نشریه زراعت
شماره ۹۲، پاییز ۱۳۹۰
(پژوهش و سازندگی)

ارزیابی توان تولید هورمون های اکسینی (IAA) توسط سـویه های ریزوبیومی بومی خاک های ایران و اثرات کاربرد سـویه های برتر بر شاخص های رشد گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) وهدرروی کودهای شیمیایی

• **حسن اعتصامی** (نویسنده مسئول)
دانشجوی دکتری مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران
• **حسینعلی علیخانی**
عضو هیا ت علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۸
تلفن تماس نویسنده مسئول:۰۹۱۳۳۹۵۷۱۹۱
Email: salic_etesam@yahoo.com

چکیده

اکنون کاملاً محقق شـده اسـت که می توان در بین سـویه های بیشـمار از هرگونه ریزوبیومی، سـویه هایی را یافت که علاوه بر کارآیی بالا در تثبیت N۲ ، توان انجام فرایندهای مؤثر در تحریک رشـد گیاه مانند تعدیل هورمون های رشـد گیاه را نیز داشـته باشـند. به همین دلیل این پژوهش با هدف بررسـی توان تولید اکسـین ها که از توانایی های منتسب به گروه PGPR می باشد در سویه های ریزوبیومی بومی خاک های ایران و ارزیابی اثرات کاربرد مایه تلقیح سویه های برتر، بر عملکرد گیاه گندم برنامه ریزی و در مرحله ی گلخانه ای به اجرا درآمده است. نتایج حاصل نشان می دهند که باکتری های ریزوبیومی بومی خاک های ایران توان تولید اکسـین های ایندولی را دارند. نتایج آزمون گلخانه ای بر روی گیاه گندم نیز نشـان داد که اثرات باکتری های ریزوبیومی بر روی پارامترهای اندازه گیری شده معنی دار(P<۰/۰۱) بوده است. بنابراین مهمترین مکانیسم تحریک توسط سویه‌های ریزوبیومی، تولیـد فیتوهورمـون ایندولی (IAA) می‌باشـد که نتیجه آن رشـد بهتر ریشـه، به دنبـال آن افزایش جـذب آب و عناصر غذایی (P ، K و N) توسط گیاه و افزایش رشد می‌باشد که این می تواند باعث کاهش هدروی کودهای شیمیایی شود.

کلمات کلیدی: ریزوبیا، PGPR ، هورمون های اکسینی (IAA)، تریپتوفان و نقره، گندم (*Triticum aestivum* L.)

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 92 pp: 53-62

Evaluation of plant growth hormones production (auxins) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth indexes and the loss of chemical fertilizers

By: Hassan Etesami, PhD Student in Soil Science, Tehran University, (Corresponding Author; Tel: +989133957191)
Hossein A. Alikhani, Faculty Member of Tehran University

Proving of rhizobia's other abilities in spite of Nitrogen fixation ability and considering these bacteria as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) researching tasks in this field have incerased. Now, it's completely proved that we can find such strins among many more strains of each rhizobial group that can also do effective process in plant growth promoting as plant growth hormones production, in addition of their ability in N_2 fixation. Such strains can be useful not only for their special host, but also for other plants and strategic products as grains. Soi biotechnology, which follows producation potential of biofertilizers too, which leads improving quality of agricultural products and soil fertility level and life sources contamination preventing, is depend on the use of rhizobia as a good substitute for chemical fertilizers. Several researches were performed about Iranian rhizobia since a decade ago in N_2 fixation. Application effect of IAA super strains inoculants on growth index of wheat plant yield was evaluated. The results were indicated that indigenous rhizobia have the potential of Indole auxins production (IAA). Results from the appication of superstrains (IAA $^{+++}$) inoculants in wheat plant showed that IAA $^{+++}$ strain had a significant increase in biological yields and N,P and K content. So, the most important stimulation mechanism by rhizobial strains, is production of indole acetic acid (IAA) which results the better root growth, so increase of water and micronurient (N, P and K) uptake by the plant and decrese of the loss of chemical fertilizers.

Keywords: Rhizobacteria, PGPR, Plant Growth Hormone (IAA), Wheat

مقدمه

باکتری هـای ریزوبیومی در زمـره بهترین ریزوباکتـری های محرک رشد گیاه (PGPR) بحسـاب می‌آیند. این باکتری ها می‌توانند با استفاده از روش‌هـای مختلف موجب افزایش رشـد و عملکرد گیاهان شـوند (۵). بطـور مثال برخی از سـویه‌های PGPR قادرند از طریق دخالت در غلظت فیتوهورمون های شـناخته شـده، رشـد و نمـو گیاهـان را افزایش دهند (۵، ۲۱). در میان هورمون های گیاهی، اکسین‌ها و اتیلن نقش بسیار مهمی در توسعه سیستم ریشه و نهایتاً در عملکرد گیاهان به عهده دارند(۱۹).

در بیـن فیتوهورمون ها، اکسـین اولین هورمونی اسـت که در سـال ۱۸۸۰ توسط Darvin تشخیص داده شده است. نام این هورمون از ریشه لاتین Auxein به معنی فزاینده مشتق شده است. طویل شدن سلول‌های گیاهی، نورگرایی، زمین گرایی، ریشه‌زایی و طویل شدن ریشه‌ها، و بالاخره تحریک تولید اتیلن و بدنبال آن تکامل و رسیدگی میوه‌ها از اثرات شناخته شـده هورمون اکسین در گیاهان به حسـاب می‌آیند. ایندول ـ۳ـ استیک اسید (IAA) متداول‌ترین اکسین طبیعی است که تمامی رفتارهای تعریف شـده برای اکسین‌ها را از خود نشـان می‌دهد و اثرات بسیار گسترده‌ای بر فیزیولوژی گیاهان دارد.

مـاده ال – تریپتوفان[1] از نظر فیزیولوژیک، ماده‌ی پیش نیاز بیوسـنتز اکسـین‌ها در گیاهان آلی و میکروارگانیسـم‌ها به حسـاب می‌آید(۲، ۱۰). ترشـحات ریشـه‌ای منبع اصلـی L–TRP درخاک به حسـاب می‌آیند. Kravchenko و همکاران (۱۹۹۴) غلظت L–TRP موجود در ترشحات ریشـه غـلات مورد آزمایش را در حـدود ۸/۳ تا ۳۹۰ نانوگـرم به ازای هر گیاهک در هر روز اندازه‌گیری و گزارش نموده‌اند (۱۰).

گزارشـات متعدد نشـان می‌دهند که اکسین‌های میکربی که ناشی از مصرف L–TRP موجود در منطقه ریزوسـفر می‌باشند، نقش بسیار مهمی در رشـد و توسـعه سیستم ریشـه‌ای گیاه و عملکرد محصول ایفا می‌کنند (۱۰، ۱۴، ۲۰) از جملـه Sarwar و Franken berger (۱۹۹۴) در یک مطالعه گلخانه‌ای تأثیر ماده L–TRP در مقایسـه با ایندول -۳- اسـتیک اسـید (IAA) را بر روی رشـد گیاه ذرت بررسـی نمودنـد. نتایج حاصل نشـان داد که غلظت کم ($۲/۵\times۱۰^{-۳}$ میلی‌گـرم در هرکیلوگرم خاک) ماده L-TRP موجب افزایش معنی‌دار شـاخص‌های رشـد گردیده ولی سطوح بالای غلظت ($mg\ kg^{-1}$) ۲۵ (این ماده، کاهش رشد گیاه را به همراه داشته اسـت. گزارشـات متعددی درخصوص توان تولید فیتوهورمون ها توسـط باکتـری هـای PGPR دی ازوتـروف، از جملـه باکتـری هـای جنـس ازتوباکتر(۱۵)، ازوسپریلوم (۲۱) و نیز باکتری های ریـزوبیومی(۱۱) وجود دارد. در برخی از موارد مشاهده شده است که حتی در سطوح و مقادیر کافی کودهای نیتروژنی، تلقیح گیاهان با باکتری های دی ازوتروف موجب افزایش رشـد و نمو گیاهان شده اسـت که در این صورت قطعاً وجود مکانیزم‌های دیگـری جز تثبیت نیتروژن، از جمله تولید مواد تنظیم گر رشـد، PGPs، (همچون IAA) علت افزایش رشد گیاه بوده است(۱). بسیاری از گونه‌های ریزوبیومـی توانایی تولید IAA از خود نشـان داده‌اند و برخی از مطالعات نشـان می‌دهند که هورمون اکسین نقش کلیدی در گره‌زایی گیاهان لگوم و بطـور کلی برقراری همزیسـتی این گیاهان بـا ریزوبیوم‌ها بر عهده دارد. همچنین ثابت شـده است که فلاونوئیدهای محرک ژن‌های گره‌زایی، تولید هورمون IAA توسط ریزوبیوم‌ها را نیز تشدید می‌کنند(۱۳). افزایش غلظت IAA در منطقه ریزوسـفری نیز افزایش رشـد و توسـعه سیستم ریشه‌ای گیـاه را به دنبال دارد. این عمل به نوبه خود فزونی ترشـحات ریشـه‌ای و از جمله سـیگنال هـای (IAA) و نهایتاً بصورت یک دور یا حلقه تشـدید

شـونده، تولید مقادیر بیشـتر IAA و افزایش رشـد و عملکرد محصول را موجـب می‌گردد (۴، ۱۱، ۲۱). بنابراین یکی از مهمترین راه هایی که این باکتـری ها بر رشـد و نمو گیاه اثر می گذارند از طریق سـنتزفیتوهورمون ایندولی (IAA) می‌باشـد که این هورمون باعث توسـعه سیستم ریشه ای گیـاه و بدنبـال آن افزایش جذب عناصر غذایی توسـط گیاه می‌گردد. این باکتری ها غالباً جهت تولید اکسـین از اسـید آمینـه تریپتوفان به عنوان پیش نیاز اسـتفاده می‌کنند (۱۲،۲). این مـاده می‌تواند در نتیجه فعالیت باکتری های مفید خاکزی به IAA تبدیل شـود. IAA سنتز شده توسط باکتری ها علاوه بر رشـد ریشـه در برخی از موارد از طریق تحریک آنزیم ACC سـنتاز و افزایش سـنتز مـاده ACC کـه پیش نیاز اتیلن اسـت می‌تواند نتیجه عکس را به دنبال داشـته باشـد. اتیلن مازاد تولید شده که اصطلاحاً اتیلن تنشـی نامیده می‌شـود باعث کاهش دوره رویشی و نهایتاً عملکـرد می‌گـردد(۵). لذا با این فرضیه که باکتری هـای ریزوبیومی مولد فیتوهورمون های ایندولی (IAA) از طریق رشـد طولی ریشـه ها و نهایتاً افزایش سیستم ریشه ای گیاه گندم بتوانند سطح تماس ریشه گیاه با خاک و در نهایت سطح جذب عناصر غذایی را به گونه ای افزایش دهند که از آنها به عنوان جایگزین کودهای شـیمیایی (در خاک های نسبتاً حاصلخیز) ویا حداقل مکمل کودهای شیمیایی (در خاک های نسبتاً فقیر) استفاده نمود. بـه دلیل نقش پر اهمیت هورمون های گیاهی و عوامل تعدیل کننده اثرات آنها بر رشد گیاهان زراعی، این پژوهش بر اساس اهداف زیر برنامه ریزی و طی دو مرحله آزمایشگاهی و گلخانه ای به اجرا درآمده است:

۱- بررسـی توان ریزوبیوم های بومی خـاک های ایران به لحاظ تولید هورمون های اکسینی که در رشد و عملکرد گیاه دخالت دارند.

۲- ارزیابی اثرات کاربرد مایه تلقیح سـویه های برتر، بر شـاخص های گیاه گندم و هدرروی کود های شیمیایی

۳- بررسی اثر عوامل بازدارنده شیمیایی (Ag) در بیوسنتز اتیلن تنشی و نهایتاً تأثیر این عوامل بر روی شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه گندم بوده که امری کاملاً ضروری بنظر می رسید.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مایه تلقیح باکتری

در ایـن تحقیـق تعـداد ۱۰۰ جدایه باکتـری ریزوبیومـی متعلق به جنس‌هـای Mesorhizobium، Rhizobium، Bradyrhizobium Sinorhizobium، انتخاب و بررسـی های میکروسکوپی و بیوشیمیایی لازم بـرای شناسـایی و خالص سـازی، بر روی هریـک از جدایه ها انجام گرفـت. از مجمـوع ۱۰۰ جدایه باکتری مورد اسـتفاده در این تحقیق ۸۰ جدایـه باکتری متعلق به کلکسـیون آزمایشـگاه بیولوژی خاک دانشـکده کشـاورزی تهران می‌باشـد و ۲۰ جدایه دیگر از گره های ریشـه‌ای یونجه مزارع اطراف شهرسـتان کرج جداسازی و خالص سـازی شده است. برای انجام هرآزمون ابتدا مایه تلقیح کشـت تازه هر جدایه باکتری به روش زیر تهیه گردید: ارلن‌های شیشـه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری انتخاب و آماده شـدند. درون هر ظرف ارلن مقدار ۱۵ میلی لیتر محیط کشت YMB[1] ریخته شد و ارلن‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه درون اتوکلاو استریل شدند. پس از سرد شدن ارلن‌ها، محیط کشت مایع درون هر ظرف توسط یک لوپ از نمونه باکتری ریزوبیومی تلقیح گردید و کشت‌ها به مدت ۷۲ سـاعت (برای باکتری های تند رشـد) تا ۱۲۰ سـاعت (برای انواع کند رشد) در دمای حدود ۲۸ درجه سانتی گراد بر روی بهم‌زن دورانی با سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه هوادهی و خوابانده شدند.

پس از رشـد کافی باکتری درون محیط کشـت YMB، ابتدا دانسیته نوری، (OD) سوسپانسـیون های ریزوبیومی با استفاده از اسپکتروفتومتر (مـدل؛ Unico™ ۱۱۰۰،USA) در طـول مـوج ۵۷۰ نانـومتر قرائت و آنگاه با اسـتفاده از منحنی رشـد (OD-CFU) و براساس فاکتور رقت[3] و از طریق افزودن مقادیر لازم آب مقطر اسـتریل، جمعیت باکتری در تمامی سوسپانسـیون های ریزوبیومی در حد $۲/۴\times۱۰^{۹}$ cfu ml$^{-۱}$ تنظیم گردید. به این ترتیب امکان برداشـت و کاربرد تعداد یکسان سلول ریزوبیومی زنده برای انجام هر یک از آزمون های مورد نظر فراهم گردید(۱۹).

۲ـ آزمون نیمه کمی توان تولید IAA

سـنجش نیمه کمی توانایی تولید IAA توسـط سویه‌های ریزوبیومی براساس روش پیشنهادی Bric و همکاران (۱۹۹۱) انجام گردید(۵). در این روش از ظروف پتری ۹ سانتی‌متری یک بار مصرف استریل، استفاده شد. هر ظرف پتری با رسـم خطوط مناسب در زیر آن، به ۱۶ مربع کوچک به ابعاد حدود ۱/۷۵ ×۱/۷۵ سـانتی‌متر تقسـیم گردید. برای هر جدایه ریزوبیومی سـه تکرار (سه مربع) در نظر گرفته شـد و بدین ترتیب هر ظرف پتری به ۵ جدایه اختصاص یافت. درون هر ظرف پتری ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشـت اسـتریل شده LB[4] حاوی ۵ mM ماده ال ـ تریپتوفان (L-TRP) ریخته شد. آنگاه سطح هر مربع در قسمت مرکزی آن با یک حلقه از مایه تلقیح هر جدایه (دارای جمعیت یکسان شده ($۲/۴\times۱۰^{۹}$ cfu ml$^{-۱}$) مایه‌زنی گردید. سـپس یک برگ غشاء نیتروسلولز بر روی محیط کشت مایه زنی شده LB قرار داده شـد. ظـروف پتری به صورت واژگـون درون انکوباتور ۲۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴ـ۲ روز خوابانده شدند. زمانی که قطر کلنی‌های ظاهر شده بر روی LB به حدود ۲ میلی لیتر رسید، سنجش تولید IAA توسط جدایه‌ها، به شـرح زیر انجام گرفت (۵). برگ های غشای نیتروسلولزی که در بردارنده کلنی‌های رشـد یافته (حدود ۲ میلی‌متری) ریزوبیومی بودند، درون ظروف پتری تمیز دیگری حاوی یک برگ کاغذ صافی واتمن شـماره ۲، اشباع شـده توسـط مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول معرف Slkowski تیمار شدند. پس از طی مدت ۰/۵ تا ۲ ساعت اطراف کلنی‌های ریزوبیومی که توان تولید IAA را داشـتند هاله قرمز رنگی تشکیل می‌شد که رنگ و اندازه این هاله‌ها بسـته به مقدار IAA تولید شده توسط جدایه‌ها، متفاوت بودند.بطور کلی سویه های مورد آزمایش از نظرتوان تولید هورمون IAA در گروه هایی به شرح زیر قرار داده شدند. قطر هاله (HD) و قطر کلنی (CD) در سـویه هایی که در گروه ۳ قرار داشـتند اندازه گیری و متوسط نسبت قطر هاله به قطر کلنی HD/CD برای هر جدایه محاسـبه و مبنای درجه‌بندی نیمـه کمی تـوان تولید IAA قرار گرفت. جدول ۱ سـطوح مختلف توان تولیـد IAA و حالت کلنی های باکتری را نشـان می دهد. از محلول های اسـتاندارد IAA در غلظت‌های متفـاوتnM) ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱،۲،۴، ۸) برای سهولت تشخیص نوع و شدت رنگ هاله‌های قرمز استفاده شـد. برای این منظور با قرار دادن ۵۰ µl[1] از هر محلول اسـتاندارد) ۰/۱تا ۸ nM ، در دو تکرار) بر روی یک برگ غشـای نیتروسـلولز، دایره‌ای مرطوب به قطر تقریبی ۲ میلی لیتر تشکیل می‌شد که تقریباً معادل قطر کلنی‌های

جدول ۱- سطوح مختلف توان تولید IAA و حالت کلنی های باکتری

سطوح مختلف توان تولید IAA	حالت کلنی های باکتری
۰	باکتری های ریزوبیومی قادر به رشد بر روی محیط کشت LB نبود. (فاقد کلنی)
۱	باکتری های ریزوبیومی قادر به رشد بر روی محیط کشت LB بودند. ولی توان تولید IAA نداشتند. (رنگ کلنی ها سفید)
۲	رنگ کلنی ها درنتیجه تولید IAA صورتی بود ولی هاله ایی اطراف کلنی ها تشکیل نشد. (کلنی های صورتی رنگ)
۳	توان تولید IAA به اندازه ای بود که هاله صورتی اطراف کلنی ها تشکیل می شد. (کلنی های دارای هاله های صورتی)

ریزوبیومی بود. برگ های نیتروسلولزی لکه‌گذاری شده با محلول های استاندارد IAA با معرف Salkowski تیمار گردید و سپس قطر هاله قرمز تشکیل شده در اطراف هر لکه اندازه گیری شد.

آزمون گلخانه ای

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون تعیین توان تولید کیفی IAA و آزمون درون شیشه ای ارزیابی اثرات کاربرد سویه های ریزوبیومی برتر مولد IAA بر روی شاخص های رشد گیاه گندم در این تحقیق تعداد ۵ جدایه باکتری ریزوبیومی متعلق به جنس‌های Bradyrhizobium, Sinorhizobium، Mesorhizobium، Rhizobium با توان های مختلف تولیدIAA انتخاب و در این آزمون به عنوان تیمارهای ریزوبیومی PGPR مورد استفاده قرار گرفتند. جدول ۲ مشخصات باکتری های مورد استفاده در این تحقیق را نشان می دهد.

آماده سازی و جوانه دار کردن بذرهای گندم

بذور سالم و یکنواخت گندم پیشتاز به مقدار کافی و بصورت دستی جدا گردیدند. جهت ضدعفونی سطحی بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در اتانل ۹۵ درصد و سپس به مدت ۳ دقیقه در محلول کلرور جیوه (۰/۲ درصد) قرار داده شدند. جهت رفع اثرات سمی کلرید جیوه، بذرهای ضدعفونی شده حداقل ۸ بار با آب مقطر استریل شستشو و به منظور جوانه زنی در ظروف پتری حاوی (آب مقطر و محلول ۱۰ و ۱۰۰ میکرولیتر سولفات نقره (Ag_2SO_4) به فاصله کافی از هم، توزیع و درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. هنگامی که طول همه ریشه‌چه ها به ۰/۵ سانتی متر رسید در شرایط استریل، گیاهک ها برای انتقال به درون گلدان های مورد استفاده انتقال داده شدند.

انتخاب خاک

به دلیل اینکه در این مرحله نیاز به خاکی با جمعیت بسیار کم باکتری و درصد کم NPK بود، از یک خاک فقیر از اراضی اطراف کرج که چندین سال به صورت آیش باقی مانده بود اقدام به نمونه برداری شد. نمونه های تهیه شده در کیسه های نایلونی ریخته و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه خاک پس از هوا خشک شدن از الک ۴ میلی متری عبور داده شد و سپس بطور یکنواخت مخلوط گردید. از مخلوط یکنواخت شده مجدداً یک نمونه خاک انتخاب و از نظر برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی معمول مورد آزمایش قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک ها از روش های متداول در آزمایشگاه خاکشناسی استفاده گردید(۸).

آماده کردن گلدان ها

در این آزمون از گلدان های پلاستیکی به ارتفاع ۳۰ با قطر دهانه ۲۵ سانتی متر استفاده شده است. گلدان ها پس از شستشو با مایع ظرفشویی با محلول ۲ درصد هیپوکلریت سدیم بمدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی و سپس بخوبی آبکشی شدند. وزن هر گلدان خالی ۵۰ گرم بود. پس از گذاشتن زهکش در ته گلدان ها و ریختن ۲۰۰ مخلوط شن ۲ میلی لیتر و پرلیت A۰ به هر گلدان دقیقاً ۳۰۰۰ گرم خاک الک شده (با الک ۴ میلی لیتر) اضافه شد.

کاشت گیاه گندم و مایه زنی آن

گندم بهاره رقم پیشتاز در این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. از سویه‌های برتر انتخاب شده در محیط Y.M.B مایه تلقیح تهیه گردید. بذرهای گندم با روشی که قبلاً شرح داده شد ضدعفونی سطحی و جوانه دار (با نقره و بدون نقره) شدند. در هر گلدان تعداد ۵ گیاهک در عمق ۲ سانتیمتر خاک با فواصل مساوی کاشته شد و هر گیاهک با یک میلی لیتر از مایه تلقیح (۷۲ تا ۱۲۰ساعته) که از نظر غلظت (تعداد باکتری در هر میلی لیتر) با استفاده از روش مک فارلند یکنواخت شده بودند تلقیح گردید. بعد از بیرون آمدن گیاهک از خاک، تعداد نشاهای گندم در هر گلدان به ۳ عدد کاهش داده شد. سپس تریپتوفان به مقدار ۱/ گرم به ازای هرکیلوگرم خاک در آب مقطر حل و به هر گیاهک اضافه شد. گلدان ها در اتاق رشد با شدت نور ۱۰۰۰۰ لوکس و دمای حداکثر ۲۸-۲۷ و دمای حداقل ۱۹-۱۸ درجه سانتی گراد با دوره ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی به مدت ۳ ماه نگهداری شدند. تمامی گلدان ها روزانه و به صورت وزنی با آب مقطر آبیاری شدند. مقدار نیتروژن بکار رفته در تمامی گلدان ها (از جمله گلدان های کنترل مثبت) معادل ۲۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار بود که طی سه نوبت (زمان کاشت، پایان ماه های اول و دوم پس از کشت) بصورت محلول همراه آب آبیاری به خاک گلدان ها افزوده گردید. برای تأمین نیاز پتاسیم و فسفر گیاهان، معادل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم و سوپرفسفات مصرف شد. این مقدار کود پتاسیمی و فسفر طی دو نوبت (زمان کاشت و پایان ماه اول) به همراه آب آبیاری به خاک گلدان ها اضافه گردید. همچنین در یک نوبت ۲۰۰ میلی لیتر

محلول غذایی هوگلند به خاک گلدان ها داده شد تا نیاز گیاهان گندم به عناصر کم مصرف تا حدودی مرتفع شود. پس از ۱۰۰ روز برداشت گیاهان آزمایش انجام شد. این آزمون با استفاده از آزمایش فاکتوریل به صورت بلوک های کاملاً تصادفی در چهار تکرار بر روی خاک غیراستریل با بافت لوم شنی و PH تقریباً خنثی و میزان پایین نیتروژن، فسفر و پتاسیم قابل جذب انجام گرفت.

تیمارهای آزمایش شامل:

۱- پنج سطح سویه های ریزوبیومی (R۱، R۲، R۳، R۴ وR۵) + یک شاهد فاقد باکتری

۲- سه سطح نقره (Ag۱۰۰ µM، Ag۱۰ µM و Ag۰)

۳- دو سطح ال-تریپتوفان (۰/۱ g/kg) = (L۱) و (L۰)

اثر تیمارهای مختلف بر شاخص های مهم گیاهی شامل طول ساقه، وزن ریشه، وزن ساقه، وزن سنبله، تعداد سنبله اندازه‌گیری و ثبت شد بعلاوه اندام های هوایی گیاه مورد تجزیه های شیمیایی قرار گرفته و غلظت P، N و K در بخش هوایی گیاه بطور جداگانه اندازه‌گیری شد(۸).

نتایج و بحث

آزمون نیمه کمی توان تولید هورمون IAA

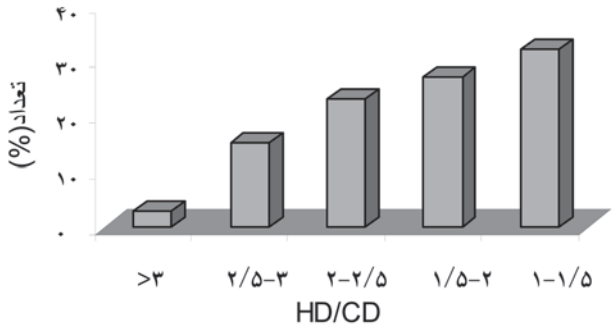
نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که باکتری های ریزوبیومی بومی خاک های ایران توانایی تولید هورمون اکسین (IAA) را دارند. بعلاوه اینکه این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و نیز در سویه‌های متعلق به هر گونه، یکسان نیست. در آزمون کیفی از نظر توان تولید IAA سویه‌های مختلف ریزوبیومی به ۵ گروه با توان‌های مختلف (گروه ۱ توان تولید خیلی بالا (HD/CD >۳)، گروه ۲ توان تولید بالا (HD/CD ۳-۲/۵)، گروه ۳ توان تولید متوسط (HD/CD ۲/۵-۲)، گروه ۴ توان تولید پایین (HD/CD ۲-۱/۵) و گروه ۵ توان تولید خیلی کم (HD/CD ۱/۵-۱) تقسیم بندی شده اند شکل ۱ درصد باکتری های ریزوبیومی در گروه های مختلف در این گروه بندی در این روش را نشان می‌دهد.

بطوری که مشاهده می‌شود ۳ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید خیلی بالا، ۱۵ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید بالا، ۲۳ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید متوسط، ۲۷ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید پایین و ۳۲ درصد از سویه‌ها در گروه با توان تولید خیلی پایین قرار گر فته اند. تمام سویه‌های مختلف ریزوبیومی آزمون شده در این تحقیق توان رشد بر روی محیط کشت جامد LB-TRP را داشته اند. بعلاوه اینکه توان تولید IAA در بین سویه‌های ریزوبیومی IAA یکسان نیست. بطوری که مقدار عددی نسبت قطر هاله به کلنی اندازه‌گیری شده در سویه‌های متعلق به گروه های مختلف ریزوبیومی بسیار متفاوت است. نتایج تجزیه واریانس (ANOVA) نسبت قطر هاله به کلنی (HD/CD) در سویه‌های ریزوبیومی استفاده شده در آزمون توان تولید IAA در جدول ۳ منعکس می‌باشد.

بر اساس جدول مذکور تفاوت کاملاً معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) از نظر توان تولید IAA در بین گروه های مختلف ریزوبیومی وجود دارد. همچنین جدول ۴ مقایسه میانگین توان تولید IAA (نسبت HD/CD) در بین گروه های مختلف ریزوبیومی که بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده را نشان می‌دهد.

نتیجه مقایسه میانگین کیفی داده‌ها نشان می‌دهد که گروه های ریزوبیومی Rlp و Rlv بدون اختلاف معنی‌دار میزان IAA بیشتری نسبت به مابقی گروه های مورد آزمایش (Mc، Sm و Bsp) تولید کرده‌اند. بین گروه های دسته دوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد هر چند با سویه های گروه اول، Rlp و Rlv تفاوت معنی داری دارند. نسبت قطر هاله به کلنی در بین سویه‌های مختلف درون گروه های (Mc، Sm، Rlv، Rlp و Bsp) نیز مورد تجزیه های آماری قرار گرفت. جدول ۵ تجزیه واریانس نسبت قطر هاله به کلنی و مقدار IAA تولیدی در بین سویه‌های، Sm، Rlv، Rlp، Mc و Bsp را نشان می‌دهد.

بر این اساس تفاوت کاملاً معنی‌داری در سطح ۱ درصد در بین سویه‌های مختلف درون هر ۵ گروه ریزوبیومی از نظر توان تولید هورمون IAA وجود دارد. نتایج حاصل از این آزمون نشان می‌دهد که باکتری های ریزوبیومی‌توانایی تولید هورمون اکسین IAA را دارند. بعلاوه اینکه این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و در سویه‌های متعلق به هرگونه یکسان نیست. همان طور که در نمودارها و جداول مقایسه میانگین‌ها آزمون دیده می‌شود سویه‌های ریزوبیومی مربوط به گروه Rlp دارای بیشترین مقدار HD/CD می‌باشند و بدنبال آن گروه های Bsp ، Sm، Rlv و Mc در مقام های بعدی بوده اند. گزارشات متعددی درخصوص توان تولید فیتوهورمون ها توسط باکتری های PGPR دی ازوتروف، از جمله باکتری های جنس ازتوباکتر (۱۲)، ازوسپریلوم (۱۱) و نیز باکتری های ریزوبیومی (۱۰) وجود دارد. بر این اساس می بایست فوق برتر مولد هورمون را در بین گروه های ریزوبیومی Rlv، Rlp و سپس Sm Mc ، و Bsp جستجو نمود. با توجه به اینکه ال-تریپتوفان پیش نیاز تولید اکسین در گیاهان و ریزموجودات می‌باشد و از آنجایی که مقدار (۵ nM) L-TPR بکار رفته در محیط LB (جامد) برای همه سویه‌ها یکسان بوده است ولی مقدار IAA در سویه‌ها متفاوت است. نتیجه دیگر حاصل از این دو آزمون این است که تولید اکسین به خصوصیات فنوتیپی ریزموجودات (۴،۳) به رشد باکتری، فعالیت متابولیکی، بیان ژنی که مسئول کد کردن آنزیم درگیر در بیوسنتز IAA است و ثابت سنتتیکی ریزموجودات تا محیط کشت باکتری بستگی دارد. Tien و همکاران (۱۹۷۹) مقدار IAA تولید شده توسط باکتری ها را تابعی از گونه و سویه باکتری و همچنین نوع محیط کشت مورد استفاده و شرایط کشت باکتری گزارش کردند. اضافه کردن مقدار مناسبی از L-TRP به محیط تا حدی می‌تواند باعث تولید



شکل ۱- درصد سویه‌های ریزوبیومی در گروه های مختلف از نظر توان تولید IAA در روش کیفی

جدول۲ - تجزیه واریانس میزان IAA تولید شده بر اساس شاخص (نسبت قطر هاله به کلنی) بر روی محیط کشت جامد LB-TRP توسط سویه های ریزیوبیومی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات **	
گروه های ریزوبیومی	۴		۱۵/۰۱**
گروه (باکتری)	۹۵		۰/۲۷۰**
خطا	۲۰۰		۰/۰۰۱

** معنی داری در سطح ۱ درصد

جدول۳- مقایسه میانگین تولید IAA بر روی محیط کشت جامدLB-TRP روش کیفی درون ظروف پتری توسط برخی از سویه های ریزوبیومی بومی کشور به روش آزمون چند دامنه ای دانکن(۵ درصد) مقایسه میانگین ها در آزمون کیفی

گروه	تعداد	میانگین	Duncan grouping
Rlp	۴۵	۷۱/۲	A
Rlv	۵۱	۴۲/۲	A
Sm	۱۷۷	۶۵/۱	B
Mc	۹	۵۰/۱	B
Bsp	۱۸	۳۸/۱	B

اکسین گردد که بعد از آن مقدار مناسب تأثیری در تولید اکسین ندارد و سرعت تشکیل اکسین را پایین می‌آورد و یا زیادی بیش از اندازه موجب تحریک و تولید اتیلن تنشی گرد. (۴). محیط LB با مقدار L-TRP آن محیطی مناسب برای تولید اکسین برای سویه‌های ریزوبیومی آزمون شده در این تحقیق بود (۳). با کاهش مقدار TRP، تولید اکسین نیز کاهش پیدا می‌کند (۲) و افزودن TRP به محیط نیز تولید اکسین را چندین برابر افزایش می‌دهد (۸). Tien و همکاران (۱۹۷۹) نشان دادند که کاهش غلظت TRP از ۱۰۰ µg/ml به ۱ µg/mlµ باعث کاهش تولید اکسین در سویه‌ها گردید. و نیز گزارش کردند بیوسنتز اکسین در بعضی از ازتوباکترها با کاهش مقدار TRP در محیط باکتری باعث کاهش کارائی تبدیل TRP به اکسین می‌گردد که یکی از دلایل این کاهش به علت تغییر مسیر بیوسنتز اکسین می‌باشد (۱۳). همچنین مطالعات دیگر نشان داده است که تولید اکسین توسط باکتری ها وقتی که L-TRP به محیط اضافه گردید از ۲/۴۲ به ۲۴/۶ µg/ml افزایش یافته است که این مقدار افزایش در تولید اکسین در سویه‌های مختلف فرق می کرد که در توافق با نتایج اکثر محققین می‌باشد. گزارشات متعددی نشان داده‌اند که شرایط محیطی همچنین غلظت باکتری های تولیدکننده IAA نیز می‌توانند بر مقدار تولید اکسین تأثیر داشته باشند (۶،۵،۴).

آزمون گلخانه ای

جدول ۶ مقایسه میانگین ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن

جدول ۴- تجزیه واریانس نسبت قطر هاله به کلنی در بین سویه‌های Rlp ، Rlv ، Mc ، Sm و Bsp

منابع تغییرات (SOV)	درجه آزادی (DF)	میانگین مربعات (MS)
Rlp گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۱۴	۰/۱۸۲**
خطا	۳۰	۰/۰۰۳
Cv=۲/۰۳		
Rlv گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۱۶	۰/۱۲۵**
خطا	۳۴	۰/۰۰۲
Cv=۲/۴		
Sm گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۵۸	۰/۳۴۶**
خطا	۱۱۸	۰/۰۰۱
Cv=۱/۳۱		
Bsp گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۲	۰/۰۰۳**
خطا	۶	۰/۰۰۱
Cv=۵۴/		
Mc گروه ریزوبیومی		
سویه های ریزوبیومی	۵	۰/۲۰۴**
خطا	۱۲	۰/۰۰۱
Cv=۱/۱۶		

سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P، N و K در گیاه در اثرات متقابل تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی محرک رشد گیاه و سطوح نقره به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح ۵ درصد) را نشان می‌دهد. بر این اساس، کاربرد توام سویه های ریزوبیومی و نقره نسبت به کاربرد سویه های ریزوبیومی بدون نقره و یا شاهد (Ag.R.) سبب افزایش در ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P ، N و K در گیاه گردیده است که در برخی موارد معنی دار ودر برخی موارد دیگر معنی دار نبوده است.که نشان می دهد نقره

توانســته است اثرات اتیلن تنشی را کاهش دهد. جدول ۷ مقایسه میانگین ارتفاع بوته، وزن ســاقه، وزن ریشــه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقــدار کل جــذب P، N و K در گیاه در اثرات متقابل تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی محرک رشد گیاه و سطوح تریپتوفان به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در ســطح ۵ درصد) را نشــان می‌دهد. بر این اساس، کاربرد توام ســویه های ریزوبیومی و تریپتوفان نسبت به کاربرد سویه های ریزوبیومی بدون تریپتوفان و یا شــاهد (L۰R۰) سبب افزایش معنی داری در ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P ، N و K در گیاه گردیده اســت. که نشــان می دهد تریپتوفان توانســته است باعث تولید اکسین ودر نتیجه افزایش رشد بیشتر شــاخص های رشــد گیاه گردد. جدول شماره ۸ مقایســه ارتفاع بوته، وزن ســاقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P ، N و K در گیــاه در اثــرات متقابل ســطوح نقــره و تریپتوفان به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در ســطح ۵ درصد) را نشــان می‌دهد. بر این اســاس، کاربرد توام نقره و تریپتوفان نســبت به کاربرد تریپتوفان و نقره به تنهایی و شاهد (Ag۰L۰) سبب افزایش معنی داری در شاخص های رشد گیاه گردیده است. همچنین حداکثر ارتفاع بوته، وزن ساقه، وزن ریشه، وزن سنبله، طول سنبله، تعداد سنبله و مقدار کل جذب P، N و K در گیاه در تیمار ســویه‌های ریزوبیومی با توان تولید توان تولیدخیلی بالا، تولید بالا، و به دنبال آن توان تولید متوسط مشاهده گردید. بطوری که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف دیده می‌شود.نتایج حاصل از این آزمون نشان می‌دهد که تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی و سطح‌های مختلــف نقــره و تریپتوفان موجب افزایش شــاخص‌های رشــد گیاه گندم شــده اند. همچنین نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارها بر روی شــاخص‌های مهم گیاه گندم و نتایج حاصل از مقایســه میانگین سطح‌های مختلف نقره و تریپتوفان نشــان می‌دهد که نقره توانسته کنترل کننده اثرات سوء اتیلن تنشــی باشــد. تیمارهای ریزوبیومی با توان تولید بالا و خیلی بالا بیشترین اثر بر شــاخص‌های رشد را داشته اند و بدنبال آن تیمارهای با توان متوسط اثرات تحریک کننده ای متوســط تا بالایی بر شــاخص‌های رشد داشته اند. بطوری که مشاهده می‌شود (جدول ۸) ۱۰۰ µM نقره توانسته است اثرات اتیلنی تنشــی تولید شــده را در این آزمون کاهش دهد. همانطور که گفته شــد مقدار زیاد اکســین موجب سنتز ACC ســنتاز می شود که از طریق افزایش سنتز ACC تولید اتیلن افزایش پیدا می‌کند (۵،۱۱،۱۷). بعضی از نتایج حاصل از آزمون درون شیشه‌ای نشان می داد که مقدار Mµ ۱۰ نقره نتوانسته است اثرات اتیلن تنشی را کاهش دهد ولی در این آزمون توانسته است اثرات اتیلن تنشی را تا حدودی کاهش دهد. باید گفته شود که تولید اتیلن در شــرایط محیطی مختلف متفاوت اســت. تولید اتیلن در شرایطی مانند تاریکی، دمای نســبتاً بالا ۲۸ درجه ســانتی گــراد و فضای محدودتر و حالــت غرقابی افزایش پیدا می‌کند. این شــرایط تقریبــاً در آزمون درون شیشه‌ای وجود داشته است(۳). بنابراین احتمال می‌رود که در آزمون درون شیشــه‌ای اتیلن بیشــتری با این شرایط تولید شــده باشد و Mµ ۱۰ نقره نتوانســته باشــد اثرات اتیلن را کاهش دهد. گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد توانایی بیوســنتز اکسین نیز به سطوح حاصلخیزی عناصر غذائی و مقدار مواد آلی خاک بستگی دارد(۱۸،۱۶). نتایج بدست آمده از این آزمون نشان می‌دهد که تیمارهای مختلف سویه‌های ریزوبیومی با سطح‌های نقره و L-TRP باعث افزایش طول ســاقه (۱۰ درصد)،وزن ســاقه (۳۴ درصد)، وزن ریشــه (۳۷ درصد)، طول سنبله (۲۰ درصد)، وزن سنبله (۳۹ درصد)، مقدار جذب N (۵۰ درصد)، مقدار جذب P (۵۱ درصد) و مقدار جذب K (۵۲ درصد) گردیده‌اند. همچنین نقره هم توانســته است شاخص‌های رشد را تا ۴-۱۹درصد افزایش دهد.

نتایج کلی

• باکتری های ریزوبیومی بومی خاک های ایران توانایی تولید هورمون اکســین (IAA) را دارند. بعلاوه اینکه این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و نیز در سویه‌های متعلق به هر گونه، یکسان نیست.

• مهمترین مکانیســم تحریک توســط ســویه‌های ریزوبیومــی، تولید فیتوهورمــون ایندولی (IAA) می‌باشــد که نتیجه آن رشــد بهتر ریشــه، بدنبــال آن افزایــش جذب آب و عناصر غذایی (P، K و N) توســط گیاه و افزایش رشد می‌باشد که این نتیجه باعث کاهش هدروری کودهای شمیایی می شود (۶،۱۰).

• تولید اکســین توسط PGPR (سویه‌های ریزوبیومی) می‌تواند اثرات تحریک کنندگی و یا بازدارندگی بر رشــد گیاه داشــته باشد که بستگی به غلظت IAA تولیدی دارد (۶).

• زیادی اکســین می‌تواند اثر بازدارندگی بر شاخص‌های رشد مخصوصاً ریشه داشته باشد(۱۱).

• تولید اکسین با تغییر شرایط محیطی فرق می‌کند(۸).

• IAA به تنهایی ممکن اســت موجب کاهش عملکرد شود(۹) نقره و بازدارنده‌های شیمیایی مشابه اگر به مقدار مناسب استفاده شوند می‌توانند تا حدی از تولید اتیلن تنشی جلوگیری کنند (۳).

و در آخر اینکه اثر باکتری های ریزوبیومی محرک رشد گیاه (PGPR) بومــی برخی خــاک های ایران بــر روی گیــاه غیرلگوم گنــدم در صفات اندازه‌گیری شده مثبت و مفید می‌باشد.

جدول ۲- مشخصات باکتری های انتخاب شده در گروه های مختلف از نظر تولید IAA

class I (توان تولیدخیلی بالا)		class II (توان تولید بالا)		class III (توان تولید متوسط)	
HD/CD >۳		HD/CD =۲/۵-۳		HD/CD =۲/۵-۲	
cod bac		cod bac		cod bac	
R۱	۲۹۷Rlp	R۲	۲۸۴Rlp	R۴	۳۳۶Rlv
		R۳	۲۵۴Rlp	R۵	۴۹۴Rlv

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل سویه های مختلف ریزوبیومی و سطوح نقره با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵ درصد)

نقره × سویه های ریزوبیومی		وزن ساقه (gr)	وزن ریشه (gr)	طول ساقه (cm)	وزن سنبله (gr)	طول سنبله (cm)	تعداد سنبله	مقدار کل N در گیاه ٪	مقدار کل P در گیاه ٪	مقدار کل K در گیاه ٪
Ag۱۰۰	R۱	۱/۶۶ A	۱/۰۸ A	۶۴/۴۵ A	۰/۵۶A	۷/۴۱ A	۳ A	۴/۰۷ A	۰/۳۲۷ A	۵/۶۰ A
	R۲	۱/۶۵ A	۱/۰۷ A	۶۳/۵۴ A	۰/۵۵AB	۷/۲۳ A	۳ A	۴/۰۲ A	۰/۳۲۵ A	۵/۵۴A
	R۳	۱/۶۵ A	۱/۰۷ A	۶۳/۵۳ A	۰/۵۵ AB	۷/۲ A	۳ A	۴/۰۰۴ A	۰/۳۲۳ A	۵/۵۲A
	R۴	۱/۴۸ AB	۰/۹۴ B	۶۲/۳۴ A	۰/۵۱ BC	۶/۹ B	۲ B	۳/۴۱۹ B	۰/۲۷۵ B	۴/۷۷ B
	R۵	۱/۴۷ AB	۰ /۹۴ B	۶۱/۲۵ B	۰/۵BCD	۷/۸ B	۲ B	۳/۳۷۱ B	۰/۲۷۲ BC	۴/۷۲ B
	R۰	۱/۰۸ DE	۰/۶۷ C	۵۸F	۰/۳۴ HIJ	۵/۹ GHI	۱ C	۲/۰۸ FG	۰/۱۵ H	۳/۰۷ E
Ag۱۰	R۱	۱/۴۷ AB	۰/۹۱ B	۶۱/۲۱ B	۰/۴۹CD	۷/۸ B	۲ B	۳/۳۶ B	۰/۲۷۱BC	۴/۷۲ B
	R۲	۱/۴ BC	۰/۹۰ B	۶۱/۲ B	۰/۴۵ DE	۶/۶ C	۲ B	۳/۱۳ B	۰/۲۴۴ CD	۴/۴۵ B
	R۳	۱/۴ BC	۰/۹۰ B	۶۰/۶۲ B	۰/۴۵ DEF	۶/۵ CD	۲ B	۳/۱۳ B	۰/۲۳۷ DE	۴/۳۹ B
	R۴	۱/۳ BCD	۰/۸۸ B	۶۰/۶۱ B	۰/۴۲ EFG	۶/۳ DE	۲ B	۲/۷۲ C	۰/۲۱۲ EF	۳/۸۶ C
	R۵	۱/۲۹ BCD	۰/۸۷ B	۶۰/۳۹ B	۰/۴۲ EFG	۶/۳ E	۲ B	۲/۷۱ C	۰/۲۱۱ EF	۳/۸۶ C
	R۰	۱/۰۷ DE	۰/۶۶ C	۵۷/۸۶ F	۰/۳۴ IJ	۵/۹ HI	۲ B	۲/۰۳ G	۱۴۷ HI	۳/۰۷ E
Ag۰	R۱	۱/۱۹ CDE	۰/۸۷ B	۶۰/۱۶ C	۰/۴ FGH	۶/۲ EF	۲ B	۲/۵۱ CD	۱۸۵/ FG	۳/۵۸ CD
	R۲	۱/۱۸ CDE	۰/۷۴ C	۵۹/۹ C	۰/۳۹ GHI	۶/۲ EF	۲B	۲/۸ CD	۱۸۲/ FG	۳/۵۶ CD
	R۳	۱/۱۸ CDE	۰/۷۳ C	۵۹/۸۹ C	۰/۳۹ GHI	۶/۱ EFG	۲B	۲/۴۵ CDE	۰/۱۸۱ FG	۳/۵۱ CD
	R۴	۱/۱۵ DE	۰/۷۳ C	۵۸/۹۲ E	۰/۳۸GHI	۶/۱ EFGH	۲ B	۲/۳۴ DEF	۰/۱۷۳GH	۳/۳۶ DE
	R۵	۱/۱۴ DE	۶۷/۶۷ C	۵۸/۸۸ E	۰/۳۵ HIJ	۵/۹ FGHI	۲ B	۲/۱۶ EFG	۰/۱۶ GH	۳/۰۷ E
	R۰	۰/۹۸ E	۰/۵۶ D	۵۷/۳۱ F	۰/۳ J	۵/۷ I	۱C	۱/۶۷ H	۰/۱۱۹ I	۲/۵۰ F

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل سویه های مختلف ریزوبیومی و سطوح تریپتوفان با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵ درصد)

نقره × سویه های ریزوبیومی		وزن ساقه(gr)	وزن ریشه(gr)	طول ساقه(cm)	وزن سنبله(gr)	طول سنبله (cm)	تعداد سنبله	مقدار کل N در گیاه ٪	مقدار کل P در گیاه ٪	مقدار کل K در گیاه ٪
L۱	R۱	۱/۶۶ A	۱/۰۷ A	۶۴/۶۵A	۰/۵۶ A	۷/۴A	۳ A	۴/۰۸ A	۰/۳۳۱A	۵/۶۰ A
	R۲	۱/۶۵ A	۱/۰۷ A	۶۲/۳۶AB	۰/۵۵۵A	۷/۱ AB	۳ A	۳/۹۸A	۰/۳۱۹ A	۵/۶ A
	R۳	۱/۴۸ AB	۰/۹۴۸ B	۶۲/۳۳ AB	۰/۵۱۶B	۶/۹ BC	A۳	۳/۴۲ B	۰/۲۷۶ B	۴/۷۸ B
	R۴	۱/۴۸ AB	۰/۹۴ B	۶۱/۵۶ BC	۰/۴۹۸B	۶/۸ C	۳ A	۳/۳۹ B	۰/۲۶۹ B	۴/۷۸ B
	R۵	۱/۴۷ AB	۰/۹۱۳ B	۶۰/۷۵ BCD	۰/۴۹۸ B	۶/۷ C	۲B	۳/۳۷ B	۰/۲۶۹ B	۴/۶۹ B
	R۰	۱/۱۱ D	۰/۶۶ D	۵۸/۵۵ DE	۰/۳۵۳E	۵/۹ FG	۱C	۲/۱۴۳ E	۰/۱۵۸ D	۳/۰۷ E
L۰	R۱	۱/۳۵ BC	۰/۹۰۵ B	۶۰/۷ BCD	۰/۴۴۷ C	۵/۴ D	۲B	۲/۹۲ C	۰/۲۳۱ C	۴/۱۲ C
	R۲	۱/۱۸ CD	۰/۹۰۳ B	۶۰/۵۳ BCD	۰/۴۰۴ D	۶/۲ DE	۲B	۲/۴۹ D	۰/۱۸۵ D	۳/۶۱ D
	R۳	۱/۱۸ CD	۰/۷۸۸ C	۵۹/۵۵ CDE	۰/۳۹۲ D	۶/۱ EF	۲B	۲/۴۶ D	۰/۱۸۱ D	۳/۴۹ DE
	R۴	۱/۱۵ CD	۰/۷۲۳ CD	۵۹/۳۸ CDE	۰/۳۷۱ E	۶/۱ EF	۲B	۲/۳۲ DE	۰/۱۷۰ D	۳/۳۵ DE
	R۵	۱/۱۳ CD	۰/۶۷۵ D	۵۸/۶۸ DE	۰/۳۶۲ E	۶ EF	۲B	۲/۱۹۷ DE	۰/۱۶۲ D	۳/۲۶ DE
	R۰	/۹۸ D	۰/۵۶۹ E	۵۷/۰۴ E	۰/۳۰۶ F	۵/۷ G	۱C	۱/۶۶ F	۰/۱۱۶ E	۲/۵ F

جدول ۸- مقایسه میانگِن اثرات متقابل سطوح مختلف تریپتوفان و نقره با استفاده از آزمون با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (۵ درصد)

نقره × سویه های ریزوبیومی		وزن ساقه(gr)	وزن ریشه(gr)	طول ساقه(cm)	تعداد سنبله	طول سنبله(cm)	وزن سنبله(gr)	مقدار کل N در گیاه ٪	مقدار کل P در گیاه ٪	مقدار کل K در گیاه ٪
L۱	Ag۱۰۰	۱/۴۳ A	۰/۹۹۶A	۶۱/۷ A	A ۳	۷/۲ A	۰/۴۸۹ A	۳/۴۸۴ A	۰/۲۶۹ A	۴/۶۲۲ A
	Ag۱۰	۱/۴۳ A	۰/۹۱۲B	۶۱/۲۲ B	B ۲	۶/۹B	۰/۴۶۲ B	۳/۲۳۸B	۰/۲۶۸ A	۴/۴۰۲B
	Ag۰	۱/۲۲C	۰/۷۶D	۵۹/۶۵D	B ۱	۶/۴ C	۰/۴۱۱ E	۲/۲۵۵E	۰/۱۱۹D	۳/۲۸۸E
L۰	Ag۱۰۰	۰/۲۸B	۰/۸۲۷C	۶۰/۶۹C	B ۲	۶/۲ C	۰/۴۳۲C	۲//۶۹C	۰/۲۳۸ B	۳/۸۱۱C
	Ag۱۰	۱/۲۸ B	۰/۸۲۷C	۶۰/۳۷C	C۲	۶/۱ C	۰/۴۱۹D	۲/۴۸۸ D	۰/۲۱۳C	۳/۶۰۷ D
	Ag۰	۱/۱ D	۰/۶۸E	۵۹/۴۱ D	C۱	۵/۲ D	۰/۴۱۱ E	۱/۵۳ F	۰/۱۱۹ D	۲/۹۸۲ F

پاورقی ها

1- L-Tryptophan
2- Yeast extract Mannitol Broth (YMB)
3- Luria - Bertani
4- Dilution Factor

منابع مورد استفاده

1- Arshad M, Frankenberger WT Jr (1998) Plant growth substances in the rhizosphere: microbial production and functions. *Adv Agron* 62: 46-151.

2- Asghar, H. N., Zahir, Z. A. and Arshad, M. (2004) Screening rhizobacteria for improving the growth, yield, and oil content of canola (*Brassica nappus* L.) *Australian Journal of Agricultural Research*. 55: 187-194.

3- BelimOv, A. A., Satronova, V. I., lergeyera, T. A., Egorova, T. N., matvegeva, V. A., Stepnok, V. V., Tsyganov, V. E., ... and Tikhonovich, I. A. (2001) Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can. J. Microbiol.* 47: 642-652.

4- Biswas, J.C., Ladha, J.K. and Dazzo. F. B (2000) Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Science society of America Journal*. 64: 1644-1650.

5- Bric, J. M., Bostok, R. M. and Silverston, S. A. (1991) Rapid in situ assay for indoleacetic production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrance. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(2): 535-538

6- Frankenberger, W. T. Chang, A. C. and Arshad, M. (1990) Response of *Raphanus sativa* to the auxin precursor, L-tryptophan applied to soil. *Pland and soil*. 129: 235-241.

7- Glick, B. R., Perose, D. M., and Li, J. (1998) A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J. Theor. Biol*. 190: 63-68.

8- Gupta, p.k. (2000) *Soil, plant, water and Fertilizer Analysis. Agrobios pub.*

9- Khalid A, Arshad M, Zahir ZA, Khaliq A. (1997) Potential of plant growth promoting rhizobacteria for enhancing wheat (*Triticum aestivum* L.) yield. *J Anim Plant Sci* 7: 53-56.

10- Kravchenko, L.V., Leonova, E.I., Tikhonovich, I.A. (1994) Effect of root exudates of non-legume plants on the response of auxin production by associated diazotrophs. Microb. *Releases*, 2:267-271.

11- Leinhos, V. (1994) Effects of pH and glucose on auxine production by phosphate-solubilizing rhizobacteria *in vitro*. Microbiological Research. 194: 135-138.

12- Mathesius, U. and Lugtenberg B.J.J. (1998) Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derives of chitin oligosaccharides. *Plant J*.14: 23-34.

13- Mayak , S., Tirosh , T. and Glick. B.R, (1999) Effect of wild-type and mutant plant growth- Promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *J. Plant Growth Regul.* 18: 49-53.

14- Neeru, N., Vivek, k., Rishi, k. and Wolfgancy, M. (2000) Effect of P-solubilizing Azotobacter chroococcum on N, P, K uptake in P-responsive genotypes grown under greenhouse condition. *J. Plant Nutr. Soil SCI.* 163: 393-398

15- Rost, T. L., Jones, T., and Robbins. J. A, (1986) The role of ethylene in the control of cell division in cultured pea root tips – a mechanism to explain the excision effect. *Protoplasma*, 130: 68-75

16- Riov, J. and Yang, S.F. (1989) Ethylene and auxin – ethylene interaction in adventitious root formation in mung bean (*Vigna radiata*) cuttings. *J. Plant Growth Regul*. 8: 131-141.

17- Sarwar, M. and Frankenberger, W. T. (1994) Influence of L-Tryptophan and auxins applied to the rhizosphere on the vegetative growth of *Zea mays L. Plant and Soil*.160: 97-104.

18- Tien, TM. Gaskins, MH. And Hubbell, DH. (1979) Plant growth substances produced by Azospirillum brasilence and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americamum* L.). *Appl Environ Microbiol*. 37: 1016-1024.

19- Torres-Rubio, M. G., Astrid, S., Castillo, J. and Martiners, P. (2000) Isolation of Enterobacteria, Azotobacter sp. And Pseudomonas sp., producers of indole-3-acetic acid and Siderophores, from colombian rice rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. 42: 171-176.

20- Xie, H., Pasternak, J.J. and Glick. B.R (1996) Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium Pseudomonas putida G.R. 12-2 that overproduce indoleacctic acid. *Curr. Microbiol* 32: 67-71.

21- Zimmer, W. and Bothe. H, (1988) The phytohormonal interactions between Azospirillum and wheat. *Plant and Soil*. 110: 239-247.