳۳^{ab}
C16-2O	۳/٥٤۹^{f}	٦٤/٤۱$^{f-i}$	۸/٤۳۷$^{e-i}$	۱۸۹/۹^{k}	۷/٤۳۳$^{a-f}$	۲/۰۸۳$^{a-d}$	۲۹/۳۳^{abc}

برای هر صفت، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری

میکروارگانیسم‌ها به روش مستقیم یا غیرمستقیم بر رشد گیاه میزبان اثرگذارند. تولید یا تنظیم هورمون‌ها (نظیر اکسین) یکی از مکانیسم‌های مستقیمی است که باعث افزایش جذب عناصر غذایی گیاه می‌شود. تولید هورمون اکسین باعث افزایش انشعابات ریشه و طویل شدن آن می‌شود و در نهایت به صورت موثری مساحت سطح ریشه را جهت جذب عناصر غذایی افزایش می‌دهد. همچنین افزایش فراهمی عناصر غذایی از طریق تثبیت گاز نیتروژن اتمسفر (N_2) و متحرک نمودن عناصر غذایی معدنی و آلی از دیگر شیوه‌های

اثربخشی میکروارگانیسم‌ها است (دیکر و همکاران، ۲۰۱۱). تأکید این مقاله بر روی جنبه تولید اکسین برخی از جدایه‌های باکتریایی بود که برای اولین بار در کشت گلخانه‌ای و در حضور گیاه ذرت مورد استفاده قرار می‌گرفتند. گرچه در سنجش اکسین تولیدی توسط جدایه‌ها مقادیر بالایی در مقایسه با مطالعات دیگر مشاهده نشد اما حضور تریپتوفان در اغلب جدایه‌ها به عنوان پیش‌ماده سنتز اکسین، اثر تشدیدکننده بر سنتز اکسین داشت. نتیجه‌گیری در خصوص این جدایه‌ها به تنهایی با انجام این آزمایش و در شرایطی که صورت گرفته به راحتی امکان‌پذیر نیست. آزمایش سویه‌ها به منظور تعیین توانایی آنها جهت بهبود رشد گیاه و مقایسه آنها با نمونه شاهد (بدون تلقیح سویه) مهم است. اما با این حال آزمایش تحریک رشد گیاه به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها ممکن است تحت شرایط متفاوت محیطی جواب‌های گوناگون به دنبال داشته باشد. برای مثال، میکروارگانیسم‌هایی که تحریک‌کننده رشد گیاه هستند ممکن است تحت برخی شرایط مانع از رشد گیاه شده یا به عنوان شبه پاتوژن عمل نمایند.

به عنوان نمونه چنین اثری به‌وسیله رودریگز و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده شد، زمانی‌که آنها نشاءهای برنج را در شرایط استریل در محفظه‌های رشد فقط با تعدادی از سویه‌های *آزوسپیریلوم* تلقیح کردند. آنها کاهش رشد در ریشه و بخش هوایی را مشاهده کردند و دلیل این افت را به تجمع هورمون‌های گیاهی در محیط مربوط دانستند. این در حالی است که همین سویه‌ها وقتی به نشاءهای برنج رشد یافته در گلخانه تحت شرایط غیراستریل تلقیح شدند، افزایش رشد، تجمع نیتروژن و عملکرد دانه را باعث شدند. با توجه به مجموع پارامترهایی که در این تحقیق مورد توجه بود شاید بتوان جدایه‌های Az-48، Az-21، Az-13، Az-15، Az-18، Az-8، Az-31 و Az-19 را برای انجام مطالعات بعدی پیشنهاد نمود. همچنین شناسایی آنها را تکمیل نمود و حتی به‌کار بردن تمام جدایه‌ها در شرایط واقعی‌تر یعنی در بستر خاک و در شرایط مزرعه برای یافتن اثرات تحریکی آنها پیشنهاد می‌شود.

منابع مورد استفاده

Abbaszadehdehji P, Asadirahmani H, Salehrastin N, Khavazi K and Toolaroud AA. 2008. Evaluation of the ability of auxin production by *Pseudomonas fluorescens* and their effects on growth of Rapeseed seedlings (*Brassica napus* L.). Soil Researches, 22(2): 203-215. (In Persian).

Akbari GA, Alikhani HA and Allah dadi A. 2008. Assessment of the ability of auxin production by native isolates of the *Azospirillum* genus and growth promoting effects of superior isolates on Sweet corn. Field Crops Research, 6(2): 217-224. (In Persian).

Anonymous. 1980. Soil and Plant Testing, as a basis of fertilizer recommendation. FAO soils bulletin, 38/2: 90-100.

Deaker R, László Kecskés M, Timothy Rose M, Amprayn K, Krishnen G, Thi Kim Cuc T, Thuy Nga V, Thi Cong P, Thanh Hien N and Robert Kennedy I. 2011. Practical methods for the quality control of inoculant biofertilisers. Australian Center for International Agricultur Resaerch.

Dolati S, Olamaee M, Barani Motlagh M and Nouryrad Davaji AM. 2012. Isolation and identification of *Azotobacter* spp. and evaluation of their plant growth promoting properties. Soil Management and Sustainable Production, 2(2): 121-136. (In Persian).

Duca D, Lorv J, Chery L, Patten, Rose D, Bernard R and Glick BR. 2014. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. Antonie van Leeuwenhoek, 106(1): 85-125.

Esbati M, Akhavansepahi A, Asgharzadeh A and Khosrowchahli M. 2014. Isolation, identification and evaluation of *Azospirillum* sp. population in soils of Tehran and their growth promoting effects on tomato in vitro conditions. Soil Biology. 2(1): 43-54. (In Persian).

Falik E, Okon Y, Epstin E, Goldman A and Fischer M. 1989. Identification and quantification of Iaa and IBA in *Azospirillum brasile*ns maize roots. Soil Biology and Biochemistry, 21(1): 147-153.

Frankenberger WT and Arshad M, 1995. Phytohormones in soil: Microbial production and function. New York, Marcel Dekker Inc.

Ghalavand A, Hamidi A, Dehghan shoar M, Mlakooti MJ, Asgharzadeh A and Chokan R, 2007. The use of bio-fertilizers, ecological Strategy for Sustainable management of Agricultural systems. 9th Crop Science and Plant Breeding Congress. Tehran, Iran.

Hamidi A, Ghalavand A, Dehghan shoar M and Asgharzadeh A. 2006. The effect of application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the yield of fodder maize (*Zea mays* L.). Agronomy Journal, 70: 16-22. (In Persian).

Heydarian BZ and Sarikhani MR. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as a Promising approach in Sustainable Agriculture. 1st Special Conference about Opportunity Methods for Sustainable Agriculture. 26-27 May, PayameNoor University of Khuzestan, Khuzestan, Iran. (in Persian).

Hirsch AM, Fang Y, Asad S and Kapulnik Y.1997. The role of phytohormones in plant-microbe symbioses. Plant and Soil, 194(1-2): 171-184.

Hoagland DR and Arnon D. 1950. The water culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station, 347, 39.

Jacoud CD, Favre P, Wadoux and bally R, 1999. Initiation of root growth simulation by *Azospirillum lipoferum* CRT1 during maize seed germination. Canadian Journal of Microbiology, 45(4): 339-342.

Jones BJJ, 2001. Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis. CRC Press, USA.

Karla Y. 1997. Hand Book of Reference Methods for Plant Analysis. Cereals Research of Community Press.

Khakipour N, Khavazi K and Akhgar A. 2012. Identification of indolic compounds produced by a selected group of *Pseudomonas fluorescens* and effects of inoculation with them on growth of Rapeseed. Soil Researches. 26(4): 416-423. (In Persian).

Kim K, Deka P and Shagol C. 2010. Isolation and evaluation of inoculation effect of *Azospirillum.* sp. on growth, colonization and nutrient uptake of crops under greenhouse condition. In 19 th World congress of soil science, Soil solutions for changing world. Brisbane, Australia.

Kokalis –Burelle N, Kloepper J W and ReddyMS. 2006. Plant growth promoting Rhizobacteria and transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. Applied Soil Ecology, 31:91-100.

Lin W, Okon Y and Hardy RW. 1983. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. Applied and Environmental Microbiology, 45(6): 1775-1779.

Orhan E, Esitken A, Ercisli S, Turan M, and Sahin F. 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. Sciatica Horticulture, 111(1): 38-43.

Overvoorde P, Fukaki H and Beeckman T. 2010. Auxin Control of Root Development. Cold Spring Harb Perspective in Biology, 2(6): 1-16.

Patten CL and Glick BR, 2002. Role of pseudomonas putida indoleacetic acid in development of host plant root system. Applied and Environmental Microbiology, 68(8): 3795-3801.

Ribaudo CM, Paccuss AN, Rondanini DP, Curu JA and Fraschina AA, 1998. *Azospirillum*-maize association: effects on dry matter yield and nitre reductuse activity. Agricultura Tropica et Subripica, 31:61-70.

Rodrigues EP, Rodrigues LS, de Oliveira ALM, Baldani VLD, Teixeira KRD, Urquiaga S and Reis VM. 2008. *Azospirillum amazonense* inoculation: effects on growth, yield and N_2 fixation of rice (*Oryza sativa* L.). Plant and Soil, 302(1-2): 249-261.

Rousta MJ, Salehrastin N and Mazaheriasadi M. 1998. Assessment of abundance and activity of *Azospirillum* in some iranian soil. Iran Agricultural Sciences, 29(2): 285-289. (In Persian).

Rowell DL. 1994. Soil Science: Method and Application. Longman Scientific and Technical, Wiley, UK, P. 350.

Roy M and BasuPS, 2004. Studies on root nodules of leguminous plants bioproduction of indole acetic acid by a *Rhizobium* sp. from a twiner *Clitoria ternatea* L. Acta Biotechnology, 12(6): 453-460.

Sadeghi S, Heidari GR and Sohrabi Y. 2015. Effect of biological fertilizer and fertilization management on some growth indices of two Maize varieties. Agricultural and Sustainable Production Knowledge. 25(3):43-60. (In Persian).

Saghafi D, Alikhani HA and Motesharezadeh B. 2014. Evaluation of plant growth promoting characteristics of some Rhizobia isolated from soils of Iran. Soil Management and Sustainable Production. 4(2): 131-150. (In Persian).

Shafiei F, Roayaei Ardekani M, Soudi MR and Olamaei M. 2007. Study on indolic compounds production and nitrogenase activity of native isolates of *Azospirillum* spp. Associated with Iranian Sugarcanes. Iran Biology, 20(3): 180-189. (In Persian).

Shokri D and Emtiazi G. 2012. Purification and optimization of auxin (Indole-3-Acetic Acid) hormone in *Rhizobium* bacterium. Soil Biology, 25: 194-204.

Sridevi M and Mallaiah KV, 2007. Production of indole-3-acetic acid by Rhizobium isolates from sesbania species. African Journal of Microbiology Research, 1(7): 125-28.

Stancheva I, Dimitrev I, Kuloyanova N, Dimitrova A, and Anyelov M, 1992. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense*, photosynthetic enzyme activities and grain yield in maize. Agronomy, 12(4): 319-324.

Teale WD, Paponov, IA and Palme K, 2006. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 7(11): 847-859.

Vessey JK, 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and soil, 255(2): 571-586.

Waling I, Vark WV, Houba VJG and Van der lee JJ. 1989. Soil and Plant Analysis, Part 7. Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, The Netherland.

Wu SC, Cao ZH, Li ZG and Cheung KC. 2005. Effect of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma, 125(1): 155-166.

Xie H Pasternak JJ and Glick BR, 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *P. putida* GR 12-2 that overproduce indole-3-acetic acid. Current Microbiology, 32(2): 67-71.

Yahalom EK and Okon y, 1984. Response of *Seraria italic* to inoculation with *Azospirillum brasilense* as compared to *Azotobacter Chroococuam* Plant and Soil, 82(1): 77-85.

Yasmin F, Othman R, and Mohad SS. 2007. Effect of GPGR inoculation on growth and yield of Sweep potato. Journal of Biological Science, 7(2): 421-424.

Zahir ZA, Arshad M and Frankernberger WT. 2004. PGPR: Application and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 81:97-167.

Zahir ZA, Arshad M, Azam M and. Hussain A. 1997. Effect of an auxin precursor L-tryptophan and *Azotobacter* inoculation on yield and chemical composition of potato under fertilized conditions. Journal of Plant Nutrition, 20(6): 745-752.

Zahir ZA, Asghar HN, Akhtar MJ and Arshad M, 2005. Precursor (L-tryptophan)-inoculum *Azotobacter* interactions for improving yields and nitrogen uptake of maize. Journal of Plant Nutrition, 28(5): 805-817.

Zhao Y. 2010. Auxin biosynthesis and its role in plant development. Annual Review of Plant Biology, 61: 49-64.