شناسایی ترکیبات ایندولی تولید شده توسط منتخبی از سودوموناس های فلوروسنت و تأثیر تلقیح آنها بر رشد کلزا

نازنین خاکی پور[1]*، کاظم خاوازی و عبدالرضا اخگر

استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سوادکوه، گروه خاکشناسی؛ nazanin_kh_43713@yahoo.com

استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب؛ kkhavazi@yahoo.com

استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ arakhgar@yahoo.com

چکیده

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به گروه نامتجانسی از باکتری‌های ریزوسفری مفید اطلاق می‌شود که قادرند با استفاده از یک یا چند مکانیسم معین رشد گیاه را افزایش دهند. باکتری‌های جنس *Pseudomonas* و بالاخص گونه های *P. fluorescens* و *P. putida* از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد محسوب می‌شوند. تولید هورمون اکسین یکی از اصلی‌ترین دلایل افزایش عملکرد ناشی از تلقیح با این باکتری‌ها گزارش شده است. در این تحقیق تعداد 50 سویه از گونه های *P. fluorescens* و *P. putida* متعلق به بانک میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب که از خاک‌های مناطق مختلف ایران جداسازی شده بودند از نظرتوانایی در تولید ترکیبات مختلف اکسین مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تعیین ترکیبات مختلف اکسین با استفاده از دستگاه HPLC نشان داد تعداد 36 سویه (72%) از باکتری‌ها قادر بودند حداقل یکی از انواع ترکیبات ایندولی اکسین شامل IAA (ایندول استیک اسید)، IAM(ایندول استامید) و ILA (ایندول لاکتیک اسید) را ترشح کنند؛ لیکن هیچکدام از سویه‌های تحت آزمایش IBA (ایندول بوتیریک اسید) ترشح نمی‌کردند. به منظور بررسی تأثیر تلقیح سویه‌های تولیدکننده IAA بر رشد گیاهچه‌های کلزا یک آزمون گلخانه‌ای انجام گرفت. نتایج نشان داد که این سویه‌ها توانستند ارتفاع اندام هوایی (تا 15/5%)، وزن خشک اندام هوایی (تا58%) و وزن خشک ریشه (تا305%) را به طور معنی‌داری افزایش دهند. تفاوت‌های آشکار در مرفولوژی و تراکم تارهای کشنده ریشه کلزا در کشت گلدانی نیز دیده شد. در مجموع بنظر می‌رسد سویه‌های سودوموناس فلورسنت مورد مطالعه از طریق ترشح IAA در ریزوسفر بر شاخص‌های رشد گیاه کلزا تأثیر مثبت داشتند.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، اکسین، کلزا، HPLC

مقدمه

کلزا با نام علمی *Brassica napus* L. از خانواده چلیپاییان با دوره رشد یکساله، گیاهی است که دو فرآورده مهم روغن و کنجاله از دانه آن به دست می‌آید. کلزا دو تیپ بهاره و پاییزه دارد و دانه‌های آن کروی شکل و به رنگ‌های قهوه‌ای تیره تا سیاه می‌باشند که پس از رسیدن شروع به ریزش می‌کنند. کلزا نیاز فراوانی به نیتروژن دارد، در حالی‌که میزان مطلوب فسفر و پتاسیم خاک نیز در بهبود عملکرد آن تأثیرگذار است (شریعتی و شهی‌زاده 1379).

روش‌های متفاوتی برای افزایش عملکرد و

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی واحد سوادکوه، گروه خاکشناسی

* دریافت: بهمن 1390و پذیرش:شهریور 1391

Archive of SID

www.SID.ir

رسیدن به رشد مطلوب در گیاهان وجود دارد. که یکی از مهم‌ترین و مناسب‌ترین آنها استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[1] است (کلوپر و همکاران، 1987). این باکتری‌ها از دو طریق مستقیم و غیر مستقیم به افزایش رشد گیاه کمک می‌کنند (کلوپر و شروت[2]، 1978). در روش مستقیم، مهم‌ترین وکارآمدترین مکانیسمی که باکتری‌های PGPR از طریق آن باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند ساخت هورمون‌های محرک رشد است؛ که موجب افزایش جوانه زنی بذر، ریشه‌زایی و گسترش ریشه می‌شوند. همچنین این هورمون‌ها، رشد گیاه را از طریق تقسیم سلولی، افزایش نفوذپذیری غشاهای سلولی گیاه و در نتیجه افزایش جذب مواد غذایی بهبود می‌بخشند (ارشد و فرانکنبرگر[3]، 1991). فرانکنبرگر و برنر[4] (1983) ایندول‌های اصلی به نام‌های ایندول -3- استامید[5] (IAM) ، ایندول -3- پیرووییک اسید[6] (IPYA) و ایندول -3- استیک اسید[7] (IAA) را توسط دستگاه HPLC[8] در خاک شناسایی کردند. همچنین آنها دریافتند که ترکیب ایندولی به نام ایندول -3- لاکتیک اسید[9] (ILA) در شرایط بی‌هوازی تشکیل می‌شود. تولید ILA از متابولیسم تریپتوفان در مرحله سکون رشد باکتری که شرایط هوازی کاهش می‌یابد، افزایش پیدا می‌کند.

در بین تنظیم کننده‌های رشد که توسط باکتری‌ها تولید و ترشح می‌شوند اکسین‌ها و بویژه IAA از اهمیت بیشتری برخوردارند. IAA از طریق متابولیسم L– تریپتوفان توسط گیاهان و بسیاری از میکروارگانیسم‌های خاک از قبیل باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها تولید می‌شود (ساروار و کرمر[10]، 1995؛ ارشد و فرانکنبرگر،1991). جنس‌هایی از باکتری‌ها از جمله *Azotobacter*، *Azospirillum*، *Rhizobium*، *Bacillus*، *Enterobacter*، *Pseudomonas* و قارچ‌های میکوریزی از مشهورترین میکروارگانیسم‌های ترشح کننده هورمون‌های گیاهی هستند (هیرش[11] و همکاران، 1997). میسکو و ژرمیدا[12] (2002) گزارش کرده‌اند که در میان میکروارگانیسم‌های تولید کننده اکسین، سودوموناس‌ها از فراوانی بیشتری برخوردارند. تولید غلظت‌های بالای IAA توسط سودوموناس‌های فلورسنت یک خصوصیت بارز برای اکثر این باکتری‌ها است (احمد[13] و همکاران، 2005).

IAA باکتریایی با اختلال در تعادل هورمونی گیاهان، کاهش طول ریشه، افزایش ریشه‌های جانبی و تراکم تارهای کشنده را سبب می‌شود (هفیز[14] و همکاران، 2004). گلیک[15] (1995) گزارش کرد در بین مکانیسم-هایی که باکتری‌های محرک رشد گیاه از آنها استفاده می‌کنند، ترشح IAA ممکن است مهم‌ترین نقش را ایفا کند. پتن[16] و گلیک (2002) با انجام یک آزمایش مقایسه-ای بین دانه‌های تلقیح شده با باکتری GR12-2 *Pseudomonas putida* قادر به تولید اکسین و دانه‌های تلقیح شده با موتانتی که فاقد توانایی تولید اکسین بود مشاهده کردند که طول ریشه‌های اولیه حاصل از دانه‌های تیمار شده با سویه‌ی تیپ وحشی GR12-2 به طور متوسط 50-35 درصد بیشترتر از دانه‌های تیمار شده با باکتری موتانت و تلقیح نشده (شاهد) بودند و طول ریشه‌های حاصل از دانه‌های تلقیح شده با موتانت با طول ریشه‌های حاصل از دانه‌های شاهد تفاوتی نداشت.

پال و سارما[17] (2006) اثر تلقیح 5 سویه سودوموناس فلورسنس دارای توانایی تولید هورمون‌های محرک رشد از قبیل IAA و GA را بر فلفل سیاه مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی نشان داده شد که کاربرد باکتری به-طور معنی‌داری وزن خشک ریشه (135-30 درصد)، طول ریشه (127-12 درصد)، سطح ریشه (200-43 درصد) و تعداد ریشه (137-82 درصد) را افزایش داد. گراول[18] و همکاران (2007) افزایش طول ریشه، وزن‌تر ریشه و اندام هوایی نهال‌های گوجه‌فرنگی را در اثر تلقیح با باکتری‌های *Pseudomonas putida* که دارای توانایی تولید IAA بودند گزارش کردند.

بنابر این هدف از انجام این تحقیق، تعیین نوع اکسین تولید شده توسط سویه‌های مورد آزمایش و نیز ارزیابی تأثیر سویه‌های تولیدکننده IAA بر رشد و عملکرد گیاه کلزا تحت شرایط کشت گلدانی بود.

1. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)
2. Kloepper and Schroth
3. Arshad and Frankenberger
4. Brunner
5. Indole -3- acetamide
6. Indole-3-pyrovic acid
7. Indol-3-acetic acid
8. High Performance Liquid Chromatography
9. Indol-3-lactic acid
10. Sarwar and Kremer
11. Hirsch
12. Misko and Germida
13. Ahmad
14. Hafeez
15. Glick
16. Patten
17. Paul and Sarma
18. Gravel

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

تعداد 23 سویه *P. fluorescens* و 27 سویه *P. putida* به طور تصادفی از بانک میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. سویه‌های باکتری چندین بار باز کشت شدند و پس از اطمینان از خلوص باکتری‌ها، توانایی باکتری‌ها از لحاظ ترشح انواع اکسین‌ها با استفاده از دستگاه HPLC تعیین گردید. در این روش که توسط کراوچنکو[1] و همکاران (1994) ارائه شده، از محیط کشتی کشتی که در هر لیتر شامل عصاره مخمر (0/5 گرم)، مالیک اسید (2/5 گرم)، ال- تریپتوفان (10 میلی‌گرم)، K_2HPO_4 (0/4 گرم)، KH_2PO_4 (0/1 گرم)، NaCl (0/1 گرم)، $(NH_4)_2SO_4$ (1/5 گرم)، $MgSO_4.7H_2O$ (0/2 گرم) و $CaCl_2$ (0/1 گرم) بود استفاده شد.

برای تکثیر باکتری‌ها، یک لوپ از هر یک از سویه‌های باکتری به ارلن‌های حاوی 30 میلی لیتر از محیط کشت فوق منتقل و به مدت 48 ساعت با دور 160 rpm تکان داده شدند. سپس مقدار 2/5 میلی لیتر از محتویات هر ارلن به ارلن مشابه دیگری منتقل گردید. ارلن دوم نیز به مدت 48 ساعت و با همان شرایط قبلی تکان داده شد. در ادامه مقدار 25 میلی لیتر از محتویات هر یک از ارلن‌ها به سانتریفوژ یخچال‌دار منتقل و در دور 20000 rpm به مدت 20 دقیقه و در دمای 4 درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس محلول کاملاً شفاف فوقانی جداسازی و از صافی با قطر 45 µm عبور داده شد. مرحله اخیر یعنی جداسازی محلول شفاف فوقانی حاصل از سانتریفوژ 25 میلی لیتر از محتویات هر یک از ارلن‌ها و عبور آن از صافی با قطر 45 µm دو مرتبه دیگر تکرار گردید. آنگاه pH محلول‌های جمع‌آوری شده با استفاده از اسیدکلریدریک دو نرمال بر روی 3 تنظیم گردید. متعاقباً محلول به درون دکانتور منتقل و مقدار 50 میلی‌لیتر اتیل استات به آن افزوده و برای مدت 20 دقیقه به شدت به هم زده شد. پس از برقراری حالت سکون در محتویات دکانتور، محلول رویی (حاوی اکسین‌ها) جدا و محلول زیرین مجدداً با 50 میلی لیتر اتیل استات استخراج شد. محلول رویی حاصل از دو مرحله استخراج در دستگاه خشک کن قرار داده شد و رسوب حاصل در یک میلی لیتر متانول حل و جهت تزریق به دستگاه HPLC مدل Beckman با دتکتور نوع 168 مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات ستون مورد استفاده به شرح زیر بود.

C18, Beckman Ultrasphere
4.6mm × 25cm, Mobile phase: 70% H_2O + 0.1% TFA
Flow rate: 0.8 ml/min
Wave Length: 260 nm

از میان 50 باکتری مورد آزمایش، تعداد 22 سویه که قادر به تولید و ترشح IAA بودند انتخاب و تأثیر آنها بر رشد گیاه کلزا رقم بهاره هایولا 401 تحت شرایط کشت گلدانی سنجیده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 23 تیمار شامل22 سویه باکتریایی و یک تیمار بدون باکتری به عنوان شاهد در چهار تکرار انجام گرفت.

به منظور آماده سازی گلدان‌هایی با گنجایش سه کیلوگرم، از یک خاک غیر شور با بافت لوم شنی استفاده گردید. بر اساس آزمون خاک، میزان 150mg/kg کود نیتراتی از منبع KNo3 در 3 مرحله (قبل از کشت، دو هفته پس از کشت و یک ماه پس از کشت) به خاک اضافه و رطوبت خاک به ظرفیت زراعی رسانده شد. بذرها پس از ضد عفونی سطحی به تعداد 6 بذر در گلدان‌ها کشت و هر بذر با 100 میکرولیتر سوسپانسیون حاوی باکتری مورد نظر تلقیح شدند. لازم به ذکر است برای گلدان‌های شاهد از محیط کشت فاقد باکتری (TSB[2]) استفاده شد. گلدان‌ها در گلخانه با میزان نور 12000 لوکس به مدت 2 ماه نگهداری شدند. در زمان برداشت، اندام هوایی گیاهان از محل طوقه از ریشه جدا و پس از اندازه‌گیری ارتفاع اندام هوایی، در دمای 65 درجه سلسیوس درون آون به مدت 48 ساعت نگه‌داری تا خشک شدند. ریشه‌های جدا شده نیز کاملاً شسته شده و پس از رنگ آمیزی، از مورفولوژی آنها عکس‌برداری شد. در نهایت ریشه‌ها نیز خشک و توزین شدند. لازم به ذکر است که بر اساس آزمون خاک، به غیر از نیتروژن و پتاسیم هیچ عنصر غذایی به خاک اضافه نگردید.

نتایج و بحث

تعیین انواع ترکیبات اکسین تولید شده توسط سویه‌های مورد آزمایش

جدول‌های 2 و 3 وجود ترکیبات مختلف اکسین و مقدار آنها را در محیط کشت سویه‌های مختلف سودوموناس نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود اکثر سویه‌ها قادر بودند بیش از یک ترکیب اکسین تولید کنند. در این پژوهش، 72 درصد از سویه‌های سودوموناس فلورسنس و پوتیدای تحت آزمون، حداقل یکی از انواع ترکیبات ایندولی اکسین را ترشح می‌کردند. اصغر[3] و همکاران (2002) گزارش کردند تمامی سویه-های جداشده از ریزوسفر گونه‌های *Brassica* توانستند در حضور و عدم حضور تریپتوفان، IAA و IAM تولید کنند.

1. Kravchenko

2. Tryptic Soybean Broth

3. Asghar

Archive of SID

www.SID.ir

توانایی باکتری‌های ریزوسفری در تولید IAA برحسب نوع باکتری و شرایط کشت بسیار متفاوت می‌باشد (زهیر[1] و همکاران، 2000). در این تحقیق نیز مقدار IAA تولید شده توسط سویه‌ها و گونه‌های مختلف سودوموناس متفاوت بود. در بین باکتری‌های سودوموناس فلورسنس، سویه P189 و از میان باکتری‌های سودوموناس پوتیدا، سویه P11 به ترتیب با تولید 31/6 و 24/1 میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین مقدار IAA را تولید کردند. سایر سویه‌ها سطوح پایین‌تری از IAA را ترشح نمودند. نتایج حاصل از تعیین انواع ترکیبات اکسین با استفاده از دستگاه HPLC نشان داد که میزان IAM (ایندول استامید) تولید شده توسط سویه‌های *P. fluorescens* و *P. putida* به ترتیب از صفر تا 12/3 و از صفر تا 17/2 میکروگرم بر میلی-لیتر تغییر می‌کرد. میزان تولید ILA (ایندول لاکتیک اسید) سویه‌های مورد مطالعه نیز از صفر تا 7/2 میکروگرم بر میلی‌لیتر در سویه‌های *P. fluorescens* و از صفر تا 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر درسویه‌های *P. putida* نوسان داشت. نتایج همچنین نشان دادند که هیچکدام از سویه‌های تحت آزمایش IBA (ایندول بوتیریک اسید) ترشح نمی‌کردند.

بررسی تأثیر سویه‌های تولید کننده IAA بر رشد کلزا

نتایج مربوط به تجزیه آماری تأثیر سویه‌های تولید کننده IAA بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در جدول 4 ارائه گردیده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود سویه‌های مورد آزمایش بر ارتفاع اندام هوایی در سطح 5%، وزن خشک اندام هوایی در سطح 1% و وزن خشک ریشه گیاهچه‌های کلزا در سطح 0/1% اثر معنی‌داری داشته‌اند.

مقایسه میانگین اثر سویه‌های تولید کننده IAA بر ارتفاع اندام هوایی نشان داد که کاربرد این سویه‌ها باعث افزایش مقادیر این صفت شدند و در بین سویه‌های مورد آزمایش، سویه‌های P4،P41، P65، P79، P82، P88، P98، P161 و P189 توانستند ارتفاع اندام هوایی گیاهچه‌های کلزا را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دهند (شکل 1). بیشترین افزایش ارتفاع اندام هوایی معادل 15/5% و مربوط به تلقیح با سویه P189 بود.

شکل2 مقایسه میانگین اثر سویه‌های مورد آزمایش بر وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌های کلزا را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود وزن خشک گیاهان تیمار شده با سویه‌های مورد آزمون نسبت به شاهد افزایش یافته است و به جزء تیمار P179 بقیه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان می‌دهند. سویه‌های P4 و P189 به ترتیب با 58 و 57 درصد افزایش در وزن خشک اندام هوایی بیشترین تأثیر را بر گیاهچه‌های کلزا داشتند.

تمامی باکتری‌های مورد آزمایش وزن خشک ریشه گیاهچه‌های کلزا را افزایش دادند. لیکن از نظر آماری این افزایش فقط درمورد سویه‌های P11، P41، P56، P65 و P82 معنی‌دار شد (شکل 3). همچنین تأثیر تلقیح باکتری‌ها بر مورفولوژی ریشه به خوبی مشهود بود. مورفولوژی ریشه گیاهچه‌های کلزای تیمار شده با سویه‌های باکتری نسبت به شاهد بدون تلقیح کاملاً متفاوت بود. در بعضی از تیمارها، ریشه‌ها نسبت به شاهد کشیده‌تر و در بعضی دیگر کوتاه‌تر ولی انبوه‌تر بودند.

نتایج حاصل از این تحقیق با پژوهش‌های گذشته مطابقت دارد. براون و برلیگام[2](1968) طی تحقیقی تأثیر مفید باکتری *Azotobacter chroococcum* بر رشد گیاه گوجه فرنگی را به تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل IAA و جیبرلین ربط دادند. سالها بعد پتی[3] و همکاران (1995) در تحقیقات خود نتایج مشابهی را گزارش کردند. زای[4] و همکاران (1996) نشان دادند که تحریک رشد گیاه کلزا به وسیله سویه *P. putida* GR12-2 به علت آزادسازی IAA بود. طی تحقیقی، بلیموف[5] و همکاران (2001) گزارش کردند که وزن خشک ریشه کلزا پس از تلقیح با جدایه *P. putida* Am2 دارای توان تولید IAA، 25/5 درصد افزایش یافت. در تحقیق مشابهی، 57 درصد افزایش عملکرد دانه در گیاه کلزا پس از تلقیح با باکتری‌های *P. putida* و *P. fluorescens* مشاهده شد (کلوپر[6] و همکاران، 1987). تلقیح باکتری‌های کلنیزه کننده ریشه مانند سودوموناس‌ها به کلزا باعث افزایش 123 درصدی در جوانه زنی و 79 درصدی در وزن خشک جوانه‌ها شد (کلوپر و همکاران، 1987).

گلیک (1995) گزارش کرد که 11 سویه سودوموناس دارای توان تولید IAA توانایی افزایش طول ریشه کلزا را تحت شرایط استریل داشتند. همچنین بایلیس[7] و همکاران همکاران (1997) گزارش کردند سویه *P. putida* GR12-2 جوانه زنی و رشد کلزا را افزایش داد. طی آزمایشی برت‌راند[8] و همکاران (2001) اثر سویه‌های مختلف

1. Zahir

2. Brown and Burligham
3. Pati
4. Xie
5. Belimov
6. Kloepper
7. Bayliss
8. Bertrand

Archive of SID

www.SID.ir

Pseudomonas، *Agrobacterium* و *Azospirillum* را برگیاه کلزا سنجیدند و افزایش 52-11 درصدی در وزن خشک ریشه کلزا را گزارش کردند. در یک گزارش جامع، زهیر و همکاران (2004) اعلام کردند پاسخ گیاهان به تلقیح با باکتری PGPR به زمان، نوع کاربرد و خاک‌های مختلف وابسته است. آنها گزارش کردند تولید اکسین میکروبی، یکی از مکانیسم‌های مهم در بهبود رشد و عملکرد گیاهان به شمار می‌رود.

شکل 4 رابطه رگرسیونی بین مقدار IAA تولید شده توسط باکتری‌های مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای (بجز سویه‌های P11، P143 و P189 که IAA زیادی تولید می‌کردند) و وزن خشک اندام هوایی کلزا را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌گردد بین مقدار IAA و وزن خشک اندام هوایی همبستگی مثبت و نسبتاً خوبی وجود داشت.

اصغر و همکاران (2002) در شرایط درون شیشه‌ای، همبستگی بالا و معنی داری را بین IAA و عملکرد دانه ($r = 0/77$)، تعداد غلاف ($r = 0/78$) و تعداد پنجه ($r = 0/77$) در گیاه کلزا بدست آوردند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اکثر سویه‌ها قادر بودند حداقل یکی از انواع ترکیبات ایندولی اکسین را ترشح کنند. همچنین نتایج کشت گلدانی نشان داد که باکتری‌های دارای توان تولید IAA تأثیر مثبتی بر شاخص‌های رشد کلزا داشتند. در این آزمون تفاوت معنی‌داری بین تیمارها و شاهد تلقیح نشده در شاخص‌های رشد دیده شد. افزایش 16 و 57 درصدی ارتفاع اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی در سویه P189 و افزایش 305 درصدی وزن خشک ریشه در سویه P11 نسبت به شاهد بدون تلقیح، حاکی از نتایج مثبت مطالعه اخیر بود. در مجموع سویه‌های تولید کننده IAA توانستند ارتفاع اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه نهال‌های کلزا را به ترتیب 16-0/57، 57-19 و 303-28 درصد افزایش دهند. البته بایستی توجه داشت اثرات محرک رشد باکتری‌های تلقیح شده بر گیاهچه‌های کلزا، به غیر از ترشح اکسین، می‌تواند ناشی از توانایی باکتری‌ها در تولید آنزیم ACC دآمیناز، افزایش حلالیت فسفر نامحلول، تولید سیدروفور و ... باشد.

جدول 1- بعضی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

خصوصیت	مقدار
رس (درصد)	10
سیلت (درصد)	12
شن (درصد)	78
بافت	شنی لومی
کربنات کلسیم معادل (درصد)	18/4
pH	7/8
قابلیت هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	1/9
فسفر قابل استفاده (میلی‌گرم در کیلوگرم)	14/3
پتاسیم عصاره‌گیری شده با استات آمونیوم (میلی‌گرم در کیلوگرم)	129/1

جدول 2- نوع و میزان تولید ترکیبات مختلف اکسین توسط سویه‌های *P. fluorescens*

سویه‌های باکتری	IAA ($\mu g\ ml^{-1}$)	IAM ($\mu g\ ml^{-1}$)	ILA ($\mu g\ ml^{-1}$)	IBA ($\mu g\ ml^{-1}$)
P65	0/72	1/68	1/2	*0*
P79	1/24	2/44	0	*0*
P82	2/08	2/05	0	*0*
P87	1/72	0	0	*0*
P88	0/96	1/84	0	*0*
P111	0	1/4	0/76	*0*
P120	0/6	0/92	0/64	*0*
P145	0	10/44	2	*0*
P153	0	2/48	0	*0*
P157	0	1/36	0/88	*0*
P161	1/24	12/28	3/88	*0*
P162	1/32	10/12	2/76	*0*
P169	0	5/52	0	*0*
P173	2/32	0	0	*0*
P189	31/6	4/08	0	*0*
P194	0	3/04	0	*0*
P196	0	1/4	7/2	*0*

Archive of SID

www.SID.ir

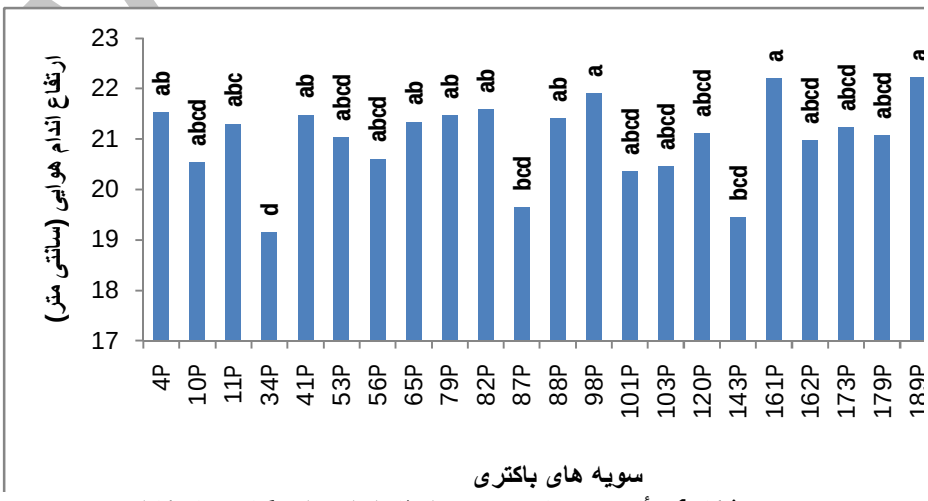
جدول 3- نوع و میزان تولید ترکیبات مختلف اکسین توسط سویه‌های *P. putida*

سویه‌های باکتری	IAA ($\mu g\ ml^{-1}$)	IAM ($\mu g\ ml^{-1}$)	ILA ($\mu g\ ml^{-1}$)	IBA ($\mu g\ ml^{-1}$)
P4	4/72	6	5/8	0
P10	0/60	0	0	0
P11	24/08	16/4	0	0
P34	0/96	17/2	0	0
P41	2	1/84	0/88	0
P50	0	1/2	1/76	0
P53	1/12	7/68	0	0
P56	2/64	16/4	0/16	0
P74	0	1/52	0	0
P98	0/96	0	0	0
P100	0	0	1/92	0
P101	2	0	5	0
P103	1/24	0	0	0
P139	0	0	1/24	0
P143	7/04	5/52	10	0
P147	0	1/55	1/32	0
P168	0	1/52	0	0
P179	0/16	0/6	2	0
P183	0	6/12	0/88	0

جدول 4- نتایج تجزیه واریانس اثر سویه‌های مورد آزمایش بر شاخص‌های رشد گیاهچه‌های کلزا

		میانگین مربعات		
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه
سویه	22	3/0964*	0/0896**	1/3785***
خطا	69	1/529	0/0341	0/4843
CV	-	5/91	11/78	45/48

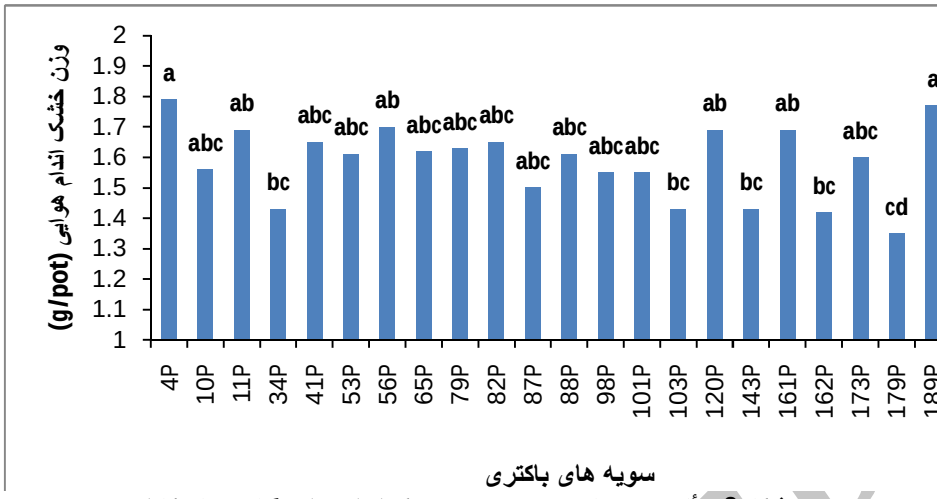
***، ** و * به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح 0/1 درصد، 1 درصد و 5 درصد



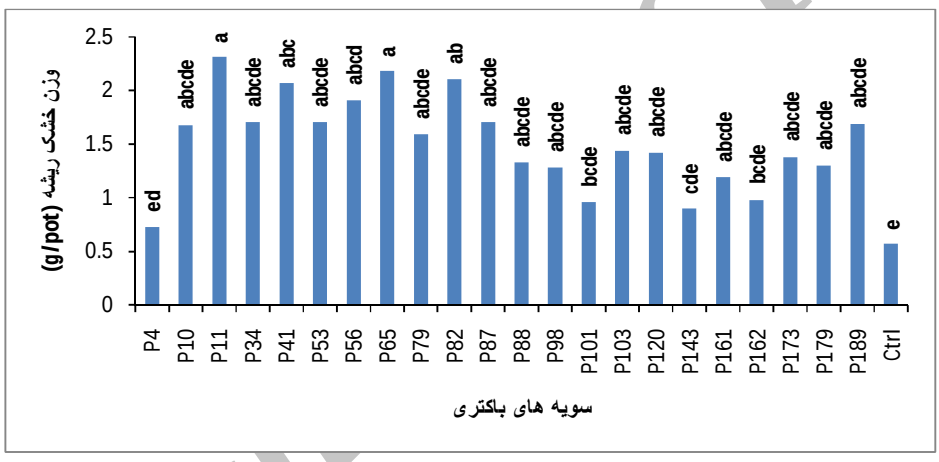
شکل 1- تأثیر سویه های منتخب بر ارتفاع اندام هوایی گیاهچه‌های کلزا

Archive of SID

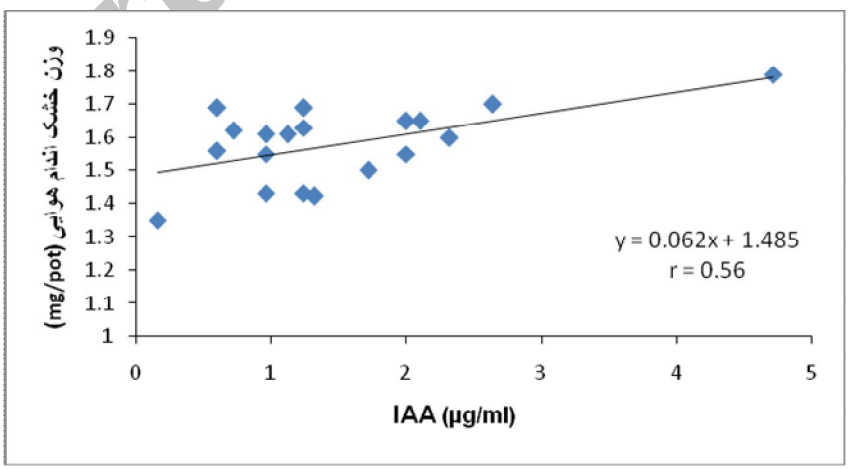
www.SID.ir



شکل 2- تأثیر سویه های منتخب بر وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌های کلزا



شکل3- تأثیر سویه‌های منتخب بر وزن خشک ریشه گیاهچه‌های کلزا



شکل4- رابطه رگرسیونی بین مقدار IAA باکتریایی و وزن خشک اندام هوایی کلزا

www.SID.ir

فهرست منابع:

1. شریعتی، ش. و شهی‌زاده، پ. 1379. کلزا، انتشارات اداره کل آمار و اطلاعات در امور کشاورزی و زراعت جهاد کشاورزی، تهران، ایران.
2. Ahmad, F., Ahmad, I. and M. Sahir Khan. 2005. Indole acetic acid production by indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. Turk. J. Boil. 29:29-34.
3. Arshad, M., and W.T.Jr. Frankenberger. 1991. Microbial production of plant hormones. Plant Soil 133:1-8.
4. Asghar, H.N., Zahir, Z.A., Arshad, M., and A. Khaliq. 2002. Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth promoting activities in *Brassica juncea* L. Biol. Fertil. Soils 35:231-237.
5. Bayliss, C., Bent, E., Culham, D.E., Maclellan, S., Clark, A.J., Brown, G.L., and J.M. Wood. 1997. Bacterial genetic loci implicated in the *P. putida* GR 12-2 Canola mutualism: Identification of an exudates-inducible sugar transporter. Can. J. Microbiol. 43:809-818.
6. Belimov, A.A., Safronova, V.I., Sergiyeva, T.A., Engorova, T.V., and A.A. Metiyeva. 2001. Characterization of PGPR isolated from polluted soils and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate ACC deaminase. Can. J. Microbiol. 47:462-465.
7. Bertrand, H., Naline, R., Bally, R., and J.C. Cleyet-marel. 2001. Isolation and indentfication of the most efficient plant growth promoting bacteria associated with canola *(Brassica napus)*. Biol. Fertil. Soils 53:152-156.
8. Brown, M. E. and S. K. Burligham 1968. Production of plant growth substances by *Azotobacter chroococcum*. J. Gen. Microbiol. 53:135-144.
9. Frankenberger, W. T. Jr., and W. Brunner 1983. Methods of detection of auxin-indole3-acetic acid in soil by high performance liquid chromatography. Soil Sci. Soc. Am. J. 47: 237-241.
10. Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109-117.
11. Gravel, V., A. Hani, and R. J. Tewddell. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biol. Biochem. 39:1968-1977.
12. Hafeez, F.Y., Safdar, M.F., Chaudhry, A.V., and K.A. Malik. 2004. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. Aust. J. Experiment. Agric. 44:617-622.
13. Hirsch, A.M., Fang, Y., Asad, S., and Y. Kapulnik. 1997. The role of phytohormones in plant-microbe symbioses. Plant Soil 194:171-184.
14. Klopper, J. W., and M. Schroth. 1978. Plant growth promoting rhizobactera on radish. P. 879-882. In: Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria. France.
15. Kloepper, J.W., Schroth, M.N., and T.D. Miller. 1987. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. Ecol. Epidemiol. 70:1078-1082.
16. Kravcheko, L.V., Leonova, E.I., and I.A. Tikhonovich. 1994. Effect of root exudated of non-legume plants on the response of auxin production by associated diazotrophs. Microb. Releas. 2:267-271.
17. Misko, A. and J. J. Germida 2002. Taxonomic and functional diversity of Pseudomonad isolated from the roots of field-grown canola. Fems Microbiol. Ecol. 42:399-407.
18. Pati, B. R., Sengupta, S. and A. K. Chandra 1995. Impact of selector phyllospheric diazotrophs on the growth of wheat seedling and assay of the growth substances produced by the diazotrophs. Microbiol. Res. 150:121-127.

Archive of SID

www.SID.ir

19. Patten, C. L., and B. R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic acid in development of the host plant root system. Appl. Environ. Microbiol. 68:3795-3801.
20. Paul, D., and Y. R. Sarma. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)- mediated root proliferation in black pepper *(Piper nigrum* L.*)* as evidenced through GS Root Software. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 39:1-4.
21. Sarwar, M., and R.J. Kremer 1995. Enhanced suppression of plant growth through production of L- tryptophan- derived compounds by deleterious rhizobacteria. Plant Soil. 172:261-269.
22. Xie, H., Pasternak, J.J., and B.R. Glick. 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *P. putida* GR 12-2 that overproduce indole-3-acetic acid. Curr. Microbiol. 32:67-71.
23. Zahir, ZA., Abbas, SA. Khalid, M. and M. Arshad. 2000. Substrate dependent microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedlings. Pak. J. Biol. Sci. 3:289-291.
24. Zahir, Z.A., Arshad, M., and W.T. Frankernberger. 2004. PGPR: application and perspectives in agriculture. Adv. Agron. 81:97-167.

Archive of SID

www.SID.ir