

اثر همزمان سطوح مختلف ایندول بوتیریک اسید و تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات رشدی و بیوشیمیایی نهال زیتون (*Olea europaea* L.)

محمدرضا صفری مطلق^{۱*}، بهزاد کاویانی^۲، سیداحمد موسوی محمدی^۲

^۱گروه گیاه‌پزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

^۲گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۰۲

چکیده

به منظور ارزیابی اثر سطوح مختلف ایندول بوتیریک اسید (IBA) و سویه‌های باکتری *Pseudomonas fluorescens* آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار انجام شد. در فاکتور اول تاثیر سه سطح از هورمون IBA (صفر، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و در فاکتور دوم تاثیر دو سویه R5 و R64 از باکتری *P. fluorescens* بر رقم کنسروالیا (*Olea europaea* L. cv. Conservaliya) نهال زیتون مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر تلقیح باکتریایی با سویه R5، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، وزن خشک کل، غلظت نیتروژن و جذب فسفر را نسبت به شاهد افزایش داد ولی بین سویه‌های R5 و R64 از نظر اثر بر کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در سطح ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA نیز وزن خشک اندام هوایی و ریشه، غلظت نیتروژن، کلروفیل کل و وزن خشک کل نسبت به سطح صفر افزایش یافت، در حالی که حداکثر جذب فسفر در سطح ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آمد. اثر متقابل IBA و باکتری نشان داد که در صفات مورفولوژیک، جذب و غلظت عناصر، حداکثر میانگین در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و سویه R5 وجود داشت. با توجه به نتایج به دست آمده برای بهبود ریشه‌زایی زیتون، کاربرد توأم تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و سویه R5 پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، جذب نیتروژن و فسفر، ریشه‌زایی قلمه، زیتون، سودوموناس.

مقدمه

بیولوژیک، رشد و نمو بیشتر گیاه و آلودگی کمتر محیط زیست است. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی همچون ایندول بوتیریک اسید (IBA) پرکاربردترین ترکیبات اکسینی مورد استفاده برای ریشه‌زایی هستند (Hartmann et al., 1997; Singh et al., 2014; Davidović et al., 2015). ریشه‌زایی یک مرحله بحرانی برای موفقیت در ازدیاد از طریق قلمه‌زنی است. قلمه زیتون، سخت‌ریشه‌زا است و رشد کندی دارد. در مطالعه‌ای، تأثیر برخی عوامل مؤثر در ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه‌خشبی ارقام سخت‌ریشه‌زای

زیتون (*Olea europaea*) از خانواده Oleaceae مصارف غذایی، دارویی، صنعتی و بهداشتی فراوانی دارد. تولید نهال با ریشه‌زایی و تغذیه مناسب مهم‌ترین عامل توسعه گیاهانی نظیر زیتون در سراسر جهان است. هدف اصلی استفاده از ترکیبات اکسینی در انواع و غلظت‌های مختلف، دستیابی به حداکثر ریشه‌زایی و هدف اصلی استفاده از کودهای

*نویسنده مسئول: safarimotlagh@iaurasht.ac.ir

و فسفر و تولید PGRs افزایش می‌دهند (Karlidag et al., 2007; Jaleel et al., 2007).

امروزه، ریزجانداران حل‌کننده فسفات به‌عنوان کود زیستی به منظور افزایش تولید و حفظ سلامت خاک در سطوح وسیع استفاده می‌شوند. راسته Pseudomonales شامل دو خانواده Moracellaceae و Pseudomonaceae است که گروه مهمی از باکتری‌های گرم منفی هستند. در میان باکتری‌های حل‌کننده فسفات، چندین گونه از باکتری‌های جنس سودوموناس به‌عنوان کارآمدترین باکتری‌های حل‌کننده فسفات شناخته شده‌اند که استفاده از آنها به‌صورت کودهای زیستی باعث بهبود وضعیت تغذیه‌ای خاک می‌شود (Henry et al., 2008). از میان گونه‌های مختلف جنس سودوموناس، گونه‌های *P. fluorescens* و *Pseudomonas putida* نقش بسیار مهمی در افزایش رشد و جذب عناصر غذایی مثل فسفر دارند. PGPRs از طریق مکانیسم‌هایی مانند تولید PGRs که نتیجه آن بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه است، با تأثیر بر جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه، تولید برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، حذف عوامل بیماری‌زا و القای ژن دفاعی گیاه، می‌توانند رشد و نمو گیاه را بهبود بخشیده و به‌علاوه می‌توانند عوامل بیماری‌زای گیاهی را از طریق حذف رقابتی کاهش دهند (Vessey, 2003). در میان باکتری‌های محرک رشد گیاه، *P. fluorescens* به‌دلیل توانایی در تولید دامنه وسیعی از PGRs، تولید سیدروفورها، ساخت آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات کلات‌کننده آهن و جذب آن، تولید اسیدهای آلی از قبیل اسید سوکسینیک و اسید لاکتیک، افزایش جذب فسفر، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می‌کنند و در نهایت کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای گیاهی دارای اهمیت فراوان بوده و سبب تحریک رشد گیاه می‌شود. توانایی تعدادی از سویه‌های *Pseudomonads* در افزایش حلالیت منابع فسفات

زیتون مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین درصد ریشه‌زایی، تحت تیمار ۴۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد (Ramezani et al., 2006). آناتومی قلمه نیمه‌خشبی زیتون ارقام سخت ریشه‌زا یکی از عوامل موثر در ریشه‌زایی می‌باشد، به‌طوری‌که در این ارقام ممکن است بافت اسکلرانسیم به‌صورت ممتد بوده و از خروج ریشه‌های نابه‌جا به‌طرف بیرون ممانعت به‌عمل آورد (Lee et al., 2009). برای افزایش تأثیر IBA در ریشه‌زایی قلمه‌های زیتون از عوامل مختلفی می‌توان استفاده کرد که از آن جمله می‌توان به تغذیه برگی درختان مادری، تأثیر بستر ریشه‌زایی، شرایط رطوبت و دمای بستر، غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی^۱ و فصول مختلف قلمه‌گیری اشاره داشت (Granados et al., 2004).

استفاده گسترده از کودهای شیمیایی هزینه‌بر است و مشکلات عدیده‌ای را برای محیط زیست ایجاد می‌کند، بنابراین استفاده از کودهای بیولوژیک پایدار و همراه با محیط زیست یک ضرورت است. استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPRs)^۲ مانند *Pseudomonas* و *Azotobacter*، *Azospirillum* جای کودهای شیمیایی، با فراهم کردن مواد مغذی برای گیاه و حاصلخیزی خاک می‌تواند رشد و نمو گیاه را اصلاح کند (Karthikeyan et al., 2010). اثر مثبت این PGPRs روی اصلاح بازدهی و کیفیت برخی گونه‌ها توسط تعدادی از محققین گزارش شده است (Karlidag et al., 2007; Jaleel et al., 2007; Karlidag et al., 2009). باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت ملکولی و باکتری‌های تبدیل‌کننده فرم نامحلول فسفر به فرم محلول، از جمله مهم‌ترین ریزموجودات هستند که تغذیه گیاه را توسط افزایش جذب نیتروژن

1. Plant growth regulators (PGRs)
2. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs)

از بانک میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شده بودند، استفاده شد. این آزمایش بر اساس ۹ تیمار و ۳ تکرار و در هر تکرار ۱۰ گیاه پایه ریزی شد. با توجه به ۳ سطح از باکتری سودوموناس و سه سطح از هورمون IBA، در مجموع ۹ تیمار وجود داشت که هر کدام سه بار تکرار شدند (جدول ۱).

نمونه‌های گیاهی و تیمارها: در این آزمایش زیتون رقم کنسروالیا که تولید میوه‌های نسبتاً درشت و روغنی می‌نماید، مورد بررسی قرار گرفت. قلمه‌های ریشه‌دار شده این گیاه به تعداد مورد نیاز از بستر میست تهیه شدند. قبل از کاشت قلمه‌ها، ابتدا ریشه این گیاهان با آب مقطر شستشو گردید، سپس در مورد تیمارهایی که از باکتری‌های سودوموناس برای تلقیح استفاده می‌شد، ریشه این گیاهان به مدت ۱۰ دقیقه در محلول حاوی کود زیستی قرار گرفت و در نهایت در گلدان‌های مورد نظر کاشته شدند. مایه تلقیح به صورت پودر بسته‌بندی شده از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه گردید. در این پژوهش برای بستر کاشت از گلدان‌های پلاستیکی با دهانه ۱۸ سانتی‌متر و عمق ۲۰ سانتی‌متر که با خاک بومی منطقه پر شده بودند، استفاده شد. بافت خاک مورد استفاده رسی لومی بود. نتایج بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی آن در جدول ۲ نشان داده شده است.

نامحلول و فسفات آلی غیرقابل جذب برای گیاه، بر لزوم استفاده از آن‌ها در افزایش جذب مواد غذایی به ویژه فسفر در شرایط کمبود غذایی تأکید می‌نماید (Glick et al., 1995).

با توجه به مطالب یاد شده هدف از این مطالعه، ارزیابی تاثیر سطوح مختلف IBA بر صفات رشدی، بیوشیمیایی و جذب عناصر نهال زیتون تحت تلقیح با باکتری‌های تولیدکننده اکسین (سویه‌های R5 و R64 *Pseudomonads fluorescens*) بود.

مواد و روش‌ها

شرایط و طرح آزمایش: منطقه پانچار شهرستان لوشان (استان گیلان) به لحاظ اقلیمی خاص، یکی از مناطق بسیار باصرفه اقتصادی برای تولید نهال زیتون می‌باشد. به همین منظور این آزمایش در گلخانه‌ای واقع در این منطقه انجام شد. این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار به اجرا درآمد. فاکتور اول شامل تاثیر سه سطح از هورمون IBA (صفر، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و فاکتور دوم شامل اثر دو سویه R5 و R64 از باکتری *Pseudomonads fluorescens* بر گیاه زیتون رقم کنسروالیا *Olea europaea* L. cv. *conservaliya* بود. در این آزمایش از دو سویه از *P. fluorescens* به نام‌های اختصاری R5 و R64 که

جدول ۱: مشخصات تیمارهای به کاررفته در آزمایش

شماره تیمار	سطوح IBA (میلی گرم در لیتر)	سویه‌های باکتریایی	علامت اختصاری تیمار
۱	صفر	عدم تلقیح	I0S0
۲	صفر	سویه R5	I0S1
۳	صفر	سویه R64	I0S2
۴	۲۰۰۰	عدم تلقیح	I1S0
۵	۲۰۰۰	سویه R5	I1S1
۶	۲۰۰۰	سویه R64	I1S2
۷	۴۰۰۰	عدم تلقیح	I2S0
۸	۴۰۰۰	سویه R5	I2S1
۹	۴۰۰۰	سویه R64	I2S2

جدول ۲: برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

مشخصات نمونه	هدایت الکتریکی	اسیدیته کل اشباع	کربن آلی (%)	ازت کل (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)
خاک پاچنار	۱/۱۲	۶/۸۷	۲/۲۸	۰/۲۱	۵	۹۳

دیجیتال وزن آنها خوانده شد. برای خشک کردن ریشه‌ها از آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. وزن خشک ریشه با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد.

برای محاسبه تعداد برگ، تمام برگ‌های موجود در هر گیاه در مرحله پایان آزمایش شمارش و ثبت گردید. برای محاسبه وزن تر و خشک اندام هوایی، گیاهان در پایان دوره آزمایش از گلدان خارج و سپس اندام هوایی در ناحیه طوقه از ریشه جدا شد و وزن تر با ترازوی دیجیتال توزین گردید. سپس گیاهان به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا خشک شوند و وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. بعد از خشک کردن برگ‌ها، یک نمونه ۱۰ گرمی از هر تیمار به آزمایشگاه منتقل گردید.

فسفر به روش وانادات- مولیبدات (Chapman and Pratt, 1961) و نیتروژن به روش کج‌لدال (AOAC, 2000) اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری غلظت فسفر در برگ گیاهان، از روش خاکستر خشک استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا یک گرم از پودر گیاهی توزین و در بوتله چینی ریخته شد و در کوره به صورت خاکستر در آمد. خاکستر حاصل، در ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال حل شده و پس از عبور از کاغذ صافی ۴۱، در بالون ۵۰ میلی‌لیتری با آب مقطر داغ شسته و سپس به حجم رسانده شد. در نهایت اندازه‌گیری فسفر کل گیاه با روش میزان جذب نور زرد و عصاره‌گیر آمونیوم مولیبدات و آمونیوم وانادایت انجام گردید.

آبیاری در طول فصل رشد به صورت یکنواخت و به مقدار کافی صورت گرفت. بدین ترتیب که در هفته اول، به منظور مقاوم‌سازی قلمه‌ها به شرایط جدید، آبیاری خودکار سه نوبت در روز و به مدت ۳ دقیقه انجام شد. در هفته دوم، تعداد آبیاری به دو نوبت در روز و از هفته سوم به یک نوبت در روز کاهش یافت. از اوایل خرداد، به دلیل گرم شدن هوا، آبیاری یک نوبت در روز و به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در ضمن، با توجه به شرایط آب و هوایی، میزان و مدت آبیاری به صورت روزانه اصلاح گردید (هدایت الکتریکی آب ۰/۶۲ دسی‌زیمنس بر متر بود). انتهای تحتانی قلمه‌ها به مدت ۱۰ ثانیه در غلظت‌های صفر، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA نگهداری شدند، سپس با سویه‌های مختلف باکتری به مدت ۱۰ دقیقه تلقیح و بعد از این مدت در بستر کاشت، کاشته شدند.

اندازه‌گیری صفات: برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه، حجم ریشه، اندازه بلندترین طول ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و همچنین تعداد برگ، بوته‌های زیتون از گلدان خارج و به آزمایشگاه منتقل شدند. برای اندازه‌گیری بلندترین طول ریشه، ریشه‌ها در ناحیه طوقه از اندام هوایی جدا شده و پس از شستشو با آب، بلندترین ریشه با خط‌کش اندازه‌گیری و ثبت گردید.

به منظور اندازه‌گیری وزن تر ریشه، پس از محاسبه حجم ریشه، ریشه‌ها از آب خارج شد و به مدت چندین ساعت روی حوله خشک و تمیز قرار گرفتند تا آب اضافی خارج گردد سپس با ترازوی

مورد ارتفاع ساقه بین نمونه‌های گیاهی رشد یافته تحت تیمار IBA و تحت اثر متقابل IBA و سویه‌های مختلف *P. fluorescens* در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0/01$) اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما در این مورد اختلاف معنی‌داری بین ارتفاع تیمارهای تحت تلقیح سویه‌های مختلف باکتری وجود نداشت (جدول ۳). ارتفاع ساقه با کاربرد IBA و سویه‌های مختلف باکتری روی رقم کنسروالیای زیتون تغییر یافت (جدول ۴). بیشترین ارتفاع ساقه در گیاه (۳۴/۳۳ سانتی‌متر) تحت تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه تلقیح با سویه R5 به‌دست آمد (جدول ۴).

وزن خشک اندام هوایی: بر اساس جدول تجزیه واریانس، در مورد وزن خشک اندام هوایی بین نمونه‌های گیاهی رشد یافته تحت تیمار IBA، تحت تیمار سویه‌های مختلف باکتری و نیز بین تیمارهای مختلف تحت اثر متقابل IBA و سویه‌های مختلف *P. fluorescens* در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0/01$) اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر IBA و سویه‌های مختلف *P. fluorescens* بر وزن خشک اندام هوایی نشان داد که IBA و به ویژه تلقیح باکتریایی به‌طور معنی‌داری وزن خشک اندام هوایی را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد (جدول ۴). کمترین وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای فاقد IBA به دست آمد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۵۶/۳۰ و ۵۴/۳۶ گرم)، به‌ترتیب در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه تلقیح با سویه‌های باکتریایی R5 و R64 حاصل شد (جدول ۴) که این مقدار حدود ۴ برابر بیشتر از وزن خشک اندام هوایی گیاهان شاهد (بدون IBA و باکتری) بود.

وزن خشک ریشه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر IBA و سویه‌های مختلف

برای اندازه‌گیری نیتروژن برگ به روش کج‌لدال، ابتدا نمونه‌های گیاهی در آن با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک می‌شوند. سپس مواد گیاهی خشک‌شده، در اسید سولفوریک غلیظ هضم و در مرحله بعد ۱۰ مول بر لیتر هیدروکسید سدیم و ۲ درصد اسید بوریک تقطیر گشت. بعد از آن، با ۰/۱ مول بر لیتر اسید کلریدریک عمل تیتراسیون انجام و میزان نیتروژن محلول حاصل بر اساس روش کج‌لدال اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، ۰/۵ گرم برگ داخل هاون قرار گرفت و بعد از افزودن ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن، کاملاً همگن شد. عصاره‌ی سبزرنگ به‌دست‌آمده، با قیف و کاغذ صافی، داخل استوانه مدرج ۵۰ میلی‌لیتری صاف گردید. تفاله‌های باقی‌مانده بر روی قیف به هاون برگردانده شده و ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه و کوبیده شد. مجدداً عصاره‌ی به‌دست‌آمده صاف شد و تفاله‌های باقی‌مانده دوبار به‌ترتیب با ۱۰ و ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد همگن و صاف گردیدند. در انتها عصاره با استون ۸۰ درصد به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول‌های به دست‌آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های (A) ۶۶۰ و ۶۴۲/۵ نانومتر قرائت شدند. غلظت رنگدانه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردیدند.

$$a \text{ کلروفیل} = 0.0777 (A_{642/5}) - 0.93 (A_{660})$$

$$b \text{ کلروفیل} = 0.17 (A_{660}) - 0.21 (A_{642/5})$$

$$\text{کلروفیل کل} = 0.1680 (A_{660}) - 0.12 (A_{642/5})$$

برای بررسی و تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از داده‌ها، از نرم‌افزارهای SPSS و SAS9.2 استفاده شد.

نتایج

ارتفاع ساقه: بر اساس جدول تجزیه واریانس، در

تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA در ترکیب با سویه‌های باکتریایی R64 و R5 حاصل شد. همچنین کمترین نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه در تیمار با بیشترین غلظت IBA یعنی ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با هر دو سویه باکتریایی به دست آمد (جدول ۴).

جذب فسفر: در مورد میزان جذب فسفر بین نمونه‌های رشد یافته تحت اثر IBA، سویه‌های مختلف باکتریایی و اثر متقابل IBA و سویه‌های مختلف باکتری اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p \leq 0/01$) (جدول ۳). تیمار با سویه باکتریایی R5 همراه با ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به میزان قابل توجهی مقدار جذب فسفر را افزایش داد. بالاترین میزان جذب فسفر ($1/80$ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توسط نهال‌های زیتون در این تیمار مشاهده شد. پایین‌ترین میزان جذب فسفر (97 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نهال‌های شاهد (بدون تیمار با سویه‌های باکتریایی و IBA) وجود داشت (جدول ۴).

جذب نیتروژن: در مورد میزان جذب نیتروژن بین نمونه‌های گیاهی رشد یافته تحت اثر متقابل IBA و سویه‌های مختلف باکتریایی در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0/01$) اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما در این مورد بین نمونه‌های گیاهی تیمار شده با سویه‌های مختلف باکتری و غلظت‌های مختلف IBA به تنهایی اختلاف معنی‌داری دیده نشد (جدول ۳). بیشترین میزان جذب نیتروژن ($1/29$ و $1/28$ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، به ترتیب توسط نهال‌های تیمار شده با سویه باکتریایی R5 همراه با استفاده از ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم IBA به دست آمد. کمترین میزان جذب نیتروژن ($1/14$ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نهال‌های شاهد (بدون تیمار با سویه‌های باکتریایی و IBA) مشاهده گردید (جدول ۴).

P. fluorescens بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد ($P \leq 0/01$) و اثر متقابل IBA و سویه‌های مختلف باکتری بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال پنج درصد ($p \leq 0/05$) معنی‌دار بود (جدول ۳). جدول مقایسه میانگین اثر IBA و سویه‌های مختلف *P. fluorescens* بر وزن خشک ریشه نشان داد که تلقیح باکتریایی و IBA به‌طور معنی‌داری وزن خشک ریشه را نسبت به عدم تلقیح افزایش داد (جدول ۴). کمترین وزن خشک ریشه ($11/04$ گرم) در تیمارهای فاقد IBA به دست آمد. در تیمارهای فاقد IBA، وزن خشک ریشه، با تلقیح هر دو سویه باکتری کمی بیشتر شد اگرچه این تفاوت قابل توجه نبود. بیشترین وزن خشک ریشه ($16/59$ گرم)، مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA در ترکیب با سویه باکتریایی R5 بود (جدول ۴).

وزن خشک کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر IBA بر وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0/01$)، اثر سویه‌های مختلف باکتری و همچنین اثر متقابل IBA و سویه‌های مختلف باکتری بر وزن خشک کل در سطح احتمال پنج درصد ($p \leq 0/05$) معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین وزن خشک کل ($74/20$ و $67/62$ گرم)، به ترتیب در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA در ترکیب با سویه‌های باکتریایی R5 و R64 به دست آمد (جدول ۴). این مقادیر حدود ۳ برابر بیشتر از وزن خشک کل گیاهان شاهد (بدون به‌کارگیری IBA و باکتری) بود.

بر پایه تجزیه واریانس هیچ‌یک از تیمارهای IBA، سویه‌های مختلف *P. fluorescens* و اثر متقابل IBA و سویه‌های باکتریایی در مورد نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه معنی‌دار نبود (جدول ۳). بیشترین نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه ($3/81$ و $3/62$)، به ترتیب در

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر سویه‌های مختلف باکتری *P. fluorescens* IBA و اثر متقابل آنها بر صفات مورد مطالعه

منابع تغییرات	درجه آزادی	صفات										
		ارتفاع ساقه	وزن خشک	وزن خشک ریشه	وزن خشک کل	نسبت وزن خشک	جذب فسفر	غلظت فسفر	غلظت کلروفیل a	کلروفیل b	کل	
(A) IBA	۲	۲۴/۱۴**	۱۳۶۸**	۲۷/۸۳**	۲۰۴۸**	۶/۰۹۵ ^{NS}	۰/۱۰۹**	۰/۰۰۰۰۷۷ ^{NS}	۰/۲۸۲**	۰/۳۶۶**	۶۳/۴۱**	۰/۰۷۹۴ ^{NS}
باکتری (B)	۲	۸/۴۸ ^{NS}	۲۷۱/۱**	۱۰/۳۰**	۳۱۴*	۰/۰۵۶ ^{NS}	۰/۱۰۲**	۰/۰۰۳ ^{NS}	۰/۰۴۳ ^{NS}	۰/۰۴۹**	۵/۱۶*	۱۰/۹۶**
A × B	۴	۱۶/۵۹**	۱۳۹/۹**	۴/۱۵۶*	۳۸۸*	۰/۰۳۴ ^{NS}	۰/۱۳۶**	۰/۰۱۴**	۰/۳۲۴**	۰/۰۲۴*	۳/۴۰۵*	۴/۴۴۹**
خطا	۱۸	۳/۲۹	۱۰/۴۸	۰/۸۳۹	۹۲	۰/۰۸۸	۰/۰۰۲۸	۰/۰۰۲۳	۰/۰۰۲۹۲	۰/۰۰۷۸	۱/۲۳۳	۰/۱۱۵
ضریب تغییرات (%)	-	۵/۸۴	۸/۶۷	۶/۹۷	۱۹/۱۵	۱۰/۶۸	۴/۱۸۹	۴/۰۰	۲۸/۶۴	۱۵/۰۶	۱۳/۹۹	۴۱/۸۹

NS: ن. و **: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر سویه‌های مختلف باکتری *P. fluorescens* IBA و اثر متقابل آنها بر صفات مورد مطالعه

غلظت‌های مختلف IBA	سویه‌های باکتریایی	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک کل (گرم)	نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه	جذب فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	غلظت فسفر (درصد)	غلظت کلروفیل a (میلی‌گرم در هر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم در هر گرم وزن تر)	غلظت فسفر (درصد)	غلظت کلروفیل a (میلی‌گرم در هر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم در هر گرم وزن تر)
عدم تلقیح	۲۹/۳۳(c)	۱۳/۰۴(g)	۱۱/۰۴(a)	۲۴/۷۱(d)	۲/۳۴a	۱/۱۳(d)	۰/۰۴۹(c)	۰/۰۵۰(d)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۵۰(d)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
R5	۳۰/۰۰(bc)	۲۸/۸۰(cd)	۱۱/۹۱(cde)	۴۸/۷۱(bc)	۲/۳۱a	۱/۲۰(bcd)	۰/۰۵۱(abcd)	۰/۰۵۰(cde)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۵۰(cde)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
R64	۳۲/۰۰(ab)	۲۴/۱۷(f)	۱۱/۴۵(de)	۳۶/۸۴(cd)	۲/۸۸a	۱/۳۶(a)	۰/۰۵۰(bcd)	۰/۰۵۰(cde)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۵۰(cde)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
عدم تلقیح	۳۲/۳۳(ab)	۴۸/۳۵(b)	۱۳/۴۴(bcd)	۶۱/۸۹(ab)	۳/۱۱a	۱/۱۶(c)	۰/۰۷۰(abc)	۰/۰۷۰(bc)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۷۰(bc)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
R5	۳۴/۳۳(a)	۵۶/۳۰(a)	۱۶/۵۹(a)	۷۴/۲۰(a)	۳/۶۲a	۱/۸۰(a)	۰/۰۸۸(a)	۰/۰۸۸(a)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۸۸(a)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
R64	۳۲/۰۰(ab)	۵۴/۳۳(a)	۱۴/۸۹(b)	۶۷/۶۸(b)	۳/۸۱a	۱/۲۰(bcd)	۰/۰۸۲(ab)	۰/۰۸۴(a)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۸۴(a)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
عدم تلقیح	۳۰/۰۰(bc)	۳۰/۲۶(b)	۱۱/۶۷(c)	۴۱/۰۷(c)	۲/۵۲a	۱/۲۰(bcd)	۰/۰۳۶(d)	۰/۰۳۶(d)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۳۶(d)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
R5	۳۰/۶۷(bc)	۳۹/۸۹(c)	۱۲/۶۶(c)	۴۴/۴۳(c)	۱/۹۰a	۱/۱۹(bcd)	۰/۰۵۳(c)	۰/۰۵۳(c)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۵۳(c)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)
R64	۲۸/۶۶(b)	۳۲/۹۹(c)	۱۴/۵۸(b)	۵۱/۳۹(bc)	۱/۱۱a	۱/۲۷(b)	۰/۰۶۱(abc)	۰/۰۶۱(abc)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)	۰/۰۶۱(abc)	۴/۴۳(d)	۴/۴۳(d)

*: حروف مشترک در هر ستون عدم وجود اختلاف معنی دار با آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد را نشان می‌دهد.

** حروف داخل پرانتز، مقایسه میانگین اثر تیمارها به صورت کلی و حروف بیرون پرانتز مقایسه میانگین از طریق برش است.

میزان نیتروژن نشان داد که سویه R64 میزان نیتروژن را نسبت به تیمار عدم تلقیح به طور معنی‌دار افزایش داد، اما بین سویه R5 و تیمار عدم تلقیح اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. مقایسه میانگین اثر متقابل IBA و باکتری بر میزان نیتروژن نیز نشان داد که در هر سه سطح IBA، تلقیح باکتریایی میزان نیتروژن را نسبت به تیمار عدم تلقیح به طور معنی‌داری افزایش داد. در سطوح ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA، سویه R64 بیشترین میزان نیتروژن را القا کرد، اما در سطح صفر، بین سویه‌های R64 و R5 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در مجموع بیشترین میزان نیتروژن در گیاهان تیمار شده با ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و سویه R64 با میانگین ۰/۸۴۸ درصد به دست آمد که نسبت به شاهد (سطح صفر IBA و عدم تلقیح) میزان نیتروژن را ۴۰/۱۳ درصد افزایش داد (جدول ۴).

کلروفیل a، b و کل: در مورد مقدار کلروفیل a، b و کل بین نمونه‌های رشد یافته تحت تیمارهای مختلف غیر از اثر IBA روی کلروفیل b در سطح احتمال یک و ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳). در میان تیمارهای آزمایشی، کمترین مقدار کلروفیل a، b و کل (به ترتیب با ۴/۴۴۵، ۳/۲۹۶ و ۷/۷۴۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) از برگ گیاهان تلقیح شده با سویه باکتریایی R5 بدون IBA استخراج شد (جدول ۴). مقدار کلروفیل a، b و کل استخراج شده از برگ گیاهان شاهد (سطح صفر IBA و عدم تلقیح) نیز کم بودند. بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کل (به ترتیب با ۱۱/۴۳ و ۵/۱۳ و ۱۶/۶۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) از برگ گیاهان تیمار شده با سویه باکتریایی R64 همراه با ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA استخراج گردید و پس از آن کلروفیل a، b و کل استخراج شده از برگ گیاهان تیمار شده با سویه باکتریایی R64 همراه با ۲۰۰۰

میزان فسفر: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که در مورد میزان فسفر بین نمونه‌های گیاهی تحت اثر IBA و اثر متقابل IBA و باکتری، اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما در تیمارهای تحت تاثیر باکتری‌ها به تنهایی، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف IBA بر میزان فسفر نشان داد که کاربرد IBA به مقدار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان فسفر را نسبت به سطح صفر به طور معنی‌دار افزایش داد، اما بین سطوح صفر و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. مقایسه میانگین اثر متقابل IBA و باکتری بر میزان فسفر نشان داد که در هر سه سطح IBA، تلقیح باکتریایی میزان فسفر را نسبت به تیمار عدم تلقیح به طور معنی‌داری افزایش داد. در سطوح صفر و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA، سویه R5 و در سطح ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA سویه R64 بیشترین میزان فسفر را القا کردند. در مجموع بیشترین میزان فسفر از تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA همراه با سویه R5 با میانگین ۰/۸۸۵ درصد به دست آمد که نسبت به شاهد (سطح صفر IBA و عدم تلقیح) میزان فسفر را ۴۴/۴۰ درصد افزایش داد (جدول ۴).

میزان نیتروژن: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که در مورد میزان نیتروژن بین نمونه‌های گیاهی تحت تاثیر IBA و سویه‌های مختلف باکتری، در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0/01$) و نمونه‌های گیاهی تحت اثر متقابل IBA و سویه‌های باکتریایی، در سطح احتمال پنج درصد ($p \leq 0/05$) اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳). کاربرد IBA، میزان نیتروژن را نسبت به عدم مصرف IBA به طور معنی‌داری افزایش داد و بیشترین میزان نیتروژن در سطح ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۴). همچنین مقایسه میانگین اثر سویه‌های باکتریایی بر

افزایش فسفر قابل حل نسبت داد (Ashrafuzzaman et al., 2009). German و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که در لوییای تلقیح شده با *brasilense* و *Azospirillum* طول ریشه‌ها افزایش یافت. Dodd و همکاران (۲۰۰۴) نیز مشاهده کردند که تلقیح گیاه با باکتری‌های تحریک‌کننده رشد، منجر به افزایش رشد ریشه شد.

درباره علت افزایش وزن خشک کل توسط باکتری سویه R5 سودوموناس در پژوهش حاضر می‌توان بیان کرد که باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلف به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از جمله تولید هیدرات‌های کربن، رشد گیاهان و متعاقب آن سرعت رشد، تقسیم سلولی و اندازه سلول را افزایش می‌دهند. تلقیح گوجه‌فرنگی و فلفل با باکتری *Achromobacter piechaudii* سویه ARV8، افزایش وزن تر و خشک این گیاهان را به‌دنبال داشت (Mayak et al., 2004). برخی محققان اثر این باکتری‌ها در افزایش وزن تر و خشک گیاهان تلقیح شده را با تولید هورمون‌ها به‌ویژه IAA مرتبط می‌دانند (Boiero et al., 2007). محققان دریافتند که بسیاری از ریزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاهان دارای آنزیمی به نام ۱-آمینوسیکلوپروپان، ۱-کربوکسیلات دآمیناز هستند. این آنزیم می‌تواند، ۱-آمینوسیکلوپروپان، ۱-کربوکسیلات که پیش‌ماده مستقیم ساخت اتیلن در گیاهان عالی است را به آمونیم و آلفا-کتوتیترات تبدیل نموده و از این طریق موجب کاهش اتیلن ناشی از تنش شود (Shaharoon et al., 2008). طی این فرآیند، آمونیم به‌عنوان منبع نیتروژن توسط باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Glick, 1995). با توجه به تحقیقات گذشته می‌توان اظهار داشت که گونه‌های سودوموناس یکی از تحریک‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که بر سرعت و افزایش رشد، شکل‌گیری ریشه و ریشه‌های مویی و

میلی‌گرم در لیتر IBA به‌ترتیب با مقدار ۹/۷۸ و ۵/۰۸ و ۱۴/۹۷ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر قرار داشت (جدول ۴).

بحث

خانواده Pseudomonadaceae گروه بزرگی از باکتری‌هایی هستند که به‌وفور در زیست‌بوم‌های آبی و خاکی یافت می‌شوند. آنها گرم منفی، بدون اسپور، میله‌ای خمیده و یا صاف، متحرک با یک یا چند تازک قطبی می‌باشند. سودوموناس‌ها از طریق تولید PGRs از جمله اکسین، جیبرلین و سیتوکینین، همچنین اسیدهای آمینه و سیدروفور سبب تحریک رشد گیاهان می‌شوند. برخی محققان علت افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی را در نتیجه‌ی تأثیر مثبت این PGRs بر افزایش درصد ریشه‌زایی و تولید ریشه‌های با کیفیت بهتر می‌دانند که می‌تواند رشد اندام هوایی را نیز بهبود بخشد (Shahhoseini et al., 2015; Hartmann et al., 1997). در گزارش این محققان، کاربرد بیش از حد این هورمون‌ها با اثر منفی بر تولید شاخساره، تولید ریشه را نیز کاهش داد. نتایج به‌دست‌آمده در آزمایش حاضر نیز نشان داد که بیشترین وزن خشک اندام هوایی در سطح ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد که این سطح از IBA وزن خشک ریشه را نیز نسبت به سطح ۴۰۰۰ میلی‌گرم بیشتر افزایش داد. در مطالعه‌ای با تلقیح نهال کاج حلب (*Pinus halepensis*) توسط *fluorescens* P. مشخص شد که تلقیح منجر به افزایش ارتفاع، افزایش قطر یقه و افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه نسبت به شاهد شد، اما تغییری در غلظت عناصر غذایی از جمله نیتروژن، پتاسیم، فسفر، کلسیم و منیزیم نهال‌ها ایجاد نکرد (Dominguez et al., 2013). افزایش رشد نهال‌ها را می‌توان به توانایی این باکتری‌ها در تولید ایندول استیک اسید (IAA) و

ریشه‌های نابجا است. اکسین‌ها این نقش را با تحریک تقسیم سلولی ایفا می‌نمایند. بنابراین، یکی از مزایای استفاده از اکسین‌ها، افزایش تعداد ریشه در قلمه‌ها به‌ویژه قلمه‌های سخت‌ریشه‌زا است. تعادل هورمونی در گیاه نقش بسیار مهمی در تنظیم بسیاری از فعالیت‌های گیاهی از جمله ریشه‌زایی در قلمه‌ها ایفا می‌کند. بسیاری از قلمه‌ها حاوی مقادیری اکسین هستند، بنابراین کاربرد غلظت‌های بالای اکسین به‌منظور تحریک تقسیم سلولی و ریشه‌زایی، تعادل هورمونی را به‌هم زده و از ریشه‌زایی مناسب، ممانعت می‌کند (Jull et al., 1994; Puri and Verma, 1996). فرمولاسیون و شکل‌های کاربرد اکسین‌ها نیز نقش مهمی در درصد موفقیت ریشه‌زایی دارند (Almeida et al., 2007; Wendling and Xavier, 2005; Brondani et al., 2012). تفاوت‌های ژنوتیپی هم در این ارتباط حائز اهمیت است. لازم به‌ذکر است که علاوه بر PGRs عوامل دیگری از جمله هیدرات‌های کربن، ترکیبات فنلی، ترکیبات نیتروژنی، کوفاکتورها و غیره نیز در ریشه‌زایی نقش دارند (Shahhoseini et al., 2015; Hartmann et al., 1997). نتایج مطالعه Shahhoseini و همکاران (۲۰۱۵) بر رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) با نتایج این تحقیق در ارتباط با تأثیر IBA در ریشه‌زایی کاملاً هم‌خوانی دارد. این محققان همچنین نشان دادند که افزایش غلظت IBA از ۱۰۰۰ تا ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش درصد ریشه‌زایی در قلمه‌های رزماری شد. مطالعه Brondani و همکاران (۲۰۱۲) بر اثر غلظت‌های مختلف IBA بر ریشه‌زایی قلمه‌های گیاه اوکالیپتوس (*Eucalyptus benthamii*) نشان داد که سریع‌ترین و بالاترین درصد ریشه‌زایی مربوط به غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر این هورمون بود که مطابق نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش است. این محققان همچنین از غلظت‌های ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰

کنترل پاتوژن در اغلب گونه‌های جنگلی کارآمد بوده‌اند (Heinonsalo et al., 2004). بنابراین، توسعه و گسترش تلقیح میکروبی چندمنظوره، روشی نویدبخش در افزایش اثر مثبت ریزموجودات است که می‌تواند بر پایه اثر بیش از یک یا ترکیبی از ریزموجودات باشد. از طرف دیگر، باکتری‌های به‌کاربرده شده در این آزمایش، قابلیت انحلال فسفر نامحلول خاک را از طریق تولید اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک، اسید اگزالیک و اسید گلوکونیک دارند که مقادیر زیادی فسفر محلول در اختیار گیاه قرار می‌دهند (Vassiliev et al., 2001). Shaharoon و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که بیوتیپ F *P. fluorescens* ضمن اصلاح اجزای رشدی، جذب N, P و K را نسبت به گیاهان غیرتلقیحی افزایش داد. پتانسیل تولید سیدروفورهای مختلف توسط سودوموناس و افزایش قابلیت جذب نیتروژن، آهن و پتاسیم همچنین توانایی این باکتری‌ها در افزایش حلالیت فسفر ترکیبات نامحلول معدنی به اثبات رسیده است که از جمله روش‌های افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی می‌باشند. Hervas و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که سویه NtrC از *P. putida* می‌تواند نیتروژن خاک را برای ریشه تنظیم کرده و برخی اسیدهای آمینه را در اختیار ریشه قرار دهد. همچنین Ali و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که سودوموناس سویه AMK.P6 میزان محتوای کلروفیل، اسید آمینه و قند را در گیاهچه‌های سورگرم افزایش داد. Zahir و همکاران (۲۰۰۸) نیز اعلام نمودند که محتوای کلروفیل برگ در گیاهچه‌های ذرت تحت تلقیح با سودوموناس، ۵۴ درصد افزایش پیدا کرد. پژوهشگران زیادی نقش مثبت اکسین‌ها در تحریک ریشه‌زایی را نشان داده‌اند (Rahdari et al., 2011; Kasim and Rayya, 2009). یکی از مهم‌ترین نقش‌های اکسین‌ها در گیاهان، تحریک تشکیل

جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر و نیتروژن نه تنها منجر به افزایش رشد سریع ریشه گردید بلکه مقدار کلروفیل برگ را نیز افزایش داد. افزایش تجمع کلروفیل در سطح برگ نیز می‌تواند منجر به افزایش فتوسنتز شده و در نهایت، رشد نهال‌ها را بهبود بخشیده و استقرار گیاه را تسریع نماید.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد IBA منجر به افزایش رشد ریشه، اندام هوایی و جذب عناصر غذایی گشت و سطح ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سطح ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برتری معنی‌داری داشت. تلقیح باکتریایی نیز افزایش رشد ریشه و جذب عناصر غذایی را به‌دنبال داشت و سویه R5 از *P. fluorescens*، برتر از سویه R64 بود. تلقیح باکتریایی، کارایی IBA را افزایش داد، به‌طوری‌که حداکثر میانگین صفات در شرایط کاربرد توأم آن‌ها به‌دست آمد.

میلی‌گرم در لیتر IBA به‌عنوان غلظت‌های مناسب برای ریشه‌زایی یاد کردند که با پژوهش حاضر هم‌خوانی ندارد. علت اصلی این موضوع به نظر تفاوت گونه‌ای است. مشخص شده است که IBA القای ریشه‌های نابجا در طی تکثیر رویشی را افزایش می‌دهد، اما بسته به سبک مدیریت و مواد ژنتیکی، غلظت‌ها برای به‌دست‌آمدن ریشه‌زایی بهتر باید تنظیم شود.

در پژوهش حاضر، حداکثر کلروفیل از تیمار ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و سویه R64 به‌دست آمد. یافته‌ها نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین نیتروژن و فسفر با کلروفیل برگ وجود دارد. بنابراین هر عاملی که جذب فسفر و نیتروژن را در گیاه افزایش دهد، منجر به افزایش کلروفیل برگ و در نهایت رشد گیاه خواهد شد (Vassiliev et al., 2001). کاربرد IBA به‌همراه سودوموناس با افزایش

References

- Ali, S.K.Z., Sandhya, V., Grover, M., Kishore, N., Rao, L.V. and Venkateswarlu, B. (2009). *Pseudomonas* sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biology and Fertility of Soils*. 46 (1): 45-55.
- Almeida, F.D., Xavier, A., Dias, J.M.M. and Paiva, H.N. (2007). Auxin (IBA and NAA) effects on minicuttings rooting of *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. clones. *Revista Árvore* 31 (3): 455-463.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. Arlington (VA): Association of official analytical chemists.
- Ashrafuzzaman, M., Hossein, F.A., Razi, I., Anamul, M., Zahurul, M., Shahidullah, S.M. and Meon, S. (2009). Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*. 8(7): 1247-1252.
- Boiero, L., Perrig, D., Masciarelli, O., Pena, C., Cassán, F. and Luna, V. (2007). Phytohormone production by strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Applied Microbiology of Biotechnology*. 74(4): 874-880.
- Brondani, G.E., Baccarin, F.J.B., Ondas, H.W.W., Stape, J.L., Gonçalves, A.N. and Almeida, M.D. (2012). Low temperature, IBA concentrations and optimal time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. *Journal of Forest Research*. 23 (4): 583-592.
- Chapman, H.I. and Pratt, P.F. (1961). Methods of analysis for soils, plants and waters. The University of California's Division of Agricultural Science, Berkeley, California, USA.
- Davidović, V., Popović, R. and Radulović, M. (2015). Influence of IBA and NAA (0.8%) + (IBA 0.5%) phyto regulators to the risogenesis of the mature lemon tree-shoots (*Citrus limon* (L.) Burm. and *Citrus meyerii* Y. Tan.). *Agriculture and Forestry*. 61(2): 243-250.
- Dodd, I. C., Belimov, A.A., Sobeih, W.Y., Safronova, V.I., Grierson, D. and Davies, W.J. (2004). Will modifying plant ethylene status improve plant productivity in water-limited environments? Proceedings of the 4th International Crop Science Congress,

- Brisbane, Australia, 26 September–1 October 2004.
- Dominguez, N., Daniel, M., Ana, D.L.C., José, A. and Saiz, D.O. (2013).** Effects of *Pseudomonas fluorescens* on the water parameters of mycorrhizal and nonmycorrhizal seedlings of *Pinus halepensis*. *Agronomy Journal*. 3: 571-582.
- German, M.A., Burdman, S., Yaacov, O. and Kigel, J. (2000).** Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. *Biology and Fertility of Soils*. 32 (3): 259–264.
- Glick, B.R. (1995).** The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 41 (2): 109-117.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davis, F.T. and Genere, R.L. (1997).** *Plant Propagation: Principles and Practices*. (6th ed.). Prentice Hall Intl. INC, USA.
- Heinonsalo, J., Frey-Klett, P., Pierrat, J.C., Churin, J.L., Vairelles, J. and Garbaye, J. (2004).** Fate, tree growth effect and potential impact on soil microbial communities of mycorrhizal and bacterial inoculation in a forest plantation. *Soil Biology and Biochemistry*. 36 (2): 211–216.
- Henry, S., Texier, S., Hallet, S., Bru, D., Dambreville, C., Chêneby, D., Bizouard, F., Germon, J.C. and Philippot, L. (2008).** Disentangling the rhizosphere effect on nitrate reducers and denitrifiers: insight into the role of root exudates. *Environmental Microbiology*. 10 (11): 3082–3092.
- Hervas, A.B., Canosa, I. and Santero, E. (2008).** Transcriptome analysis of *Pseudomonas putida* in response to nitrogen availability. *Journal of Bacteriology*. 190 (1): 416-420.
- Jaleel, C.A., Manivavannan, P., Sankar, B., Krishnakumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Pannarselvam, R. (2007).** *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloid and Surface B Biointerfaces*. 60 (1): 7-11.
- Jull, L.G., Warren, S.L. and Blazich, F.A. (1994).** Rooting yoshinocryptomeria stem cutting as influenced by growth stage, branch order IBA treatment. *Scientia Horticulturae*. 29 (12): 1532-1535.
- Karlidag, H., Esitken, A., Turan, M. and Sahin, F. (2007).** Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient elements contents of apple. *Scientia Horticulturae*. 114 (1): 16-20.
- Karthikeyan, B.N., Abdul Jaleel, C.A., Azooz, M.M. (2009).** Individual and combined effects of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* on biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus*. *Academic Journal of Plant Sciences*. 2 (2): 69-73.
- Karthikeyan, B.N., Joe, M.M., Abdul Jaleel, C., and Aram, M.D. (2010).** Effect of root inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on plant growth, alkaloid content and nutrient control of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Natura Croatica*. 19 (1): 205-212.
- Kasim, N.E. and Rayya, A. (2009).** Effect of different collection times and some treatments on rooting and chemical interterminal constituents of bitter almond hard wood cutting. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 5 (2): 116-122.
- Lee, O., Lee, B. and Lee, J. (2009).** Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource of Technology*. 100 (23): 6107-6113.
- Mayak, S., Tirosh, T. and Glick, B.R. (2004).** Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and pepper. *Plant Science*. 166 (2): 525-530.
- Puri, S. and Verma, R.C. (1996).** Vegetative propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. Using softwood and hardwood stem cuttings. *Journal of Arid Environment* 34(2): 235-245.
- Rahdari, P., Mahna, M. and Asadi, M. (2011).** Effect of zinc sulfate on NAA and IBA hormones on the rooting of *Arlia* spp. and its environmental effects. *Chalous Natural Resources Science and Technology Journal*. 5 (1): 95-103.
- Ramezani, M., Talae, A., Eghdami, M.T. and Bonyadi, I. (2006).** Study of effected factors on rooting on semi-hardwood cuttings of difficult rooting olive cultivars (*Olea europaea* L.). *Pajouhesh & Sazandegi*. 66: 74-81.
- Shaharoon, B., Naveed, M., Arshad, M. and Zahir, A. (2008).** Fertilizer-dependent efficiency of Pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 79(1): 147-155.
- Shahhoseini, R., Moghadam, M., Kiani, D. and Mansouri, R. (2015).** Effect of different concentrations of IBA and NAA on root-

- ing of semi-hardwood cuttings of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 31 (4): 574- 586.
- Singh, K.K., Choudhary, T. and Kumar, A. (2014).** Effect of various concentrations of IBA and NAA on the rooting of stem cuttings of mulberry (*Morus alba* L.) under mist house condition in Garhwal hill region. Indian Journal of Hill Farm. 27 (1): 74-77.
- Vassiliev, N., Vassilev, A.M., Fenice, M. and Fedrrice, F. (2001).** Immobilized cell technology applied in solubilization of insoluble inorganic rock phosphates and P plant acquisition. Bioresource of Technology. 79: 263- 271.
- Vessey, J.K. (2003).** Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255 (2): 571- 586.
- Wendling, I. and Xavier, A. (2005).** Indolbutiric acid and serial minicutting technique on rooting and vigor of *Eucalyptus grandis* clone minicuttings. Revista Árvore. 29 (6): 921-930.
- Zahir, Z.A., Munir, A., Asghar, H.N., Arshad, M. and Shaharoon, B. (2008).** Effectiveness of rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. Journal of Microbiology and Biotechnology. 18(5): 982-987.