

تأثیر تلقیح جدایه‌های سینوریزوبیوم میلیوتی بر رشد و جذب عناصر غذایی کنجد

نرگس خدابخشی^۱، * عبدالرضا اخگر^۲، پیمان عباسزاده دهجی^۳ و احمد تاج‌آبادی‌پور^۲

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، ^۲ دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان،

^۳ استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ولی عصر رفسنجان

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۸

چکیده

سابقه و هدف: کنجد با نام علمی *Sesamum indicum* L. گیاهی یکساله، از رده دولپه‌ای‌های پیوسته گلبرگ، از خانواده Pedaliaceae می‌باشد. کنجد دانه روغنی با ارزشی است که بسته به شرایط و نوع رقم دارای ۴۵ تا ۶۲ درصد روغن بوده و روغن آن به دلیل وجود یک ترکیب فنلی آنتی‌اکسیدان به نام سزامول از دوام خوبی برخوردار است. باکتری‌های ریزوبیومی مانند باکتری‌های محرک رشد گیاه قادرند از طریق مکانیسم‌های محرک رشد مانند تولید هورمون ایندول-۳-اسید (IAA)، سیدروفور و نیز افزایش حلالیت و قابلیت جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر باعث بهبود و افزایش رشد و عملکرد گیاهان غیرلگوم شوند. از این‌رو این پژوهش به منظور بررسی برخی صفات محرک رشد باکتری‌های سینوریزوبیوم میلیوتی و ارزیابی توانایی آن‌ها در افزایش رشد و بهبود شرایط تغذیه‌ای کنجد به‌عنوان یک گیاه غیرلگوم شکل گرفت.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی اثر برخی جدایه‌های سینوریزوبیوم میلیوتی بر رشد و جذب برخی عناصر غذایی کنجد، آزمایشی در شرایط گلخانه انجام شد. ابتدا جدایه‌ها از نظر تولید IAA، سیدروفور و توانایی انحلال فسفات‌های معدنی مورد بررسی قرار گرفتند. بر مبنای نتایج حاصل، پنج جدایه برتر از نظر تولید IAA، سیدروفور و توانایی انحلال فسفات‌های معدنی کم‌محلول انتخاب و در آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با یک تیمار بدون باکتری به‌عنوان شاهد در ۴ تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. برای اجرای آزمون گلخانه‌ای، ابتدا بذرها هم‌اندازه گیاه کنجد انتخاب و سپس ضدعفونی سطحی شدند. گلدان‌های پلاستیکی ۵ کیلوگرمی از یک خاک غیراستریل با بافت شنی لومی، شوری پایین ($EC=1/4 dS/m$) و فسفر قابل استفاده کم (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) پر شدند. در هر گلدان تعداد ۱۵ بذر کنجد کشت شد. هنگام کاشت، هر بذر با ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر با جمعیت 10^8 cfu/g تلقیح گردید. در مرحله گلدهی، گیاهان از محل طوقه قطع و طول ساقه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری گردید. همچنین غلظت فسفر، آهن، روی و مس در اندام هوایی تعیین گردیدند.

یافته‌ها: نتایج مربوط به انحلال فسفر معدنی بیانگر توانایی تمام جدایه‌ها در حل تری‌کلسیم‌فسفات در محیط اسپربر بود به طوری که بیش‌ترین توانایی حل فسفر مربوط به جدایه SR18 با مقدار ۱۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. همچنین جدایه‌های SR32 و SR3 بالاترین توان تولید سیدروفور را داشتند. نتایج آزمون گلخانه‌ای نشان داد که

* مسئول مکاتبه: arakhgar@yahoo.com

جدایه‌های مورد آزمایش وزن خشک اندام هوایی کنجد را نسبت به شاهد افزایش دادند. به طوری که این افزایش در مورد جدایه‌های SR18، SR3 و SR16 معنی‌دار بود. بیش‌تر جدایه‌های مورد آزمایش جذب عناصر غذایی اندام هوایی کنجد را افزایش دادند. ولی تنها کاربرد جدایه SR18 باعث افزایش معنی‌دار جذب عناصر غذایی شامل فسفر، روی، مس و آهن اندام هوایی نسبت به شاهد شد.

نتیجه‌گیری: در مجموع جدایه‌های منتخب دارای توانایی تولید IAA، سیدروفور و حل فسفات‌های معدنی کم‌محلول توانستند شاخص‌های رشد (اندام هوایی و ریشه) گیاه کنجد را افزایش دهند. در بین جدایه‌ها، جدایه SR18 بیش‌ترین تأثیر را بر پارامترهای رشد و جذب عناصر غذایی کنجد داشت.

واژه‌های کلیدی: اکسین، سیدروفور، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه، شاخص‌های رشد

مقدمه

کنجد با نام علمی *Sesamum indicum* L. گیاهی یک‌ساله، از رده دولپه‌ای‌های پیوسته گلبرگ، از خانواده Pedaliaceae می‌باشد. کنجد دانه روغنی با ارزشی است که بسته به شرایط و نوع رقم دارای ۴۵ تا ۶۲ درصد روغن بوده و روغن آن به دلیل وجود یک ترکیب فنلی آنتی‌اکسیدان به نام سزامول از دوام خوبی برخوردار است (۳۵).

ریزوسفر گیاهان، منطقه فعالیت شدید میکروبی است و جوامع میکروبی این ناحیه با سایر نواحی خاک از نظر تنوع و جمعیت ریزموجودات تفاوت دارند. وجود ترشحات ریشه‌ای در ناحیه ریزوسفری باعث جلب ریزموجودات به سمت ریزوسفر و برقراری روابط متقابل مفید بین گیاهان و بعضی از این ریزموجودات می‌شود و این روابط افزایش رشد و عملکرد گیاه را به همراه دارد (۵). باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)^۱ به گروه نامتجانسی از باکتری‌های ریزوسفری اطلاق می‌شود که با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص موجب بهبود شاخص‌های رشد، نمو و عملکرد گیاه می‌گردند (۲۶). مکانیسم‌هایی که ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند از طریق آن‌ها مستقیماً باعث بهبود و افزایش رشد و عملکرد

گیاه شوند عبارتند از: تثبیت نیتروژن، حل کردن فسفات‌های نامحلول، تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها، تولید فیتوهورمون‌هایی چون اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین و کم کردن تولید اتیلن از طریق تولید آنزیم ACC-دآمیناز (۴۳).

هورمون‌های گیاهی که به مقدار جزئی تولید می‌شوند تأثیر زیادی بر فعالیت‌های رویشی گیاه دارند (۲۲). هورمون ایندول-۳-استیک اسید (IAA) مهم‌ترین نوع اکسین طبیعی و اولین هورمون گیاهی است که در سال ۱۹۸۸ کشف شد و علاوه بر گیاهان بسیاری از ریزموجودات نیز توانایی تولید آن را دارا می‌باشند (۳۷). این هورمون باعث توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و به دنبال آن افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه می‌گردد. تخمین زده شده که ۸۰ درصد از باکتری‌های ریزوسفری توان تولید IAA را دارند (۷). گزارش‌های متعددی نشان داده است که اکسین‌های میکروبی که در نتیجه مصرف ال-تریپتوفان موجود در منطقه ریزوسفری تولید می‌شود نقش بسیار مهمی در رشد و توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و عملکرد محصول دارد (۳۱). مهم‌ترین مکانیسم محرک رشد توسط سوبیه‌های ریزوبیومی تلقیح شده با گیاهان غیرلگوم تولید فیتوهورمون ایندولی (IAA) می‌باشد که نتیجه آن رشد بهتر ریشه و به دنبال آن افزایش

1- Plant Growth Promoting Bacteria

با وجود فراوانی آهن در پوسته زمین و خاک معمولاً این عنصر جز عناصر غذایی محدود برای گیاهان به خصوص در خاک‌های آهکی با آب و هوای گرم و خشک و pH بالا به‌شمار می‌آید (۲۱). به دلیل وجود این گونه مشکلات امکان استفاده از پتانسیل گروه‌های میکروبی تولیدکننده سیدروفور مورد توجه بیش‌تری قرار گرفته است. سیدروفورها ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین (اکثراً کم‌تر از ۱۵۰۰ دالتون) و خاصیت بالای جذب آهن (10^{-5} - 10^{-2} kd) هستند که به‌وسیله بسیاری از ریزموجودات خاکزی از جمله سویه‌های مختلف ریزوبیوم در شرایط کمبود آهن ($Fe^{3+} < 10 \mu M$) ترشح می‌شوند (۳۲). علیحانی و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی توان تولید سیدروفور توسط ۴۴۷ جدایه ریزوبیومی نشان دادند که بیش‌تر جدایه‌ها (۸۵/۹ درصد) قادر به تولید سیدروفور در حد قابل اندازه‌گیری بودند و تنها نسبت کمی از آن‌ها (۱۴/۱ درصد) چنین ویژگی را نداشتند (۲). فابیانو و همکاران (۱۹۹۴) با بررسی ۶۷ سویه از باکتری‌های ریزوبیومی به این نتیجه رسیدند که بیش‌تر ریزوبیوم‌ها قادر به تولید سیدروفور هستند و بالاترین توان تولید سیدروفور را در سویه‌های هم‌زیست با یونجه و شبدر اعلام داشتند (۱۶). بررسی اثرات مفید باکتری‌های ریزوبیومی بر گیاهان غیرلگوم به‌طور گسترده در حال توسعه است. بیش‌تر مطالعات نشان داده است که این باکتری‌ها اثرات مثبت و اقتصادی بر محصولات غیرلگوم مانند ذرت، گندم و برنج داشته‌اند (۱۷). فیتوهورمون‌های تولید شده توسط باکتری‌های ریزوبیومی در پاسخ به تلقیح با گیاهان غیرلگوم مانند ایندول-۳-استیک اسید، سیتوکینین، جیبرلین و آبسزیک اسید می‌توانند رشد و عملکرد گیاهان غیرلگوم را افزایش دهند (۳۰). باکتری‌های ریزوبیومی مانند دیگر باکتری‌های محرک رشد قادرند از طریق افزایش حلالیت و قابلیت جذب عناصر غذایی (انحلال فسفر معدنی و آلی از طریق

جذب آب و عناصر غذایی (N، P و K) و افزایش رشد گیاه می‌باشد (۲۷). سریدوی و مالایه (۲۰۰۷) میزان ۴۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA را در یک سویه ریزوبیوم گزارش کردند (۳۸). در پژوهشی که توسط بیسواس و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت مشخص شد که باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم تریفولی تولیدکننده IAA رشد ریشه گیاه برنج را افزایش داد (۱۰). ماچادو و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که تلقیح گیاه *Tanzania grass* با باکتری‌های ریزوبیومی وزن خشک اندام هوایی را در مقایسه با شاهد تلقیح نشده افزایش داد. آن‌ها نشان دادند سنتز اکسین به‌وسیله باکتری‌های ریزوبیومی به‌ویژه تولید IAA رشد و تراکم ریشه را افزایش داده و از این طریق باعث افزایش جذب آب و عناصر غذایی و در نتیجه رشد گیاه می‌شود (۲۸).

علی‌رغم بالا بودن فسفر کل خاک‌ها فراهمی آن برای گیاهان کم است و قسمت عمده فسفر خاک به همراه کاتیون‌های فلزی رسوب کرده، از دسترس گیاه خارج می‌شود و به همین دلیل نیز استفاده از کودهای فسفره نتیجه‌بخش نیست (۳۳). استفاده از ریزموجودات خاکزی که توانایی انحلال فسفات‌های کم‌محلول و تبدیل آن به فسفر محلول را دارند یکی از راه‌های مؤثر برای افزایش قابلیت جذب فسفر در خاک‌ها است (۴۱). باکتری‌های حل‌کننده فسفات از طریق دو مکانیسم باعث انحلال فسفات‌ها در خاک انجام می‌شوند: ۱- تولید فسفاتاز (فسفوهیدرولاز) و فیتاز برای تجزیه فسفات‌های آلی ۲- تولید اسیدهای آلی، اسیدهای معدنی و کلات‌کننده برای انحلال فسفات‌های معدنی. هالدر و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که اسیدهای آلی جدا شده از محیط کشت باکتری *Rhizobium leguminosarum* موجب انحلال فسفات‌های معدنی می‌گردد (۱۹).

۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شدند. جدایه‌های SR1 تا SR19 سینوریزوبیوم‌های جدا شده از گره‌های ریشه گیاه سنبلیه و جدایه‌های SR20 تا SR39 سینوریزوبیوم‌های جدا شده از گره‌های ریشه گیاه یونجه بودند. ۳۹ جدایه از نظر توان تولید اکسین، سیدروفور و توانایی حل کردن فسفات معدنی کم‌محلول مورد ارزیابی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری میزان تولید اکسین: بدین منظور از روش بنت و همکاران (۲۰۰۱) با کمی تغییرات استفاده شد (۸). ابتدا جدایه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در محیط YMB^۲ کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر یک از جدایه‌ها مجدداً به ۲۰ میلی‌لیتر محیط YMB حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ال-تریپتوفان منتقل و به مدت ۷۲ ساعت با دور ۱۸۰ تکان داده شدند. پس از گذشت این مدت سوسپانسیون‌های مذکور سانتریفیوژ شدند. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴ میلی‌لیتر از معرف سالکوفسکی (شامل ۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر $(\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ ۰/۵ مولار مخلوط گردید، مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. مقدار تولید اکسین توسط هر جدایه از مقایسه جذب نور آن با منحنی استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه گردید.

تعیین توان انحلال فسفات‌های معدنی کم‌محلول: به‌منظور بررسی توان جدایه‌ها در انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول، از محیط کشت اسپربر^۳ استفاده گردید. پس از کشت هر جدایه در محیط YMB مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۳۰ میلی‌لیتر محیط اسپربر مایع (هر لیتر شامل ۱۰ گرم

تولید اسیدهای آلی و فسفات‌ها) رشد گیاهان غیرلگوم را افزایش دهند (۱). چای و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که باکتری سینوریزوبیوم میلیوتی ۱۰۲۱ باعث افزایش معنی‌دار رشد نهال برنج شد. آن‌ها مشاهده کردند میانگین طول ریشه، ارتفاع و وزن تر اندام هوایی برنج به ترتیب به میزان ۳۶/۵، ۷/۴۳ و ۴۴/۲۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (۱۲). در پژوهشی که توسط بیسواس و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت مشخص شد که باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم تریفولی تولیدکننده IAA رشد ریشه گیاه برنج را افزایش داد (۱۰).

بر این اساس هدف از این پژوهش بررسی برخی صفات محرک رشد باکتری‌های سینوریزوبیوم میلیوتی و ارزیابی توانایی آن‌ها در افزایش رشد و بهبود شرایط تغذیه‌ای کنگد به‌عنوان یک گیاه غیرلگوم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

خالص‌سازی باکتری‌های جداسازی شده از گره‌های ریشه گیاهان سنبلیه و یونجه: در این مطالعه تعداد ۳۹ باکتری سینوریزوبیوم میلیوتی جدا شده از گره‌های ریشه یونجه و سنبلیه از بانک باکتری گروه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا باکتری‌های مورد نظر روی محیط کشت YMA^۱ (هر لیتر شامل ۰/۵ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم مانیتول، ۰/۲ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۵ گرم K_2HPO_4 ، ۰/۱ گرم NaCl و ۱۸ گرم آگار در pH=۶/۸) حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر کنگورد یک درصد به‌صورت خطی کشت داده شدند. به‌منظور نگهداری درازمدت، جدایه‌های خالص شده بر روی محیط کشت شیب‌دار YMA حاوی ۳ درصد کربنات کلسیم کشت داده و در دمای

2- Yeast Mannitol Broth

3- Sperber

1- Yeas Mannitol Agar

حاصل از آزمون‌های حل فسفات معدنی کم‌محلول در محیط مایع، تعداد ۵ جدایه برتر (SR3، SR16، SR18، SR24 و SR32) از بین ۳۹ جدایه سینوریزوبیوم میلیوتی انتخاب شدند و در یک آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی (شامل ۵ جدایه باکتری و یک تیمار بدون باکتری به‌عنوان شاهد) با ۴ تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا بذرهای هم‌اندازه گیاه کنجد انتخاب و به‌منظور ضدعفونی سطحی، بذرها به‌مدت ۲۰ ثانیه در اتانول ۹۶ درصد و ۳ تا ۴ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار داده شدند (۲۴). جهت حذف هیپوکلریت سدیم، بذرها برای چندین مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند. سپس گلدان‌های پلاستیکی ۵ کیلوگرمی از یک خاک غیراستریل با بافت شنی لومی، شوری پایین ($EC=1/4$ dS/m)، فسفر قابل استفاده کم (۵ ppm) پر شدند و براساس نتایج آزمون خاک، مقادیر حداقلی از کود به خاک اضافه گردید. کوددهی عناصر غذایی نیتروژن از منبع اوره (۲۰ ppm در دو نوبت)، پتاسیم از منبع سولفات پتاسیم (۱۰ ppm) و فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات (۱۰ ppm) صورت گرفت. در هر گلدان تعداد ۱۵ بذر کنجد کشت شد. هنگام کاشت، هر بذر با ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر با جمعیت 10^8 cfu/g تلقیح گردید. در مرحله گلدهی، گیاهان از محل طوقه قطع و طول ساقه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری گردید. همچنین عناصر فسفر، آهن، روی و مس در اندام هوایی به‌روش خشک سوزانی به‌وسیله دستگاه جذب اتمی و فسفر به‌وسیله اسپکتروفتومتر قرائت گردیدند (۲۳).

تجزیه‌های آماری: تجزیه واریانس تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

گلوکز، ۰/۵ گرم عصاره مخمر، ۰/۳ گرم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۰/۱۴ گرم $CaCl_2$ ، ۲/۵ گرم $Ca_3(PO_4)_2$ و $pH=7/2$ منتقل گردید. نمونه‌ها به‌مدت ۱۲۰ ساعت بر روی شیکر تکان داده شدند. پس از این مدت pH نمونه‌ها قرائت و بلافاصله سوسپانسیون باکتری سانتی‌فیوژ و ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیدات-وانادات مخلوط گردید. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه، میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. مقدار فسفر آزاد شده توسط هر جدایه با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف KH_2PO_4 محاسبه شد (۴۰).

تعیین توانایی تولید سیدروفور جدایه‌ها: بدین منظور از محیط CAS^۱ آکار استفاده شد (۳). در این روش ابتدا سوسپانسیون جدایه‌ها به‌طور جداگانه تهیه، سپس باکتری‌ها با روش قطره‌گذاری در پتری‌های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط CAS-Agar کشت داده شدند. به این صورت که پلیت‌های حاوی محیط کشت CAS-Agar پس از انجماد به چهار قسمت مساوی تقسیم و از سوسپانسیون تازه هر جدایه به مقدار ۱۵ میکرولیتر در وسط هر قسمت با روش قطره‌گذاری تلقیح شد. هم‌زمان با تلقیح جدایه‌های بومی از دو باکتری سودوموناس فلورسنت P3 و P5 دارای توان تولید سیدروفور به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. باکتری‌های مذکور از بانک میکروبی گروه علوم خاک دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان تهیه شدند. توانایی تولید سیدروفور از روی تغییر رنگ محیط CAS-Agar از آبی به نارنجی و با اندازه‌گیری هاله نارنجی‌رنگ تشکیل شده در اطراف کلنی باکتری‌ها ارزیابی گردید.

آزمون گلخانه‌ای: براساس توانایی جدایه‌ها در تولید مقادیر مختلف IAA و سیدروفور و با توجه به نتایج

نتایج و بحث

توان جدایه‌ها در تولید اکسین، سیدروفور و انحلال تری‌کلسیم‌فسفات: نتایج آزمون‌های محرک رشد نشان داد که جدایه‌های مورد بررسی از نظر تولید اکسین، سیدروفور و انحلال تری‌کلسیم‌فسفات اختلاف آماری معنی‌داری نشان دادند (جدول ۱). تمام جدایه‌ها قادر به تولید IAA بودند اما مقدار تولید IAA در بین جدایه‌ها متفاوت بوده و در دامنه‌ای از ۰/۸۷ تا ۵۹/۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (به ترتیب سویه SR19 و SR24) متغیر بود. متوسط میزان تولید IAA توسط جدایه‌های سینوریزوبیوم ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد (جدول ۲). تین و همکاران (۱۹۷۹) مقدار IAA تولید شده توسط باکتری‌ها را تابعی از گونه، سویه باکتری، نوع محیط کشت مورد استفاده و شرایط کشت باکتری گزارش کردند (۴۲). اضافه کردن مقدار مناسبی از ال-تریپتوفان به محیط کشت باکتری می‌تواند باعث تولید اکسین گردد که بعد از آن مقدار مناسب، افزودن ال-تریپتوفان تأثیری در تولید اکسین ندارد و سرعت تولید اکسین را پایین می‌آورد (۹). شکر و امتیازی (۲۰۱۲) مشاهده کردند از بین ۱۲ سویه مختلف باکتری‌های ریزوبیومی، ۹ سویه تولیدکننده IAA بودند (۳۹). نتایج پژوهش اعتصامی و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که باکتری‌های ریزوبیومی بومی خاک‌های ایران توانایی تولید هورمون اکسین را داشتند. این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و نیز در سویه‌های مختلف متعلق به هر گونه یکسان نبود (۱۵).

ارزیابی توانایی جدایه‌های سینوریزوبیوم در حل تری‌کلسیم‌فسفات نشان داد تمامی جدایه‌ها توانستند تری‌کلسیم‌فسفات را در محیط اسپربر حل نمایند. متوسط میزان فسفر حل شده در محیط اسپربر تلقیح شده با جدایه‌های سینوریزوبیوم ۵۹/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. بیش‌ترین توانایی حل فسفر مربوط به

جدایه SR18 با مقدار ۱۳۹/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کم‌ترین میزان متعلق به جدایه SR24 با مقدار ۱۲/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. مقایسه pH محیط‌های اسپربر محتوی جدایه‌ها نشان داد که pH همه سوسپانسیون‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت. در سوسپانسیون حاوی جدایه SR18 که بیش‌ترین توان حل‌کنندگی تری‌کلسیم‌فسفات را داشت pH از ۷/۲ به ۴/۲ و در سوسپانسیون حاوی جدایه SR24 با کم‌ترین توان حل‌کنندگی تری‌کلسیم‌فسفات pH از ۷/۲ به ۵/۵۲ کاهش یافت (جدول ۲). نتایج حاصل از بررسی ضریب همبستگی (r) بین مقدار فسفر حل شده و pH نشان داد که همبستگی منفی (r = -۰/۳۸) بین انحلال فسفات و pH محیط کشت حاوی تری‌کلسیم‌فسفات وجود دارد. رابطه منفی بین pH و میزان فسفر حل شده توسط پژوهشگران بسیاری گزارش شده است (۴). ریزمووجودات حل‌کننده فسفات با تولید اسیدهای آلی موجب افزایش حلالیت فسفات‌های کم‌محلول معدنی شوند (۲۰). یکی از اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات از جمله *Rhizobium leguminosarum* و *meliloti* *Rhizobium* ۲- کتوگلوکونیک اسید می‌باشد (۱۹). پتانسیل بالای باکتری *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* در حل کردن فسفر به میزان ۱۹۷ میلی‌گرم در لیتر طی ۱۶۰ ساعت در پژوهش‌های غزائیان و همکاران (۲۰۰۴) به اثبات رسید (۱۸).

نتایج حاصل از آزمون کیفی توان تولید سیدروفور نشان داد تمامی جدایه‌های مورد مطالعه توانایی تولید سیدروفور را داشتند. ارزیابی توان جدایه‌ها در تولید سیدروفور از روی اندازه‌گیری قطر هاله نارنجی در محیط Cas- آگار انجام گرفت. بیش‌ترین میزان تولید سیدروفور در جدایه‌های SR32 و SR3 و کم‌ترین میزان تولید سیدروفور مربوط جدایه SR1 بود (جدول ۲). توانایی تولید سیدروفور در سویه‌های

متعددی از گونه‌های مختلف باکتری‌های ریزوبیومی به اثبات رسیده است (۶). گزارش شده است بیش‌تر سویه‌های تند رشد باکتری‌های ریزوبیومی مانند سینوریزوبیوم و ریزوبیوم حداقل یکی از انواع سیدروفورها را تولید می‌کنند (۱۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس توانایی جدایه‌ها در تولید IAA، سیدروفور و تأثیر آن‌ها بر حلالیت تری‌کلسیم‌فسفات و کاهش pH محیط کشت.

Table 1. Analysis of variance for the ability of isolates to produce IAA, siderophore and solubilize inorganic phosphates and reduce the medium pH.

میانگین مربعات square Mean				درجه آزادی	منابع تغییر
سیدروفور Siderophore	pH	حلالیت فسفر solubility Phosphorus	اکسین Auxin	DF	Source
0.088***	0.43***	2134***	659***	38	جدایه (isolate)
0.0046	0.02	8.9	2.35	78	خطا (error)
6.14	3.15	5	10.23	-	ضریب تغییرات (CV)

*** معنی‌دار بودن در سطح ۰/۱ درصد.

*** Significant at 0.1% level.

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر جدایه‌ها بر حلالیت تری‌کلسیم‌فسفات، تولید اکسین و سیدروفور.

Table 2. Mean comparison of effects of isolates on Solubility of tricalcium phosphate and siderophore and IAA production.

سیدروفور Siderophore	pH	فسفر آزاد شده Released phosphorus	اکسین Auxin	جدایه Isolate
نسبت قطر هاله به کلونی (halo diameter / colony diameter)		$\mu\text{g ml}^{-1}$		
0.73 ^g	4.93 ^{f-i}	48.8 ^{lm}	1.45 ^l	SR1
0.83 ^g	4.85 ^{f-k}	34.7 ^{gf}	1.29 ^l	SR2
1.31 ^{ab}	4.97 ^{e-i}	97.8 ^d	30.12 ^{ef}	SR3
1.15 ^{c-f}	5.49 ^{ab}	41.1 ^{lm}	23.20 ^h	SR4
1.22 ^{a-f}	4.65 ^{c-f}	36.3 ^{o-r}	1.06 ^l	SR5
1.10 ^{ef}	4.65 ⁱ⁻ⁿ	107.1 ^c	18.11 ⁱ	SR6
1.10 ^{ef}	5.28 ^{a-c}	171.1 ⁱ	1.37 ^l	SR7
1.15 ^{c-f}	4.96 ^{e-i}	34.5 ^{g-r}	1.39 ^l	SR8
1.13 ^{d-f}	4.75 ^{e-i}	40.5 ^{n-q}	1.51 ^l	SR9
1.25 ^{a-d}	4.86 ^{h-l}	40.4 ^{n-q}	8.39 ^j	SR10
1.11 ^{ef}	5.32 ^{a-c}	72.7 ^{hl}	1.94 ^l	SR11
1.10 ^f	4.80 ^{jk}	40.7 ^{n-p}	1.59 ^l	SR12
1.19 ^{b-f}	5.32 ^{ac}	58.6 ^{jk}	9.56 ^j	SR13

ادامه جدول ۲-

Continue Table 2.

سیدروفور Siderophore	pH	فسفر آزاد شده Released phosphorus	اکسین Auxin	جدایه Isolate
نسبت قطر هاله به کلونی (halo diameter / colony diameter)		$\mu\text{g ml}^{-1}$		
1.13 ^{d-f}	5.34 ^{fj}	48.6 ^{lm}	5.56 ^k	SR14
1.15 ^{c-f}	5.00 ^{e-h}	95.8 ^e	3.53 ^{kl}	SR15
1.26 ^{a-d}	5.11 ^{c-f}	74.3 ^{g-i}	18.71 ⁱ	SR16
1.16 ^{c-f}	4.53 ^{l-n}	50.2 ^{lm}	10.32 ^j	SR17
1.17 ^{c-f}	4.20 ^{n-o}	139.1 ^a	30.31 ^{ef}	SR18
1.15 ^{c-f}	4.84 ^{f-k}	48.8 ^{lm}	0.87 ^l	SR19
1.10 ^{ef}	5.11 ^{c-g}	59.1 ^{jk}	18.03 ⁱ	SR20
1.19 ^{b-f}	5.34 ^{a-c}	38.3 ^{o-r}	32.31 ^{de}	SR21
0.76 ^g	4.7 ^{h-m}	53.1 ^l	18.50 ⁱ	SR22
1.13 ^{df}	5.22 ^{b-e}	60.7 ⁱ	29.8 ^{ef}	SR23
1.23 ^{a-e}	5.52 ^a	12.1 ^s	59.50 ^a	SR24
1.20 ^{a-f}	4.77 ^{g-l}	46.4 ^{mn}	8.32 ^j	SR25
1.27 ^{a-c}	4.76 ^{g-l}	50.20 ^{lm}	30.01 ^{ef}	SR26
1.30 ^{ab}	4.5 ^{k-n}	39.3 ^{oq}	29.22 ^{fg}	SR27
0.83 ^g	5.56 ^{b-e}	32.7 ^r	2.09 ^l	SR28
1.14 ^{c-f}	4.48 ^{fk}	39.1 ^{o-q}	26.91 ^{fg}	SR29
1.18 ^{b-f}	4.21 ^{m-o}	90.3 ^f	36.62 ^{bc}	SR30
1.21 ^{a-f}	5.27 ^{a-d}	54.1 ^{kl}	34.51 ^{cd}	SR31
1.33 ^a	5.33 ^{a-c}	72.3 ^{hi}	29.94 ^{ef}	SR32
1.10 ^{ef}	4.43 ^q	125.2 ^b	1.25 ^l	SR33
1.10 ^{ef}	4.35 ^{pq}	70.3 ⁱ	1.61 ^l	SR34
0.73 ^g	4.61 ^{j-n}	42.1 ^{no}	2.88 ^l	SR35
0.76 ^g	4.57 ^{k-n}	48.7 ^{lm}	2.85 ^l	SR36
1.22 ^{a-f}	5.35 ^{m-o}	37.7 ^{o-r}	38.41 ^b	SR37
0.76 ^g	4.76 ^{h-l}	79.3 ^g	1.33 ^l	SR38
1.23 ^{a-e}	4.49 ^{l-n}	77.1 ^g	10.03 ^j	SR39
1.14 ^{c-f}	-	-	-	P3
1.16 ^{c-f}	-	-	-	P5

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون بدون اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن می‌باشند.

The means with a same letter are not significantly different ($P < 0.05$) by Duncen test.

تمامى سويه‌هاى مورد آزمایش توانايى توليد IAA را داشتند. بنابرین به‌نظر می‌رسد جدایه‌هاى مورد آزمایش از طریق افزایش رشد ریشه و در نتیجه افزایش سطح جذب باعث افزایش رشد گیاه کنجد شده‌اند. در پژوهشى که توسط بیسواس و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت مشخص شد که باکترى ریزوبیوم لگومینوزاروم بیووار تریفولی تولیدکننده IAA رشد ریشه گیاه برنج را افزایش داد. تولید اکسین توسط باکترى‌هاى ریزوبیومی رشد و تراکم ریشه را افزایش داده و در نتیجه موجب افزایش سطح سیستم ریشه، جذب آب و عناصر غذایى و نهایتاً رشد گیاه می‌شود (۱۰).

بررسى تأثیر جدایه‌هاى منتخب بر شاخص‌هاى رشد کنجد: نتایج تجزیه واریانس تلقیح باکترى‌هاى منتخب بر شاخص‌هاى رشد گیاه کنجد نشان داد که این باکترى‌ها تأثیر معنی‌دارى در سطح ۱ درصد بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه داشتند (جدول ۳). جدایه‌هاى مورد آزمایش وزن خشک اندام هوایی گیاهان تیمار شده را نسبت به شاهد افزایش دادند. در بین جدایه‌هاى مورد آزمایش جدایه‌هاى SR3، SR18 و SR16 وزن خشک اندام هوایی را به‌طور معنی‌دارى و به‌ترتیب به مقدار ۰.۵۶٪، ۰.۴۰٪ و ۰.۳۶٪ نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۴). همان‌طور که قبلاً ذکر شد

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر جدایه‌ها بر شاخص‌هاى رشد کنجد.

Table 3. Analysis of variance for the effects of isolates on growth parameters of Sesame.

میانگین مربعات Mean square				درجه آزادی	منابع تغییر
وزن خشک ریشه Root dry weigh	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weigh	تعداد بوته Plant number	ارتفاع ساقه Stem height	DF	Source
0.067**	0.38**	0.66 ^{ns}	19.5 ^{ns}	5	جدایه (isolate)
0.015	0.057	0.66	9.95	18	خطا (error)
22.1	12.1	7.9	132.2	-	ضریب تغییرات (CV)

** معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار بودن.

** Significant at 1% level of probability and ns: no Significant.

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر جدایه‌ها بر شاخص‌هاى رشد کنجد.

Table 4. Mean comparison of effects of isolates on growth parameters of Sesame.

g pot ⁻¹		جدایه
وزن خشک ریشه Root dry weigh	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weigh	Isolate
0.50 ^b	2.15 ^{ab}	SR3
0.76 ^a	2.08 ^{ab}	SR16
0.70 ^a	2.39 ^a	SR18
0.49 ^b	1.72 ^{cd}	SR24
0.45 ^b	1.88 ^{b-d}	SR32
0.49 ^b	1.53 ^d	شاهد (Control)

میانگین‌هاى دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون بدون اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد به‌روش دانکن می‌باشند.

The means with a same letter are not significantly different (P<0.05) by Duncen test.

Bradyrhizobium sp. و *meliloti* از طریق تولید سیدروفور، آهن را در دسترس گیاه قرار دهند (۱۱). جدایه‌های SR18، SR16، SR24، SR32 و SR3 جذب روی اندام هوایی را نسبت به شاهد به ترتیب به میزان ۰/۵۸٪، ۰/۴۱٪، ۰/۷٪، ۰/۶٪ و ۰/۲٪ افزایش دادند، به طوری که این افزایش در جدایه‌های SR18 و SR16 معنی‌دار شد. به عقیده ساراتامبالم و همکاران (۲۰۱۰) نقش اصلی باکتری‌ها در انحلال روی، کاهش موضعی pH در منطقه ریزوسفر و به دنبال آن افزایش فراهمی این عنصر می‌باشد (۳۶). جذب بسیاری از عناصر غذایی از جمله روی ارتباط زیادی با مورفولوژی ریشه دارد به طوری که حجمی از خاک که توسط ریشه اشغال می‌شود مهم‌ترین عامل در تعیین مقدار جذب عناصر غذایی است. بنابراین با افزایش طول و انشعابات ریشه جذب عناصر غذایی افزایش می‌یابد (۲۹). تأثیر کاربرد جدایه‌ها بر جذب مس اندام هوایی کنگد نشان داد تمامی جدایه‌های مورد آزمایش به جز SR3 جذب مس اندام هوایی را نسبت به شاهد افزایش دادند. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تأثیر دو جدایه SR18 و SR16 بر غلظت مس اندام هوایی کنگد معنی‌دار بود (جدول ۶). بیسواس و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که تلقیح با باکتری‌های ریزوبیوم ممکن است رشد تارهای کشنده و ریشه‌های جانبی را تحریک کند در نتیجه منجر به جذب بیشتر عناصر غذایی از خاک شوند (۹). اکین (۲۰۱۱) گزارش کرد کاربرد *Bacillus M-13* باعث افزایش معنی‌دار و ۱۰ درصدی غلظت مس دانه آفتاب‌گردان شد (۱۴).

تأثیر کاربرد باکتری‌ها بر جذب عناصر غذایی: براساس نتایج مندرج در جدول ۵، جدایه‌های مورد آزمایش بر جذب عناصر غذایی از جمله مس، روی و فسفر اندام هوایی در سطح ۰/۱ درصد و بر آهن اندام هوایی در سطح ۱ درصد تأثیر معنی‌داری داشتند. نتایج مقایسه میانگین تأثیر جدایه بر میزان فسفر اندام هوایی نشان داد دو جدایه SR18 و SR32 باعث افزایش معنی‌دار جذب فسفر اندام هوایی نسبت به شاهد گردیدند (جدول ۶). باکتری‌های حل‌کننده فسفات، pH خاک را از طریق تولید انواع اسیدهای آلی کاهش داده و از این طریق سبب دسترسی بیشتر به عناصری مانند فسفر و پتاسیم می‌شوند (۴۱). در این پژوهش جدایه‌های SR18، SR32، SR16 و SR24 جذب فسفر اندام هوایی را به ترتیب به میزان ۰/۶۳٪، ۰/۳۴٪، ۰/۱۹٪ و ۰/۱۴٪ نسبت به شاهد افزایش دادند.

جدایه‌های SR16، SR32 و SR18 جذب آهن اندام هوایی کنگد را نسبت به شاهد افزایش دادند. کاربرد باکتری‌های SR16، SR32 و SR18 توانست جذب آهن اندام هوایی را نسبت به شاهد به ترتیب به میزان ۰/۲۰/۸٪، ۰/۱۳/۸٪ و ۰/۸/۳٪ افزایش دهند اما این افزایش تنها در جدایه SR32 معنی‌دار بود (جدول ۶). کلوپر و همکاران (۱۹۸۰) گزارش کردند که سیدروفورهای میکروبی می‌توانند با افزایش فراهمی آهن در خاک اطراف ریشه، رشد ریشه و جذب آهن را افزایش دهند (۲۵). پلسنر و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که باکتری‌های ریزوبیومی قادرند از طریق تولید سیدروفور، آهن را کلاته کنند (۳۴). کارسون و همکاران (۲۰۰۰) نیز مشاهده کردند باکتری‌های *Sinorhizobium*، *Rhizobium meliloti*

جدول ۵- تجزیه واریانس تأثیر جدایه‌ها بر میزان عناصر غذایی اندام هوایی کنجد.

Table 5. Analysis of variance for the effects of isolates on shoot nutrient in Sesame.

میانگین مربعات Mean square				درجه آزادی	منابع تغییر
P	Fe	Zn	Cu		
3.82***	1821**	7.43***	185***	5	جدایه (isolate)
0.056	486.61	1.21	26.2	18	خطا (error)
17.3	14.8	16.7	15.6	-	ضریب تغییرات (CV)

*** و ** به ترتیب معنی دار بودن در سطح ۰/۱ و ۱ درصد.

*** and ** Significant at 0.1 % and 1% level of probability, respectively.

جدول ۶- مقایسه میانگین تأثیر جدایه‌ها بر جذب عناصر غذایی در اندام هوایی کنجد.

Table 6. Mean comparison for effects of isolates on nutrient uptake in shoot of Sesame.

جذب عناصر غذایی (Nutrient uptake)				شماره جدایه (isolate)
Cu	Fe	Zn	P	
	μgpot^{-1}		mgpot^{-1}	
22 ^c	115 ^c	5.65 ^b	3.11 ^c	SR3
39 ^a	164 ^{ab}	7.85 ^a	4.31 ^{bc}	SR16
41 ^a	156 ^{ab}	8.78 ^a	5.91 ^a	SR18
30 ^{bc}	136 ^{bc}	5.92 ^b	4.15 ^{bc}	SR24
34 ^{ab}	174 ^a	5.89 ^b	4.85 ^{ab}	SR32
28 ^{bc}	144 ^{bc}	5.54 ^b	3.62 ^c	شاهد (Control)

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون بدون اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد به روش دانکن می‌باشند.

The means with a same letter are not significantly different ($P < 0.05$) by Duncen test.

کنجد را افزایش دهند. در بین جدایه‌ها، جدایه SR18

بیشترین تأثیر را روی پارامترهای رشد و جذب عناصر غذایی کنجد داشت.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع جدایه‌های منتخب دارای توانایی تولید IAA، سیدروفور و حل فسفات‌های معدنی کم‌محلول توانستند شاخص‌های رشد (اندام هوایی و ریشه) گیاه

منابع

1. Abd-Alla, M.H. 1994. Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* phosphatases. *Biology and Fertility of Soils*, 18: 216-218.
2. Alikhani, H.A., Saleh-Rastin, N., and Antoun, H. 2003. Evaluation of siderophore production in indigenous rhizobium strains from Iranian soils. *Iran. J. Soil Water Sci.* 17: 177-189.
3. Alexander, D.B., and Zuberer, D.A. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12: 39-45.

4. Alia-Afzal, A., Khokhar, S.N., Jabeen, B., and Asad, S.A. 2013. Phosphate solubilizing bacteria associated with vegetables roots in different ecologies. Pak. J. Bot. 45: 535-544.
5. Antoun, H., and Kloepper, J.W. 2001. Plant growth promoting rhizobacteria. P 1477-1480, In: Brenner, S., and J.H. Miller (eds.), Encyclopedia of Genetics, Academic, New York, USA.
6. Aora, N.K., Kang S.C., and Maheshwari, D.K. 2001. Producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. Current Science, 81: 673-677.
7. 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.). Austr. J. Agric. Res. 55: 187-194.
8. Benet, E., Tuzan, S., Chanway, C.P., and Enebak, S. 2001. Alteration in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. Can. J. Microbiol. 47: 793-800.
9. Biswas, J.C., Ladha, J.K., and Dazzo, F.B. 2000. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. Soil Sci. Soc. Amer. J. 64: 1644-1650.
10. Biswas, R.B., and Jourand, P. 2010. Indole acetic acid and ACC deaminase-producing *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* SN10 promote rice growth and in the process undergo colonization and chemotaxis. Biology and Fertility of Soils, 48: 173-182.
11. Carson, K.C., Meyer, J.M., and Dilworth, M.J. 2000. Hydroxamate siderophore of root nodule bacteria. Soil Biology and Biochemistry, 32: 11-21.
12. Chi, F., Yang, P., Han, F., Jing, Y., and Shen, S. 2010. Proteomic analysis of rice seedlings infected by *sinorhizobium meliloti* 1021. Proteomics, 10: 1861-1874.
13. Dilworth, M.J., Carson, K.C., Giles, R.G.F., Byrne, L.T., and Glenn, A.R. 1998. *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* produces a novel cyclic trihydroxamate siderophore, vicibactin. Microbiology, 144: 781-791.
14. Ekin, Z. 2011. P-solubilizing bacteria and phosphorus fertilizer applications to sunflower improve seed set, seed filling efficiency and concentration of macro and micro nutrients of seeds. Turk. J. Field Crops. 16: 183-189.
15. Etesami, H., Alikhani, H.A., and Saleh Rastin, N. 2007. Growth chamber assessment of superior IAA producing rhizobial strains and the effect of Ag and tryptophan treatments on wheat growth indices. J. Res. Dev. Agric. Hort. 74: 17-23.
16. Fabiano, E., Gualtieri, G., Pritsch, C., Polla, G., and Arias, A. 1994. Extent of high-affinity iron transport systems in field isolates of rhizobia. Plant and Soil, 164: 177-185.
17. Frankenberger, W.T., Chang, A.C., and Arshad, M. 1990. Response of *Raphanus sativa* to the auxin precursor, L-tryptophan applied to soil. Plant and Soil, Pp: 235-241.
18. Ghazaeiyan, M., alikhani, H.A., lakziyan, A., and Hagh niya, G.H. 2004. The study of symbiotic and phosphate solubility efficiency of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*. Iran. J. Field Crops Res. 3: 1-11.
19. Halder, A.K., Mishra, A.K., Bhattacharyya, P., and Chakrabarty, P.K. 1990. Solubilization of rock phosphate by *rhizobium* and *bradyrhizobium*. J. Appl. Microbiol. 36: 81-92.
20. Hameeda, B., Rupela, O.P., Reddy, G., and Satyavani, K. 2006. Application of plant growth-promoting bacteria associated with composts and macrofauna for growth promotion of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). Biology and Fertility of Soils, 44: 260-266.
21. Hansen, N.C. 2004. Iron deficiency of soybean in the North Central U.S and associated soil properties. Soil Science and plant Nutrition, 50: 983-987.
22. Karadeniz, A., Topcuoglu, S.F., and Inan, S. 2006. Auxin, gibberlin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. World J. Microbiol. Biotechnol. 22: 1061-1064.
23. Karla, Y.P. 1998. Reference methods for plant Analysis, soil and plant analysis Council, Inc. - CRC Press, Boca Raton, USA. 191p.
24. Kremer, R.J. 1987. Identity and properties of bacteria inhabiting seeds of selected broadleaf weed species. Microbial Ecology, 14: 29-37.

25. Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M.N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature*, 286: 885-886.
26. Kloepper, J.W., Lifshitz, R., and Zablutowicz, R.M. 1989. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*, 7: 39-44.
27. Kravchenko, L.V., Leonova, E.I., and Tikhonovich, I.A. 1994. Effect of root exudates of non-legume plants on the response of auxin production by associated diazotrophs. *Microbial Releases*, 2: 267-271.
28. Machado, R.G., de Sá, E.L.S., Bruxel, M., Giongo, A., Santos, N.S., and Nunes, A.S. 2013. Indoleacetic acid producing rhizobia promote growth of Tanzania grass (*Panicum maximum*) and Pensacola grass (*Paspalum sauriae*). *Inter. J. Agric. Biol.* 15: 827-834.
29. Marschner, H., and Römhled, V. 1983. In vivo measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface: effect of plant species and nitrogen source. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 111: 241-251.
30. Mehboob, I., Naveed, M., Zahir, A.Z., and Muhammad, A. 2012. Potential of Rhizobia for sustainable production of non-legumes. *Crop Production for Agricultural Improvement*, 12: 659-704.
31. Neeru, N., Vivek, K., Rishi, K., and Wolfgangy, M. 2000. Effect of P-solubilizing *Azotobacter chroococcum* on N, P, K uptake in P-responsive genotypes grown under greenhouse condition. *Plant Nutrition and Soil Science*, 163: 393-398.
32. Neiland, J.B. 1981. Iron absorption and transport in microorganisms. *Annual Review of Nutrition*, 1: 4-24.
33. Paul, E.A. 2007. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, 3rd Ed Academic Press is an imprint of Elsevier, London, UK. 515p.
34. Plessner, O., Klapatch, T., and Guerinet, M.L. 1993. Siderophore utilization by *Bradyrhizobium japonicum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 1688-1690.
35. Roebbelen, G., Downey, R.K., and Ashri, A. 1989. *Oil Crops of the world*. Mc Graw-Hill Pub., New York, USA. 553p.
36. Sarathambalm, C., Thangaraju, M., Paulraj, C., and Gomathy, M. 2010. Assessing the Zinc solubilization ability of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in maize rhizosphere using labelled ⁶⁵Zn compounds. *Ind. J. Microbiol.* 50: 103-109.
37. Sergeera, E., Hirkala, D.L., and Nelson, L.M. 2007. Production of Indole-3-Acetic Acid, aromatic amino acid aminotransferase activities and plant growth promotion by pantoea agglomerans rhizosphere isolates. *Plant and Soil*, 297: 1-13.
38. Seridevi, M., and Mallaiah, K.V. 2007. Production of indole-3-acetic acid by *Rhizobium* isolates from *Sesbania* species. *Afric. J. Microbiol. Res.* 1: 125-12.
39. Shokri, D., and Emtiazi, G. 2012. Purification and optimization of auxin (Indole-3-Acetic Acid) hormone in *Rhizobium* bacterium. *J. Soil Biol.* 25: 194-204.
40. Sperber, J.I. 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizospher. *Austr. J. Agric. Res.* 9: 778-781.
41. Sundra, B., Natarajam, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*, 77: 43-49.
42. Tien, T.M., Gaskins, M.H., and Hubbell, D.H. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasiliense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 37: 1016-1024.
43. Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571-586.



The effect of *Synorhizobium meliloti* inoculation on nutrient uptake and growth of Sesame Plant

N. Khodabakhshi¹, *A.R. Akhgar², P. Abbaszadeh Dahaji³ and A. Tajabadipour²

¹M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan,

²Associate Prof., Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan,

³Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan

Received: 01/21/2014; Accepted: 10/30/2014

Abstract

Background and Objectives: Sesame (*Sesamum indicum* L.) is an annual plant, from monocotyledons and Gamopetalous order and Pedaliaceae family. Sesame is a valuable oil seed which has 45 up to 62 percentage of oil due to the condition and variety. This oil is so durable because of a phenolic antioxidant compound called Sesamol. Rhizobium bacteria like plant growth promoting rhizobacteria are capable of improving and increasing non-legume plant growth and yield through growth promoting mechanisms like Indole-3-acetic acid hormone production, siderophore production and also increase of the solubility and uptake of nutrients, particularly phosphorus. Therefore, the present study was performed to evaluate some of the plant growth promoting characteristics of *Synorhizobium meliloti* bacteria and assess their ability to increase the growth and improve the nutritional condition of sesame as a non-legume plant.

Material and Method: A greenhouse experiment was conducted in order to evaluate the effect of some of *Synorhizobium meliloti* isolates on growth and nutrients uptake in sesame. Firstly, all of the isolates were examined for IAA and siderophore production and their ability to dissolve insoluble mineral phosphates. Then, 5 superior isolates based on IAA and siderophore production and also solubilization of insoluble mineral phosphates were selected and used with a control treatment in a completely randomized design with four replications. Several sesame seeds of same size were selected and then surface sterilized for greenhouse experiment. The five Kg plastic pots were filled with sandy loam non-sterile soil with low salinity (EC=1.4 dS.m⁻¹) and low available phosphorus (5 mg.kg⁻¹). 15 sesame seeds were planted in each pot. The seeds were inoculated with 500 µL of bacterial suspension (population: 10⁸cfu.g⁻¹) after cultivation. The plants were cut from the crown and the length, shoot and root dry weight were measured in blooming phase. The phosphorus, iron, zinc and copper concentration were then determined in shoot.

Results: The results related to dissolution of mineral phosphorus showed that all of the isolates had the ability to solubilize Tricalcium Phosphate in sperber medium and the highest phosphorus solubilization was related to SR18 isolate (139 µg.ml⁻¹). Also isolates SR3 and SR32 produced the highest amount of siderophore. The results of greenhouse experiment demonstrated that the tested isolates could increase sesame shoot dry weight compared to the control. This augmentation was significant in SR3, SR16 and SR18. Most of the tested isolates also could increase nutrient uptake in sesame shoot but the only isolate which could significantly increase shoot nutrient uptake including P, Zn, Cu and Fe in comparison with control was SR18.

Conclusion: To summarize, the selected isolates which could produce IAA, siderophore and solubilize poorly soluble inorganic phosphates had the ability to raise sesame growth factors (shoot and root). Among all of the isolates, SR18 was the most effective on growth factors and nutrient uptake in sesame.

Keywords: Auxin, Siderophore, Growth indexes, Plant growth promoting rhizobacteria

* Corresponding Authors; Email: arakhgar@yahoo.com