

## تاثیر زمان و ترکیب محیط کشت بر تولید IAA توسط جدایه‌های مختلف سودوموناس فلورسنت و تاثیر جدایه‌ها بر رشد ذرت (*Zea mays* L)

دینالسادات رضایی<sup>۱</sup>، پیمان عباس‌زاده دهجی<sup>۲\*</sup>، عبدالرضا اخگر<sup>۳</sup> و علی اشرف سلطانی<sup>۴</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۲۳)

### چکیده

باکتری‌های سودوموناس فلورسنت از مهم‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاه در ریزوسفر گیاهان مختلف زراعی می‌باشند که با داشتن خصوصیات محرک رشدی متعدد، می‌توانند موجب بهبود رشد گیاه گردند. تولید غلظت‌های بالای IAA یکی از ویژگی‌های بارز برای اکثر این باکتری‌ها است. به‌منظور بررسی توانایی تولید اکسین توسط سویه‌های مختلف باکتری سودوموناس فلورسنت در زمان‌های متفاوت و در محیط‌های کشت TSB و DF و همچنین تعیین تاثیرات این سویه‌ها بر شاخص‌های رشد گیاه ذرت، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. نتایج نشان‌دهنده توانایی تمام سویه‌ها، در تولید IAA بود. متوسط میزان تولید IAA در محیط کشت TSB بین ۰/۰۴۰ تا ۳۴/۳ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بود. سویه‌های p۱۳ و p۲۶ در روز پنجم به ترتیب کم‌ترین و بیشترین میزان IAA را تولید نمودند. در محیط کشت DF نیز متوسط تولید IAA توسط جدایه‌ها بین ۰/۰۴۳ تا ۶/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بود. همبستگی معنی‌دار بین اکسین تولید شده در دو محیط کشت در روزهای مختلف، نشان داد که روند تولید اکسین توسط جدایه‌ها در هر دو محیط کشت یکسان است و جدایه‌هایی که توان بالایی در تولید اکسین دارند در هر دو محیط مقادیر بالاتری اکسین در مقایسه با جدایه‌های ضعیف تولید کردند. نتایج آزمون گلخانه‌ای نیز نشان داد که تلقیح جدایه‌های مورد استفاده، وزن خشک اندام هوایی را تا بیش از ۱۰۰ درصد و طول اندام هوایی، سطح برگ و کلروفیل را به ترتیب ۵۳/۱، ۵۷/۲، ۲۲/۳ درصد افزایش دادند. کاربرد اکثر جدایه‌ها سبب کاهش وزن خشک ریشه گردید. نتایج نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تولید IAA در دو محیط غنی TSB و حداقل DF بود. این همبستگی بیان‌گر این است که در انتخاب جدایه‌های برتر می‌توان از هر دو محیط کشت استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اکسین، ذرت، حجم ریشه، سطح برگ، سودوموناس فلورسنت

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان

۲ و ۳ - استادیار و دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان (مکاتبه کننده)

۴- استادیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده فناوری کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

\*پست الکترونیکی: [P.abbaszadeh@vru.ac.ir](mailto:P.abbaszadeh@vru.ac.ir)

## مقدمه

ریزوسفر<sup>۱</sup> به لایه نازکی (معمولا یک الی سه میلی‌متر) از خاک اطراف ریشه اطلاق می‌شود که موجودات زنده آن ناحیه از نظر کمی و کیفی تحت تأثیر فعالیت ریشه نظیر تنفس و ترشحات ریشه‌ای قرار دارند (Boven & Rovira, 1999). فعالیت و تعداد میکروارگانیسم‌ها در بخش ریزوسفر نسبت به خاک غیر ریزوسفری بیشتر است. وجود ترشحات ریشه‌ای در ناحیه ریزوسفری باعث جذب میکروارگانیسم‌ها و نیز برقراری روابط مفید متقابل بین گیاه و بعضی از میکروارگانیسم‌ها می‌شود و از این طریق منجر به افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد (Saharan & Nehra, 2011). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه<sup>۲</sup> به گروه مختلفی از باکتری‌های ریزوسفری مفید اطلاق می‌شود که قادرند با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص رشد گیاه را افزایش دهند (Kloepper *et al.*, 1989). برخی از این مکانیسم‌ها تاثیر مستقیم و برخی دیگر تاثیر غیرمستقیم بر رشد گیاه دارند. انواع PGPR به‌طور مستقیم و با استفاده از مکانیسم‌های مختلف، در افزایش رشد و عملکرد گیاه نقش دارند. اثرات مستقیم این دسته از میکروارگانیسم‌ها شامل تولید فیتوهورمون‌ها<sup>۳</sup> و سیدروفور، انحلال فسفات‌های نامحلول، تثبیت نیتروژن<sup>۴</sup> (Majeed *et al.*, 2015) و تولید ۱-آمینو-سیکلو پروپان -۱- کربوکسیل د-آمیناز<sup>۵</sup> (ACC-deaminase) می‌باشند (Lim *et al.*, 2012).

ترشح فیتوهورمون، یکی از مکانیسم‌های مهم افزایش رشد گیاه می‌باشد (Zahir, 2004). هورمون اسید ایندول ۳ استیک<sup>۶</sup> (IAA) مهم‌ترین نوع IAA طبیعی با اثرات فیزیولوژی وسیعی است که نقشی اساسی در رشد گیاه دارد (Teal *et al.*, 2006). در واقع IAA یکی از هورمون‌های گیاهی است که در بافت مریستمی تولید می‌شود و به تریپتوفان وابسته است. مطالعات ژنتیکی و بیوشیمیایی نشان داده‌اند که اسیدآمینو تریپتوفان پیش‌ساز بیوسنتز IAA در گیاهان می‌باشد (Zhao, 2010). در بین میکروارگانیسم‌های تولید کننده IAA، سودوموناس‌ها<sup>۷</sup> از فراوانی بیشتری برخوردار هستند (Misko & Germida, 2003).

(2002) گونه‌های ویژه سودوموناس فلورسنت (پوتیدا<sup>۸</sup> و فلورسنس<sup>۹</sup>) نقش موثری در تولید IAA دارند و باعث بهبود رشد گیاه می‌شوند (Khakipour *et al.*, 2008). تین و همکاران (Tien *et al.*, 1979) گزارش نمودند که مقدار IAA تولید شده توسط باکتری‌ها، تابعی از گونه و جدایه باکتری، نوع محیط کشت مورد استفاده و شرایط کشت باکتری می‌باشد. در پژوهشی که توسط مقامی و همکاران (Maghami *et al.*, 2013) انجام شد توان تولید IAA توسط ۳۰ جدایه سودوموناس فلورسنت در محیط کشت TSB با غلظت‌های صفر و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ارزیابی شد و نتایج نشان داد که تولید IAA بین مقادیر ۲/۰۵ تا ۹۲/۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود و بیشترین مقدار IAA توسط جدایه P<sub>1/4</sub> در حضور ال-تریپتوفان و کم‌ترین میزان IAA توسط P<sub>5/2</sub> در شرایط بدون ال-تریپتوفان تولید شد. در تحقیق دیگری مشخص شد که در محیط کشت غنی Lysogeny Broth (LB) حاوی غلظت‌های مختلف ال-تریپتوفان، جدایه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه مقادیر متفاوتی IAA تولید کردند. میزان تولید IAA در غلظت صفر ال-تریپتوفان اندک، در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ال-تریپتوفان، بین ۰/۵۰ تا ۳۲/۰، در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر از ۱۰/۰ تا ۵۲/۰ و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بین ۰/۴۲ تا ۹/۷۵ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود (Akhtar & Basharat, 2011). مونترو-کلاساز و همکاران (Montero-Calasanz *et al.*, 2013) برای بررسی توان تولید IAA باکتری‌ها از محیط کشت غنی Nutrient Broth (LB) محتوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-تریپتوفان استفاده کردند و نشان دادند که بیشترین تولید IAA توسط باکتری سودوموناس فلورسنت جدایه CT364 به میزان ۴۵ میلی‌گرم در لیتر بوده است. عبادی و همکاران (Ebadi *et al.*, 2012) گزارش کردند که جدایه‌های متعلق به سودوموناس و ریزوبیوم<sup>۱۰</sup> در محیط DF حاوی ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر ال-تریپتوفان، IAA تولید نمودند و بیشترین مقدار IAA توسط *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* B4(RLP) به میزان ۱۰/۱ تولید شد. طی تحقیقاتی که توسط جین و همکاران (Jean *et al.*, 2003) صورت گرفت، جدایه‌های MCO7, B45, B16 از باکتری سودوموناس فلورسنت رشد یافته در

- 1- Rhizosphere
- 2- Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)
- 3- Phytohormone
- 4- N-Fixation
- 5- 1-amino-cyclopropan-1-carboxylate de-aminase (ACC-deaminase)
- 6- Indole-3-Acetic Acid
- 7- *Pseudomonas*

۸- *P. Putida*  
 ۹- *P. Fluorescens*  
 ۱۰- *Pseudomonas and Rhizobium*

تحقیقات نومائو و همکاران (Noumavo *et al.*, 2013) افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه ذرت را در اثر تلقیح با باکتری‌های جنس سودوموناس نشان داد. محققین مختلف به منظور ارزیابی توان تولید اکسین از محیط‌های کشت مختلف غنی (TSB)، نیمه غنی (TSB/2) و حداقل (DF) استفاده می‌کنند. با توجه به اینکه یکی از صفات محرک رشد که پژوهشگران مختلف برای انتخاب سویه‌های برتر از آن استفاده می‌کنند اکسین است، درک روند تولید اکسین در دو محیط غنی و فقیر و همچنین همبستگی بین تولید اکسین در دو محیط ضروری است. این تحقیق به منظور بررسی سینتیک تولید IAA در دو محیط غنی TSB و حداقل DF، بررسی همبستگی تولید اکسین در دو محیط و همچنین اثر جدایه‌ها بر شاخص‌های رویشی ذرت در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

##### تهیه جدایه‌ها

جهت انجام این تحقیق تعداد ۳۲ جدایه سودوموناس فلورسنت از بانک باکتری گروه خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر رفسنجان تهیه گردید.

##### اندازه‌گیری توان تولید IAA در محیط TSB<sup>۱۲</sup>

اندازه‌گیری تولید اکسین به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور زمان (۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت) و محیط کشت (TSB و DF) انجام شد. به منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها در محیط کشت TSB (هر لیتر شامل ۱۷ گرم تریپتون، ۳ گرم پپتون سویا، ۵ گرم NaCl، ۲/۵ گرم K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> و ۲/۵ گرم دکستروز) کشت داده شدند. پس از ۴۸ ساعت، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط TSB حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال‌تریپتوفان منتقل گردید. بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت، از سوسپانسیون‌های باکتری نمونه‌گیری و سانتریفیوژ (در ۱۰۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه) گردید و ۱/۵ میلی‌لیتر آن با ۳ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی (۱۵۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵

محیط حداقل DF حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال‌تریپتوفان توانستند به ترتیب مقادیر ۰/۷، ۱۴/۹ و ۱۹/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA تولید کنند. خاک‌پیور و همکاران (Khakipour *et al.*, 2008) در تحقیقی دیگر ۵۰ جدایه سودوموناس فلورسنت را از نظر ترشح ترکیبات IAA مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند که ۷۸ درصد از جدایه‌ها قادر به تولید IAA بودند. همچنین در این تحقیق نشان داده شد مقدار IAA تولید شده توسط جدایه‌های سودوموناس فلورسنت از ۰ تا ۳۱/۶ و مقدار IAA تولید شده توسط جدایه‌های سودوموناس پوتیدا از ۰ تا ۲۴/۱ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود.

IAA تولید شده توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند از طریق تکثیر و ازدیاد طول ریشه‌های جانبی در مورفولوژی ریشه گیاهان تغییراتی ایجاد کند (Vessey & Buss, 2002). با توجه به اینکه تولید IAA توسط باکتری‌های PGPR باعث طویل شدن و تکثیر سلول‌های گیاهی می‌شود (Miransari & Smith, 2014)، بخشی از افزایش رشد گیاه توسط باکتری‌ها را می‌توان به تولید IAA نسبت داد (Akhtar & Ali, 2011). زهیر و همکاران (Zahir *et al.*, 2004) افزایش ۱۸ درصدی وزن خشک بوته ذرت را به واسطه تولید اکسین توسط باکتری‌های ازتوباکتر<sup>۱۱</sup> و سودوموناس گزارش نمودند. آن‌ها بیان کردند تولید IAA توسط جدایه‌های مختلف باکتریایی عامل افزایش رشد و عملکرد گیاه بوده است. کشاورزی و همکاران (Keshavarzi *et al.*, 2013) نشان دادند IAA بر صفات کمی ذرت از جمله ارتفاع بوته، وزن تر گیاه اثر معنی‌داری داشت. پتن و گلیک (Patten & Glick, 2002) بیان کردند باکتری‌های محرک رشد با مکانیسم‌های مختلفی نظیر تولید IAA موجب افزایش عملکرد گیاه ذرت گردید. با انجام آزمایشی روی ذرت شیرین بیان شد که کاربرد باکتری‌های سودوموناس پوتیدا افزایش وزن خشک ریشه و ساقه را در پی داشت (Mehnaz *et al.*, 2010). نتایج بررسی حمیدی و همکاران (Hamidi *et al.*, 2011) نشان داد که تلقیح گیاه ذرت با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش طول ساقه، وزن خشک ساقه و ریشه شد. علی‌پور و سبحانی‌پور (Alipour & Sobhanipour, 2012) بیان کردند تلقیح سودوموناس فلورسنت به گیاه ذرت باعث افزایش وزن خشک گیاه و افزایش کلروفیل می‌شود.

12- Trypticase Soy Broth

11- Azotobacter

سپس ارلن‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه روی شیکر با دور ۱۲۰ قرار داده شدند. سوسپانسیون‌های باکتریایی حاصل  $5 \times 10^7$  سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری به‌عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین ارلن‌های تلقیح نشده‌ای نیز در همان شرایط قرار داده شده و از آن‌ها به‌عنوان شاهد در کشت گلخانه‌ای استفاده گردید.

### کشت گیاه در بستر شن استریل

این آزمون در قالب طرح ساده کاملاً تصادفی با ۳۳ تیمار (۳۲ باکتری و یک شاهد) و سه تکرار انجام گردید. ۳۹۰ گرم شن کوارتزی استریل شده و شست‌وشو یافته با اسید در گلدان‌ها (گلدان‌هایی با قطر ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر) ریخته شد. قبل از کشت، به‌منظور ضدعفونی، ابتدا بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۹۶ درصد و سپس ۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد قرار داده شدند و به‌دنبال آن با مقادیر زیادی آب مقطر استریل (حدود ۱۰ بار) شست‌شو یافتند (Echeverria *et al.*, 2003). سپس در شرایط استریل، ۸ بذر در هر گلدان کاشته شد و در هنگام کاشت، هر بذر با مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر (با جمعیت  $5 \times 10^7$  سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری) تلقیح گردید. برای نمونه‌های شاهد، به هر بذر یک میلی‌لیتر از محیط کشت (بدون باکتری) اضافه گردید. گلدان‌های کشت شده به مدت ۴۵ روز در گلخانه نگاه‌داری شدند. به تمام گیاهچه‌ها در روزهای دهم، بیستم و سی‌ام ۲۵ میلی‌لیتر محلول غذایی داده شد. ترکیب محلول غذایی مورد استفاده عبارت بود از: ۰/۲۵ میلی‌مولار  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ، ۲ میلی‌مولار  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ، ۱ میلی‌مولار  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۸۸ میلی‌مولار  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ، ۰/۱ میلی‌مولار  $\text{KCl}$ ، ۰/۵ میکرومولار  $\text{MnSO}_4$ ، ۱ میکرومولار  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ، ۰/۲ میکرومولار  $\text{CuSO}_4$ ، ۰/۲ میکرومولار  $(\text{NH}_4)_6\text{M}_7\text{O}_{24}$ ، ۱ میکرومولار  $\text{ZnSO}_4$ ، ۱۰۰ میکرومولار Fe-EDTA و pH ۶/۸ (Tolay *et al.*, 2001). در انتهای ۴۵ روز گیاهچه‌ها برداشت شدند و شاخص‌های وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، طول اندام هوایی و طول ریشه (به وسیله خط کش)، نسبت اندام هوایی به ریشه، سطح برگ به‌وسیله دستگاه سنجش

میلی‌لیتر  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ۰/۵ مولار) مخلوط شد. این مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق نگاه‌داری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور آن در ۵۳۵ نانومتر قرائت شد (Bent *et al.*, 2001). مقدار تولید اکسین هر جدایه با مقایسه مقدار جذب نور آن با منحنی استاندارد با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شده از اسید ایندول استیک محاسبه گردید.

### اندازه‌گیری توان تولید IAA در محیط کشت DF<sup>۱۳</sup>

به‌منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری-ها در محیط کشت DF (شامل ۴ گرم در لیتر  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ، ۶ گرم در لیتر  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ، ۰/۲ گرم در لیتر  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۲ گرم در لیتر گلوکز، ۲ گرم در لیتر اسید سیتریک و همچنین عناصر ریزمغذی شامل: ۱ میلی‌گرم در لیتر  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۱۰ میکروگرم در لیتر  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ، ۱۰ میکروگرم در لیتر  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۱۲۴/۶ میکروگرم در لیتر  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۷۸/۲۲ میکروگرم در لیتر  $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  و ۱۰ میکروگرم در لیتر  $\text{MoO}_3$  و در pH=۷/۲) کشت داده شدند. ۴۸ ساعت پس از کشت، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط DF حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال‌تریپتوفان منتقل گردید. پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت، نمونه‌گیری و سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ (در ۱۰۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه) گردید و یک میلی‌لیتر از آن با ۴ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی مخلوط شد. این مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق نگاه‌داری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور آن در ۵۳۵ نانومتر قرائت شد (Bent *et al.*, 2001). مقدار تولید اکسین هر جدایه با مقایسه مقدار جذب نور آن با منحنی استاندارد با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شده از اسید ایندول استیک محاسبه گردید.

### تهیه مایه تلقیح جهت استفاده در کشت گلخانه‌ای

برای تهیه مایه تلقیح، یک لوب از هر سویه باکتری برداشته و به‌طور اسپتیک<sup>۱۴</sup> به ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع TSB انتقال داده شد.

13- DF salt minimal medium

14- Aseptic

۱۶ p۷, p۱۶, p۱۸, p۱۹, p۲۵, p۳۱ تولید IAA به‌خصوص در روزهای چهارم و پنجم روند کاهشی داشت (جدول ۳). کرنوال (Karnwal, 2009) مقدار تولید IAA توسط باکتری‌های سودوموناس فلورسنت در محیط کشت DF دارای سطوح مختلف ال-تریپتوفان را بین ۰/۲۰۰ تا ۹/۳۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش کرد. احمد و همکاران (Ahmad *et al.*, 2008) گزارش کردند تولید غلظت‌های بالای IAA توسط باکتری‌های سودوموناس فلورسنت یک خصوصیت بارز برای اکثر این باکتری‌هاست. تحقیقات کرنوال (Karnwal, 2009) نشان داد که تمامی جدایه‌های سودوموناس فلورسنت مورد آزمایش توانایی تولید IAA را داشتند. با توجه به اینکه محیط کشت DF حداقل (فقیر) می‌باشد، کاهش تولید IAA در روزهای پایانی را می‌توان به مصرف IAA تولید شده توسط باکتری‌ها نسبت داد. به دلیل ساختار کربنی هورمون‌های رشد امکان استفاده از آن‌ها به‌عنوان منبع انرژی و کربن وجود دارد (Weyers *et al.*, 2001). لیوو لندوو (Leveau & Lindow, 2005) نیز گزارش کردند که باکتری‌های سودوموناس دارای توانایی تجزیه IAA بوده و به‌عنوان منبع کربن، نیتروژن و انرژی از آن استفاده می‌کنند.

سطح برگ<sup>۱۵</sup> (Delta T, WD3, Uk)، میزان کلروفیل برگ توسط دستگاه اسپد<sup>۱۶</sup> (SPAD-502) و حجم ریشه (به روش سیلندر) اندازه‌گیری گردید.

### آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های مربوط به آزمایش‌های مختلف در این پژوهش با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم-افزار Excel رسم شدند.

### نتایج و بحث

#### الف) نتایج آزمایشگاهی

##### آزمون تولید IAA در محیط کشت TSB و DF

در این پژوهش ۳۲ جدایه‌ی سودوموناس فلورسنت، از نظر توان تولید IAA در زمان‌های مختلف و دو محیط کشت DF و TSB مورد بررسی قرار گرفتند. از نظر توانایی تولید IAA بین سویه‌ها و زمان‌های مختلف، اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $P \leq 0/01$ )، اثر برهم کنش سویه و زمان نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان-دهنده‌ی توانایی تمام سویه‌ها در تولید IAA بود، لیکن مقدار تولید IAA در بین جدایه‌ها در زمان‌ها و محیط‌های کشت مختلف متفاوت بود (جدول ۳ و ۵).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات جدایه‌ها در محیط کشت DF در زمان‌های مختلف در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در این تحقیق با توجه به نتایج به‌دست آمده متوسط تولید IAA جدایه‌ها در محیط کشت DF بین ۰/۴۳ و ۶/۰۳ میلی-گرم بر لیتر متغیر بود. میزان تولید IAA جدایه‌ها در روز اول بین ۰/۵۳ تا ۳/۳۹، روز دوم ۰/۸۰ تا ۶/۷۶، روز سوم ۰ تا ۷/۲۲، روز چهارم ۰/۹۰ تا ۹/۴۵ و روز پنجم ۰/۲۰ تا ۸/۸۵ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بود. کم‌ترین و بیشترین میزان IAA به‌ترتیب توسط جدایه p۱۳ و جدایه p۱۶ در روز پنجم تولید شد. اندازه‌گیری توان تولید IAA توسط جدایه‌ها نشان داد که تولید IAA در اکثر جدایه‌ها با افزایش زمان افزایش یافت. در تعدادی از جدایه‌ها مانند

15- Area measurement system  
16- Chlorophyll meter Spad

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر زمان و جدایه‌ها بر تولید IAA در محیط کشت‌های TSB و DF

Table 1- Analysis of variance for effect time and isolates on auxin production in TSB and DF media

میانگین مربعات (Mean Square)			
محیط کشت DF DF medium	محیط کشت TSB TSB medium	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Source of variation
44.9**	281**	31	جدایه‌ها (Isolates)
96.4**	979**	4	زمان (Time)
2.71**	35.3**	124	جدایه × زمان (Isolates*Times)
0.064	0.233	320	خطا Error
8.25	11.3	-	CV

\*\* معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد (Significant at 1% probability level)

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر جدایه‌ها بر تولید IAA در محیط کشت DF در زمان‌های مختلف

Table 2- Analysis of variance for effect of different Isolates on production of IAA in TSB medium at different times

میانگین مربعات (Mean Square)						
روز پنجم Fifth day	روز چهارم Forth day	روز سوم Third day	روز دوم Second day	روز اول First day	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Source of variation
16.2**	16.9**	11.8**	8.38**	2.38**	31	جدایه‌ها (Isolates)
0.096	0.076	0.070	0.045	0.032	64	خطا Error
7.86	7.14	7.94	8.01	11.7	-	CV

\*\* معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد (Significant at 1% probability level)

جدایه‌های p۱۳ و p۲۶ بود (جدول ۵). میزان تولید IAA با افزایش زمان روند افزایشی را داشت، که می‌توان دلیل آن را غنی بودن محیط کشت دانست. عباس‌زاده دهجی و همکاران (Abbaszade-Dahaji *et al.*, 2009) تولید زیاد IAA توسط باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت در محیط کشت TSB را به دلیل وجود مقادیر زیاد پپتون به عنوان منبع کربن و انرژی در این محیط گزارش کردند. با توجه به معنی‌دار شدن همبستگی بین IAA تولید شده در روزهای مختلف (به جز روز اول) در دو محیط TSB و DF (جدول ۶) می‌توان نتیجه گرفت که تولید IAA در هر دو محیط کشت روند مشابهی دارد و جدایه‌هایی که در محیط غنی توان بالایی در تولید IAA دارند، در محیط فقیر نیز توان بالاتری در تولید IAA دارند. جدایه‌های p۳۱، p۲۶، p۲۹، p۳۲، p۱۶، p۱۸ و p۱۵ به ترتیب بالاترین مقدار IAA را در محیط کشت TSB تولید کردند (جدول ۵) و همین جدایه‌ها در محیط DF نیز بیشترین میزان IAA را تولید نمودند (جدول ۳). با توجه به نکات ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که جدایه‌ای که توان تولید بالای اکسین را داشته باشد در هر محیطی غنی و حداقل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات جدایه‌ها در محیط کشت TSB در زمان‌های مختلف در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). میزان تولید IAA توسط جدایه‌های مختلف در محیط کشت TSB و در زمان‌های مختلف در جدول (۵) ارائه شده است. در این تحقیق متوسط میزان تولید IAA در محیط کشت TSB بین ۰/۰۴۰ تا ۳۴/۳ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بود (جدول ۵). عباس‌زاده دهجی و همکاران (Abbaszade-Dahaji *et al.*, 2009) نیز نشان دادند میزان تولید IAA توسط سودوموناس فلوروسنت در محیط کشت TSB بین مقادیر ۰/۷۱۰ تا ۲۳/۱ میلی‌گرم بر لیتر متغیر است. روبیو و همکاران (Rubio *et al.*, 2000) گزارش کردند در محیط کشت حاوی پودر سویا سه جدایه سودوموناس پوتیدا توانستند به میزان ۲/۸۰ تا ۲۸/۸ میلی‌گرم بر لیتر IAA تولید کنند. محدوده تولید IAA در روز اول بین ۰/۱۱۰ تا ۲/۳۱، روز دوم ۰/۰۴۰ تا ۸/۹۰، روز سوم ۰/۳۰۰ تا ۱۳/۳، روز چهارم ۰/۳۳۳ تا ۲۴/۹ و روز پنجم ۰/۸۶۳ تا ۲۶/۰ میلی‌گرم بر لیتر متغیر بود. کم‌ترین و بیشترین میزان IAA تولید شده در روز پنجم و به ترتیب مربوط به

توانایی بالایی در تولید اکسین دارد و برای انتخاب سویه‌های برتر هر دو محیط مناسب هستند.

جدول ۳- تاثیر زمان بر تولید IAA توسط جدایه‌های مختلف در محیط کشت DF

Table 3- The effect of time on auxin production by different isolates in DF medium

میانگین Average	روز پنجم Fifth day	روز چهارم Forth day	روز سوم Third day	روز دوم Second day	روز اول First day	شماره جدایه‌ها Isolates number
mg.l <sup>-1</sup>						
1.21 <sup>q</sup>	1.25 <sup>n</sup>	1.38 <sup>o</sup>	1.47 <sup>mn</sup>	1.43 <sup>l</sup>	0.500 <sup>op</sup>	p1
1.47 <sup>p</sup>	1.98 <sup>m</sup>	1.89 <sup>n</sup>	1.69 <sup>lm</sup>	1.07 <sup>m</sup>	0.753 <sup>m-p</sup>	p2
2.68 <sup>lm</sup>	3.08 <sup>jk</sup>	3.19 <sup>m</sup>	2.99 <sup>jk</sup>	2.19 <sup>h-j</sup>	1.92 <sup>e-g</sup>	p3
3.10 <sup>ij</sup>	4.88 <sup>d-f</sup>	4.71 <sup>mg</sup>	3.49 <sup>hi</sup>	1.62 <sup>l</sup>	0.780 <sup>l-o</sup>	p4
2.97 <sup>jk</sup>	3.40 <sup>ij</sup>	3.37 <sup>k-m</sup>	3.34 <sup>ij</sup>	2.48 <sup>gh</sup>	2.42 <sup>de</sup>	p5
3.28 <sup>hi</sup>	3.98 <sup>gh</sup>	3.81 <sup>i-k</sup>	3.94 <sup>f-h</sup>	2.63 <sup>fg</sup>	2.04 <sup>ef</sup>	p6
2.52 <sup>mn</sup>	3.44 <sup>ij</sup>	3.59 <sup>j-m</sup>	2.70 <sup>k</sup>	1.68 <sup>kl</sup>	1.18 <sup>jk</sup>	p7
4.85 <sup>d</sup>	5.24 <sup>d</sup>	5.73 <sup>e</sup>	4.95 <sup>d</sup>	4.85 <sup>c</sup>	2.48 <sup>cd</sup>	p8
2.42 <sup>n</sup>	3.18 <sup>i-k</sup>	3.14 <sup>m</sup>	2.85 <sup>k</sup>	1.72 <sup>kl</sup>	1.19 <sup>jk</sup>	p9
0.530 <sup>r</sup>	0.910 <sup>n</sup>	0.840 <sup>p</sup>	0.210 <sup>o</sup>	0.250 <sup>no</sup>	0.440 <sup>p</sup>	p10
3.19 <sup>i</sup>	4.40 <sup>fg</sup>	3.96 <sup>h-j</sup>	3.74 <sup>g-i</sup>	2.69 <sup>fg</sup>	1.16 <sup>jk</sup>	p11
1.88 <sup>o</sup>	2.71 <sup>kl</sup>	1.90 <sup>n</sup>	1.99 <sup>l</sup>	1.63 <sup>l</sup>	1.16 <sup>jk</sup>	p12
0.043 <sup>s</sup>	0.020 <sup>o</sup>	0.090 <sup>q</sup>	0.00 <sup>o</sup>	0.080 <sup>o</sup>	0.300 <sup>q</sup>	p13
0.370 <sup>r</sup>	0.850 <sup>n</sup>	0.597 <sup>p</sup>	0.270 <sup>o</sup>	0.090 <sup>o</sup>	0.053 <sup>q</sup>	p14
3.62 <sup>g</sup>	6.47 <sup>c</sup>	4.69 <sup>gh</sup>	3.79 <sup>g-i</sup>	2.08 <sup>ij</sup>	1.09 <sup>j-l</sup>	p15
6.03 <sup>a</sup>	8.85 <sup>a</sup>	8.96 <sup>b</sup>	7.22 <sup>a</sup>	3.80 <sup>d</sup>	1.32 <sup>i-k</sup>	p16
5.45 <sup>c</sup>	8.71 <sup>a</sup>	9.45 <sup>a</sup>	5.21 <sup>e</sup>	2.68 <sup>fg</sup>	1.22 <sup>jk</sup>	p18
3.28 <sup>hi</sup>	3.67 <sup>hi</sup>	3.72 <sup>i-l</sup>	4.03 <sup>fg</sup>	3.38 <sup>e</sup>	1.64 <sup>g-i</sup>	p19
3.26 <sup>hi</sup>	4.63 <sup>ef</sup>	4.15 <sup>hi</sup>	4.04 <sup>fg</sup>	2.44 <sup>g-i</sup>	1.05 <sup>k-m</sup>	p20
0.540 <sup>r</sup>	0.293 <sup>o</sup>	0.710 <sup>p</sup>	0.440 <sup>o</sup>	0.520 <sup>n</sup>	0.720 <sup>n-p</sup>	p21
4.00 <sup>f</sup>	4.93 <sup>d-f</sup>	4.86 <sup>f</sup>	4.41 <sup>f</sup>	3.88 <sup>d</sup>	1.93 <sup>e-g</sup>	p22
1.58 <sup>q</sup>	1.39 <sup>n</sup>	1.01 <sup>op</sup>	1.11 <sup>n</sup>	1.47 <sup>l</sup>	1.41 <sup>ij</sup>	p23
1.65 <sup>p</sup>	2.09 <sup>m</sup>	2.03 <sup>n</sup>	1.59 <sup>lm</sup>	1.54 <sup>l</sup>	0.983 <sup>k-n</sup>	p24
4.54 <sup>e</sup>	4.60 <sup>ef</sup>	5.10 <sup>f</sup>	4.40 <sup>f</sup>	4.97 <sup>c</sup>	3.65 <sup>a</sup>	p25
5.36 <sup>c</sup>	6.51 <sup>c</sup>	6.42 <sup>d</sup>	4.79 <sup>d</sup>	5.49 <sup>b</sup>	2.58 <sup>c</sup>	p26
5.76 <sup>b</sup>	6.53 <sup>c</sup>	6.53 <sup>d</sup>	6.09 <sup>cd</sup>	6.76 <sup>a</sup>	2.92 <sup>b</sup>	p27
2.80 <sup>kL</sup>	3.28 <sup>ij</sup>	3.31 <sup>k-m</sup>	2.83 <sup>k</sup>	2.98 <sup>f</sup>	1.59 <sup>hi</sup>	p28
3.13 <sup>ij</sup>	3.30 <sup>ij</sup>	3.29 <sup>lm</sup>	3.41 <sup>ij</sup>	3.86 <sup>d</sup>	1.78 <sup>f-h</sup>	p29
5.82 <sup>b</sup>	7.32 <sup>b</sup>	7.37 <sup>c</sup>	6.46 <sup>bc</sup>	5.21 <sup>bc</sup>	2.72 <sup>bc</sup>	p31
3.41 <sup>h</sup>	4.99 <sup>de</sup>	4.33 <sup>gh</sup>	3.60 <sup>g-i</sup>	2.23 <sup>h-j</sup>	1.90 <sup>f-h</sup>	p32
1.91 <sup>o</sup>	2.41 <sup>lm</sup>	2.27 <sup>n</sup>	1.63 <sup>lm</sup>	2.01 <sup>jk</sup>	121 <sup>jk</sup>	p33
5.76 <sup>b</sup>	6.98 <sup>bc</sup>	7.04 <sup>c</sup>	6.57 <sup>b</sup>	4.84 <sup>c</sup>	3.39 <sup>a</sup>	p34

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن می‌باشند

In each column, means with similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple range tests

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر جدایه‌ها بر تولید IAA در محیط کشت TSB در زمان‌های مختلف

Table 4: Analysis of variance for effect of different isolates on production of IAA in TSB medium at different times

میانگین مربعات (Mean-square)						منابع تغییرات Source of variation
روز پنجم Fifth day	روز چهارم Forth day	روز سوم Third day	روز دوم Second day	روز اول First day	درجه آزادی Degree of freedom	
227**	129**	46.1**	18.4**	0.782**	31	جدایه‌ها (Isolates)
0.650	0.343	0.124	0.039	0.010	64	خطا Error
9.18	9.47	10.8	9.90	9.85	-	CV

\*\* معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد (Significant at 1% probability level)

جدول ۵- بررسی تاثیر زمان بر تولید IAA توسط جدایه‌های مختلف در محیط کشت TSB

Table 5- The effect of time on Auxin production by different isolates in TSB medium

میانگین Average	روز پنجم Fifth day	روز چهارم Forth day	روز سوم Third day	روز دوم Second day	روز اول First day	شماره جدایه‌ها Isolates number
mg.l <sup>-1</sup>						
2.29 <sup>m-o</sup>	5.77 <sup>i-k</sup>	4.13 <sup>i-k</sup>	0.910 <sup>lm</sup>	0.413 <sup>op</sup>	0.230 <sup>pq</sup>	P1
3.60 <sup>h</sup>	6.58 <sup>i</sup>	5.76 <sup>gh</sup>	2.68 <sup>ef</sup>	1.81 <sup>ef</sup>	1.15 <sup>fg</sup>	P2
2.96 <sup>i-k</sup>	5.60 <sup>i-k</sup>	4.68 <sup>h-j</sup>	1.85 <sup>g-j</sup>	1.32 <sup>g-i</sup>	1.37 <sup>d</sup>	P3
2.68 <sup>j-m</sup>	4.37 <sup>k-n</sup>	3.25 <sup>k-m</sup>	2.42 <sup>f-h</sup>	1.79 <sup>ef</sup>	1.58 <sup>c</sup>	P4
3.11 <sup>i</sup>	5.63 <sup>i-k</sup>	4.26 <sup>i-k</sup>	1.84 <sup>g-j</sup>	2.55 <sup>d</sup>	1.27 <sup>d-f</sup>	P5
2.43 <sup>l-m</sup>	4.69 <sup>j-l</sup>	3.70 <sup>j-l</sup>	1.96 <sup>g-i</sup>	1.16 <sup>h-k</sup>	0.64 <sup>mn</sup>	P6
3.06 <sup>i-j</sup>	6.16 <sup>ij</sup>	5.16 <sup>g-i</sup>	1.95 <sup>g-i</sup>	0.920 <sup>j-m</sup>	1.14 <sup>fg</sup>	P7
2.67 <sup>k-m</sup>	5.32 <sup>i-k</sup>	2.89 <sup>lm</sup>	1.77 <sup>h-k</sup>	2.41 <sup>d</sup>	0.960 <sup>h-j</sup>	P8
5.72 <sup>e</sup>	10.4 <sup>fg</sup>	9.72 <sup>d</sup>	5.76 <sup>c</sup>	1.66 <sup>fg</sup>	0.613 <sup>mn</sup>	P9
1.16 <sup>p</sup>	1.70 <sup>pq</sup>	2.30 <sup>mn</sup>	0.750 <sup>lm</sup>	0.643 <sup>m-o</sup>	0.390 <sup>op</sup>	p10
2.81 <sup>i-l</sup>	6.33 <sup>i</sup>	3.63 <sup>j-l</sup>	1.88 <sup>g-j</sup>	1.35 <sup>g-i</sup>	0.837 <sup>h-k</sup>	p11
2.08 <sup>no</sup>	3.81 <sup>l-n</sup>	2.73 <sup>lm</sup>	1.80 <sup>h-j</sup>	1.00 <sup>i-m</sup>	1.04 <sup>gh</sup>	p12
0.710 <sup>q</sup>	2.08 <sup>o-q</sup>	0.966 <sup>op</sup>	0.370 <sup>m</sup>	0.040 <sup>q</sup>	0.110 <sup>q</sup>	p13
0.430 <sup>q</sup>	0.863 <sup>q</sup>	0.333 <sup>p</sup>	0.300 <sup>m</sup>	0.233 <sup>pq</sup>	0.423 <sup>o</sup>	p14
4.34 <sup>f</sup>	11.4 <sup>f</sup>	5.60 <sup>gh</sup>	1.60 <sup>i-k</sup>	1.44 <sup>gh</sup>	1.65 <sup>c</sup>	p15
5.74 <sup>e</sup>	13.5 <sup>e</sup>	7.00 <sup>e</sup>	4.10 <sup>d</sup>	2.03 <sup>e</sup>	2.00 <sup>b</sup>	p16
4.14 <sup>fg</sup>	9.27 <sup>h</sup>	5.67 <sup>gh</sup>	3.16 <sup>e</sup>	1.26 <sup>h-j</sup>	1.34 <sup>de</sup>	p18
4.01 <sup>fg</sup>	9.63 <sup>gh</sup>	5.533 <sup>gh</sup>	2.73 <sup>ef</sup>	1.03 <sup>i-k</sup>	1.15 <sup>fg</sup>	p19
2.41 <sup>mn</sup>	6.14 <sup>ij</sup>	3.66 <sup>j-l</sup>	0.933 <sup>lm</sup>	0.533 <sup>n-p</sup>	0.783 <sup>j-m</sup>	p20
1.11 <sup>p</sup>	1.89 <sup>o-q</sup>	0.700 <sup>op</sup>	0.633 <sup>lm</sup>	0.433 <sup>op</sup>	1.89 <sup>b</sup>	p21
2.68 <sup>j-m</sup>	5.56 <sup>i-k</sup>	3.63 <sup>j-l</sup>	2.13 <sup>f-i</sup>	1.10 <sup>h-k</sup>	0.993 <sup>g-i</sup>	p22
1.11 <sup>p</sup>	1.15 <sup>q</sup>	1.43 <sup>no</sup>	1.27 <sup>j-l</sup>	0.700 <sup>l-o</sup>	0.993 <sup>g-i</sup>	-p23
1.20 <sup>p</sup>	3.04 <sup>n-p</sup>	1.33 <sup>n-p</sup>	0.633 <sup>lm</sup>	0.530 <sup>n-p</sup>	0.473 <sup>no</sup>	p24
2.38 <sup>mn</sup>	4.56 <sup>k-m</sup>	4.06 <sup>jk</sup>	1.60 <sup>i-k</sup>	0.840 <sup>k-n</sup>	0.830 <sup>i-l</sup>	p25
15.7 <sup>b</sup>	34.3 <sup>a</sup>	22.3 <sup>b</sup>	13.3 <sup>a</sup>	8.23 <sup>b</sup>	0.690 <sup>lm</sup>	p26
4.19 <sup>fg</sup>	9.40 <sup>h</sup>	6.73 <sup>ef</sup>	2.48 <sup>fg</sup>	1.17 <sup>h-k</sup>	1.17 <sup>e-g</sup>	p27
1.95 <sup>o</sup>	4.50 <sup>k-m</sup>	2.66 <sup>lm</sup>	1.14 <sup>kl</sup>	0.883 <sup>k-n</sup>	0.603 <sup>mn</sup>	p28
15.3 <sup>c</sup>	28.9 <sup>c</sup>	24.1 <sup>a</sup>	13.6 <sup>a</sup>	8.74 <sup>a</sup>	1.29 <sup>d-f</sup>	p29
16.2 <sup>a</sup>	23.1 <sup>b</sup>	24.9 <sup>a</sup>	13.8 <sup>a</sup>	8.90 <sup>a</sup>	1.29 <sup>d-f</sup>	p31
12.2 <sup>d</sup>	23.4 <sup>d</sup>	17.5 <sup>c</sup>	11.2 <sup>b</sup>	7.04 <sup>c</sup>	2.31 <sup>a</sup>	p32
1.32 <sup>p</sup>	3.16 <sup>m-o</sup>	1.50 <sup>no</sup>	0.750 <sup>lm</sup>	0.530 <sup>n-p</sup>	0.620 <sup>mn</sup>	p33
3.95 <sup>g</sup>	9.26 <sup>h</sup>	5.90 <sup>fg</sup>	2.76 <sup>ef</sup>	1.10 <sup>h-k</sup>	0.760 <sup>k-m</sup>	p34

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن می‌باشند

In each column, means with similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple range tests

جدول ۶- همبستگی بین IAA تولید شده در دو محیط TSB و DF در روزهای مختلف

Table 6- Correlation between auxin production in both TSB and DF medium in different times

روز پنجم Fifth day	روز چهارم Forth day	روز سوم Third day	روز دوم Second day	روز اول First day	
TSB					
0.515**	0.411**	0.428**	0.448**	0.172 <sup>ns</sup>	DF

\*\* و ns: به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و عدم معنی‌دار

(Significant at 1% probability level and non-significant, respectively)



## نتایج گلخانه‌ای

## نتایج آزمون رشد گیاهان در شرایط گلخانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که جدایه‌ها تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر تمامی شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده داشتند (جدول ۷ و ۸). مقایسه میانگین تاثیر کاربرد تیمارهای باکتری بر شاخص‌های رشد در جداول (۹ و ۱۰) آورده شده‌است. چنانچه ملاحظه می‌شود کاربرد تمامی جدایه‌ها باعث افزایش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی نسبت به شاهد شد. بیشترین وزن تر اندام هوایی مربوط به جدایه p۷ با ۴۷/۷ درصد افزایش بود (جدول ۹). اقبال و حسنین (Iqbal & Hasnain, 2013) تاثیر جدایه‌های سودوموناس فلورسنت تولید کننده IAA بر رشد گندم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این محققین نشان داد همه‌ی جدایه‌ها باعث افزایش وزن تر گیاه شدند و علت این افزایش را افزایش حجم و توسعه ریشه و به تبع آن جذب بیشتر عناصر غذایی گزارش کردند. همچنین کاربرد تیمارهای باکتری باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی تا ۱۰۳٪ و افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی گردیدند.

جدایه‌های p۱۵، p۷ و p۲۶ به ترتیب بیشترین وزن خشک اندام هوایی را نسبت به شاهد نشان دادند. مهناز و همکاران (Mehnaz *et al.*, 2010) با انجام آزمایشی بر روی ذرت نشان دادند کاربرد باکتری‌های سودوموناس فلورسنت منجر به افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه شد. همچنین گزارش شده است که تلقیح ذرت با جدایه‌ای از باکتری سودوموناس فلورسنت باعث افزایش وزن خشک گیاه نسبت به شاهد شد (Shaharoon *et al.*, 2006). جدایه‌های مورد آزمایش طول اندام هوایی گیاهان تیمار شده را در مقایسه با شاهد تا ۵۳/۱ درصد افزایش دادند. طول اندام هوایی بین ۴۹/۹ تا ۳۲/۶ سانتی‌متر در گلدان متغیر بود. (جدول ۱۰). چی و همکاران (Chi *et al.*, 2005) گزارش کردند تلقیح برنج با باکتری‌های PGPR ارتفاع گیاه را به طور معنی‌داری افزایش داد. در تحقیقات دیگر نیز افزایش ارتفاع گیاه در اثر استفاده از باکتری‌های سودوموناس گزارش شده است (Hameedaa *et al.*, 2008; Sarma *et al.*, 2009; Gandhi & Sivakumar, 2010). نتایج مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد تمامی جدایه‌ها نسبت اندام هوایی به ریشه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۹).

بیشترین نسبت اندام هوایی به ریشه مربوط به جدایه p۱۶ و میزان افزایش در این جدایه نسبت به شاهد بیش از ۱۰۰٪ بود.

کاربرد اکثر جدایه‌ها باعث کاهش وزن خشک ریشه در مقایسه با شاهد شد (جدول ۹). با توجه به کشت گیاه در بستر شن استریل و استفاده از محلول کامل عناصر غذایی در طول دوره رشد گیاه، عمده تغییر در شاخص‌های رویشی گیاهان را می‌توان به تولید IAA توسط این جدایه‌ها نسبت داد. کاهش در وزن خشک ریشه‌ها را می‌توان با در نظر گرفتن دو دیدگاه توجیه کرد. یکی از نقش‌های مهم هورمون IAA گسترش رشد ریشه‌های جانبی و موئین می‌باشد (Dobbelaere *et al.*, 2003). با توجه به این‌که ریشه‌های اصلی نقش بیشتری در وزن ریشه دارند یکی از دلایل کاهش وزن خشک ریشه، ممکن است کاهش رشد ریشه‌های اصلی باشد. همچنین اثرات IAA بر رشد گیاه وابسته به غلظت آن در منطقه ریزوسفر است به طوری که غلظت‌های کم باعث افزایش و غلظت‌های زیاد آن باعث کاهش رشد ریشه گیاه می‌شود (Arshad & Frankenberger., 1992). باکتری‌های سودوموناس فلورسنت مهم‌ترین تولید کننده‌های IAA می‌باشند (Misko & Germida., 2002) و از آنجایی که در این تحقیق باکتری‌ها در بستر شن استریل به کار رفته بودند و در نتیجه رقابتی هم بین آن‌ها با سایر میکروارگانیسم‌ها وجود نداشته کاهش وزن خشک ریشه را می‌توان به تولید مقادیر خیلی زیاد IAA توسط این جدایه‌ها نسبت داد.

اکثر جدایه‌های مورد آزمایش نتوانستند تاثیر معنی‌داری بر افزایش حجم ریشه داشته باشند لیکن بیشتر آن‌ها باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه نسبت به شاهد شدند (جدول ۱۰). پنروز و گلیک (Patten & Glick, 2002) گزارش کردند تولید IAA توسط باکتری‌های ریزوسفری می‌تواند موجب افزایش تقسیمات سلول‌های ریشه و طول شدن ریشه شود. تحریک رشد ریشه در اثر تلقیح با باکتری‌های مولد IAA در کلزا گزارش شده است (Madhaiyan *et al.*, 2006). در پژوهشی که توسط تن و همکاران (Tan *et al.*, 2014) صورت گرفت مشخص شد که باکتری‌های PGPR تولید کننده IAA رشد ریشه گیاه برنج را افزایش دادند. IAA تولید شده توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند از طریق تکثیر و ازدیاد طول ریشه‌های جانبی در مورفولوژی ریشه گیاهان تغییراتی

افزایش سطح برگ ذرت در تیمارهای باکتریایی می‌تواند به دلیل افزایش تولید هورمون‌های گیاهی باشد. در تحقیقی استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش سطح برگ‌ها در گیاهان مختلف گردید (Spaen *et al.*, 2009). در این پژوهش جدایه‌های مورد استفاده به-طور معنی‌داری سبب افزایش شاخص کلروفیل گیاه شدند و جدایه‌های p14، p3، p5 و p4 بیشترین تاثیر را بر افزایش کلروفیل گیاهان تیمار شده داشتند و سویه p14 به‌عنوان بهترین سویه باعث افزایش ۵۹/۶ درصدی کلروفیل شد (جدول ۱۰). المقربی و همکاران (Almaghrabi *et al.*, 2014) گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های PGPR مقدار کلروفیل ذرت را به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه افزایش دادند. باشان و همکاران (Bashan *et al.*, 2006) نیز گزارش کردند که مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی گندم در اثر تلقیح با باکتری‌های PGPR به طور معنی‌داری افزایش یافت.

ایجاد کند. با توجه به اینکه رشد طولی ریشه و پارامترهای رشدی مانند وزن خشک برگ و طول اندام هوایی افزایش یافته در حالی که وزن خشک ریشه کاهش و حجم ریشه تغییری نکرده می‌توان نتیجه گرفت که اکسین تولید شده با تغییر مورفولوژی ریشه یعنی کاهش ریشه‌های اصلی که بیشترین حجم و وزن را به خود اختصاص می‌دهند و ایجاد ریشه‌های موئین و جانبی وزن خشک ریشه را کاهش داده و بیشتر متابولیت‌های حاصل از فتوسنتز را به رشد و توسعه اندام هوایی اختصاص داده است (Vessey & Buss, 2002).

کاربرد باکتری‌ها سطح برگ گیاه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در بین جدایه‌های مورد آزمایش جدایه‌های p2، p24 و p8 بیشترین تاثیر را بر افزایش سطح برگ داشتند. غلامی و همکاران (Gholami *et al.*, 2009) گزارش کردند تلقیح ذرت با باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش سطح برگ شد. به عقیده آن‌ها

جدول ۷- تجزیه واریانس تاثیر جدایه‌های مختلف بر ویژگی‌های رویشی گیاه ذرت در آزمون گلخانه‌ای

Table 7- Analysis of variance for effect of different isolates on growth parameters of maize (*Zea mays* L.) in pot experiment

مجموع مربعات (Mean Square)					
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن تر ساقه	نسبت اندام هوایی به ریشه
Source of variation	Degree of freedom	Shoot dry weight	Root dry weight	Shoot fresh weight	Shoot/Root
جدایه‌ها (Isolates)	32	0.114**	0.227**	1.98**	0.045**
خطا (Error)	66	0.003	0.004	0.201	0.002
CV	-	3.51	3.44	4.66	5.23

\*\* معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد (Significant at 1% probability level)

جدول ۸- تجزیه واریانس تاثیر جدایه‌های مختلف بر ویژگی‌های رویشی گیاه ذرت در آزمون گلخانه‌ای

Table 7- Analysis of variance for the effect of different isolates on growth parameters of maize (*Zea mays* L.) in pot experiment

مجموع مربعات (Mean Square)						
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	حجم ریشه	سطح برگ	کلروفیل	طول ساقه
Source of variation	Degree of freedom	Root length	Root volume	Leaf area	Chlorophyll	Shoot length
جدایه‌ها (Isolates)	32	59.6**	9.33**	2438**	2.44**	54.8**
خطا (Error)	66	1.47	1.20	63.7	0.228	1.15
CV	-	2.99	4.52	3.99	2.30	2.52

\*\* معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد (Significant at 1% probability level)

جدول ۹- بررسی تاثیر جدایه‌های مختلف بر پارامترهای رویشی گیاه ذرت در آزمون گلخانه‌ای

Table 9- The effect of different isolates on growth parameters of maize (*Zea mays* L.) in pot experiment

نسبت اندام هوایی به ریشه Shoot/Root	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن تر اندام هوایی Shoot wet weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	شماره جدایه‌ها Isolates number
	g.pot <sup>-1</sup>			
0.830 <sup>f-i</sup>	1.68 <sup>f-j</sup>	10.0 <sup>b-g</sup>	2.03 <sup>g</sup>	p1
0.745 <sup>i-l</sup>	1.63 <sup>f-l</sup>	9.63 <sup>e-k</sup>	2.18 <sup>ef</sup>	p2
0.790 <sup>g-k</sup>	1.57 <sup>j-n</sup>	9.10 <sup>h-m</sup>	1.98 <sup>gh</sup>	p3
0.893 <sup>d-e</sup>	1.65 <sup>f-l</sup>	9.70 <sup>d-j</sup>	1.85 <sup>i-n</sup>	p4
0.853 <sup>d-h</sup>	1.54 <sup>l-n</sup>	8.80 <sup>k-m</sup>	1.81 <sup>k-n</sup>	p5
0.790 <sup>h-k</sup>	1.70 <sup>d-g</sup>	9.63 <sup>e-k</sup>	2.17 <sup>f</sup>	p6
1.05 <sup>ab</sup>	1.88 <sup>b</sup>	10.9 <sup>a</sup>	1.79 <sup>l-n</sup>	p7
0.880 <sup>d-f</sup>	1.58 <sup>i-n</sup>	9.70 <sup>d-j</sup>	1.79 <sup>l-n</sup>	p8
0.740 <sup>j-l</sup>	1.63 <sup>f-l</sup>	9.83 <sup>c-i</sup>	2.21 <sup>d-f</sup>	p9
0.823 <sup>f-j</sup>	1.55 <sup>k-n</sup>	9.63 <sup>e-k</sup>	1.87 <sup>h-m</sup>	p10
0.840 <sup>e-h</sup>	1.51 <sup>mn</sup>	9.50 <sup>f-k</sup>	1.80 <sup>l-n</sup>	p11
0.850 <sup>d-h</sup>	1.48 <sup>n</sup>	8.67 <sup>l-m</sup>	1.74 <sup>n-o</sup>	p12
0.720 <sup>k-m</sup>	1.68 <sup>e-j</sup>	9.37 <sup>f-l</sup>	2.33 <sup>c</sup>	p13
0.893 <sup>d-f</sup>	1.66 <sup>f-k</sup>	10.0 <sup>b-g</sup>	1.86 <sup>h-n</sup>	p14
0.980 <sup>bc</sup>	2.42 <sup>a</sup>	10.6 <sup>a-c</sup>	2.48 <sup>b</sup>	p15
1.10 <sup>a</sup>	1.82 <sup>bc</sup>	10.8 <sup>ab</sup>	1.66 <sup>o-q</sup>	p16
1.04 <sup>ab</sup>	1.73 <sup>c-f</sup>	10.2 <sup>a-f</sup>	1.67 <sup>o-p</sup>	p18
0.850 <sup>d-h</sup>	1.49 <sup>n</sup>	8.97 <sup>i-m</sup>	1.74 <sup>m-o</sup>	p19
0.883 <sup>d-f</sup>	1.58 <sup>h-n</sup>	9.33 <sup>f-l</sup>	1.79 <sup>l-n</sup>	p20
0.817 <sup>f-j</sup>	1.61 <sup>g-m</sup>	9.77 <sup>c-j</sup>	1.97 <sup>g-i</sup>	p21
0.930 <sup>cd</sup>	1.69 <sup>d-i</sup>	10.8 <sup>ab</sup>	1.82 <sup>j-n</sup>	p22
0.983 <sup>bc</sup>	1.78 <sup>b-e</sup>	10.6 <sup>a-c</sup>	1.82 <sup>j-n</sup>	p23
0.653 <sup>m</sup>	1.82 <sup>bc</sup>	10.4 <sup>a-e</sup>	2.78 <sup>a</sup>	p24
1.00 <sup>bc</sup>	1.58 <sup>h-m</sup>	9.20 <sup>g-m</sup>	1.58 <sup>pq</sup>	p25
0.980 <sup>bc</sup>	1.86 <sup>b</sup>	10.4 <sup>a-e</sup>	1.90 <sup>h-l</sup>	p26
0.893 <sup>d-f</sup>	1.38 <sup>o</sup>	8.40 <sup>m</sup>	1.55 <sup>q</sup>	p27
0.920 <sup>c-e</sup>	1.64 <sup>f-l</sup>	9.43 <sup>f-l</sup>	1.80 <sup>l-n</sup>	p28
0.920 <sup>c-e</sup>	1.79 <sup>b-d</sup>	10.5 <sup>a-d</sup>	1.95 <sup>g-i</sup>	p29
0.700 <sup>lm</sup>	1.60 <sup>g-m</sup>	8.97 <sup>i-m</sup>	2.29 <sup>c-e</sup>	p31
0.72 <sup>k-m</sup>	1.64 <sup>f-l</sup>	8.37 <sup>m</sup>	2.29 <sup>c-e</sup>	p32
0.873 <sup>d-g</sup>	1.70 <sup>d-h</sup>	9.93 <sup>c-h</sup>	1.94 <sup>g-j</sup>	p33
0.813 <sup>f-j</sup>	1.57 <sup>j-n</sup>	8.93 <sup>j-m</sup>	1.93 <sup>g-k</sup>	p34
0.513 <sup>n</sup>	1.19 <sup>p</sup>	7.40 <sup>n</sup>	2.32 <sup>cd</sup>	Blank

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن می‌باشند

In each column, means with similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple range test

جدول ۱۰- بررسی تاثیر جدایه‌های مختلف بر ویژگی‌های رویشی گیاه ذرت در آزمون گلخانه‌ای

Table 10- The effect of different isolates on growth parameters of of maize (*Zea mays* L.) in pot experiment

کلروفیل Chlorophyll	سطح برگ Leaf area	حجم ریشه Root volume	طول ریشه Root length	طول اندام هوایی Shoot length	شماره جدایه‌ها Isolates number
	cm <sup>2</sup> .pot <sup>-1</sup>	cm <sup>3</sup> .pot <sup>-1</sup>	cm.plant <sup>-1</sup>	cm.pot <sup>-1</sup>	
19.6 <sup>k-m</sup>	218 <sup>cd</sup>	22.3 <sup>f-h</sup>	28.8 <sup>o</sup>	42.2 <sup>h-k</sup>	p1
19.9 <sup>j-l</sup>	261 <sup>a</sup>	25.3 <sup>a-d</sup>	38.3 <sup>i-l</sup>	41.3 <sup>j-m</sup>	p2
22.4 <sup>ab</sup>	174 <sup>mn</sup>	27.0 <sup>a</sup>	43.8 <sup>cd</sup>	36.3 <sup>pq</sup>	p3
21.7 <sup>bc</sup>	187 <sup>i-m</sup>	26.0 <sup>a-c</sup>	36.5 <sup>k-n</sup>	44.3 <sup>d-g</sup>	p4
22.0 <sup>ab</sup>	205 <sup>d-h</sup>	22.0 <sup>g-h</sup>	40.7 <sup>f-i</sup>	41.7 <sup>h-l</sup>	p5
20.6 <sup>d-j</sup>	226 <sup>c</sup>	26.7 <sup>ab</sup>	39.7 <sup>g-i</sup>	37.3 <sup>op</sup>	p6
21.0 <sup>c-h</sup>	200 <sup>e-i</sup>	25.0 <sup>a-e</sup>	36.7 <sup>j-n</sup>	40.1 <sup>l-n</sup>	p7
21.0 <sup>c-h</sup>	242 <sup>b</sup>	23.3 <sup>d-g</sup>	37.0 <sup>j-m</sup>	35.3 <sup>pq</sup>	p8
21.0 <sup>c-h</sup>	210 <sup>d-f</sup>	24.3 <sup>c-f</sup>	40.5 <sup>f-i</sup>	35.5 <sup>pq</sup>	p9
20.0 <sup>i-l</sup>	196 <sup>f-j</sup>	26.0 <sup>a-c</sup>	38.3 <sup>i-l</sup>	49.9 <sup>a</sup>	p10
20.4 <sup>d-k</sup>	205 <sup>d-h</sup>	25.7 <sup>a-c</sup>	40.1 <sup>f-i</sup>	43.1 <sup>f-i</sup>	p11
19.9 <sup>j-l</sup>	150 <sup>p</sup>	23.0 <sup>e-g</sup>	45.5 <sup>c</sup>	39.1 <sup>mn</sup>	p12
20.6 <sup>d-j</sup>	159 <sup>op</sup>	24.0 <sup>c-g</sup>	43.7 <sup>c-e</sup>	48.1 <sup>ab</sup>	p13
23.0 <sup>a</sup>	220 <sup>cd</sup>	26.7 <sup>ab</sup>	38.7 <sup>i-k</sup>	45.6 <sup>c-e</sup>	p14
21.3 <sup>cd</sup>	210 <sup>d-f</sup>	25.7 <sup>a-c</sup>	41.7 <sup>d-g</sup>	40.6 <sup>k-n</sup>	p15
20.0 <sup>i-l</sup>	207 <sup>d-g</sup>	22.0 <sup>g-h</sup>	41.7 <sup>d-g</sup>	47.9 <sup>b</sup>	p16
20.1 <sup>h-l</sup>	197 <sup>f-j</sup>	23.3 <sup>d-g</sup>	36.3 <sup>l-n</sup>	41.5 <sup>i-l</sup>	p18
20.2 <sup>g-k</sup>	190 <sup>h-l</sup>	23.0 <sup>e-g</sup>	43.3 <sup>c-e</sup>	38.9 <sup>mn</sup>	p19
21.3 <sup>c-e</sup>	175 <sup>mn</sup>	23.3 <sup>d-g</sup>	50.8 <sup>b</sup>	45.0 <sup>c-f</sup>	p20
20.6 <sup>d-j</sup>	216 <sup>cd</sup>	25.7 <sup>a-c</sup>	41.0 <sup>f-h</sup>	43.6 <sup>e-h</sup>	p21
21.0 <sup>c-f</sup>	217 <sup>cd</sup>	24.7 <sup>b-e</sup>	37.3 <sup>j-m</sup>	46.6 <sup>g-k</sup>	p22
20.5 <sup>d-j</sup>	177 <sup>l-n</sup>	25.0 <sup>a-e</sup>	40.2 <sup>f-i</sup>	49.9 <sup>ab</sup>	p23
21.0 <sup>c-h</sup>	264 <sup>a</sup>	25.0 <sup>a-e</sup>	53.1 <sup>a</sup>	41.6 <sup>h-l</sup>	p24
20.6 <sup>d-j</sup>	193 <sup>g-k</sup>	20.7 <sup>h</sup>	38.5 <sup>i-l</sup>	48.3 <sup>ab</sup>	p25
19.2 <sup>lm</sup>	172 <sup>m-o</sup>	22.3 <sup>f-h</sup>	42.1 <sup>d-f</sup>	47.0 <sup>bc</sup>	p26
21.2 <sup>c-f</sup>	176 <sup>l-n</sup>	20.7 <sup>h</sup>	43.7 <sup>c-e</sup>	43.3 <sup>f-i</sup>	p27
20.4 <sup>e-k</sup>	213 <sup>c-e</sup>	23.3 <sup>d-g</sup>	35.4 <sup>mn</sup>	41.8 <sup>h-l</sup>	p28
20.4 <sup>e-k</sup>	183 <sup>j-m</sup>	25.0 <sup>a-e</sup>	43.7 <sup>c-e</sup>	45.7 <sup>cd</sup>	p29
20.1 <sup>g-l</sup>	164 <sup>no</sup>	23.3 <sup>d-g</sup>	40.2 <sup>f-i</sup>	41.3 <sup>i-k</sup>	p31
20.9 <sup>c-i</sup>	187 <sup>i-m</sup>	26.7 <sup>ab</sup>	39.0 <sup>h-i</sup>	45.5 <sup>c-e</sup>	p32
21.6 <sup>bc</sup>	254 <sup>ab</sup>	26.7 <sup>ab</sup>	41.5 <sup>e-g</sup>	42.0 <sup>h-l</sup>	p33
20.3 <sup>f-k</sup>	181 <sup>k-m</sup>	23.3 <sup>d-g</sup>	41.7 <sup>d-g</sup>	42.9 <sup>g-j</sup>	p34
18.8 <sup>m</sup>	166 <sup>no</sup>	23.0 <sup>e-g</sup>	34.7 <sup>n</sup>	32.6 <sup>r</sup>	Blank

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن می‌باشند

In each column, means with similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple range test

### نتیجه‌گیری کلی

در محیط فقیر نیز همین رفتار را از خود نشان می‌دهد. همچنین کاربرد این جدایه‌ها تاثیر مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های رشد ذرت داشت. با بررسی سایر صفات سویه‌های برتر و استفاده از آن‌ها در کشت‌های گلخانه‌ای و آزمایشات مزرعه‌ای، در صورت مشاهده تاثیرات مثبت، می‌توان در تهیه کودهای بیولوژیکی از آن‌ها استفاده نمود.

نتایج نشان‌دهنده وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تولید IAA در دو محیط غنی TSB و حداقل DF بود. این همبستگی بین اکسین تولید شده در دو محیط بیان-گر این است که در انتخاب جدایه‌های برتر می‌توان از هر دو محیط کشت استفاده کرد و جدایه‌ای که در محیط غنی IAA بالایی تولید می‌کند و جز جدایه‌های برتر است،

## References

- Abbaszade-Dahaji P, Asadi-Rhmani H, Saleh-Rastin N, Khvazi K and Soltani AA. 2009. Evaluation of auxin production by fluorescent *Pseudomonas* and their effects on seedling growth of canola (*Brassica napus* L). Iranian Journal of Soil and Water Science, 22(2): 203-215. (in Persian).
- Ahmad F, Ahmad I and Khan MS. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research, 163(2): 173-181.
- Akhtar S and Ali B. 2011. Evaluation of rhizobacteria as non-rhizobial inoculants for mung beans. Australian Journal of Crop Science, 5(13): 1723-1729.
- Alipour ZT and Sobhanipour A. 2012. The effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescent* inoculation on maize growth and Fe uptake. Annals of Biological Research, 3 (3): 1661-1666.
- Almaghrabi OA, Abdelmoneim TS, Albishri HM and Moussa TAA. 2014. Enhancement of maize growth using some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under laboratory conditions. Life Science Journal, 11(11): 764-772.
- Antoun H, Beauchamp CJ, Guossard N, Chabot R and Lalonde R. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). Plant and Soil, 204(1): 57-67.
- Arshad M and Frankenberger WT. 1991. Microbial production of plant hormones. Plant and Soil, 133: 1-8.
- Bashan Y and de-Bashan LE. 2005. Plant growth-promoting. In: Encyclopedia of soils in the environment. Hillel D. Elsevier, Oxford, UK. pp: 103-115.
- Bashan Y, Bustillos JJ, Leyva LA, Hernandez JP and Bacilio M. 2006. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. Biology and Fertility of Soils, 42: 279-285.
- Bent E, Tuzan S, Chanway CP and Enebak S. 2001. Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. Canadian Journal of Microbiology, 47: 793-800.
- Bertrand H, Nalin R, Bally R and Cleyet-Marel JC. 2001 Isolation and identification of the most efficient plant growth promoting bacteria associated with canola *brassica napus*. Biology and fertility of soils, 33(2): 152-156.
- Bodelier PL, Wijnhuizen AG, Blom CW and Laanbroek HJ. 1997. Effects of photoperiod on growth of and denitrification by *Pseudomonas chlororaphis* in the root zone of *Glyceria maxima*, studied in a gnotobiotic microcosm. Plant and Soil, 190(1): 91-103.
- Boven GD and Rovira AD. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Advances in Agronomy, 66: 1-102.
- Chi F, Shen SH, Cheng HP, Jing YX, Yanni YG and Dazzo FB. 2005. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. Applied and Environmental Microbiology, 71: 7271-7278.
- Dobbelaere S, Vanderleyden J and Okon Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere, Critical Reviews in Plant Sciences. 22 (2): 107-149.
- Ebadi A, Alikhani HA and Rashtbari M. 2012. Effect of plant growth promoting bacteria (PGPB) on the morpho-physiological properties of button mushroom *agaricus bisporus* in two different culturing beds. International Journal of Basic Sciences and Applied Research, 3(1): 203-212.
- Echeverria SR, Fernandez MAP, Vlaar S and Finnan T. 2003. Analysis of the legume-rhizobia symbiosis in shrubs from central Western Spain. Applied Journal of Microbiology, 95:1367-1374.
- Gandi A and Sivakumar K. 2010. Impact of vermicompost carrier based bioinoculants on growth, yield and quality of rice (*Oryza sativa* L). An International Quarterly Journal of Environmental Science, 83-88.
- Gholami A, Shahsavani S and Nezarat S. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. World Academy of Science Engineering and Technology, 49: 19-24.
- Hameedaa B, Harinib GO, Rupelab P, Wanib SP and Reddya G. 2008. Growth promotion of maize by phosphate solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. Microbiological Research, 163: 234-242.

- Hamidi A, Asgharzadeh A, Chaokan R and Khalvati MA. 2011. Maize (*Zea mays* L.) seed biofortification by plant growth promoting bacteria (PGPB). *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 2(5): 194-205.
- Han HS and Lee KD. 2005. Phosphate and potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake, soil availability and growth of Eggplant. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1: 176-180.
- Iqbal A and Hasnain S. 2013. Auxin producing *Pseudomonas* strains: Biological candidates to modulate the growth of *Triticum aestivum* beneficially. *American Journal of Plant Sciences*, 4(9): 1693-1700.
- Jean JS, Lee SS, Kim HY, Ahn TS, and Song HG. 2003. Plant growth promoting in soil by some inoculated microorganism. *Journal of Microbiology*, 41(4): 271-276.
- Karnwal A. 2009. Production of indole acetic acid by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of l-tryptophan and rice root exudates. *Journal of Plant Pathology*, 91(1): 61-63.
- Keshavarzi M, Jafari Haghighi B and Bagheri A. 2013. The evaluation of auxin and gibberellin hormone on quantitative and qualitative characteristics of forage corn. *Iranian Journal of Plant Ecophysiology*, 15: 26-35. (in Persian).
- Khakipour N, Khavazi K, Mojallali H, Pazira E and Asadi Rahmani H. 2008. Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 4(6): 687-692.
- Kloepper JW, Lifshitz RR and Zablotwicz RM. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*, 7: 39-43.
- Leinhos V, and Vacek O. 1994. Biosynthesis of auxins by phosphate-solubilizing rhizobacteria from wheat and rye. *Microbiological Research*, 149: 31-35.
- Leveau JHJ and Lindow SE. 2005. Utilization of the plant hormone Indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5): 2365-2371.
- Lim JH, Ann CH, Kim YH, Jung BK and Kim SD. 2012. Isolation of auxin- and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing bacterium and its effect on pepper growth under saline stress. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 55(5): 607-612.
- Madhaiyan M, Poonguzhali S, Ryu J and Sa T. 2006. Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1-amino cyclopropane- 1-carboxylate deaminase- containing *Methylobacterium fujisawaense*. *Plantarum*, 224: 268-278.
- Maghami M, Olamaee M, Rasouli-Sadaghiani MH and Dordipour E. 2013. Isolation and some characteristics of fluorescent *Pseudomonas* native plant growth in soybean fields in Golestan province. *Iranian Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 3(2): 251-264 (in Persian).
- Majeed A, Abbasi MK, Hameed S, Imran A and Rahim N. 2015. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1-10.
- Mehnaz S, Kowalik T, Reynold B and Lazarovits G. 2010. Growth promoting effects of corn (*Zea mays*) bacterial isolates under greenhouse and field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 42 (10): 1848-1856.
- Miransari M, Smith DL. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99: 110-121.
- Misko AL and Germida JJ. 2002. Taxonomic and functional diversity of pseudomonad isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiology Ecology*, 42: 399-407.
- Montero-Calasanz MC, Santamaria C, Albareda M, Daza A, Duan J, Glick BR and Camacho M. 2013. Alternative rooting induction of semi-hardwood olive cuttings by several auxin-producing bacteria for organic agriculture systems. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(1): 146-154.
- Noumavo PA, Kochoni E, Didagbe YO, Adjanohoun A, Allagbe M, Sikirou R, Gachomo EW, Kotchoni SO and Baba-Moussa L. 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *American Journal of Plant Sciences*, 4(5): 1013-1021.
- Patten CL and Glick BR. 2002. The role of bacterial indole acetic acid in the development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8): 3795-3801.

- Penrose DM and Glick BR. 2003. Method for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 18: 10-15.
- Rubio TMG, Valencia-Plata SA, Bernal-Castillo J and Martinez-Nieto P. 2000. Isolation of Enterobacteria, *Azotobacter sp.* And *Pseudomonas sp.* producers of indole- 3-acetic acid and siderophores, from Colombian rice rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, 42: 171-176
- Saharan BS and Nehra V. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Science and Medical Research*, 21: 1-30
- Sarma MVRK, Saharan K, Prakash A, Bisaria VS and Sahai V. 2009. Application of fluorescent pseudomonads inoculant formulations on *Vigna mungo* through field trial. *International Journal of Biological Sciences*, 5(1): 25-28.
- Shaharoon B, Arshad M, Zahir AZ and Khalid A. 2006. Performance of *Pseudomonas spp.* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays L.*) In the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 2971-2975.
- Spaepen S, Vanderleyden J and Okon Y. 2009. Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. In: van Loon LC (ed.) *Advances in Botanical Research*, Academic, Burlington, pp: 283-320
- Tan KZ, Radziah O, Halimi MS, Khairuddin AR, Habib SH and Shamsuddin ZH. 2014. Isolation and characterization of rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on growth of rice seedlings. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 9 (3): 342-360.
- 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): 847-59
- Tien T, Gaskins M, and Hubbell D. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum L.*). *Applied and Environmental Microbiology*, 37: 1016-1024.
- Tolay I, Erenoglu B, Romheld V, Braon HJ and Cakmak I. 2001. Phytosiderophore release in *Aegilops tauschii* and *triticum* species under zinc and iron deficiencies. *Journal of Experimental Botany*, 52: 1093-1099
- Vessey JK and Buss TJ. 2002. *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation and N accumulation in grain legumes: Controlled environment studies. *Canadian Journal of Microbiology*, 82: 283-290.
- Weyers IDB and Paterson NW. 2001. Plant hormones and the control of physiological processes. *New Phytologist*, 152: 375-407
- Zahir AZ, Arshad M and Frankenbeiger WF. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria applications and perspective agriculture. *Advances in Agronomy*, 81: 97-168.
- Zhao Y. 2010. Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 49-64.

## The effect of time and media composition on IAA production by different fluorescent *Pseudomonads* isolates and impact of isolates on the growth of maize (*Zea mays* L)

Dina Alsadat Rezayi<sup>1</sup>, Payman Abbaszadeh-Dahaji<sup>2\*</sup>, Abdolreza Akhgar<sup>3</sup> and Ali Ashraf Soltani<sup>4</sup>

(Received: May 2014      Accepted: December 2014)

### Abstract

Fluorescent *Pseudomonads* are one of the most important plant growth promoting bacteria which exists in the rhizosphere of different crops, having different growth stimulating properties that can improve plant growth. Production of high concentrations of IAA is one of the typical characteristics for most of these bacteria. In order to evaluate the ability of auxin production by various strains of *Pseudomonas fluorescens* in different time period (in TSB and DF medium) and also to determine the effects of these strains on the growth of maize, a greenhouse experiment was done in a completely randomized design. The results showed that all isolates were able to produce IAA. The average amount of IAA in TSB medium ranged between 0.04 to 34.3 mg.l<sup>-1</sup>. The lowest and the highest IAA produced on fifth day by p13 and p26 isolates respectively. IAA production by the isolates in DF medium varied between 0.043 to 6.03 mg.l<sup>-1</sup>. Significant correlation between auxin production in both medium in different days showed that manner of auxin production by isolates were the same and isolates that have a high potential to produce auxin in both medium, produced higher amounts of auxin compared to inefficient isolates. The results of greenhouse experiment showed that the isolates inoculation increased shoot dry weight up to 100 percent while shoot length, leaf area and chlorophyll increased by 53.1, 57.2 and 22.3 percent respectively. Root dry weight was decreased by inoculation of most isolates. The results showed a significant positive correlation between the productions of IAA in both rich TSB and minimal DF medium. This correlation suggests that both media can be used for selection of superior strains.

**Key word:** Auxin, Maize, Root volume, leaf area, Fluorescent pseudomonads

1- M.Sc Student, Department of Soil Science, Vali-e-Asr University

2- Assistant professor, Department of Soil Science, Vali-e-Asr University

3- Associate professor Department of Soil Science, Vali-e-Asr University

4- Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agricultural Technology and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili

\*Corresponding Autor: [P.abbaszadeh@vru.ac.ir](mailto:P.abbaszadeh@vru.ac.ir)