

اثر سویه‌های فلورسنت سودومونادس (*Pseudomonas fluorescens*) بر وضعیت هورمونی، قندهای محلول و پرولین ذرت تحت تنش خشکی

محمدحسین انصاری^{۱*}، محمدرضا اردکانی^۲، هادی اسدی رحمانی^۳، فرزاد پاک‌نژاد^۴ و داوود حبیبی^۵

^۱ استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، رشت

^۲ استاد، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج

^۳ دانشیار، موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج

^۴ دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج

^۵ دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۰

چکیده

هورمون‌ها نقش حیاتی در تنظیم رشد گیاهان و پاسخ به تنش بازی می‌کنند. به منظور مطالعه رابطه بین کمبود آب و سویه‌های باکتری فلورسنت سودومونادس بر پرولین و برخی از هورمون‌های رشد در گیاه ذرت آزمایشی در طی دو سال به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد که در آن کرت‌های اصلی شامل سه سطح تنش خشکی براساس ۴۰، ۶۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی و کرت‌های فرعی شامل چهار سویه باکتری فلورسنت سودومونادس (سویه‌های S4، S108، S153 و S169) به همراه شاهد بدون تلقیح بودند. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب تغییر در تعادل هورمونی گیاه ذرت شده و افزایش میزان پرولین، قندهای محلول و آبسزیک اسید و کاهش ایندول استیک اسید، جیبرلین و سیتوکینین را القاء می‌کند. با این وجود تلقیح بذره‌های ذرت با سویه‌های فلورسنت سودومونادس منجر به افزایش میزان پرولین، آبسزیک اسید، ایندول استیک اسید و سیتوکینین نسبت به شاهد شد. سویه S153 بیشترین میانگین میزان پرولین، آبسزیک اسید، جیبرلین، ایندول استیک اسید و سیتوکینین را در برگ نشان داد. این مطالعه نشان داد که کاربرد سویه‌های باکتری سودوموناسی میزان هورمون‌های گیاه ذرت را در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، ذرت، سویه‌های فلورسنت سودومونادس، هورمون.

مقدمه

ولی اثر آن بر سطح ملکولی و بیوشیمیایی به خوبی درک نشده است. تنظیم اسمزی یکی از معمول‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی است (Sankar et al., 2007). ساکارز و دیگر قندهای آلی در تنظیم اسمزی در طول تنش مشارکت می‌نمایند و از ساختمان ماکروملکول‌ها و غشاء در طول از دست دادن آب شدید محافظت می‌کنند. نقش اساسی قندها

محدودیت منابع آب‌های زیرزمینی یکی از چالش‌های مهم در تولید گیاهان زراعی در نقاط مختلف جهان می‌باشد زیرا کل کارکردهای گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اگر چه اثرات عمومی تنش خشکی روی رشد گیاه به خوبی شناخته شده است،

* نویسنده مسئول: ansary330@yahoo.com

مورد استفاده قرار می‌گیرد را تحریک کند (Xie et al., 2002). مثال دیگر ضرورت تنظیم سطح اکسین بوسیله باکتری سودوموناس پوتیدا تولید ایندول استیک اسید است (IAA) که طویل شدن ریشه‌های گیاه میزبان را تحریک می‌کند (Glick et al., 1998). با آنالیز اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه معلوم شد که با افزایش تولید IAA میزان ACC نیز در گیاه افزایش می‌یابد. ACC تولید شده به وسیله ACC دی‌آمیناز یک آنزیم باکتریایی، هیدرولیز می‌شود که این هیدرولیز در حضور برخی از باکتری‌ها مانند برخی از سویه‌های باکتری فلورسنت سودوموناس انجام می‌شود. آنزیم ۱- آمینوسیکلوپروپان-۱- کربوکسیلات د-آمیناز می‌تواند پیش ماده اتیلن، ACC، را شکسته و بدین وسیله سطح اتیلن یا تنش را کاهش دهند (Glick et al., 1998). بسیاری از گیاهان برای شکستن خواب بذر نیازمند سنتز اتیلن می‌باشند، اما بعد از جوانه‌زنی سطوح بالای اتیلن از طویل شدن ریشه ممانعت می‌کند. باکتری‌های محرک رشد تولیدکننده ACC دی‌آمیناز وقتی که در پیرامون بذر باشند به صورت یک مکانیزم اطمینان در گیاهچه‌های در حال رشد عمل می‌کنند به طوری که مانع از رسیدن سطح اتیلن به نقطه‌ای می‌شوند که رشد اولیه ریشه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این باکتری‌ها باعث طویل‌تر شدن ریشه شده و استقرار گیاه را تسریع می‌کنند. به علاوه گیاهانی که با باکتری‌های محرک رشد تولیدکننده ACC دی‌آمیناز تیمار می‌شوند به تنش‌هایی که در آن اتیلن تولید می‌شود مقاوم‌تر هستند. این باکتری‌ها سطح ACC را در گیاهان تحت تنش به‌طور چشمگیری کاهش داده و از گیاه محافظت می‌نمایند، ضمن آنکه رشد گیاه را که در شرایط طبیعی اغلب با تنش‌های گوناگونی مواجه است، از طریق تولید هورمون‌های محرک رشد افزایش می‌دهند (Mayak et al., 2004).

در حفاظت از سلول در برابر تنش خشکی تنها در ارتباط با درگیری مستقیم در سنتز ترکیبات دیگر و تولید انرژی نیست بلکه در ارتباط با پایداری غشاء، عمل به‌عنوان یک تنظیم‌کننده بیان ژن و ملکول‌های علامت‌دهنده می‌باشند. در طی تنش غلظت برخی از یون‌ها در واکوئل و برخی از متابولیت‌ها مانند اسیدهای آمینه (به‌ویژه پرولین)، مونوساکاریدها و غیره در سیتوسول افزایش می‌یابد. این عوامل پتانسیل اسمزی سلول را کاهش داده و فشار تورژسانس سلول را به منظور تداوم فرایندهای فیزیولوژیکی در سطح بالایی حفظ می‌کند (Sankar et al., 2007).

در چند دهه گذشته تحقیقات زیادی روی گیاهان زراعی مختلف برای افزایش تحمل به تنش خشکی انجام شده است اما تحقیقات روی فرایندهای فیزیولوژیک تحت تلقیح با باکتری‌های مفید کم بوده است (Zhang et al., 2007). میکروارگانیزم‌های زیادی وجود دارند که در محیط ریشه زندگی می‌کنند و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند، از میان این میکروارگانیزم‌ها برخی دارای اثرات مثبت بر رشد گیاه می‌باشند مانند آزوسپریلوم، سودوموناس، ازتوباکتر و چند باکتری گرم مثبت باسیلوس که به باکتری‌های محرک رشد گیاه^۱ معروف هستند. باکتری‌هایی مانند سودوموناس تحت تنش‌های مختلف محیطی می‌توانند به‌دلیل تولید ترکیبات مختلف زنده بمانند و مسیرهای سنتز متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان القاء کرده و گیاه را از تنش‌های محیطی حفظ کنند (Sandhya et al., 2009).

اثر اکسین روی نمو ریشه معمولاً به‌وسیله تولید اتیلن کاهش می‌یابد. اکسین تولید شده بوسیله باکتری‌ها در محیط ریشه می‌تواند فعالیت سنتز آمینو سیکلو پروپان-۱- کربوکسیلات (ACC) سینتاز، یک آنزیم در گیاهان که به طور معمول برای تشکیل اتیلن

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria

این میکروارگانیسم‌ها مدل‌های بسیار عالی برای شناسایی مکانیسم‌های عمل به تنش مهیا می‌کنند که می‌توان برای مهندسی تولید گیاهان زراعی به کار گرفت. مطالعه حاضر به ارزیابی تأثیر سویه‌های باکتری سودوموناس بر وضعیت هورمونی گیاه ذرت تحت تنش خشکی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در دو سال در مزرعه آموزشی تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه به صورت آزمایش کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. کرت‌های اصلی را سه سطح ۴۰ (T1 بدون تنش)، ۶۰ (T2 تنش متوسط) و ۷۵ (T3 تنش شدید) درصد تخلیه رطوبتی و کرت‌های فرعی را چهار سویه باکتری سودوموناس (دو سویه S153 و S169 از باکتری *P. fluorescens* و دو سویه S4 و S108 از باکتری *P. putida*) و یک تیمار شاهد بدون تلقیح با باکتری تشکیل داد. تیمارهای تنش آبیاری از مرحله سه تا چهار برگی، پس از استقرار کامل گیاه و بعد از تنک کردن مزرعه و رسیدن به تراکم مطلوب تا پایان رشد اعمال شدند.

به منظور اندازه‌گیری درصد تخلیه رطوبتی بلوک‌های گچی که قبلاً مورد واسنجی قرار گرفته بودند، در وسط کرت‌های اصلی در هر تکرار در عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک نصب و با دستگاه رطوبت‌سنج میزان رطوبت قرائت شد. سپس حجم آب مصرفی مورد نیاز در هر مرحله از آبیاری تعیین گردید. آبیاری کرت‌ها که به صورت فارویی بود، با لوله‌هایی از جنس پلی اتیلن انجام و حجم آب ورودی به کرت‌ها با کنتور آب کنترل شد. سویه‌های باکتری سودوموناس از بانک میکروبی بخش میکروبیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه و عمل تلقیح بذرها طبق توصیه (۷ گرم برای هر کیلوگرم بذر که هر گرم

یکی از مهم‌ترین باکتری‌های تولید کننده ACC دی‌آمیناز باکتری سودوموناس فلورسنت (*Pseudomonas fluorescens* است (Benizri et al., 1998). اثرات مثبت این باکتری در منابع زیادی گزارش شده است، با این وجود اطلاعات کمی درباره مکانیسم عمل این باکتری در گیاه تحت تنش خشکی وجود دارد (Benizri et al., 1998). همچنین مکانیسم‌های اندکی در مورد چگونگی افزایش تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان تیمار شده بوسیله باکتری‌های محرک رشد شناسایی شده است. کاهش تولید اتیلن بوسیله فعالیت آنزیم ACC دی‌آمیناز و افزایش بیان ژن ERD15، (مسئول پاسخ به تنش خشکی) از جمله این مکانیسم‌های پیشنهادی هستند (Yang et al., 2004). در مورد بررسی چگونگی اثر تنش خشکی بر توازن هورمونی گیاه مشخص شده است که آبسزیک اسید در برگ‌ها افزایش می‌یابد. به دنبال آن سطح سیتوکینین به مقدار زیادی کاهش یافته و منجر به بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (Shoresh and Harman, 2008). اکسین در ترکیب با سیتوکینین تقسیم سلولی را تحریک می‌کند، اگرچه واکنش اکسین و سیتوکینین به تنش خشکی هنوز به خوبی شناخته نشده، اما برخی از محققان پیشنهاد کرده‌اند که سطوح اکسین و جیرلین در گیاهان تحت تنش خشکی کاهش می‌یابد (Yang et al., 2004). همچنین گزارش شده است که تنش خشکی سطح سیتوکینین را در شیره آوند آبکش و برگ‌ها پایین می‌آورد (Shoresh and Harman, 2008).

میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه می‌توانند نقش مهمی در مدیریت تنش بازی می‌کنند، خواص منحصر به فرد آن‌ها در تحمل تنش‌های محیطی، قابلیت زندگی در شرایط مختلف و تنوع ژنتیکی آن‌ها به خوبی شناخته شده است و روش‌هایی برای استفاده مطلوب از آن‌ها در تولید کشاورزی ارائه شده است.

در هر دو سال آزمایش، کاشت در اوایل اردیبهشت ماه با دست انجام گرفت. کود نیتروژن از منبع اوره به میزان ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار و کودهای فسفر و پتاسیم به میزان ۲۰۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به ترتیب از منبع سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم بر اساس نتایج آزمون خاک (جدول ۲) استفاده شد. یک سوم کود نیتروژن و تمام کودهای فسفر و پتاسیم در زمان کاشت و باقیمانده کود نیتروژن طی دو مرحله ۶ تا ۷ برگی و دو هفته قبل از ظهور گل نر، در فصل رشد به صورت سرک مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه برداری برای اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی یک ماه پس گلدهی انجام شد.

نیز حاوی ۱۰٪ سلول زنده باکتری در هر گرم بود) در ابتدای صبح انجام و پس از خشک شدن در سایه کشت گردید. سویه های باکتری مورد استفاده در این مطالعه دارای صفات تحریک کنندگی رشد گیاه بودند. برخی از ویژگی های سویه های باکتری در جدول ۱ ارائه شده اند. هر کرت شامل پنج خط کاشت به طول ۸ متر، فاصله بین ردیف ها ۷۵ سانتی متر، روی ردیف ها ۲۰ سانتی متر و بین دو کرت دو شیار به صورت نکاشت باقی گذاشته شد. بذره های ذرت مورد آزمایش نیز رقم هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ (دیررس، تک بلال و دندان اسبی) بود که از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردید.

جدول ۱: خواص باکتری های به کار برده شده در این آزمایش

سویه های باکتری	تولید آنزیم ACC	تولید ایندول استیک اسید	تولید سیدروفور
فلورسنت سودوموناس	دی آمیناز	(میلی گرم در لیتر)	(نسبت قطر هاله به قطر کلونی)
<i>P. fluorescens strain 153</i>	+	۶/۱	۰/۶
<i>P. fluorescens strain 169</i>	+	۵/۸	۰/۵
<i>P. putida strain 4</i>	+	۹/۶	۰/۵
<i>P. putida strain 108</i>	+	۸/۹	۰/۵

جدول ۲: نتایج آنالیز فیزیک و شیمیایی خاک

سال	عمق (cm)	Ec (dS.m ⁻¹)	pH	OC (%)	N (%)	P	K	Zn	Fe	Mn	Cu	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)
اول	۰-۳۰	۰/۸۳	۷/۶	۰/۸	۰/۰۸	۹/۲	۲۲۸	۰/۵۲	۳/۸	۹/۱۲	۱/۱۲	۲۶	۴۲	۳۶
	۳۰-۶۰	۱/۰۷	۷/۷	۰/۵۱	۰/۰۴	۷/۵	۱۹۵	۰/۳۱	۳	۶/۲	۰/۷۹	۲۶	۳۱	۴۶
دوم	۰-۳۰	۱/۲۰	۷/۵	۰/۸۲	۰/۸۰	۸/۵	۲۰۰	۰/۸	۴/۶	۱۰/۶	۱/۱۴	۲۹	۳۵	۳۶
	۳۰-۶۰	۱/۷۰	۷/۴	۰/۶۱	۰/۶۱	۷/۹	۱۸۰	۰/۴	۴	۶/۶	۰/۸۸	۲۷	۲۹	۴۴

استخراج آبسزیک اسید: برای استخراج ABA بافت برگ از روش Guinn و همکاران (۱۹۸۶) استفاده شد. برای این منظور ۱ تا ۲ گرم نمونه تر برگ بلافاصله توسط ازت مایع منجمد و سپس پودر شدند. نمونه های آسیاب شده در ۲۰ میلی لیتر محلول حاوی متانول، اتیل استات و اسید استیک به ترتیب با نسبت های (۵۰:۵۰:۱) که به آن ۲۰ میلی گرم BHT

(Butylated hydroxy toluene) به عنوان آنتی اکسیدان اضافه شده بود حل شدند و یک محلول هموزن ایجاد شد. محلول حاصل توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف و سپس حجم نهایی محلول به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. به منظور حذف حلال، محلول نهایی داخل بالون روتاری در شرایط خلاء و دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از حذف حلال، ۱۰

پودر شدند. نمونه‌های آسیاب شده در ۲۰ میلی‌لیتر محلول حامل متانول، آب، استیک اسید به ترتیب با نسبت‌های (با نسبت ۳۰:۷۰:۱) تهیه شده بودند، حل و یک محلول هموژن ایجاد شد. ترکیب هموژن به مدت ۱۵ دقیقه با سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس ۱۶ میلی‌لیتر پرکلریک اسید (HClO_4) ۸۰ درصد به ترکیب اضافه شد. در نهایت محلول زلال رویی در ستون C18-SPE دستگاه HPLC تزریق شد و سپس در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اتانول، آب و استیک اسید به ترتیب با نسبت (۸۰:۲۰:۱) شسته شد. محلول استخراج شده در دمای اتاق با استفاده از یک خنک کننده، خنک شد و مجدداً یک میلی‌لیتر متانول به آن برای تهیه محلول نهایی برای استخراج هورمون اضافه شد. سپس سطح منحنی تعیین و از طریق روابط موجود (منحنی استاندارد) غلظت نمونه‌ها تعیین شد.

استخراج ایندول استیک اسید و سیتوکینین: برای استخراج ایندول استیک اسید و سیتوکینین مطابق روش Dobrev و همکاران (۲۰۰۵)، ۱/۵ گرم نمونه تر برگ بلافاصله توسط نیتروژن مایع منجمد و سپس پودر شدند. نمونه‌های آسیاب شده از میان محلول متانول ۸۰ درصد عبور داده شد. محلول استخراج شده در دمای اتاق با استفاده از یک خنک کننده خنک شد و مجدداً ۱ میلی‌لیتر از محلول متانول ۲۰ درصد، ۱ میلی‌لیتر از محلول اسید فرمیک ۱ درصد و ۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به محلول اضافه شد. محلول در ستون C18 متصل به انتهای ستون DEAE دستگاه HPLC تزریق شد و سپس در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اتانول، آب و استیک اسید به ترتیب با نسبت (۸۰:۲۰:۱) شسته شد. محلول استخراج شده در دمای اتاق با استفاده از یک خنک کننده خنک شد و مجدداً یک میلی‌لیتر متانول به آن برای تهیه محلول نهایی برای استخراج هورمون اضافه شد. محلول نهایی برای

میلی لیتر فسفات هیدروژن پتاسیم ۵۰۰ میلی‌مولار pH برابر ۸ به باقیمانده اضافه و سپس محلول توسط کاغذ صافی مجدداً صاف شد. pH محلول بدست آمده با استفاده از اسید فسفریک ۱۰ درصد به ۲/۵ رسانده شد. در ادامه ۱۰ میلی‌لیتر اتیل استات به محلول آخری اضافه شد. برای جداسازی اتیل استات حاوی ABA و محلول فسفات هیدروژن پتاسیم از قیف دکانتور استفاده شد و برای آبیگری از محلول اتیل استات حاوی ABA، سولفات سدیم به کار رفت. اتیل استات به فاصله چند ساعت در هوای آزاد تبخیر می‌شود. پس از تبخیر اتیل استات، ۵ میلی‌لیتر متیل کلراید به عصاره خشک باقیمانده اضافه و نمونه‌ها بمدت ۲۴ ساعت برای تبخیر متیل کلراید زیر هود نگاه داشته شدند. پس از تبخیر متیل کلراید ۳۰۰ میکرولیتر محلول متانول حاوی ۱ درصد اسید استیک به عصاره خشک باقیمانده اضافه و محلول حاصل توسط صافی میلیپور مجدداً صاف شد و محلول نهایی برای تعیین غلظت ABA مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین غلظت ABA نمونه‌ها از ستون HPLC (۱۵ × ۶/۴) با فاصله زمانی ۴ تا ۵ دقیقه مطابق ABA استاندارد استفاده شد. فاز ثابت ستون از استونتریل، آب و اسید فرمیک بترتیب با نسبت‌های حجمی ۲۵:۷۴/۹:۰/۱۰ تشکیل شد. در هر بار اندازه‌گیری مقدار ۸۰ میکرولیتر محلول تزریق و سپس سطح منحنی تعیین و از طریق روابط موجود (منحنی استاندارد) غلظت نمونه‌ها تعیین شد. براساس آزمایش‌های متعدد انجام شده و گزارش‌های موجود، با استفاده از این روش در بهترین حالت تنها ۴۰ تا ۶۰ درصد ABA قابل بازیافت می‌باشد (Guinn et al., 1986).

استخراج جیبرلین: برای استخراج جیبرلین (GA3)، طبق روش Baluska و همکاران (۱۹۹۳) ۱ گرم از بافت برگ بلافاصله توسط ازت مایع منجمد و سپس

قند برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($\text{mg.g}^{-1}\text{FW}$) محاسبه شد.

استخراج پرولین: استخراج پرولین از نمونه‌های مورد آزمون و سنجش آن با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. محلول‌هایی به غلظت ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین آماده و جذب آن‌ها توسط اسپکتروفتومتر (مدل JENWAY 6405) قرائت شد. منحنی استاندارد پرولین بر اساس جذب‌های به‌دست آمده رسم گردید و با استفاده از معادله خط بدست آمد که با استفاده از آن، مقدار پرولین در نمونه‌های مجهول، محاسبه شد.

در این پژوهش تجزیه آماری داده‌ها بر اساس موازین آماری طرح پژوهشی انجام شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌های صفات با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ($P < 0.05$) صورت گرفت.

نتایج

تجزیه واریانس مرکب نتایج حاصل از اثر سویه‌های باکتری سودوموناس و سطوح تنش خشکی بر میزان ایندول استیک اسید نشان داد که اثر متقابل سویه‌های باکتری سودوموناس و تنش خشکی بر میزان ایندول استیک اسید در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری سودوموناس نشان داد که در هر سه سطح تنش خشکی سویه‌های باکتری نسبت به تیمار عدم تلقیح به طور معنی‌دار مقدار ایندول استیک اسید بیشتری تولید کردند. همچنین بیشترین میزان ایندول استیک اسید در سطح تخلیه رطوبتی ۶۰ و ۷۵ درصد از سویه S153 (به ترتیب ۷۰/۸/۶ و ۵۸/۶ نانومول بر گرم ماده خشک) به‌دست آمد، هرچند در سطح تخلیه رطوبتی ۴۰ و ۶۰ درصد بین سویه‌های S153 و S4 اختلاف

اندازه‌گیری نهایی مقدار هورمون مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری فندهای محلول: اندازه‌گیری فندهای محلول با استفاده از روش Hendrix (۱۹۹۳) انجام شد. ابتدا ۰/۵ گرم از بافت سبزی برگ فریز شده را در داخل ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ در هاون کاملاً له کرده و به لوله‌های آزمایش درب دار منتقل گردید و به مدت ۳۰ ثانیه در ورتکس به شدت تکان داده شد. بعد مایع رویی جدا و به لوله درب دار به حجم ۲۰ میلی‌لیتر منتقل شد. سپس دو مرتبه و هر بار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به بخش جامد باقی مانده اضافه و کاملاً شستشو گردید. کلیه مراحل فوق در حمام یخ و نور کم انجام گرفت. سپس بخش مایع رویی به لوله آزمایش منتقل شد. در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سانتریفیوژ ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و قسمت محلول زلال به‌دست آمده جدا و به ۰/۱ میلی‌لیتر از آن، ۳ میلی‌لیتر محلول آنترون تهیه شده (۰/۱۵ گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد در بالن ژوژه به‌دست می‌آید) اضافه شد. لوله‌های حاوی محلول‌های فوق به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت و سپس میزان جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد. محلول‌های استاندارد از گلوکز با غلظت‌های ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام تهیه شد و کلیه مراحل کار بر روی ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره بر روی هر یک از نمونه‌ها انجام گردید. جذب نمونه‌های شاهد با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. و خط رگرسیون تغییرات گلوکز و طیف جذبی نمونه‌های شاهد ترسیم گردید. با توجه به خط رگرسیونی، مقدار فندهای محلول با ضرایب لازم اعمال شد. با استفاده از رسم منحنی استاندارد مقدار

معنی‌دار وجود نداشت. سویه S108 در سطوح تخلیه رطوبتی ۴۰ و ۶۰ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح میانگین بالاتری نشان داد اما در سطح تنش خشکی شدید (۷۵ درصد تخلیه رطوبتی) کارایی تولید هورمون ایندول استیک اسید را از دست داده و تفاوت معنی‌دار با تیمار عدم تلقیح نشان نداد (جدول ۴).

جدول ۳: تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	ایندول استیک اسید	جیبرلین	سیتوکینین	آبسیزیک اسید	قندهای محلول
سال	۱	۲۲/۲۵ ^{ns}	۵۲۳/۲۱ ^{ns}	۶۵۰/۷ ^{ns}	۱۱۲۷۰**	۸۸۳/۶۰ ^{ns}	۹/۱ ^{ns}
تکرار (سال)	۴	۱۹/۹ ^{ns}	۲۷۸۸/۷ ^{ns}	۱۵۹۱/۳ ^{ns}	۴۶۷/۶ ^{ns}	۱۷۴/۰۵ ^{ns}	۲۵۷/۳
تنش خشکی	۲	۳۸۶۲/۴**	۲۹۴۵۲۷/۲**	۱۰۵۷۰۶/۵**	۲۲۰۰۲/۶**	۱۷۸۸۰/۰۷**	۶۱۲۵/۰**
سال × تنش خشکی	۲	۷۵/۹*	۱۵۰۵۱/۰*	۹۷۹/۲ ^{ns}	۳۴۷/۴ ^{ns}	۴۹۶/۳۰	۳۹۳/۶*
خطای ۱	۸	۱۱/۱۰	۱۸۶۴/۹	۲۷۳/۹	۴۶۸/۷	۱۷۶۲/۲	۹/۴
باکتری	۴	۴۱۲۴/۴**	۱۳۹۷۶۸۰**	۸۵۱۷۴/۶**	۱۵۱۳۳/۱**	۲۷۶۹۴/۳۱۷**	۱۱۳۴/۱**
سال × باکتری	۸	۱۳/۹ ^{ns}	۱۴۰۳/۸ ^{ns}	۱۹۶/۸ ^{ns}	۳۰۳/۳ ^{ns}	۶۸۲/۰۷ ^{ns}	۸۷/۳ ^{ns}
تنش خشکی × باکتری	۴	۳۲۸/۷**	۱۴۳۹۹/۷*	۱۱۴۷/۸۱*	۲۹۱/۴*	۲۸۱۰/۸۰*	۱۱۱/۳ ^{ns}
سال × تنش خشکی × باکتری	۸	۱۸/۲۵ ^{ns}	۱۰۲۲/۳ ^{ns}	۹۸۷/۰۲۲ ^{ns}	۱۱۶/۳ ^{ns}	۱۷۳/۴۳ ^{ns}	۴۷/۷ ^{ns}
خطای ۲	۴۸	۱۳/۱۷	۱۸۰۰/۵	۲۵۲/۲۱	۱۶۹/۶	۱۱۶۰/۳۶	۶۵/۸
ضریب تغییرات		۷/۸۰	۷/۳۱	۴/۴۵	۱۰/۳	۱۶/۶۹	۱۳/۸

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ادرصد و ۵ درصد و ns عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار را نشان می‌دهد.

اثر سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری بر میزان سیتوکینین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب اثر متقابل سطوح تنش خشکی و سویه‌های باکتری بر میزان سیتوکینین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). به طوری که با افزایش شدت تنش کمبود آب میزان سیتوکینین برگ کاهش معنی‌داری داشت. با افزایش تنش خشکی از سطح ۴۰ به ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی، در مقدار سیتوکینین تولید شده توسط سویه‌های سودوموناس تغییر معنی‌دار مشاهده نشد اما با افزایش شدت تنش در سطح ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی کاهش معنی‌دار در همه سویه‌ها مشاهده شد. به طوری که در سطح تخلیه رطوبتی ۷۵ درصد حداکثر سیتوکینین مربوط به سویه S153 بود که نسبت به تیمار عدم تلقیح و سایر سویه‌ها برتر بود در حالی که بقیه سویه‌ها تفاوت معنی‌داری با تیمار عدم تلقیح نداشتند (جدول ۴).

اثر سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری بر میزان جیبرلین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب اثر سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری بر میزان جیبرلین نشان داد که اثر متقابل سطوح تنش خشکی و سویه‌های باکتری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح تنش خشکی و سویه‌های باکتری نشان داد که با افزایش شدت کمبود آب از مقدار جیبرلین کاسته شد. در سطح ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی سویه‌های باکتری سودوموناس نسبت به تیمار عدم تلقیح میانگین بالاتری نشان دادند اما در سطح ۶۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی سویه S108 نسبت به تیمار عدم تلقیح تفاوت معنی‌دار نداشت. همچنین در سطح ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی نیز بین سویه S4 و S153 تفاوت معنی‌دار آماری وجود نداشت. نکته مورد توجه این است که سویه S153 در هر سه سطح تنش خشکی نسبت به سایر سویه‌ها مقدار جیبرلین بیشتری تولید کرد (جدول ۴).

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری سودوموناس بر صفات اندازه‌گیری شده

مقدار تخلیه رطوبتی (درصد)	سویه‌های <i>Fluorescents pseudomonas</i>	پرولین (میکرو مول در گرم وزن تر)	ایندول استیک اسید (نانومول بر گرم وزن خشک)	جیبرلین (نانومول بر گرم وزن خشک)	سیتوکینین (نانومول بر گرم وزن خشک)	آبسزیک اسید (نانومول بر گرم وزن خشک)	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۴۰	S4	۳۶۳۰e	۷۵۹/۶a	۴۹۵/۰a	۱۷۶/۶a	۲۳۸/۰abc	۴۵/۸۳a
۴۰	S153	۴۸/۴۳d	۷۴۷/۶a	۴۸۷/۶a	۱۷۵/۰a	۲۴۳/۳ab	۴۹/۵۰a
۴۰	S108	۲۳/۰۳h	۶۱۵/۸b	۳۶۴/۶c	۱۳۸/۳b	۱۶۵/۵def	۴۵/۳۳a
۴۰	S169	۳۵/۰۰ef	۶۸۷/۶a	۴۲۶/۳b	۱۶۰/۶a	۲۲۴/۱abcd	۴۸/۱۷a
۴۰	عدم تلقیح	۲۵/۵۶gh	۴۷۶/۶ef	۲۸۸/۶e	۱۰۰/۵c	۱۶۳/۳def	۳۲/۶۷a
۶۰	S4	۶۷/۸۰b	۶۹۴/۰a	۴۳۴/۰b	۱۸۱/۱a	۲۶۹/۱ab	۵۷/۳۳a
۶۰	S153	۷۲/۵۳ab	۷۰۸/۶a	۴۲۸/۳b	۱۶۸/۸a	۲۸۰/۸a	۷۱/۳۳a
۶۰	S108	۳۷/۸۳e	۵۶۳/۳bcd	۲۸۶/۶e	۹۴/۸c	۲۰۹/۵bcde	۶۶/۸۳a
۶۰	S169	۴۶۷۰d	۶۰۲/۶b	۳۶۷/۶c	۱۲۶/۳b	۲۳۱/۱abc	۵۷/۵۰a
۶۰	عدم تلقیح	۲۹/۶۶fg	۵۰۷/۰def	۳۰۰/۳e	۸۳/۸c	۱۴۴/۸f	۴۳/۳۳a
۷۵	S4	۷۵/۰۶a	۴۴۰/۰fg	۳۰۷/۶de	۹۷/۶c	۱۷۶/۶cdef	۷۴/۱۷a
۷۵	S153	۶۸/۴۳b	۵۸۶/۶bc	۳۶۳/۶c	۱۳۰/۶b	۲۳۱/۵abc	۸۰/۰۰a
۷۵	S108	۴۷/۰۶d	۳۹۵/۳g	۲۳۸/۶f	۸۰/۰c	۱۴۵/۳f	۷۹/۶۷a
۷۵	S169	۵۶/۹۶c	۵۲۶/۶cde	۳۳۱/۶d	۸۵/۳c	۱۷۹/۰cdef	۶۷/۸۳a
۷۵	عدم تلقیح	۲۷/۸۰gh	۳۹۴/۶g	۲۳۰/۰f	۹۰/۱c	۱۶۰/۰ef	۶۲/۶۷a

در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

همه سویه‌ها نسبت به شاهد آبسزیک اسید بیشتری تولید کردند، ولی در سطح تنش خشکی ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی سویه S108 نسبت به شاهد و سایر سویه‌ها آبسزیک اسید کمتری تولید کرد (جدول ۴).

اثر سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری

بر میزان پرولین: تجزیه واریانس مرکب میزان پرولین نشان داد که اثر متقابل بین سطوح آبیاری و سویه‌های باکتری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح آبیاری و سویه‌های باکتری نشان داد که میزان پرولین برگ با کاهش رطوبت قابل دسترس خاک افزایش یافت. هر چند که در سطح آبیاری بدون تنش (۴۰ درصد تخلیه رطوبتی) و تنش متوسط (۶۰ درصد تخلیه رطوبتی) بیشترین میزان پرولین مربوط به سویه S153 ولی در سطح آبیاری تنش شدید (۷۵ درصد تخلیه رطوبتی)

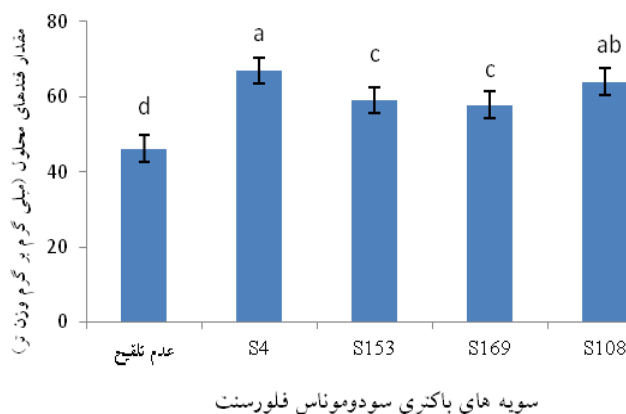
اثر سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری

بر میزان آبسزیک اسید: تجزیه واریانس مرکب آبسزیک اسید نشان داد که اثر متقابل بین سطوح تنش خشکی و سویه‌های باکتری بر آبسزیک اسید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش تنش خشکی آبسزیک اسید از ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی به ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی از ۱۷۸/۵ نانومول برگرم به ۲۲۷/۱ نانومول برگرم افزایش یافت، اما از ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی به ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی به ۲۰۶/۸ نانومول برگرم کاهش یافت (شکل ۴). مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح تنش خشکی و سویه‌های باکتری سودوموناس نشان داد که در هر سه سطح تنش خشکی سویه S153 نسبت به سایر سویه‌ها برتر بود. همچنین در سطح تخلیه رطوبتی ۴۰ و ۶۰ درصد

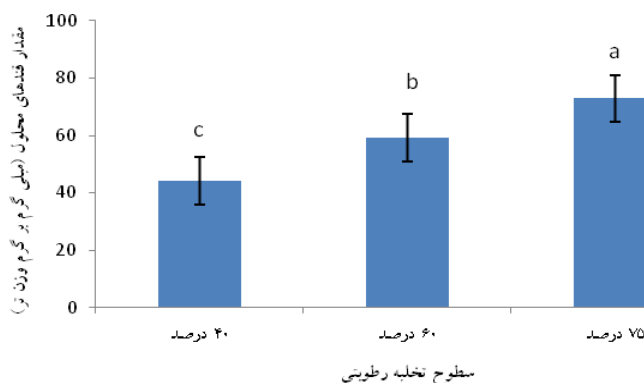
در تنش خشکی متوسط (۶۰ درصد تخلیه رطوبتی) (۵۹/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و شدید (۷۵ درصد تخلیه رطوبتی) (۷۲/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با آبیاری بدون تنش (۴۴/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) افزایش یافت (شکل ۱). مقایسه میانگین سویه‌های باکتری نشان می‌دهد که سویه‌ها نسبت به تیمار شاهد قند بیشتری در برگ تولید کردند و حداکثر قندهای محلول از سویه S4 با میانگین ۶۶/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به دست آمد و سویه S108 با میانگین ۶۸/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در مرتبه بعدی قرار داشت (شکل ۲).

بیشترین میزان پرولین مربوط به سویه S4 بود ضمن آن که سویه S108 در سطح آبیاری بدون تنش کمترین مقدار پرولین را نشان داد و تیمار غیر تلقیحی، بر خلاف سویه‌های باکتری، تغییر قابل ملاحظه‌ای با افزایش شدت تنش خشکی نشان نداد (جدول ۴).

اثر سطوح مختلف تنش خشکی و سویه‌های باکتری بر میزان قندهای محلول: تجزیه واریانس مرکب اندازه‌گیری قندهای محلول نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سویه‌های سودوموناس و سطوح آبیاری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت (جدول ۳). میزان قندهای محلول به‌طور معنی‌داری



شکل ۱: اثر اصلی سویه‌های باکتری فلورسنت سودوموناس بر مقدار قندهای محلول



شکل ۲: اثر اصلی تنش خشکی بر مقدار قندهای محلول

بحث

نشده. Persello-Cartieaux و همکاران (۲۰۰۱) تولید سطوح بالای جیبرلین را در گیاهان تلقیح شده با سویه‌های مختلف سودوموناس گزارش کردند. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که اثر تنش خشکی و باکتری بر جیبرلیک اسید بسیار پیچیده است. وقتی ذرت در معرض تنش قرار می‌گیرد انتقال سیتوکینین به اندام‌های هوایی کاهش می‌یابد زیرا بیشتر سیتوکینین در ریشه ذخیره می‌شود (Sandhya et al., 2010). Yang و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تنش کمبود آب به‌طور معنی‌داری میزان سیتوکینین برگ‌ها را در مرحله گلدهی کاهش می‌دهد. یک مطالعه نشان داد که بیش از ۹۰ درصد میکروارگانسیم‌ها یافت شده در ریزوسفر گیاهان قابلیت تولید سیتوکینین را دارند که تولید آن‌ها به‌وسیله رابطه همیاری با گیاه میزبان به‌خوبی مشاهده شده است (Benizri et al., 1998)، اگرچه تولید درون‌زاد سیتوکینین توسط گیاهان هنوز مورد بحث می‌باشد و جستجو برای ژن‌های مسئول بیوستنز سیتوکینین در گیاهان تاکنون ناموفق بوده است (Sandhya et al., 2010)، با این وجود توجه زیادی به باکتری‌های محرک رشد تولیدکننده سیتوکینین در فیلوسفر یا ریزوسفر وجود دارد. همان‌طور که سیتوکینین از ریشه‌ها به سمت اندام‌های هوایی حرکت می‌کند، بر رشد و نمو قسمت‌هایی از ریشه که در مسیر حرکت در معرض سیتوکینین قرار می‌گیرند می‌تواند اثر بگذارد (Yang et al., 2004). افزایش عملکرد دانه و میزان N, K, P در دانه برنج بعد از محلول‌پاشی سیتوکینین در مزرعه (Zahir et al., 2001)، این نتیجه را تأیید می‌کند که تلقیح گیاه با باکتری‌هایی که قابلیت تولید سیتوکینین در خاک را دارند می‌تواند رشد و عملکرد گیاه را بهبود بخشد. گیاهچه‌های تلقیح شده سیب‌زمینی با برخی از میکروارگانسیم‌های محرک رشد گیاه، سطوح بالایی از

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش سویه‌های باکتری و تنش خشکی نشان داد که تلقیح گیاهان با سویه‌های باکتری منجر به افزایش معنی‌دار ایندول‌استیک اسید نسبت به تیمارهای غیر تلقیحی در هر سه سطح تنش خشکی گردید. در تحقیق مشابهی گزارش شده است که سویه SW4 باکتری سودوموناس پوتیدا تولیدکننده ایندول‌استیک اسید، در داخل گیاه ذرت نسبت به سایر سویه‌ها چهار برابر ایندول‌استیک اسید بیشتری سنتز نموده و ترکیبات شبه هورمونی زیادی نیز تولید می‌کند که باعث افزایش رشد گیاه به‌ویژه در شرایط تنش می‌شود (Xie et al., 2002). Persello-Cartieaux و همکاران (۲۰۰۱) گزارش دادند که تلقیح با سودوموناس پوتیدا رشد را به‌وسیله کاهش جذب یون‌های سمی، افزایش میزان ایندول‌استیک اسید و تشکیل پروتئین‌های ویژه تنش در گیاهان تحت تنش تحریک می‌کند. در مورد جیبرلیک اسید نیز در این آزمایش در شرایط عدم تنش (۴۰ درصد تخلیه رطوبتی) و تنش متوسط (۶۰ درصد تخلیه رطوبتی) سویه‌های باکتری نسبت به شاهد جیبرلیک اسید بیشتری تولید کردند. اطلاعات کمی درباره تنش خشکی بر میزان جیبرلین وجود دارد، انتظار می‌رود که در مرحله رشد کند، سطح تحریک‌کننده‌های رشد مثل جیبرلین کاهش یابد (Zhang et al., 2007). Yang و همکاران (۲۰۰۴) مشاهده کردند که تنش کمبود آب آب‌سزیک اسید را افزایش ولی جیبرلیک اسید را کاهش می‌دهد. Sobieszczanski و همکاران (۱۹۸۹) با مقایسه هفت سویه سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescens*) برای تولید تنظیم‌کننده‌های رشد روی گیاهچه‌های کاهو گزارش کردند که بین سویه‌ها از نظر تولید جیبرلیک اسید تفاوت معنی‌داری وجود داشت، در حالی که از لحاظ تولید ایندول‌استیک اسید تفاوت معنی‌داری مشاهده

نتیجه مطابق نتیجه Domash و همکاران (۲۰۰۶) می‌باشد، آن‌ها گزارش کردند که انتقال آبسزیک اسید در مراحل ابتدایی سازگاری به تنش کمبود آب در برگ‌های ذرت افزایش می‌یابد اما به سرعت بعد از پاسخ‌های سازگاری به تنش خشکی با افزایش شدت تنش انتقال آبسزیک اسید افت پیدا می‌کند. برخی از سویه‌های باکتری‌های محرک رشد گیاه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و جیبرلین سنتز می‌کنند که در تجمع آبسزیک اسید و تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن شرکت می‌کنند (Yang et al., 2004). با این وجود در خاک در حال خشک شدن، گیاهان تلقیح شده با باکتری سودوموناس پوتیدا غلظت بالاتری از آبسزیک اسید را در آوند آبکش نسبت به شاهد نشان دادند که با بهبودی رشد ریشه و اندام‌های هوایی در ارتباط می‌باشد. در برخی از شرایط که خود آبسزیک اسید می‌تواند محرک رشد باشد تا بازدارنده رشد، ممکن است در ارتباط با تحریک رشد ریشه و اندام‌های هوایی (شاید به وسیله سرکوب کردن تولید ACC و یا اتیلن) در گیاهان تلقیح شده باشد (Glick et al., 1998).

در هر سه سطح آبیاری سویه‌های باکتری نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح) میزان پرولین بیشتری نشان دادند. پرولین یک تنظیم‌کننده اسمزی مهم است که در شرایط تنش بلافاصله در سلول تجمع پیدا می‌کند (Bano and Fatima, 2009). Bano و Fatima (۲۰۰۹) نیز با تلقیح بذور ذرت با سویه‌های باکتری *Pseudomonas fluorescens* تحت تنش شوری به این نتیجه رسیدند که همه سویه‌های باکتری نسبت به شاهد میزان پرولین گیاه را افزایش داده و در جذب انتخابی یون پتاسیم اثر گذاشته و ذرت را در تحمل تنش شوری یاری می‌کند. بنا به نظر Bianco و Defez (۲۰۰۹) باکتری سودوموناس به عنوان عامل محرک کاتابولیسیم پرولین عمل می‌کند، علاوه بر این فعالیت

سیتوکینین را نشان دادند (Lazarovits and Nowak, 1997). DeSalamone و همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش کردند که بذره‌های تلقیح شده گیاه سویا با باکتری سودوموناس فلورسنتس تولید سیتوکینین را در برگ‌ها ۳۵/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند.

با توجه به نتایج بدست آمده علت برتری سویه‌های S4 و S153 در تولید هورمون‌های رشد را می‌توان به دلیل تولید ایندول استیک اسید و سیدروفور بیشتر نسبت به سایر سویه‌ها دانست (جدول ۱)، هر چند قابلیت تولید آنزیم ACC دی‌آمیناز در هر چهار سویه به کار رفته در این آزمایش وجود داشت اما روابطی که بین تولید سیدروفور، هورمون و آنزیم ACC دی‌آمیناز در سویه‌ها وجود دارد تعیین کننده کارایی سویه باکتری در افزایش متابولیت‌های رشدی است (Glick et al., 1998) که نباید نادیده گرفت. با این وجود افزایش جذب فسفر و آهن نیز می‌تواند نقش موثری در تولید هورمون‌های رشد داشته باشد (Sandhya et al., 2010). بنابراین تولید هورمون‌های رشد توسط سویه‌های به کار برده شده در این آزمایش می‌تواند منجر به افزایش رشد گیاه در شرایط نرمال و تنش شود که مبین نتایج Xie و همکاران (۲۰۰۲) است.

مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح تنش خشکی و سویه‌های باکتری سودوموناس نشان داد که در سطح تخلیه رطوبتی ۴۰ و ۶۰ درصد همه سویه‌ها نسبت به شاهد آبسزیک اسید بیشتری تولید کردند، ولی در سطح تنش خشکی ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی سویه S108 نسبت به شاهد و سایر سویه‌ها آبسزیک اسید کمتری تولید نمود. القای تجمع آبسزیک اسید به وسیله تنش خشکی در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (Yang et al., 2004). در این آزمایش بیشترین افزایش آبسزیک اسید در سطح تنش خشکی ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی مشاهده شد. این

سویه‌های S4 و S153 را می‌توان برای تحمل تنش در گیاه ذرت توصیه کرد. برای تأیید ارتباط پرولین، ایندول استیک اسید، جیبرلین، آبسزیک اسید و سیتوکینین با تولید ACC دی‌آمیناز تحت تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش نیاز به مطالعات بیشتری دارد که در کارهای آتی باید در نظر گرفته شوند.

منابع

- Baluska, F., Parker, J.S. and Barlow, P.W. (1993). A role for gibberellic acid in orienting microtubules and regulating cell growth polarity in the maize root cortex. *Planta*. 191:149-157.
- Bano, A. and Fatima, M. (2009). Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biology and Fertility of Soils*. 45:405-413.
- Bates, L.S., Waldron, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-208.
- Benizri, E., Courtade, A., Picard, C. and Guchert, A. 1998. Role of maize root exudates in the production of auxins by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biology Biochemistry*. 30: 1481-1484.
- Bianco, C. and Defez, R. (2009). *Medicago truncatula* improves salt tolerance when nodulated by an indole-3-acetic acid-overproducing *Sinorhizobium meliloti* strain. *Journal of Experimental Botany*. 60:3097-3107.
- De Salamone, I.E.G., Hynes, R.K. and Nelson, L.M. (2001). Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology*. 47: 404-411.
- Dobrev, P.I., Havlicek, L.M., Vagner, J., Malbeck, M. and Kamnek, K. (2005). Purification and determination of plant hormones auxin and abscise acid using solid phase extraction and two-dimensional high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 1075: 159-166.
- Domash V.I., Protosko, R. F., Vasyuk, V.A., Shumikhin, S.V., Ermolitskaya, L.V. and Sharpio, T.P. (2006). The content of abscisic acid and the activities of proteinases and trypsin inhibitory proteins, in the germinating seed of common beans under water

آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش می‌دهد. Sandhya و همکاران (۲۰۱۰) با تلقیح بذور ذرت با باکتری *Pseudomonas putida* سویه GAP-P45 سطوح بالای از قندهای محلول، پرولین، اسیدآمینوهای آزاد را تحت تنش خشکی مشاهده کردند، علاوه بر این کاهش میزان نشاسته و پروتئین تحت تنش خشکی در همه سویه‌های مورد استفاده در این آزمایش گزارش کردند. این نتایج ممکن است در ارتباط با قابلیت سویه‌ها برای تولید آنزیم ACC دی‌آمیناز که تولید اتیلن را کاهش می‌دهند باشد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده و گزارش‌های موجود استفاده از *Pseudomonas fluorescens* ممکن است ابزاری در تسهیم اثرات تنش خشکی در ذرت باشد. گزارش شده است که علاوه بر القای متابولیسم کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های مربوط به فتوسنتز توسط باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens*، میزان قندهای محلول برگ‌های ذرت تلقیح شده تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان غیر تلقیحی بیشتر است (Shoresh and Harman, 2008). در این آزمایش نیز کاربرد *Pseudomonas* spp. منجر به افزایش قندهای محلول شد که تأثیر مثبتی در تحمل گیاه در برابر تنش خشکی دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

از نتایج این آزمایش، می‌توان نتیجه گرفت که تلقیح باکتری‌هایی مانند سویه‌های باکتری فلورسنت سودومونادس ویژگی‌های هورمونی گیاه ذرت را تحت تنش خشکی بهبود می‌بخشد، در نتیجه این سویه‌ها می‌توانند ذرت را از تنش خشکی به‌وسیله بهبود نسبی بازدارنده‌های رشد القاء شده بوسیله تنش خشکی، فارغ از دیگر کیفیت‌هایشان به عنوان محرک‌های رشد مؤثر، محافظت نمایند. همچنین

- stress conditions. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 42: 97–100.
- Glick, B.R., Penrose, D.M. and Li, J. (1998).** A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*. 190: 63–68.
- Guinn, G., Donald, L., Brummett, C. and Beier, C. (1986).** Purification and Measurement of abscisic acid and indoleacetic acid by high performance liquid chromatography. *Plant Physiology*. 81(4): 997–1002.
- Hendrix, D.L. (1993).** Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Science*. 33:1306–1311.
- Lazarovits, G. and Nowak, J. (1997).** Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Horticultural Science*. 32:188–192.
- Mayak, S., Tirosch, T. and Glick, B.R. (2004).** Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and pepper. *Plant Science*. 166: 525–530.
- Persello-Cartieaux, F., David, P., Sarrobert, C., Thibaud, M.C., Achouak, W., Robaglia, C. and Nussaume, L. (2001).** Utilization of mutants to analyze the interaction between *Arabidopsis thaliana* and its naturally root-associated *Pseudomonas*. *Planta*. 212: 190–198.
- Sandhya, V., Ali S.k.Z., Grover, M., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. (2009).** *Pseudomonas sp.* strain P45 protects sunflowers from drought stress through improved soil structure. *Journal of Oilseed Research*. 26: 600–601.
- Sandhya, V., Ali S.K.Z., Grover, M., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. (2010).** Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regulation*. 62 (1): 21–30.
- Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007).** Drought induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *Acta Botanica Croatica*. 66: 43–56.
- Shoresh, M. and Harman, G.E. (2008).** The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. *Plant Physiology*. 147:2147–63.
- Sobieszczański, j., Stempniewicz, R. and Krzyśko, T. (1989).** *Pseudomonas SP.* AG producer of plant growth regulators. *Developments in Soil Science*. 18: 201–205.
- Xie, H., Pasternak, J.J. and Glick, B.R. (2002).** Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Current Microbiology*. 32: 67–71.
- Yang, J., Iou, X., Kiu, B., Li, J. and He, D. (2004).** Hormonal changes in plants grown under reduced irrigation. *Journal of Central European Agriculture*. 10 (3): 123–129.
- Zahir, Z.A., Asghar, H.N. and Arshad, M. (2001).** Cytokinin and its precursors for improving growth and yield of rice. *Soil Biology and Biochemistry*. 33: 405–408.
- Zhang, M., Duan, L., Tian, X., He, Z., Li, J., Wang, B. and Li, Z. (2007).** Uniconazole-induced tolerance of soybean to water deficit stress in relation to changes in photosynthesis, hormones and antioxidant system. *Journal of Plant Physiology*. 164:709–717.