ارزیابی توان تولید اکسین توسط *سودوموناس های فلورسنت* و اثرات آنها در رشد گیاهچه های کلزا (*Brassica napus* L.)

پیمان عباس زاده دهجی،[۱]* هادی اسدی رحمانی، ناهید صالح راستین، کاظم خاوازی و علی اشرف سلطانی طولارود

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران؛ **abp_1114@yahoo.com**

استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب؛ **asadi_1999@yahoo.com**

دانشیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران

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

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه خاکشناسی دانشگاه تهران؛ **ali_soltani_t@yahoo.com**

چکیده

به منظور بررسی توان تولید اکسین توسط *سودوموناس‌های فلورسنت* و اثرات آنها در رشد گیاهچه‌های کلزا، آزمایش با ۴۰ سویه از این باکتری‌ها انجام شد. پانزده سویه جدا شده از ریزوسفر گندم و دو سویه خارجی GRP۳ و MPFM از کلکسیون مؤسسه تحقیقات خاک آب تهیه شدند. بیست و سه سویه نیز از ۲۰ نمونه خاک ریزوسفری کلزا که از مزارع منطقه کرج تهیه شده بودند، جداسازی شدند. سری‌های رقت تهیه شده از خاک بر روی محیط کشت King B کشت شده و باکتری‌های *سودوموناس فلورسنت* با استفاده از خاصیت پرتو افشانی کلونی‌ها در اثر تابش لامپ ماورای بنفش جداسازی و خالص سازی شدند و بر اساس آزمون‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد شناسایی واقع شدند. اندازه‌گیری میزان اکسین در دو محیط غنی TBS و حداقل DF حاوی غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان انجام شد. تأثیر سویه‌های مورد آزمایش در خصوصیات مختلف رشدی گیاهچه‌های کلزا در یک آزمایش گلخانه‌ای با استفاده از بستر شن انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش تریپتوفان سبب افزایش تولید اکسین گردید که این افزایش از سرعت بیشتری در محیط DF برخوردار بود. بیشترین مقدار تولید اکسین توسط سویه P۲۳ در غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر تریپتوفان در محیط DF انجام شد. نتایج آزمون گلخانه‌ای نشان داد که سویه‌های مورد استفاده بطور معنی‌داری سبب افزایش شاخص‌های رشدی کلزا شدند. بیشترین همبستگی بین میزان تولید اکسین و وزن خشک اندام هوایی در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر تریپتوفان در محیط DF حاصل گردید. یافته‌های این تحقیق نشان داد که تلقیح *سودوموناس‌های فلورسنت* تولید کننده اکسین نقش مهمی در افزایش رشد کلزا دارند.

واژه های کلیدی: ریزوباکتری های محرک رشد گیاه، *سودوموناس های فلورسنت*، اکسین، کلزا

مقدمه

ریزوسفر به لایه نازک خاک احاطه کننده ریشه که تحت تأثیر سیستم ریشه ای است گفته می‌شود. به علت وجود ترشحات‌آلی در این منطقه، تعداد باکتری‌ها ۱۰ تا۱۰۰ برابر بیشتر از خاک غیرریزوسفری است

۱- نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، دانشکده مهندسی آب و خاک، گروه مهندسی علوم خاک

* دریافت: ۸۶/۹/۲۵ و پذیرش: ۸۶/۶/۴

(Dobelaere و همکاران، ۲۰۰۳).

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) به گروه نامتجانسی از باکتری‌های ریزوسفری مفید اطلاق می‌شود که قادرند با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص رشد گیاه را افزایش دهند (Kloepper و همکاران، ۱۹۸۹). این باکتری‌ها شامل طیف متنوعی از باکتری‌های خاکزی از قبیل Azotobacter، Acetobacter، Azospirillum، Bacillus، Pseudomonas و Burkholderia می‌باشند (Elmerich، ۱۹۸۴؛ Kloepper و همکاران، ۱۹۸۸؛ Kloepper و همکاران، ۱۹۸۹؛ Bashan و Levanony، ۱۹۹۰؛ Tang، ۱۹۹۴). مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که *سودوموناس‌های فلورسنت* بخش مهمّی از جمعیت باکتری‌های ریزوسفری را تشکیل می‌دهند (Vlassak و همکاران، ۱۹۹۲؛ Benizri و همکاران، ۱۹۹۸). این باکتری‌ها می‌توانند بطور مستقیم یا غیرمستقیم موجب افزایش یا تحریک رشد گیاه شوند (Glick، ۱۹۹۵). تحریک غیرمستقیم رشد گیاه زمانی اتفاق می‌افتد که PGPR اثرات زیان‌آور یک یا تعدادی از عوامل بیمارگر گیاهی را تعدیل یا خنثی کند (Kloepper، ۲۰۰۳). تثبیت نیتروژن (Dobelaere و همکاران، ۲۰۰۳)، سنتز فیتوهورمون‌های تنظیم کننده رشد گیاه (Glick، ۱۹۹۵)، افزایش قابلیت فراهمی عناصر معدنی نامحلول مثل فسفر (Raju و Reddy، ۱۹۹۹) و سنتز آنزیم‌هایی که می‌توانند رشد گیاه را تنظیم کنند (Glick و همکاران، ۱۹۹۴؛ Penrose و Glick، ۲۰۰۳) نیز از مکانیسم‌های مستقیم مورد استفاده توسط این باکتری‌ها محسوب می‌شود. تحریک مستقیم رشد توسط باکتری‌های PGPR اولین بار توسط Lifshitz و همکاران (۱۹۸۷) گزارش شد (Asghar و همکاران، ۲۰۰۲؛ Asghar و همکاران ۲۰۰۴).

هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در کنترل رشد و توسعه گیاه دارند (Sarwar و Frankenberger، ۱۹۹۴). اکسین از مهمترین تنظیم کننده‌های رشد گیاه است. ایندول استیک اسید (IAA) از مهمترین انواع اکسین است که تولید آن توسط باکتری‌های ریزوسفری به کرات گزارش شده است (Omay و همکاران، ۱۹۹۳؛ Fuentes-Ramirez و همکاران، ۱۹۹۳؛ Lambrecht و همکاران، ۲۰۰۰؛ Rubio و همکاران، ۲۰۰۰؛ Bent و همکاران، ۲۰۰۱؛ Asghar و همکاران، ۲۰۰۴؛ Ahmad و همکاران، ۲۰۰۵). تولید اکسین در ریزوسفر به دلیل وجود جمعیت بالای میکروبی و فراوانی سوبسترا در این ناحیه می باشد (Sarwar و همکاران، ۱۹۹۲؛ Sarwar و Frankenberger، ۱۹۹۴). گزارشی ۸۰ درصد از باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر گیاهان مختلف توانایی تولید IAA را داشتند (Dobelaere و همکاران، ۲۰۰۳). تولید غلظت‌های بالای اکسین توسط *سودوموناس‌های فلورسنت* یک خصوصیت کلی برای این باکتری‌ها است (Ahmad و همکاران، ۲۰۰۵). Almonacil و همکاران (۲۰۰۰) با مطالعه تولید اکسین توسط ۵۳ جدایه که مربوط به جنس‌های مختلف بودند، دریافتند که این جدایه‌ها قادرند به میزان ۱/۳ تا ۷ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کنند که کارآمدترین آنها جدایه *سودوموناس پوتیدا* بود (Asghar و همکاران، ۲۰۰۴).

محققین گوناگون نشان داده‌اند که تولید ایندول ۳- استیک اسید به وسیله میکروارگانیسم در حضور پیش ماده تریپتوفان صورت می‌گیرد (Frankenberger و Brunner، ۱۹۸۳؛ Omay و همکاران، ۱۹۹۳؛ Sarwar و همکاران، ۱۹۹۲). در گزارشات بسیاری آمده که افزودن تریپتوفان تولید اکسین را افزایش می‌دهد (Omay و همکاران، ۱۹۹۳؛ Sarwar و همکاران، ۱۹۹۲؛ Sarwar و Kremer، ۱۹۹۵؛ Bent و همکاران، ۲۰۰۱؛ Patten و Glick، ۲۰۰۲). توان تولید اکسین توسط *سودوموناس پوتیدا* سویه GR۱۲-۲ با افزایش تریپتوفان به محیط کشت باکتری افزایش یافت به طوری که در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان به ترتیب ۱۴/۵، ۲۲/۵، ۲۶/۲ و ۳۲/۷ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کرد (Patten و Glick، ۲۰۰۲). افزودن تریپتوفان به محیط نیم غنی TSB توانایی تولید اکسین را توسط باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه M۲۰ افزایش داد، به طوری که در غلظت‌های ۰/۱، ۲۵ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال ـ تریپتوفان به ترتیب ۷/۱، ۱۲ و ۹۶ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کرد (Bent و همکاران، ۲۰۰۱).

افزایش رشد ریشه یکی از مهمترین معیارهای اندازه‌گیری اثرات مفید باکتری‌های محرک رشد گیاه است. استقرار سریع ریشه‌ها چه از طریق افزایش طول ریشه‌های ابتدایی و چه با تکثیر ریشه‌های جانبی و نابه‌جا یک راه مناسب برای گیاهچه‌های جوان است که توانایی خود را برای استقرار در خاک و جذب مواد غذایی افزایش دهند (Patten و Glick، ۲۰۰۲). تولید IAA توسط باکتری‌های PGPR باعث طویل شدن و تکثیر سلول‌های گیاهی می شود (Patten و Glick، ۲۰۰۲؛ Kloepper، ۲۰۰۳). Bashan و de-Bashan (۲۰۰۴) گزارش کردند که تولید IAA توسط *آزوسپریلوم* می‌تواند عامل اصلی افزایش طول ریشه، تعداد تارهای کشنده، تعداد ریشه‌های فرعی و سطح ریشه باشد (Kloepper، ۲۰۰۳). ریشه‌های ابتدایی گیاهچه های کلزا که با باکتری *سودوموناس پوتیدا* سویه GR۱۲-۲ تیمار شده بودند، ۳۵ تا ۵۰٪ بلندتر از ریشه‌های

ابتدایی گیاهچه‌های تیمار نشده بودند (Patten و Glick، ۲۰۰۲). رشد ریشه‌های ابتدایی در غلظت‌های پایین اکسین بین 10^{-12} تا 10^{-9} مول افزایش می‌یابد و غلظت‌های بالاتر اکسین حالت بازدارندگی دارد Jean و همکاران (۲۰۰۳).

Dobbelaere و همکاران (۱۹۹۹) دو غلظت مختلف تریپتوفان (۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار) را با استفاده از کاغذ فیلتر به محیط اضافه کردند تا اثر غلظت‌های مختلف را روی توسعه ریشه گندم بررسی کنند. آنها نشان دادند که برای همه گیاهان، افزودن ۰/۰۱ میلی‌مولار تریپتوفان روی تارهای کشنده اثر می‌گذارد، در حالی که غلظت بالای تریپتوفان روی ریشه اثر ندارد.

تلقیح بذور گونه ای از کلزا *(Brassica Juncea)* با باکتری‌های مختلف ریزوسفری باعث افزایش ارتفاع گیاه (تا ۵۶/۵٪)، قطر ساقه (تا ۱۱٪)، تعداد شاخه (تا ۲۶/۷٪)، وزن هزاردانه (تا ۳۳/۹٪)، عملکرد دانه (تا ۴۵/۵٪) و میزان روغن (تا ۵/۶٪) نسبت به بذور تلقیح نشده گردید. همبستگی بالایی بین میزان اکسین تولید شده در شرایط آزمایشگاهی در حضور ال ـ تریپتوفان با عملکرد (r = ۰/۷۷**)، تعداد غلاف (r = ۰/۷۸**) و تعداد شاخه (r = ۰/۷۷**) مشاهده گردید (Asghar و همکاران، ۲۰۰۲). Asghar و همکاران (۲۰۰۴) همبستگی معنی‌داری بین میزان تولید اکسین در شرایط آزمایشگاهی توسط باکتری‌های ریزوسفری با تعداد شاخه (r = ۰/۷۰*) و میزان روغن کلزا (r = ۰/۶۳) در شرایط گلخانه‌ای مشاهده نمودند.

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی توان تولید اکسین توسط سویه‌های مختلف *سودوموناس فلورسنت* و بررسی همبستگی بین تولید اکسین توسط سویه‌ها در دو محیط TSB و DF و شاخص‌های رشد گیاه می‌باشد.

مواد و روش ها

جداسازی سویه‌های سودوموناس

به منظور جداسازی باکتری‌های *سودوموناس* از ریزوسفر کلزا، ۲۰ نمونه خاک ریزوسفری (بوته‌های کلزا با خاک اطراف) از مزارع منطقه کرج تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌ها قبل و بعد از انتقال به آزمایشگاه در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شده و بلافاصله مراحل جداسازی انجام گرفت. به این منظور ۱۰ گرم ریشه حاوی خاک ریزوسفری درون ارلن حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات (PSB) استریل منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شد. پس از تهیه رقت‌های ده‌تایی از نمونه، ۰/۱ میلی لیتر از رقت‌های 10^{-4}، 10^{-5}، 10^{-6} و 10^{-7} بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت King B منتقل گردید. پلیت‌ها پس از ۲۴ الی ۴۸ ساعت رشد در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد با استفاده از لامپ UV از نظر وجود کلونی‌های با خاصیت پرتوافشان (فلورسنس) ارزیابی گردیده و کلونی‌های مورد نظر جداسازی شدند. این ایزوله‌ها به منظور آزمایشات بعدی در اسلنت‌های آگار مغذی، اسلنت‌های King B و همچنین شیشه‌های حاوی آب مقطر استریل نگهداری شدند. به منظور انجام آزمون تولید اکسین علاوه بر ۲۳ سویه جدا شده از ریزوسفر کلزا، ۱۵ سویه جدا شده از ریزوسفر گندم و دو سویه خارجی GRP۳ و MPFM از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب نیز مورد آزمایش قرار گرفتند. سویه‌های جدا شده از ریزوسفر گندم عبارت بودند از R۱، R۳۰، R۴۱، R۶۹، R۱۱۲، R۱۴۳، R۱۵۰، R۱۶۸ که به گروه *سودوموناس پوتیدا* تعلق داشتند و R۲۶، R۳۶، R۹۳، R۹۹، R۱۷۳، R۱۸۷ که به گروه *سودوموناس فلورسنس* تعلق داشتند. GRP۳ و MPFM از گروه *سودوموناس ایروجینوزا* بودند. در مجموع ۴۰ سویه از سه گونه *سودوموناس* از نظر توان اکسین مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمون‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

آزمایش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به منظور شناسایی ایزوله‌های جداشده بر اساس روش‌های طبقه‌بندی شناسایی Bergey انجام گرفت و برای این منظور آزمون‌های واکنش گرم، بررسی شکل ظاهری باکتری، کاتالاز، اکسیداز، تحرک در محیط نیمه جامد، آزمون ذوب ژلاتین، رشد در دمای ۴۱ درجه سانتی گراد، آزمون هیدرولیز آرژینین، آزمون لوان، دنیتریفیکاسیون و استفاده از قندهای ترهالوز و ال- آرابینوز انجام گرفتند (Vlassak و همکاران، ۱۹۹۲؛ Bossis و همکاران، ۲۰۰۰).

اندازه گیری میزان تولید اکسین

۱ـ محیط DF

به منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB [1] (شامل ۲/۵ گرم در لیتر دکستروز، ۲/۵ گرم در لیتر دی-پتاسیم هیدروژن فسفات، ۵ گرم در لیتر کلرید سدیم، ۳ گرم در لیتر پپتون سویا و ۱۷ گرم در لیتر تریپتون) کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط DF [2] حاوی ۰، ۵۰، ۱۰۰، و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال- تریپتوفان منتقل گردید.

بعد از ۴۸ ساعت، سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با ۴ میلی‌لیتر

1- Tripticase soy broth

2- DF salt minimal medium

معرف سالکوسکی[1] (۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر $FeCl_3 6H_2o$ – ۰/۵ مولار) مخلوط گردید. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و بلافاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید (Patten و Glick، ۲۰۰۲). مقدار تولید اکسین با مقایسه این جذب با نمودار استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

۲ـ محیط TSB

به منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت (TSB) کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط TSB حاوی ۰، ۵۰، ۱۰۰، و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر ال- تریپتوفان منتقل گردید. بعد از ۴۸ ساعت سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با ۲ میلی‌لیتر معرف سالکوسکی مخلوط گردید. سپس به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و بلافاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید (Bent و همکاران، ۲۰۰۱). مقدار تولید اکسین با مقایسه این جذب با نمودار استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

آزمون گیاه

لوله هایی با قطر ۳ سانتیمتر و ارتفاع ۱۲ سانتیمتر انتخاب و در انتهای لوله کاغذ صافی قرار داده شد. سپس حدود ۱۲۰ گرم شن اسید شسته داخل لوله ها ریخته شد. ابتدا وانتهای لوله‌ها به وسیله فویل آلومینیمی بسته و توسط اتوکلاو استریل شدند. سپس بذرهای کلزا *(Brassica napus)* رقم Hyola ۴۰۱ ضد عفونی سطحی شدند. برای این منظور بذور به مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد قرار داده شدند و به دنبال آن با مقادیر زیادی آب مقطر استریل حدود ۱۰ مرتبه شستشوی مداوم انجام شد. سپس در شرایط استریل تعداد ۴ بذر در هر لوله کاشته شدند. پس از کشت بذور، مقدار ۵۰۰ میکرولیتر محیط کشت TSB حاوی باکتری مورد نظر (با جمعیت[7] ۱۰ ×۵ در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری) به هر بذر تلقیح شد. برا ی هر باکتری ۵ لوله در نظر گرفته شد که مجموعاً ۲۰۰ لوله برای ۴۰ باکتری تلقیح گردید. ۵ لوله نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای نمونه شاهد، ۵۰۰ میکرولیتر محیط مایع کشت باکتری (عاری از باکتری) به هر بذر اضافه شد. لوله‌ها به اتاقک رشد منتقل شدند. لوله‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۳۰ روز در اتاقک رشد نگهداری شدند. به تمام گیاهچه‌ها در روز پانزدهم ۵ میلی‌لیتر محلول غذایی به فرمول زیر داده شد. ترکیب محلول غذایی مورد استفاده عبارت بودند از: ۰/۲۵ میلی‌مولار KH_2PO_4 ، ۲ میلی-مولار $Ca(NO_2)_2$ ، ۱ میلی‌مولار $MgSO_4.7H_2O$ ، ۰/۸۸ میلی‌مولار K_2SO_4، ۰/۱ میلی‌مولار KCl، ۰/۵ میکرومولار $MnSO_4$، ۱ میکرومولار H_3BO_3، ۰/۲ میکرومولار $CuSO_4$، ۰/۲ میکرومولار $(NH_4)_6MO_7O_{24}$، ۱ میکرومولار $ZnSO_4$، ۱۰۰میکرومولار Fe-EDTA و pH ۶/۸ (Tolay و همکاران، ۲۰۰۱).

در انتهای روز سی‌ام گیاهچه‌ها برداشت شدند و شاخص‌های وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، طول اندام هوایی، طول ریشه و تعداد برگ اندازه‌گیری گردید. کلیه نتایج این مرحله با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و میانگین‌ها به روش دانکن گروه‌بندی و ضریب همبستگی (r) با نرم‌افزار SPSS محاسبه شدند.

نتایج و بحث

نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک

از کل ۲۰ نمونه خاک ریزوسفری ارقام کلزا در مناطق ذکر شده، ۲۳ جدایه منتسب به گروه *سودوموناس‌های فلورسنت* جداسازی گردید. جدایه‌های جدا شده در برابر اشعه UV خاصیت پرتوافشانی از خود نشان دادند و برای شناسایی آنها تا حد گونه مورد آزمایش‌های میکروسکوپی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی قرار گرفتند (جدول ۱). نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی نشان داد که ٪۴۸ سویه‌ها *سودوموناس پوتیدا*، ٪۳۵ *سودوموناس فلورسنس* و ٪۱۷ *سودوموناس فلورسنس‌پوتیدا* بودند. این نتایج نشان داد که سودوموناس پوتیدا درصد بالایی از *سودوموناس‌های فلورسنت* ریزوسفر کلزا را تشکیل می‌دهد. تحقیقات رسولی و همکاران (۱۳۸۴) نیز نشان داد که از ۲۰۱ سویه جدا شده از ریزسفر گندم بیشتر آنها (٪۵۳) *سودوموناس پوتیدا* بودند. Vlassak و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که از ۸۰ جدایه *سودوموناس فلورسنت* جدا شده از ریزوسفر برنج و ۷۶ درصد از ریزوسفر موز *سودوموناس پوتیدا* بودند.

توان تولید اکسین توسط باکتری ها

۱- آزمون تولید اکسین در محیط حداقل نمکی DF

جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که که اثرات سویه، غلظت‌های مختلف ال- تریپتوفان و اثر سویه × غلظت در سطح یک درصد معنی‌دار بود. میزان تولید اکسین توسط سویه‌های مختلف ال- تریپتوفان در محیط DF در جدول شماره ۵ گزارش شده است. میزان تولید اکسین در این محیط بین مقادیر ۰ تا ۶۳/۷۰ میلی‌گرم

1- Salkowski reagent

در لیتر متغیر بود که بیشترین مقدار اکسین توسط سویهP۲۳ در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان تولید شد. سویه‌های P۸، P۲۰، R۳۰، R۱۱۲ و R۱۵۹ توانستند درمحیط عاری از تریپتوفان مقدار کمی اکسین تولید کنند (جدول ۵). اندازه‌گیری توان تولید اکسین توسط *سودوموناس پوتیدا* سویه GR۱۲-۲ نشان داد که این سویه توانایی تولید مقدار کمی اکسین (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) در محیط DF عاری از تریپتوفان را دارد (Patten و Glick، ۲۰۰۲).

از آنجایی که حضور تریپتوفان برای تولید IAA ضروری می‌باشد (Frankenberger و Brunner، ۱۹۸۳؛ Omay و همکاران، ۱۹۹۳؛ Sarwar و همکاران، ۱۹۹۲) لذا اکسین تولید شده در سطح صفر DF را می‌توان به استفاده از تریپتوفان ناشی از مرگ سلول‌های باکتریایی ربط داد. Benizri و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند با وجود اینکه تریپتوفان در ترشحات ریشه‌ای ذرت وجود ندارد امّا باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه M.۳,۱ توانست اکسین تولید کند. این محققین تولید اکسین را به استفاده از تریپتوفان ناشی از مرگ سلول‌های باکتریایی ربط دادند. نتایج حاصل ازمقایسه میانگین اثر غلظتهای مختلف ال- تریپتوفان در تولید اکسین در محیط DF نشان داد که با افزایش تریپتوفان به این محیط توانایی تولید اکسین توسط سویه‌ها افزایش یافت (جدول ۴). تحقیقات Glick و Patten (۲۰۰۲) منجر به نتایج مشابهی شده است.

۲- آزمون تولید اکسین در محیط غنی TSB

جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات سویه، غلظت‌های مختلف ال- تریپتوفان و اثر سویه × غلظت در سطح یک درصد معنی‌دار بود. میزان تولید اکسین توسط سویه‌های مختلف در غلظت‌های مختلف تریپتوفان در محیط TSB در جدول ۴ گزارش شده است. میزان تولید اکسین در محیط TSB بین مقادیر ۰/۷۱ تا ۲۳/۱۰ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود که بیشترین مقدار توسط سویه P۲۳ در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر ال- تریپتوفان تولید شد. تعدادی از سویه‌ها (P۲۳، R۱۵۹، R۱۶۸، R۹۹ و P۸) توانستند غلظت‌های بالایی از اکسین را در سطح صفر ال- تریپتوفان تولید کنند (جدول ۵). تولید میزان زیاد اکسین توسط این سویه‌ها در غلظت صفر تریپتوفان را می‌توان به وجود مقادیر زیاد پپتون در محیط TSB ربط داد. Ahmad و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که ۱۱ جدایه *سودوموناس فلورسنت* قادر بودند که در محیط مایع نوترنیت بدون اضافه کردن تریپتوفان به میزان ۵/۳۴ تا ۲۲/۴ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کنند. تحقیقات Bent و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که *سودوموناس فلورسنس* سویه M۲۰ کشت شده در محیط نیم غنی TSB بدون اضافه‌کردن ال- تریپتوفان توانست ۵/۱ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کند. در محیط کشت حاوی پودر سویا به عنوان منبع تریپتوفان سه سویه *سودوموناس پوتیدا* توانستند به ترتیب ۲۱/۱۴،۲/۸ و ۲۸/۸ میلی‌گرم در لیتر IAA تولید کنند (Rubio و همکاران، ۲۰۰۰).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر غلظت های مختلف ال- تریپتوفان در تولید اکسین در محیط TSB نشان داد که با افزایش تریپتوفان، توانایی تولید اکسین توسط سویه‌ها افزایش یافت (جدول ۴). تحقیقات Bent و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که با اضافه کردن تریپتوفان به محیط نیم غنی TSB توانایی تولید اکسین توسط سویه *سودوموناس فلورسنس* سویه M۲۰ افزایش یافت. Ahmad و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که با اضافه کردن تریپتوفان به محیط غنی نوترینت براث (NB) توانایی تولید اکسین توسط ۱۱ جدایه *سودوموناس فلورسنت* افزایش یافت.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تریپتوفان در تولید اکسین به روش دانکن نشان داد که افزایش تریپتوفان در هر دو محیط غنی TSB و حداقل DF باعث افزایش تولید اکسین شد. مقایسه دو محیط نشان می‌دهد که اضافه کردن تریپتوفان به محیط حداقل DF باعث تولید اکسین با شدت بیشتری شده است. افزایش تریپتوفان به محیط حداقل DF متوسط میزان تولید اکسین را از ۰/۰۲۷ میلی‌گرم در لیتر در غلظت صفر تریپتوفان به ۹/۰۶۸ میلی‌گرم در لیتر در غلظت ۲۰۰ تریپتوفان افزایش داد، در صورتی که در محیط TSB متوسط میزان تولید اکسین از ۳/۰۴۲ میلی‌گرم در لیتر در غلظت صفر تریپتوفان به ۳/۶۹ میلی‌گرم در لیتر در غلظت ۲۰۰ تریپتوفان افزایش یافت (جدول ۴). به عبارت دیگر در محیط DF به ازای افزایش هر میلی‌گرم تریپتوفان، تولید اکسین ۰/۰۴۵ میلی گرم در لیتر افزایش یافت، در حالی که در محیط TSB این افزایش ۰/۰۰۳ میلی گرم در لیتر اکسین به ازای هر میلی‌گرم تریپتوفان بود. لذا در محیط DF، سرعت تولید اکسین ۱۵ برابر بیشتر از محیط TSB بود. نتایج حاصل نشان داد که سویه‌ها در محیط حداقل DF تمایل بیشتری برای تولید اکسین دارند. ایندول استیک اسید (IAA) به عنوان یک هورمون، عملی را در سلول‌های باکتریایی انجام نمی‌دهد (Patten و Glick، ۲۰۰۲) بلکه این هورمون با افزایش رشد گیاه و به تبع آن افزایش متابولیت‌های گیاهی شرایط را برای رشد خود بهتر می‌سازد (Patten و Glick، ۱۹۹۶). به نظر می‌رسد که وقتی باکتری‌ها در محیط حداقل مانند DF قرار می‌گیرد برای اینکه شرایط بهتری را

برای رشد خود فراهم سازند، بیشتر تریپتوفان را به اکسین تبدیل می‌کنند، در صورتیکه در محیط غنی TSB به علت وجود شرایط بهتر باکتری تمایل زیادی برای تولید اکسین از تریپتوفان ندارد.

نتایج آزمون رشد گیاهان در شرایط استریل

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که سویه‌ها تأثیر معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) بر تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده داشتند (جدول ۶). نتایج حاصل از کاربرد ۴۰ سویه مذکور در شرایط استریل نشان داد که کاربرد این سویه‌ها باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی (تا ٪۵۳/۷)، وزن خشک ریشه (تا ٪۴۷/۸)، طول ریشه (تا ٪۲۱/۶)، طول اندام هوایی (تا ۱۷/۷)، وزن تر اندام هوایی (تا ٪۵۲/۵)، وزن تر ریشه (تا ٪۵۶/۵)، نسبت اندام هوایی به ریشه در حالت خشک (تا ٪۲۰/۳) و نسبت اندام هوایی به ریشه در حالت تر (تا ٪۲۰/۳) شدند. نتایج حاصل از تحقیقات Asghar و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که کاربرد باکتری‌های ریزوسفری در شرایط استریل باعث افزایش طول ریشه (تا ٪۱۳۹)، طول اندام هوایی (تا ٪۷۸) و وزن اندام هوایی (تا٪۷۲) در گیاه کلزا شدند. اکثر سویه‌هایی که توانستند در سطح صفر میلی گرم در لیتر تریپتوفان در محیط DF اکسین تولید کنند (R۱۱۲، R۱۵۹، R۳۰، R۴۱، P۲۰ و P۸)، توانایی بیشتری را نسبت به سویه های دیگر در افزایش شاخص های رشد گیاهی از خود نشان دادند. نتایج حاصل از شاخص‌های رشد گیاه در جدول ۸ گزارش شده است.

نتایج حاصل از بررسی میزان همبستگی (r) بین میزان تولید اکسین در دو محیط TSB و DF و شاخص‌های رشد گیاه نشان داد که محیط DF دارای همبستگی بالاتری است. در محیط TSB، بالاترین همبستگی بین اکسین تولید شده و شاخص‌های رشد گیاه مربوط به اکسین تولید شده در غلظت ۲۰۰ تریپتوفان بود، در حالی در محیط DF بالاترین همبستگی‌ها مربوط به اکسین تولید شده در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ تریپتوفان بودند. نتایج تعیین ضریب همبستگی نشان داد که هیچ همبستگی معنی‌داری بین تولید اکسین در سطوح مختلف تریپتوفان در هر دو محیط و شاخص‌های طول اندام هوایی، طول ریشه، نسبت وزن تر اندام هوایی به ریشه و نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه وجود نداشت. وزن خشک اندام هوایی بالاترین میزان همبستگی را با تولید اکسین در سطوح مختلف تریپتوفان در دو محیط داشت. بالاترین میزان همبستگی مربوط به شاخص وزن خشک اندام هوایی و میزان اکسین تولید شده در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان در محیط DF بود. مقایسه میزان همبستگی بین میزان تولید اکسین در سطوح مختلف تریپتوفان و شاخص‌های وزن خشک و تر اندام هوایی، وزن خشک و تر ریشه نشان داد که وزن خشک در هر دو مورد ریشه و اندام هوایی نسبت به وزن تر همبستگی بالاتری داشت (جدول ۷).

با توجه به کشت گیاه در شرایط استریل و استفاده از محلول کامل عناصر غذایی در طول دوره رشد گیاه، می‌توان افزایش شاخص‌های رشد گیاه توسط سویه‌ها را تا حدی به تولید اکسین توسط این سویه‌ها ربط داد. نتایج حاصل از بررسی همبستگی بین تولید اکسین توسط سویه‌ها و شاخص‌های رشد گیاه نشان داد که محیط حداقل DF همبستگی بالاتری را نسبت به محیط غنی TSB دارد و بهتر می‌تواند اکسین تولید شده توسط باکتری‌ها در ریزوسفر و افزایش شاخص‌های گیاهی را توضیح دهد. بالاتر بودن ضریب همبستگی در محیط DF را می‌توان به نیاز باکتری از تولید اکسین ربط داد. همانطور که قبلاً ذکر شد یکی از دلایل تولید اکسین توسط باکتری توسعه سیستم ریشه‌ای به منظور استفاده بیشتر از متابولیت‌های گیاهی و بهتر کردن شرایط برای رشد خود می‌باشد (Patten و Glick، ۱۹۹۶). به همین دلیل وقتی باکتری در شرایط حداقل قرار می‌گیرد، نیاز بیشتری به تولید اکسین به منظور توسعه ریشه و استفاده از مواد غذایی دارد.

با توجه به نتایج بدست آمده از بررسی همبستگی بین اکسین تولید شده در دو محیط TSB و DF و شاخص‌های رشد گیاه می‌توان نتیجه گرفت که میزان اکسین تولید شده در محیط حداقل DF همبستگی بالاتری با شاخص‌های رشد گیاه دارد. در نتیجه استفاده از محیط های حداقل برای اندازه‌گیری میزان تولید اکسین مناسب‌تر می‌باشد.

جدول ۱- آزمون‌های بیوشیمیایی، میکروسکوپی و فیزیولوژیک برای شناسایی سویه‌های *سودوموناس* تا حد گونه (* نیازی به انجام آزمایش مربوطه نبود)

	کاتالاز	اکسیداز	تست تحرک	گرم	آرژنین دهیدرولاز	ذوب ژلاتین	لوان	دنیتریفیکاسیون	ل- آرابینوز	ترهالوز	دمای ۴۱	ایزوله
P۱	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۲	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۳	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۴	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۵	+	+	+	−	+	+	−	+	+	*	−	فلورسنس
P۶	+	+	+	−	+	+	−	−	+	*	−	فلورسنس
P۷	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۸	+	+	+	−	+	−	*	*	*	+	−	فلورسنس پوتیدا @
P۹	+	+	+	−	+	−	*	*	*	+	−	فلورسنس پوتیدا
P۱۰	+	+	+	−	+	−	*	*	*	+	−	فلورسنس پوتیدا
P۱۱	+	+	+	−	+	−	*	*	*	+	−	فلورسنس پوتیدا
P۱۲	+	+	+	−	+	+	+	+	+	*	−	فلورسنس
P۱۳	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۱۴	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۱۵	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۱۶	+	+	+	−	+	+	−	+	+	*	−	فلورسنس
P۱۷	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۱۸	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۱۹	+	+	+	−	+	−	*	*	*	−	−	پوتیدا
P۲۰	+	+	+	−	+	+	−	+	+	*	−	فلورسنس
P۲۱	+	+	+	−	+	+	+	+	+	*	−	فلورسنس
P۲۲	+	+	+	−	+	+	−	+	+	*	−	فلورسنس
P۲۳	+	+	+	−	+	+	−	−	+	*	−	فلورسنس

@- فلورسنس پوتیدا گونه‌ای حد واسط فلورسنس و پوتیدا می‌باشد (Vlassak و همکاران، ۱۹۹۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سویه‌ها وغلظت‌های مختلف ال- تریپتوفان بر تولید اکسین در محیط DF

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت تریپتوفان	۳	۱۸۰۰/۳۱۳**
سویه	۳۹	۲۰۵/۲۳۶**
غلظت × سویه	۱۱۷	۹۲/۶۵۸**
خطا	۳۲۰	۰/۰۵۸
	CV- ۱۰/۵	* * معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد

جدول۳- تجزیه واریانس اثر سویه‌ها وغلظت‌های مختلف ال- تریپتوفان بر تولید اکسین در محیط TSB

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت تریپتوفان	۳	۹/۸۱۹**
سویه	۳۹	۱۶۱/۲۲۸**
غلظت × سویه	۱۱۷	۰/۷۱۵**
خطا	۳۲۰	۰/۰۲۱۷
	CV- ۹/۶	* * معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد

جدول۴ – مقایسه میانگین متوسط تولید اکسین در غلظت‌های مختلف ال- تریپتوفان در دو محیط DF و TSB

میانگین تولیداکسین در محیط TSB (میلی گرم در لیتر)	میانگین تولیداکسین در محیط DF (میلی گرم در لیتر)	غلظت ال- تریپتوفان (میلی گرم در لیتر)
۳/۶۹۱ A*	۹/۰۶۸ A	۲۰۰
۳/۲۹۹ B	۴/۶۵۳ B	۱۰۰
۳/۱۳۹ C	۲/۲۳۵ C	۵۰
۳/۰۴۲ D	۰/۰۲۷۴ D	۰

*میانگین هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک می باشند، از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین میزان تولید اکسین توسط سویه‌های مختلف در سطوح مختلف ال-تریپتوفان در دو محیط TSB و DF

سویه	میزان تولید اکسین (میلی گرم در لیتر)							
	غلظت های مختلف تریپتوفان میلی گرم در لیتر (DF)				غلظت های مختلف تریپتوفان میلی گرم در لیتر (TSB)			
	۰	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۰	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
P۲۳	۰E	۱/۰۹U	۱۰/۴۵C	۶۳/۷A	۲۳/۱۰A	۲۰/۴۹A	۲۰/۷۶A	۲۱/۲۷A*
R۱۵۹	۰/۰۲۲A	۱۰/۱۷A	۲۵/۱۹A	۳۹/۷۱B	۸/۵۶C	۹/۳۱B	۹/۴۵B	۹/۶۶B
R۱۶۸	۰E	۱/۵۳NO	۱۱/۱۷B	۲۷/۹۵C	۶/۷۰D	۸/۲۲C	۷/۲۵D	۸/۵۳D
R۴۱	۰/۱۷B	۶/۴۵B	۸/۰۸E	۲۱D	۶/۷۰D	۶/۲۶D	۶/۴۸E	۷/۸۹E
P۸	۰/۱۴C	۵/۵۷C	۷/۵۲F	۱۸/۹۹E	۴/۱۸G	۴/۱۳F	۴/۲۰F	۴/۴۹H
R۱۱۲	۰/۱۸B	۵/۳۱D	۸/۴۲D	۱۴/۲۶F	۵/۷۴F	۵/۶۲E	۶/۵۱E	۶/۵۰G
R۳۰	۰/۱۳C	۴/۹۹E	۷/۰۹G	۱۴/۱F	۹/۲۵B	۹/۴۸B	۷/۸۷C	۹/۱۶C
R۹۹	۰E	۱/۹۱KL	۵/۲۳I	۱۳/۰۵G	۶/۲۲E	۶/۴۴D	۷/۲۵D	۷/۵۸F
R۱۷۳	۰E	۲/۰۶JK	۱۰/۵۰C	۱۲/۳H	۱/۸۵KLM	۲/۱۰JK	۲/۳۹J	۲/۲۵MN
P۶	۰/۰۹D	۳/۳۷F	۷/۱۲G	۸/۴۲I	۱/۶۵MNO	۱/۸۱LMN	۱/۷۵LMNO	۱/۹۶NO
P۵	۰E	۱/۶۶MN	۴/۸۶J	۸/۲۰I	۱/۰۷UV	۱/۰۷T	۱/۰۹RS	۱/۰۰TU
P۱۰	۰E	۱/۴۹OPQ	۵/۷۵H	۸/۱۹I	۱/۵۱NOPQ	۱/۹۲KLM	۱/۶۹LMNOP	۱/۷۰OPQ
P۱۸	۰E	۱/۴۹OPQ	۳/۷MN	۷/۲J	۱/۶۱MNOP	۱/۹۲KLM	۳/۱۱H	۳/۷۱IJ
P۱۶	۰E	۲/۸۰H	۴/۷۳J	۷/۱۷J	۱/۲۹QRSTU	۱/۴۶OPQR	۲/۶۸I	۳/۴۵J
P۲	۰E	۲/۴۱I	۳/۸۵LM	۶/۷۳J	۲/۴۹I	۲/۶۶GH	۳/۲۱GH	۳/۹۷I
P۱۴	۰E	۲/۹۲H	۳/۲۲O	۵/۸۸K	۲/۲۱J	۲/۷۸G	۳/۰۳H	۳/۹۷I
P۲۱	۰E	۲/۰۶JK	۲/۶۶PQR	۵/۶۴K	۱/۷۴MN	۱/۹۹KL	۲/۶۱IJ	۲/۷۷L
P۷	۰E	۲/۴I	۴/۰۶KL	۵/۸۶K	۱/۸۲LM	۲/۰۰KL	۲/۱۱K	۲/۳۶M
P۱۲	۰E	۰/۹۳V	۳/۵۶N	۵/۶۳K	۱/۴۴OPQR	۲/۳۶I	۲/۵۲IJ	۳/۱۶K
P۱۹	۰E	۱/۵۰OP	۲/۶۶PQR	۵/۶۵K	۱/۳۹OPQRS	۱/۴۱PQR	۱/۷۹LM	۱/۸۸OP
P۲۰	۰/۱۴C	۳/۱۰G	۴/۷۴J	۵/۴۸KL	۱/۱۱TUV	۱/۲۴RST	۱/۴۱PQ	۱/۵۴QR
P۱۱	۰E	۱/۲۵RST	۵/۲۴I	۵/۳۶KL	۲/۱۸J	۲/۳۱IJ	۳/۲۷GH	۳/۵۴J
P۱	۰E	۲/۱۱J	۲/۸۷PQ	۴/۷۳ML	۲/۱J	۲/۶۱GH	۳/۴۲G	۳/۶۸J
R۱۵۰	۰E	۱/۷۹LM	۴/۲۱K	۴/۷۲LM	۲/۵۳I	۱/۳۳QRS	۱/۰۵RS	۱/۸۷OP
P۱۵	۰E	۱/۴۷OPQ	۲/۷۴PQR	۴/۶۸LM	۱/۳۳QRSTU	۱/۵۴OPQ	۱/۵۸LMNOP	۱/۶۵PQR
P۲۲	۰E	۱/۲۲STU	۲/۳۱S	۴/۶۷LM	۱/۰۹UV	۱/۳۸PQR	۱/۴۵OPQ	۱/۵۰QR
P۳	۰E	۱/۷۸LM	۲/۸۹P	۴/۱۴MN	۱/۱۵STUV	۱/۵۶OPQ	۱/۷۱LMNOP	۱/۶۰PQR
P۱۷	۰E	۱/۳۴QRS	۲/۵۹R	۳/۷NO	۱/۳۷PQRST	۱/۴۸OPQR	۱/۴۷NOPQ	۱/۷۰OPQ
R۱	۰E	۱/۳۷PQR	۱/۷۹T	۳/۴۳NOP	۰/۹۴VW	۰/۸۴U	۰/۹۱S	۰/۸۶U
P۹	۰E	۲/۰۴JK	۲/۸۲PQR	۳/۱۱OP	۱/۵۲NOPQ	۱/۷۰MNO	۱/۶۸LMNOP	۲/۴۵M
R۱۴۳	۰E	۱/۲۲STU	۱/۷۷T	۲/۹۹OPQ	۱/۲۱RSTU	۱/۵۸NOP	۰/۸۷S	۱/۱۸ST
P۴	۰E	۱/۰۸U	۲/۶۰QR	۲/۸PQ	۲/۰۸JK	۲/۱۲JK	۲/۷۳I	۴/۷۳H
P۱۳	۰E	۱/۱۴TU	۱/۳۲U	۲/۲۶QR	۱/۴۱OPQRS	۱/۴۷OPQR	۱/۴۵OPQ	۱/۵۵QR
R۱۸۷	۰E	۱/۲۴RST	۱/۳۶U	۲/۲۵RS	۲/۲۴J	۱/۲۹RST	۱/۷۱LMNOP	۲/۲۲MN
R۹۳	۰E	۰/۶۲W	۱/۲۰U	۱/۸۵RS	۲/۰۲JKL	۱/۲۵RST	۱/۰۹RS	۱/۳۵RS
R۲۶	۰E	۱/۰۸U	۱/۶۲T	۱/۷۹RS	۰/۸۳W	۱/۱۲ST	۱/۲۷QR	۱/۵۵QR
R۶۹	۰E	۰/۹۱V	۱/۱۶U	۱/۷۱RS	۱/۱۲TUV	۱/۶NOP	۱/۷۹LM	۱/۴۴QRS
MPFM	۰E	۱/۲۱STU	۱/۲۷U	۱/۴۲ST	۲/۷۶H	۲/۵۰HI	۱/۸۸KL	۲/۱۹MN
GRP3	۰E	۰/۵۹W	۰/۸۱V	۱/۰۷ST	۱/۳۳QRSTU	۱/۴۲OPQ	۱/۵۳MNOPQ	۱/۴۰QRS
R۳۶	۰E	۰/۶۱W	۰/۸۴V	۰/۹۱T	۰/۷۱W	۱/۳۶NOP	۱/۷۶LMN	۲/۲۶M

*میانگین هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک می باشند، از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر سویه‌های مختلف بر شاخص‌های رشد گیاه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		وزن تر اندام هوایی (گرم در هر لوله)	وزن تر ریشه (گرم در هر لوله)	نسبت وزن تر اتدام هوای به ریشه	وزن خشک اندام هوایی (گرم در هر لوله)	وزن خشک ریشه (گرم در هر لوله)	نسبت وزن خشک اندام هوای به ریشه	طول اندام هوایی (سانتی متر در هر لوله)	طول ریشه (سانتی متر در هر لوله)
سویه	۴۰	۰/۰۸۳۷**	۰/۰۰۸۳**	۱/۳۹۴**	۰/۰۰۱۲**	۰/۰۰۰۰۷۷**	۲/۰۵۴**	۶۴/۲۱۰**	۱۰/۴۳۸**
خطا	۱۶۴	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۱۷	۰/۰۷۷۸	۰/۰۰۰۰۲۱	۰/۰۰۰۰۰۱۴۳	۰/۱۱۴۱	۱/۱۷۹۹	۰/۲۰۳۹

* * معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۷- ضرایب همبستگی (r) بین شاخص‌های رشد گیاه و اکسین تولید شده در سطوح مختلف ال- تریپتوفان در دو محیط TSB و DF

	DF 0	DF ۵۰	DF ۱۰۰	TSB ۰	DF۲۰۰	TSB ۱۰۰	TSB ۵۰	TSB ۲۰۰
وزن تر اندام هوایی	۰/۳۷۹*	۰/۴۴۴**	۰/۴۱۲**	۰/۲۷۴ ns	۰/۳۷۰*	۰/۳۱۸*	۰/۳۰۵ ns	۰/۳۳۳*
وزن تر ریشه	۰/۳۵۱*	۰/۳۸۷*	۰/۳۳۸*	۰/۲۱۲ ns	۰/۳۰۱ ns	۰/۲۵۸ ns	۰/۲۴۱ ns	۰/۲۷۳ ns
وزن خشک اندم هوایی	۰/۴۱۷**	۰/۴۷۰**	۰/۴۳۷**	۰/۲۹۱ ns	۰/۳۸۴*	۰/۳۳۳*	۰/۳۲۵*	۰/۳۴۸*
وزن خشک ریشه	۰/۳۶۹*	۰/۴۰۹**	۰/۳۵۷*	۰/۲۲۱ ns	۰/۳۰۱ ns	۰/۲۶۳ ns	۰/۲۵۱ns	۰/۲۸۳ ns
طول اندام هوایی	۰/۱۲۸ns	۰/۲۰۷ ns	۰/۲۲۶ ns	۰/۱۱۱ns	۰/۱۷۸ ns	۰/۱۳۸ ns	۰/۱۲۷ ns	۰/۱۵۵ ns
طول ریشه	۰/۱۳۵ ns	۰/۲۰۹ ns	۰/۲۲۵ ns	۰/۱۲۳ ns	۰/۱۷۸ ns	۰/۱۵۷ns	۰/۱۳۹ ns	۰/۱۷۳ ns
نسبت وزن تر اندام هوای به ریشه	۰/۰۹۹ ns	۰/۱۹۴ ns	۰/۲۱۲ ns	۰/۱۳۷ ns	۰/۱۸۱ ns	۰/۱۴۵ ns	۰/۱۴۳ ns	۰/۱۶۳ ns
نسبت وزن خشک اندام هوای به ریشه	۰/۱۱۷ ns	۰/۲۱۱ ns	۰/۲۳۱ns	۰/۱۵۳ ns	۰/۲۰۷ ns	۰/۱۶۳ ns	۰/۱۶۱ ns	۰/۱۷۷ ns

* * معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد * معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد n.S : غیر معنی دار

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر سویه‌های مختلف بر شاخص‌های رشد گیاه

سویه	وزن خشک اندام هوایی (گرم در هر لوله)	وزن خشک ریشه (گرم در هر لوله)	نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه	وزن تر اندام هوایی (گرم در هر لوله)	وزن تر ریشه (گرم در هر لوله)	نسبت وزن تر اندام هوایی به وزن تر ریشه	طول اندام هوایی (سانتیمتر در هر لوله)	طول ریشه (سانتیمتر در هر لوله)
R۱۱۲	۰/۰۹۳۱A	۰/۰۲۳۳B	۳/۹۸ABCDE	۰/۷۵۵A	۰/۲۳۱B	۳/۲۶ABCDE	۲۲/۹۰ABCD	۹/۰۶BCD*
R۱۶۸	۰/۰۹۲۱A	۰/۰۲۳۴B	۳/۹۲ABCDE	۰/۷۴۷AB	۰/۲۳۲B	۳/۲۱ABCDE	۲۲/۴۶ABCD	۹/۰۴BCD
R۱۵۹	۰/۰۹۱۴A	۰/۰۲۱۲CD	۴/۳۰A	۰/۷۴۱AB	۰/۲۱۰CD	۳/۵۳AB	۲۲/۴۸ABCD	۸/۹۲BCDE
R۳۰	۰/۰۹۰۲AB	۰/۰۲۳۳B	۳/۸۸ABCDEF	۰/۷۳۲AB	۰/۲۳۱B	۳/۱۷BCDEF	۲۲/۰۰CDEF	۸/۸۴BCDEF
P۱۸	۰/۰۸۴۴ABC	۰/۰۲۳۲B	۳/۸۳ABCDEF	۰/۷۴۲AB	۰/۲۴۰B	۳/۱۱BCDEF	۲۲/۹۸ABCD	۹/۵۰AB
R۴۱	۰/۰۸۷۹ABC	۰/۰۲۲۸BC	۳/۸۴ABCDEF	۰/۷۱۳ABC	۰/۲۲۶BC	۳/۱۵BCDEF	۲۲/۵۴ABCD	۸/۹۲BCDE
P۲	۰/۰۸۷۸ABC	۰/۰۲۱۲CD	۴/۱۴ABCD	۰/۷۳۷AB	۰/۲۰۵DEF	۳/۶۳A	۲۲/۶۸ABCD	۸/۹۶BCDE
P۲۱	۰/۰۸۴۴BCD	۰/۰۲۵۱A	۳/۳۹F	۰/۷۱۰ABCD	۰/۲۵۹A	۲/۷۵CDEF	۲۲/۲۰BCDE	۸/۹۰BCDE
P۲۰	۰/۰۸۴۳BCD	۰/۰۲۲۷BC	۳/۷۵BCDEF	۰/۷۰۹ABCD	۰/۲۳۴B	۳/۰۴CDEF	۲۱/۸۰CDEFG	۹/۷۰A
P۸	۰/۰۸۳۰CDE	۰/۰۲۰۰DEF	۴/۱۴ABCD	۰/۶۹۷BCDE	۰/۲۰۷DEF	۳/۳۶ABCDE	۲۰/۰۶HIJ	۷/۲۰M
P۱۶	۰/۰۸۰۲DEF	۰/۰۲۱۹BC	۳/۶۹BCDEF	۰/۶۷۴CDEF	۰/۲۲۶BC	۳/۰۰CDEF	۲۱/۶۰CDEFGH	۹/۸۰A
P۱۰	۰/۰۸۰۲DEF	۰/۰۱۹۸DEFG	۴/۰۴ABCDE	۰/۶۷۴CDEF	۰/۲۰۵DEF	۳/۲۸ABCDE	۲۲/۸۰ABCD	۹/۳۲ABC
P۲۲	۰/۰۷۹۹DEF	۰/۰۲۰۲DE	۳/۹۶ABCDE	۰/۶۷۲CDEF	۰/۲۰۹CDE	۳/۲۲ABCDE	۲۲/۵۰ABCD	۸/۸۰CDEFG
P۲۳	۰/۰۷۹۶DEFG	۰/۰۱۹۲EFGH	۴/۱۴ABCD	۰/۶۷۰CDEF	۰/۲۰۰DEF	۳/۳۶ABCDE	۲۲/۳۶ABCDE	۸/۷۰CDEFGHI
P۱۹	۰/۰۷۸۰DEFGH	۰/۰۱۸۶EFGHI	۴/۲۲AB	۰/۶۵۷DEFG	۰/۱۹۲DEFGH	۳/۴۳ABC	۲۰/۸۰EFGHIJ	۸/۷۲CDEFGHI
P۹	۰/۰۷۶۹EFGHI	۰/۰۱۸۴FGHIJ	۴/۱۹ABC	۰/۶۴۷EFG	۰/۱۹۰DEFGH	۳/۴۱ABCD	۲۲/۰۶BCDEF	۷/۶۰LM
P۳	۰/۰۷۴۴FGHIJ	۰/۰۱۸۳FGHIJK	۴/۰۸ABCDE	۰/۶۲۶FGH	۰/۱۸۹EFGHI	۳/۳۱ABCDE	۲۱/۵۴CDEFGHI	۸/۳۸DEFGHIJK
P۱۵	۰/۰۷۳۲GHIJK	۰/۰۱۸۱GHIJKL	۴/۰۳ABCDE	۰/۶۱۷GHI	۰/۱۸۸FGHI	۳/۲۷ABCDE	۲۲/۳۰ABCDE	۸/۱۰HIJKL
P۱۱	۰/۰۷۱۹HIJKL	۰/۰۱۸۸EFGH	۳/۸۳ABCDEF	۰/۶۰۶GHIJ	۰/۱۹۵DEFG	۳/۱۰BCDEF	۲۲/۱۰BCDEF	۸/۵۸DEFGHIJ

P۱۷	۰/۰۷۱۷HIJKL	۰/۰۱۸۹EFGH	۳/۸۱ABCDEF	۰/۶۰۴GHIJ	۰/۱۹۶DEFG	۳/۱۰BCDEF	۲۳/۰۰ABC	۸/۴۴DEFGHIJ
R۶۹	۰/۰۷۰۶IJKLM	۰/۰۱۸۰HIJKLM	۳/۹۱ABCDEF	۰/۵۷۵HIJKL	۰/۱۷۷GHIJ	۳/۲۵ABCDE	۱۹/۶۶J	۸/۰۶IJKL
P۱	۰/۰۷۰۴IJKLMN	۰/۰۱۸۴FGHIJ	۳/۸۵ABCDEF	۰/۵۹۳HIJK	۰/۱۹۰DEFGHI	۳/۱۳BCDEF	۲۱/۵۴CDEFGHI	۸/۴۸DEFGHIJ
R۹۳	۰/۰۶۸۷JKLMNO	۰/۰۱۶۷JKLMNO	۴/۱۱ABCD	۰/۵۵۹JKLMN	۰/۱۶۳JK	۳/۰۵CDEF	۱۹/۹۸HIJ	۷/۹AJKL
P۵	۰/۰۶۸۱JKLMNO	۰/۰۱۸۲GHIJKL	۳/۷۴BCDEF	۰/۵۷۵HIJKL	۰/۱۸۹FGHI	۳/۴۳ABC	۲۲/۷۰ABCD	۸/۷۶CDEFGH
R۱۵۰	۰/۰۶۷۱KLMNOP	۰/۰۱۷۱IJKLMN	۳/۹۳ABCDE	۰/۵۴۷KLMNOP	۰/۱۶۷JK	۳/۲۷ABCDE	۲۰/۰۸HIJ	۸/۰۷HIJKL
P۱۲	۰/۰۶۷۰KLMNOP	۰/۰۱۶۶JKLMNO	۴/۰۵ABCDE	۰/۵۶۵IJKLM	۰/۱۷۲IJ	۳/۲۹ABCDE	۲۲/۹۰ABCD	۸/۲۰FGHIJKL
P۱۴	۰/۰۶۶۷KLMNOP	۰/۰۱۶۲MNO	۴/۱۵ABCD	۰/۵۶۳IJKLM	۰/۱۶۸J	۳/۳۸ABCDE	۲۱/۴۸CDEFGHI	۸/۲۸EFGHIJKL
P۱۳	۰/۰۶۵۵LMNOPQ	۰/۰۱۶۵KLMNO	۳/۹۸ABCDE	۰/۵۵۳JKLMN	۰/۱۷۱IJ	۳/۲۴ABCDE	۲۳/۱۰ABC	۸/۱۰HIJKL
P۷	۰/۰۶۵۴LMNOPQ	۰/۰۱۶۱NO	۴/۰۶ABCDE	۰/۵۵۲JKLMNO	۰/۱۶۷JK	۳/۳۱ABCDE	۲۳/۹۰A	۹/۰۰BCD
R۳۶	۰/۰۶۴۵MNOPQR	۰/۰۱۶۷JKLMNO	۳/۸۵ABCDEF	۰/۵۲۶LMNOPQ	۰/۱۶۳JK	۳/۲۱ABCDE	۲۰/۲۶GHIJ	۸/۱۰HIJKL
R۱۷۳	۰/۰۶۴۱MNOPQR	۰/۰۱۶۹IJKLMNO	۳/۷۹ABCDEF	۰/۵۲۲LMNOPQ	۰/۱۶۵JK	۳/۱۶BCDEF	۲۰/۳۴GHIJ	۷/۷۴KLM
R۲۶	۰/۰۶۳۷NOPQR	۰/۰۱۶۳MNO	۳/۹۱ABCDEF	۰/۵۲۰LMNOPQ	۰/۱۵۹JK	۳/۲۷ABCDE	۲۱/۳۰DEFGHIJ	۸/۱۸FGHIJKL
R۱۸۷	۰/۰۶۳۳OPQR	۰/۰۱۶۷JKLMNO	۳/۷۷ABCDEF	۰/۵۱۶MNOPQ	۰/۱۶۳JK	۳/۱۵BCDEF	۱۹/۹۲IJ	۷/۹۶JKL
R۱۴۳	۰/۰۶۱۹OPQR	۰/۰۱۶۴LMNO	۳/۷۷ABCDEF	۰/۵۰۶NOPQ	۰/۱۶۰JK	۳/۱۶BCDEF	۲۰/۰۰HIJ	۸/۱۴GHIJKL
MPFM	۰/۰۶۱۲PQR	۰/۰۱۶۷JKLMNO	۳/۶۶CDEF	۰/۴۹۹OPQ	۰/۱۶۳JK	۳/۰۶CDEF	۱۹/۹۰IJ	۸/۰۳IJKL
BLANK	۰/۰۶۰۶PQR	۰/۰۱۶۹IJKLMNO	۳/۵۷EF	۰/۴۹۵PQ	۰/۱۶۵JK	۲/۹۸CDEF	۲۰/۳۰GHIJ	۸/۰۶IJKL
P۶	۰/۰۶۰۵PQR	۰/۰۱۶۷JKLMNO	۳/۶۲DEF	۰/۵۱۱MNOPQ	۰/۱۷۳HIJ	۲/۹۶CDEF	۲۳/۷۰AB	۷/۶۰LM
R۱	۰/۰۵۹۶QR	۰/۰۱۶۵KLMNO	۳/۶۱DEF	۰/۴۸۷Q	۰/۱۶۱JK	۳/۰۲CDEF	۲۰/۵۰FGHIJ	۸/۰۸HIJKL
P۴	۰/۰۵۸۵R	۰/۰۱۶۰NO	۳/۶۶CDEF	۰/۴۹۵PQ	۰/۱۵۸JK	۳/۱۲BCDEF	۲۰/۷۸EFGHIJ	۷/۶۴LM
R۹۹	۰/۰۵۸۴R	۰/۰۱۵۲O	۳/۸۷ABCDEF	۰/۴۷۷Q	۰/۱۴۷K	۳/۲۶ABCDE	۲۰/۵۶FGHIJ	۸/۱۶FGHIJKL
GRP3	۰/۰۰S	۰/۰۰P	۰/۰۰G	۰/۰۰R	۰/۰۰L	۰/۰۰G	۰/۰۰K	۰/۰۰N

*میانگین هایی که در هر ستون در یک حرف مشترک می باشند، از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

فهرست منابع:

۱. رسولی صدقیانی، ح.، ک. خاوازی.، ح. رحیمیان.، م. ج. ملکوتی و ه. اسدی رحمانی. ۱۳۸۴. بررسی تراکم جمعیت و شناسایی سودوموناس‌های فلورسنت در ریزوسفر گندم مناطق مختلف ایران. مجله خاک و آب. جلد ۱۹، شماره ۲، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ایران

2. Ahmad, F., I. Ahmad, and M. Sahir khan. 2005. Indoleacetic acid production by indigenous isolates of azotobacter and fluorescent pseudomonas in the presence and absence of tryptophan. Turkish Journal of Biology, 29: 29-34
3. Asghar, H.N. Z.A., Zaeir, and M. Arshad. 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield and oil cotent of canola (*Brassica napus* L.). Australian Journal of Agriculture Research, 55:187-194.
4. Asghar, H.N., Z.A. Zahir, M. Arshad and A. Khaliq. 2002. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their groth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology and Fertility of Soils, 35:231-237.
5. Bashan, Y. and H. Levanony. 1990. Current status of Azospirillum inoculation technology: Azospirillium as a challenge for agriculture. Canadian Journal of Microbiology, 36: 591-608.
6. Benizri, E., A. Courtade, C. Picard and A. Guckert. 1998. Role of maize root exudates in the production of auxin by *Pseudomonas flurescense* M.3.1. Soil Biology and Biochemistry, 30(10/11): 1481-1484.
7. Bent, E., S. Tuzan, C.P. Chanway and S. Enebak. 2001. Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. Canadian Journal of Microbidogy, 47:793-800.

8. Bossis, E., P. Lemanceau, X. Latour and L. Gradan. 2000. The taxonomy of *pseudomonas fluorescens* and *pseudomonas putida* :Current status and need for revision. Agronomic, 20:51-63.
9. Dobbelaere, S., A. Croonenborghs, A. Thys, A.V. Broek and J. Vanderleyden. 1999. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. Plant and Soil, 212: 155-164.
10. Dobbelaere, S., J. Vanderleyden and Y. Okon. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences, 22(2): 107-149.
11. Elmerich, C. 1984. Molecular biology and ecology of diazotrophs associated with non-leguminous plants. Biotechnology, 2: 967-978.
12. Frankenberger, W.T. and W. Brunner. 1983. Method of detection of auxin- 3-acetic acid in soil by high performance liquid chromatography. Soil Science Society of American Journal, 47: 237-241.
13. Fuentes-Ramirez, L.E., T. Jimenez-Salgado, L.R. Abarca-Qcampo and L.Caballero-Mellado. 1993. Acetobacter diazotrophicus, an indole acetic production bacterium isolated from sugarcane cultivars of mexico. Plant and Soil, 154: 145-150.
14. Glick, B. R. 1995. The enhacement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41: 109-117.
15. Glick, B. R., C. B. Jacobson, M. M. K. Schwarze and J. J. Pasternak. 1994. 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylix acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. Canaolian Journal of Microbioligy, 40: 911-915.
16. Jean, J.S., S.S. Lee, H.Y. Kim, T.S. Ahn and H.G. Song. 2003. Plant growth promoting in soil by some inoculated microorganism. Journal of Microbiology, 41(4): 271-276.
17. Kloepper, J. W., R. Lifshitz and M. N. Schroth. 1988. Pseudomonas inoculants to benefit plant production. ISI. Atlas of Science: Animal and Plant Science, 1:60-64.
18. Kloepper, J. W., R. R. Lifshitz and R. M. Zablotwicz. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. Trends Biotechnology. 7: 39-43.
19. Kloepper, J.M. 2003. A review of mechanisms for plant growth promoting by pgpr. Aurburn University, Auburn, Alabama 36849, USA.
20. Lambrecht, M., Y. Okon, A.V. Broek and J. Vanderleyden. 2000. Indole-3- acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interaction. Trends Microbiology, 8(7):298-300.
21. Omay, S.H., W.A. Schmidt, P. Martin and F. Bangerth. 1993. Indole acetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilinse* Cd under in vitro conditions. Canadian Journal of Microbiology, 39: 187-192.
22. Patten, C.L., B. R. Glick. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Canadian Journal of Microbiology, 42: 207-220.
23. Patten, C.L., B.R. Glick. 2002. Role of *pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of host plant root system. Applied and Environmental Microbiology, 68: 3795-3801.
24. Penrose, M., R. Glick. 2003. Methods for isolating and characterizing Acc deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Plant Physiology, 118: 10-15.
25. Raju, R. A. and M. N. Reddy. 1999. Effect of rock phosphate amended with phosphate solubilizing bacteria and farmyard manure in wetland (*Oryza sativa)*. Indian Journal of Agricultural Science, 69: 451-453.
26. Rubio, T.M.G., S.A. Valencia-Plata, J. Bernal-Castillo and P. Martinez-Nieto. 2000. lsolation 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.

27. Sarwar, M., and W.T. Frankenberger. 1994. Influence of L-trypyophan and auxins applied to the rhizosphere on the vegetative growth of *Zea mays* L. Plant and Soil, 160: 97-104.
28. Sarwar, M. and R.J. Kremer. 1995. Enhanced suppression of plant growth through production of L.tryptophan- derived compounds by deleterious rhizobacteria. Plant and Soil, 172: 261-269.
29. Sarwer, M., M. Arshad, A.M. Martens and W.T. Frankenberger. 1992. Trytophan-dependent biosynthesis of auxins in soil. Plant and Soil, 147: 207-215.
30. Tang, W. H. 1994. Yield-increasing bacteria and biocontrol of sheath blight of rice. Organisation, Adelaide, Australia, 267-278.
31. Tolay, I., B. Erenoglu and I. Cakmak. 2001. Phytosiderophore release in Aegilopsis and Triticum species under zinc and iron deficiencies. Journal of Experimental Botany, 52:1093-1099.
32. Vlassak, K., L. Vanholm, L. Duchateau, J. Vanderleyden and R. Demot. 1992. Isolation and characterization of *fluorescent pseudomonads* associated with the roots of rice and banana grown in srilanka. Plant and Soil, 145:51-63.