

## اثر تلقیح دوگانه میکروارگانسیم‌ها با بذر بر غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه و عملکرد دانه جو تحت سطوح مختلف نیتروژن

حمیده خلیج<sup>\*</sup>، طاهره حسن‌آبادی<sup>۲</sup>، مریم دلفانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده کشاورزی دانشگاه پیام نور، <sup>۲</sup> دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران

<sup>۳</sup> گروه زراعت-فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه ایلام

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۰۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۲۴)

### چکیده

به‌منظور بررسی اثر تلقیح دوگانه باکتری حل‌کننده فسفات و آزوسپیریلوم بر وضعیت تنظیم‌کننده‌های رشدی و عملکرد دانه جو تحت سطوح مختلف نیتروژن آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج در سال ۱۳۹۳ انجام شد. آزمایش در قالب طرح اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی بوده و تیمارها شامل عامل اصلی کود شیمیایی اوره در چهار سطح شامل (صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد که به‌ترتیب معادل با صفر، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار است) و عامل‌های فرعی شامل باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم در دو سطح (کاربرد و عدم کاربرد باکتری) با سه تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد کاربرد توأم ۷۵ درصد کود اوره و باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم و کاربرد اصلی سودوموناس فلورسنس بیشترین میزان تنظیم‌کننده رشد اکسین را حاصل کردند. اثر متقابل دوگانه اوره و باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم و اثر متقابل دوگانه باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم و باکتری سودوموناس فلورسنس بیشترین میزان تنظیم‌کننده رشد سیتوکینین را تولید کردند. میزان جیبرلین در تیمار سه‌گانه کاربرد ۱۰۰ درصد کود اوره، باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم و باکتری سودوموناس فلورسنس نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف هر سه تیمار) ۲۶۱/۱ درصد اختلاف داشتند. بیشترین میزان عملکرد دانه در تیمارهای سودوموناس فلورسنس (۴۷۰۰ کیلوگرم در هکتار) و کاربرد توأم ۱۰۰ درصد کود اوره و باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم (۵۵۰۰ کیلوگرم در هکتار) مشاهده گردید. به‌نظر می‌رسد که کاربرد کود اوره و استفاده از هر دو نوع کود بیولوژیکی به‌دلیل پتانسیل بالای باکتری‌های محرک رشد ریزوسفری در تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی سبب افزایش رشد ریشه گردیده است که در نهایت باعث افزایش جذب آب و مواد غذایی از خاک و افزایش عملکرد دانه شد.

واژه‌های کلیدی: اکسین، باکتری، تنظیم‌کننده رشد، جیبرلین، سیتوکینین

### مقدمه

موجب کاهش رشد و نمو گیاه می‌شود. این پیری زودرس ممکن است مربوط به تأثیر میزان نیتروژن بر تولید سیتوکینین‌ها باشد. وقتی تغذیه نیتروژن کافی نباشد تولید سیتوکینین‌ها

نیتروژن نخستین عنصر غذایی است که در شرایط کمبود آن گیاه سریع‌تر وارد فاز گلدهی و رسیدگی شده که در نهایت

(deaminase-، قدرت حل‌کنندگی فسفات و تولید سیدرفور از جمله دیگر مکانیسم‌هایی است که باکتری سودوموناس فلورسنس توسط آنها موجب افزایش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (Samman et al., 2008).

باکتری‌های ریزوسفری در تولید و ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد از جمله اکسین، سیتوکینین و جیبرلین مؤثر هستند و این تنظیم‌کننده‌های رشد خصوصیات مورفولوژی، تغذیه و رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Pati et al., 1995). تنظیم‌کننده‌های رشد به‌خصوص اکسین اغلب ویژگی‌های سیستم ریشه‌ای از قبیل رشد اولیه ریشه، تشکیل ریشه‌های جانبی و تارهای کشنده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (قربانپور و همکاران، ۱۳۹۳، Vessey and Buss, 2002). تولید IAA (ایندول استیک اسید) توسط باکتری‌های محرک رشد باعث طول‌شدن و تکثیر سلول‌های گیاهی می‌شود (Smith and Miransari, 2014). توسعه سیستم ریشه‌ای سبب افزایش جذب عناصر غذایی و آب و در نهایت باعث افزایش عملکرد و رشد و نمو می‌گردد (Kapulnik et al., 1982; Bashan and Levanony, 1990). باکتری‌های محرک رشد از طریق دخالت مستقیم ایندول استیک اسید و سیتوکینین بر رشد و نمو گیاه کاهو و کلزا تأثیرگذار بودند (Noel et al., 1996). همبستگی بالایی بین افزایش طول ریشه برنج تلقیح‌شده و تولید تنظیم‌کننده‌های گیاهی از طریق کاربرد سویه‌های سراتیا و سودوموناس مشاهده شد (Young, 1991).

از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توان به جنس‌های آزوسپیریلوم لیپوفروم و سودوموناس فلورسنس اشاره نمود که دارای پتانسیل همراهی با گیاهان زراعی هستند. تحقیقات مختلف نشان داد کاربرد باکتری‌های محرک رشد در گیاه گندم (فلاح و همکاران، ۱۳۹۳)، سویا (دباغیان و همکاران، ۱۳۹۴) و کنجد (رضوانی مقدم و همکاران، ۱۳۹۳) مزایایی همانند بهبود جذب عناصر غذایی، افزایش عملکرد گیاهان و نیز مقابله با بیماری‌های خاکزی را فراهم می‌سازند. هدف از اجرای این پژوهش بررسی تأثیر کاربرد باکتری حل‌کننده فسفات و آزوسپیریلوم تحت سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد دانه و

کاهش می‌یابد و کاهش این تنظیم‌کننده رشد سبب پیری زودرس می‌شود (حق‌پرست تنها، ۱۳۷۱). کیفیت خاک نه تنها به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن وابسته است بلکه ارتباط بسیار نزدیکی با خصوصیات بیولوژیکی آن نیز دارد (Masto et al., 2006).

کودهای زیستی یکی از بهترین ابزارهای نوین کشاورزی جهت جایگزینی کودهای معدنی است که سبب اثرات منفی بر اکوسیستم‌ها از جمله آب زیرزمینی و انتشار گازهای مضر به اتمسفر و آلودگی جوی را سبب می‌شوند هستند (Dolfode, 2017). جوامع میکروبی در یک اکوسیستم به‌دلیل نقش مهمی که در فرآیندهای خاک و تولید گیاه دارند حایز اهمیت هستند (Tilak et al., 2005). استفاده از کودهای بیولوژیکی همراه با کودهای معدنی یا کود سبز باعث افزایش کارایی جذب مواد معدنی و آلی خاک توسط گیاهان می‌شوند؛ همچنین باعث تغییر وضعیت خاک از جمله بهبود ظرفیت نگهداری آب خاک، افزایش جذب NPK و محتوی کربن آلی خاک می‌شوند (Bubarai and Rao, 2018).

استفاده از باکتری‌های مفید مانند باسیلوس، سودوموناس، آرتروباکتر، کلوستریدیم، نیتروزوموناس، میکروکوکوس، ریزوبیا، ازتوباکتر و آزوسپیریلوم (Bertrand et al., 2001) در سیستم‌های تولید زراعی نتایج مؤثری همچون بهبود تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، حلالیت و جذب فسفر و قابلیت حلالیت پتاسیم و سایر عناصر درون خاک نشان داده است (Le et al., 2018). افزایش رشد ریشه یکی از مهم‌ترین مزیت‌های تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر گیاهان است که توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. باکتری‌های سودوموناس فلورسنس دارای توانایی تولید مواد گیاهی تقویت‌کننده رشد و برخی از متابولیت‌های ثانویه‌ای که سبب افزایش جذب عناصر غذایی می‌شود را دارا است و بدین علت تأثیر مثبت بسیار زیادی بر رشد گیاهان دارد (Salim et al., 2018). علاوه بر افزایش جذب عناصر غذایی سنتز بیولوژیک تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بوسیله ریزجانداران، کنترل پاتوژن‌های گیاهی، توان تولید ACC دامیناز ۱ aminocyclopropane-1-carboxylate

میزان تنظیم کننده رشدی گیاه جو بود.

### مواد و روش ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی ماهدشت در مرکز تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج با موقعیت ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه عرض جغرافیایی ۵۱ درجه، ۵۶ دقیقه طول جغرافیایی با ارتفاع ۱۳۱۳ متر از سطح دریا و در زمینی به مساحت ۱۴۳۰ متر مربع اجرا شد. آزمایش در قالب طرح اسپلیت پلات فاکتوریل با سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل عامل اصلی کود نیتروژن از منبع اوره (صفر. N/ = صفر کیلوگرم اوره در هکتار، ۷۵ = N/۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار، ۱۱۲ = N/۷۵ کیلوگرم اوره در هکتار، ۱۰۰ = N/۱۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار) و عامل های فرعی شامل باکتری آزوسپیریولوم لیپوفروم در دو سطح (کاربرد و عدم کاربرد باکتری) و باکتری سودوموناس فلورسنس در دو سطح (کاربرد و عدم کاربرد باکتری) بود. باکتری های مورد استفاده در این تحقیق در بخش بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران تکثیر شد و جمعیت باکتری ها  $10^8$  سلول باکتری در هر گرم مایه تلقیح بود. باکتری ها متعلق به دو جنس آزوسپیریولوم لیپوفروم و سودوموناس فلورسنس بودند. براساس تجزیه ویژگی های فیزیکی و شیمیایی بافت خاک در عمق صفر تا ۳۰ سانتی متر (جدول ۱) محل آزمایش به میزان ۱۰۰ (کیلوگرم در هکتار) سوپرفسفات تریپل به طور یکنواخت در کل سطح زمین پخش شد. کود نیتروژن از منبع اوره نیز براساس تیمارها در کرت های مورد نظر توزیع گردید که ۵۰ درصد آن در زمان کشت در اوایل آبان ماه و ۵۰ درصد مابقی نیز قبل از گلدهی در زمین توزیع شد. قبل از کاشت یک شخم عمیق و دو دیسک عمود بر هم انجام گرفت. سپس با استفاده از فاروئر عملیات جوی و پشته انجام گرفت. برای هر کرت آزمایشی ۶ پشته با طول ۳/۵ متر و به فاصله ۵۰ سانتی متر از یکدیگر ایجاد شد.

رقم جو مورد استفاده در این آزمایش رقم ریحان بود که رقمی پر محصول، زودرس و نیمه حساس به سرما است. مقدار

بذر مصرفی بر مبنای ۳۰۰ بوته در متر مربع در نظر گرفته شد که بذرها به طور یکسان برای کلیه تیمارها توزین گردید که ۱۲ کیلوگرم بذر ضد عفونی نشده مورد استفاده قرار گرفت و برای هر کرت ۲۵۰ گرم بذر استفاده شد و به طور یکسان در تمامی تیمارها توزین و پس از آغشته نمودن بذر با باکتری ها (جمعیت باکتری های مورد استفاده در آزمایش  $10^{10}$  cfu/ml بود) در تیمارهای مختلف بذور روی پشته ها کشت شدند. مقدار بذر مصرفی بر مبنای ۳۰۰ بوته در متر مربع در نظر گرفته شد. در طول فصل رشد آبیاری به صورت نشتی صورت گرفت. زمان برداشت اواخر خرداد ماه ۹۴ بود. به منظور اندازه گیری عملکرد دانه با حذف حاشیه از چهار خط میانی هر یک به طول ۱ متر برداشت شد و در مجموع از هر کرت ۲ متر مربع برداشت انجام شد.

نمونه برداری به منظور اندازه گیری تنظیم کننده های رشد گیاهی در مرحله گل دهی انجام شد که از هر کرت آزمایشی ۳ نمونه به طور تصادفی برداشت شده و تنظیم کننده رشد از برگ پرچم گیاه اندازه گیری شده است.

### روش تعیین غلظت تنظیم کننده های رشدی: به منظور

تعیین غلظت هورمون ها از دستگاه HPLC مدل Unicam استفاده شد. ستون دستگاه Hiq sil-c18 به ابعاد (قطر داخلی ۵ میکرومتر × قطر خارجی ۴/۶ میلی متر × طول ۲۵ سانتی متر) بود و با روش ایزوکراتیک جداسازی انجام گرفت. این ستون برای جداسازی تنظیم کننده های رشد اکسین و سیتوکینین استفاده شد و از ستون (Zor bax SB-C18) به ابعاد (قطر داخلی ۳/۵ میکرومتر × قطر خارجی ۱/۲ میلی متر × طول ۱۵ سانتی متر) برای جداسازی تنظیم کننده رشد جیبرلین مورد استفاده قرار گرفت. حلال شستشو حاوی نسبت مساوی آب یونیزه و متانول فوق خالص همراه ۰/۲٪ فورمیک اسید با سرعت شستشوی ۱ میلی متر بر دقیقه بود و مقدار تزریق ۲۵ میکرولیتر بود. برای تهیه محلول های استاندارد هر یک از تنظیم کننده های رشد از غلظت ۱ گرم بر لیتر در متانول استفاده گردید در این محلول همچنین ۰/۱٪ فورمیک اسید اضافه شد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد (Zhao, 2010).

جدول ۱- نتایج فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش (عمق صفر تا ۳۰ سانتی متر)

عمق نمونه‌گیری (cm)	هدایت الکتریکی (ds/m)	اسیدیته	ازت کل (%)	فسفر قابل جذب (gr/kg)	پتاسیم (%)	شن (%)	رس (%)	سیلت (%)
۰-۳۰	۱/۱۰	۷/۸	۰/۰۹	۱۰	۳۵۰	۳۲	۲۲۷/	۴۵/۷

تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در محیط نرم‌افزار SAS (Version 9.1) و نمودارها در محیط نرم‌افزار Excel 2003 رسم گردید.

### نتایج و بحث

**غلظت اکسین:** تجزیه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری تنظیم‌کننده رشد اکسین نشان داد که غلظت اکسین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر هر سه اثر اصلی کود نیتروژن ( $P < 0/01$ )، باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم ( $P < 0/01$ ) و باکتری سودوموناس فلورسنس ( $P < 0/05$ ) و اثر متقابل کود نیتروژن × باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم ( $P < 0/05$ ) قرار گرفت (جدول ۲). همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد که کاربرد تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنس نسبت به تیمار عدم کاربرد باعث افزایش غلظت ۳۳/۷ درصدی اکسین شده است. باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق مکانیزم تولید تنظیم‌کننده‌های رشد به‌ویژه انواع اکسین، سیتوکینین، و جبریلین رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

در میان میکروارگانیسم‌های تولیدکننده اکسین، سودوموناس‌ها از فراوانی بیشتری برخوردارند (Misko and Germida, 2002). تولید غلظت‌های بالای IAA توسط باکتری‌های سودوموناس فلورسنس یک خصوصیت بارز برای اکثر این باکتری‌هاست (Ahmad et al., 2008). در پژوهشی مشخص گردید که تمامی جدایه‌های سودوموناس فلورسنس مورد آزمایش توانایی تولید IAA را داشتند (Karnwal, 2009). در تحقیق دیگری توانایی تولید IAA در تمامی سویه‌های سودوموناس مورد بررسی تأیید شد (Bent et al., 2001; Glick, 1995; Patten and Glick, 2002). بیشترین میزان تنظیم‌کننده اکسین در کاربرد توأم کود اوره

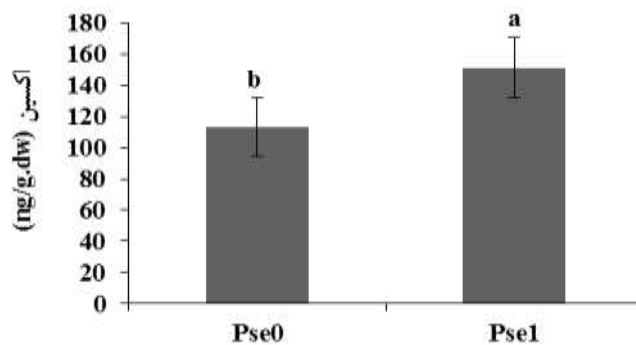
۷۵٪ (۱۱۲ کیلوگرم در هکتار) و تلقیح با باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم مشاهده شد که اختلاف ۱۱۷/۳ درصدی با تیمار عدم استفاده از کود نیتروژن و عدم تلقیح باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم (کمترین میزان غلظت اکسین) داشت (جدول ۲). البته تیمار کاربرد کود نیتروژن ۵۰٪ (۷۵ کیلوگرم در هکتار) × تلقیح با باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم و تیمار کود نیتروژن ۱۰۰٪ (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) و تلقیح با باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم نیز با تیمار تولیدکننده بیشترین میزان تنظیم‌کننده رشد در یک سطح آماری قرار داشتند (شکل ۲). نتایج نشان داد که کاربرد سطوح مختلف نیتروژن بر میزان تولید اکسین اثر مثبت داشت. غلظت اکسین در تیمار اثر متقابل کاربرد آزوسپیریوم با ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و صفر٪ کود نیتروژن نسبت به تیمارهای عدم کاربرد آزوسپیریوم با ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و صفر٪ کود اوره به‌ترتیب افزایش ۴۹/۶، ۶۰/۳، ۸۹/۳، ۱۲/۵ درصدی داشت که بیان‌کننده این بود که عدم کاربرد آزوسپیریوم بیشترین تأثیر خود را در سطح نیتروژن ۵۰٪ دارا بوده است. به‌نظر می‌رسد با توجه به نقش این باکتری‌ها در تولید تنظیم‌کننده‌های رشد و اثر سینرژیستی در کاربرد همزمان باکتری‌ها در کنار کود نیتروژن اثر مثبتی بر میزان اکسین داشته است.

قسمت عمده ازت موجود در گیاه به شکل آلی است و نقش مهمی در ساختار مولکولی اکسین و پیش‌سازهای آن دارد و می‌تواند منجر به افزایش غلظت اکسین در گیاه شود (کافی و همکاران، ۱۳۷۹). در تحقیقات انجام‌شده در گیاه ذرت تولید اکسین، سیتوکینین، جبریلین توسط باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم باعث افزایش معنی‌داری در رشد و نمو ذرت شد (Fulchieri et al., 1993). افزودن نیتروژن از منبعی مانند اوره اثر بازدارندگی بر تشکیل اکسین خاک می‌گذارد. و این کاهش در میزان اکسین تولیدی می‌تواند به‌دلیل استفاده کمتر از

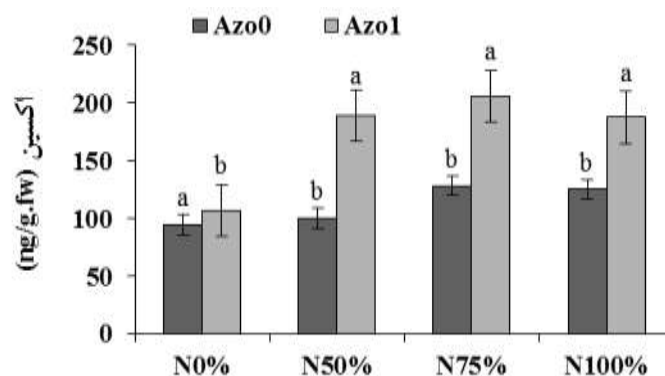
جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مقادیر اکسین، سیتوکینین، جیبرلین و عملکرد دانه در گیاه جو

منابع تغییرات	درجه آزادی	اکسین	جیبرلین	سیتوکینین	عملکرد دانه
بلوک	۲	۱۱۴۱	۰/۱۹۱	۰/۰۷۳	۱۵۶۱۸۱۹۷
کود نیتروژن	۳	۱۰۲۲۹**	۳۳/۵**	۹/۱۵**	۳۹۸۱۲۰۸**
خطا a	۶	۹۹۱	۰/۸۳۴	۰/۶۶۰	۳۴۵۸۴۹
آزوسپیریوم	۱	۴۳۴۶۴**	۸۰/۹**	۴۹/۷**	۷۱۴۵۶۳۳**
سودوموناس	۱	۳۹۷۸*	۳/۳۹*	۸/۶۶**	۱۵۱۷۲۷۴**
نیتروژن×آزوسپیریوم	۳	۳۴۸۷*	۵**	۳/۷۰**	۱۲۴۲۰۶۶**
نیتروژن×سودوموناس	۳	۷۵۵ <sup>ns</sup>	۰/۹۹۳ <sup>ns</sup>	۰/۱۴۶ <sup>ns</sup>	۲۷۶۴۹ <sup>ns</sup>
آزوسپیریوم×سودوموناس	۱	۱۱۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۳/۴۲**	۳۳۰۰۰۸ <sup>ns</sup>
آزوسپیریوم×سودوموناس×کود نیتروژن	۳	۱۸۲۱ <sup>ns</sup>	۳/۰۹*	۰/۰۲۸	۳۳۸۰۸۹ <sup>ns</sup>
خطا b		۱۱۶۴	۰/۷۷۸	۰/۵۱۴	۲۰۶۴۳۱
ضریب تغییرات (%)		۲۳/۹	۸/۸	۱۰/۶۳	۶/۲۵

ns و \*\*،\* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری است.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر سودوموناس فلورسنس بر اکسین (Pse0 = عدم کاربرد سودوموناس، Pse1 = کاربرد سودوموناس). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.



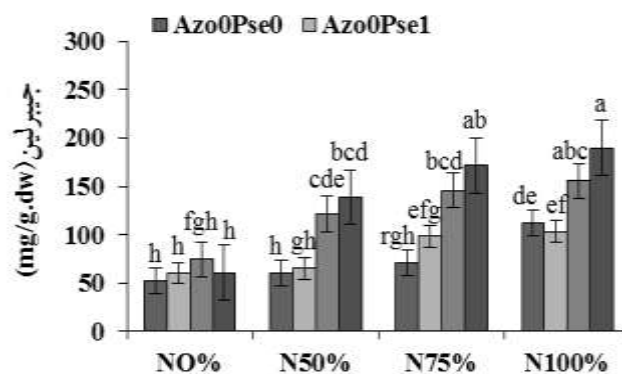
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف کود اوره و آزوسپیریوم لیپوفروم بر اکسین. (Azo0 = عدم کاربرد آزوسپیریوم، Azo1 = کاربرد آزوسپیریوم و N = مقادیر کود اوره صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد که به ترتیب معادل با صفر، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار است). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

تریپتوفان (L-TRP) باشد زیرا کربن و ازت از طریق گلوکز، میکروارگانیسم‌ها بجای استفاده از L-TRP به‌عنوان منبع تغذیه از سایر منابع موجود استفاده خواهند کرد و با توجه به نقش آزوسپیریوم در تولید هورمون ایندول استیک اسید در کنار افزایش کود نیتروژن رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تعداد جمعیت باکتری آزوسپیریوم در مراحل مختلف رشد و نمو گیاهان در کنار کود نیتروژن افزایش می‌یابد و کاربرد نیتروژن معدنی در خاک باعث کمک به تکثیر آزوسپیریوم در این گیاهان شده است (Swerszynska and Sawicka, 2000). در تحقیق عرب و همکاران (۱۳۸۷) توانایی تولید اکسین در تمامی سویه‌های باکتری جداسازی‌شده بومی جنس آزوسپیریوم مشاهده شد. در مطالعات شفیع و همکاران (۱۳۸۶) توانایی تولید اندول-3 استیک اسید علاوه بر فعالیت دی‌آزوتروفی (باکتری‌های آزوتروفی که گاز نیتروژن اتمسفر را به‌صورت قابل جذب برای گیاهان در می‌آوردند مانند آزوسپیریوم) در ۱۷ سویه جدایه بومی *Azospirillum* spp. جداسازی‌شده از ریشه گیاه نیشکر مشاهده شد.

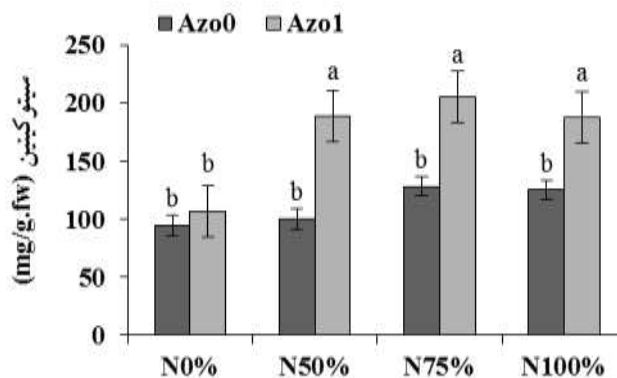
**غلظت جیبرلین:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۲ نشان داد که هر سه اثر اصلی اصلی کود نیتروژن، باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم و باکتری سودوموناس فلورسنس ( $P < 0/01$ ) و اثر متقابل کود اوره  $\times$  باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم ( $P < 0/05$ ) و اثر متقابل سه‌گانه اثر متقابل کود اوره  $\times$  باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم  $\times$  سودوموناس فلورسنس ( $P < 0/05$ ) بر غلظت جیبرلین اثر معنی‌داری داشتند. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود بیشترین غلظت جیبرلین در ترکیب تیماری کاربرد سودوموناس  $\times$  کاربرد آزوسپیریوم  $\times$  ۱۰۰٪ N بود که نسبت ترکیب تیماری عدم‌کاربرد سودوموناس  $\times$  عدم‌کاربرد آزوسپیریوم  $\times$  صفر٪ N (کمترین غلظت جیبرلین) حدود ۲۶۱/۱ درصد اختلاف داشتند. کاربرد هر دو باکتری‌ها اثر مثبتی بر جیبرلین در سطوح مختلف نیتروژن داشت به‌طوری‌که در تمام سطوح نیتروژن اثر افزایشی بر غلظت جیبرلین مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد کاربرد توأم باکتری و کود نیتروژن اثر مثبتی بر غلظت جیبرلین داشته است.

نیتروژن موجود در گیاه در ساختار مولکولی جیبرلین و پیش‌سازهای آن نقش دارد که نهایتاً موجب افزایش جیبرلین در گیاه می‌گردد. از یک‌سو باکتری‌ها با تولید تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله جیبرلین منجر به افزایش رشد ریشه و موجب دسترسی بیشتر گیاه به آب و عناصر غذایی شده و از سوی دیگر کاربرد کود نیتروژن نیز میزان تنظیم‌کننده رشد را افزایش داده و از این طریق باعث تحریک رشد و نمو گیاه می‌گردند (شکاری و همکاران، ۱۳۸۴). باکتری‌های سودوموناس و آزوسپیریوم قادر به تولید تنظیم‌کننده‌های رشد اکسین، سیتوکینین و جیبرلین هستند و از این طریق باعث تحریک رشد و افزایش عملکرد گیاه می‌شوند (Saleh rastin, 2001). در آزمایشی که روی برنج انجام شد نتایج نشان داد که باکتری آزوسپیریوم و سودوموناس قادر به افزایش میزان قابل توجهی جیبرلین در ترشحات ریشه گیاه برنج در مقایسه با گیاه تلقیح نیافته هستند (Raja et al., 2006). باکتری‌های سودوموناس قادر به تولید تنظیم‌کننده‌های رشدی اکسین، جیبرلین و ویتامین‌ها هستند (صالح راستین، ۱۳۸۰). تنظیم‌کننده رشد جیبرلین بر تسریع گل‌دهی و رشد و نمو برگ و افزایش رشد طولی سلول‌ها به‌ویژه میان‌گره‌های ساقه تأثیرگذار است (حمیدی و همکاران، ۱۳۸۵). توانایی تولید جیبرلین با آزوسپیریوم توسط محققین (Lucangeli and Bottini, 1997) گزارش گردیده است. توانایی تولید جیبرلین توسط آزوسپیریوم برازیلنس (*Azospirillum brasilense* Az39) (Cassan et al., 2009) و توانایی تولید GA3 و GA1 در آزوسپیریوم لیپوفروم (Bottini et al., 1989) مشاهده شده است.

**غلظت سیتوکینین:** طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثرات متقابل دوگانه کود اوره  $\times$  باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم و باکتری آزوسپیریوم لیپوفروم  $\times$  سودوموناس فلورسنس در میزان تنظیم‌کننده رشد سیتوکینین اثر معنی‌داری داشتند. بیشترین غلظت سیتوکینین در ترکیب تیماری آزوسپیریوم  $\times$  ۷۵٪ کود اوره مشاهده شد که با ترکیب تیمار آزوسپیریوم  $\times$  ۱۰۰٪ کود اوره در یک سطح آماری قرار داشتند (شکل ۴). بیشترین ترکیب تیماری نسبت به کمترین غلظت در ترکیب تیماری



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف کود اوره، آزوسپیریلیوم لیوفروم و سودوموناس فلورسنس بر غلظت جیبرلین (=Pse0) عدم کاربرد سودوموناس، Pse1 = کاربرد سودوموناس، Azo0 = عدم کاربرد آزوسپیریلیوم، Azo1 = کاربرد آزوسپیریلیوم و (N = مقادیر کود اوره صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد که به ترتیب معادل با صفر، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار است). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

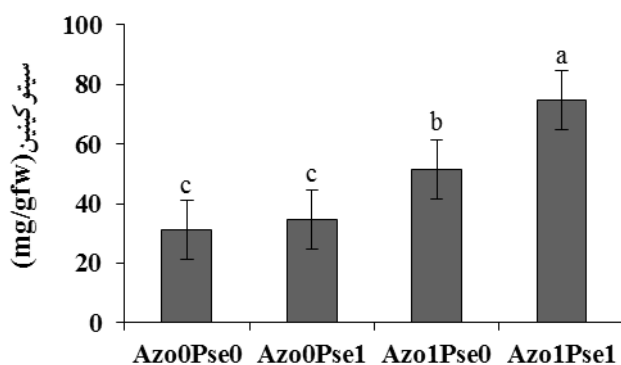


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف کود اوره و آزوسپیریلیوم بر غلظت سیتوکینین (=Azo0) عدم کاربرد آزوسپیریلیوم، Azo1 = کاربرد آزوسپیریلیوم و (N = مقادیر کود اوره صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد که به ترتیب معادل با صفر، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار است). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

کننده‌های رشد گیاه از جمله سیتوکینین موجب افزایش رشد ریشه و جذب بیشتر آب و عناصر غذایی شده و همراه کود نیتروژن غلظت سیتوکینین افزایش یافته و از این طریق باعث تحریک رشد و نمو گیاه می‌شوند.

تولید سیتوکینین از آدنین و الکل ایزوپتیل (IA) در حضور *Azotobacter* و *Pseudomonas* در محیط‌کشت به اثبات رسیده است. در نتایج موجود تولید سیتوکینین توسط باکتری سودوموناس فلورسنس (Salamone et al., 2001) و توانایی تولید Zeatin توسط باکتری *Azospirillum brasilense* Az39 (Cassan et al., 2009) گزارش گردیده است.

عدم کاربرد آزوسپیریلیوم × صفر٪ کود اوره اختلاف ۱۹۷/۴ درصدی با یکدیگر داشتند. همانطور که مشاهده شد کاربرد آزوسپیریلیوم در سطوح مختلف نیتروژن اثر مثبت داشته و سیتوکینین را افزایش داد به طوریکه در تیمار اثر متقابل کاربرد آزوسپیریلیوم با ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و صفر٪ کود اوره نسبت به تیمارهای عدم کاربرد آزوسپیریلیوم با ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و صفر٪ کود اوره به ترتیب افزایش ۱۱۷/۲، ۱۲۸، ۷۴ و ۳۱ درصدی مشاهده شد که بیان‌کننده این مطلب است که بیشترین اثر آزوسپیریلیوم در سطح نیتروژن ۷۵٪ (۲۲۵ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد. به نظر می‌رسد این باکتری‌ها با تولید تنظیم



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل آزوسپیریولوم لیپوفروم و سودوموناس فلورسنس بر غلظت سیتوکینین. Pse0 = عدم کاربرد سودوموناس، Pse1 = کاربرد سودوموناس، Azo0 = عدم کاربرد آزوسپیریولوم، Azo1 = کاربرد آزوسپیریولوم. میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

در ریزوسفر وجود دارد (انصاری و همکاران، ۱۳۹۴). در طی بررسی انجام‌شده توسط انصاری و همکاران (۱۳۹۴) مشخص شد که سویه باکتری فلورسنت سودوموناس S153 بیشترین میانگین غلظت آبسزیک اسید، جیبرلین، ایندول استیک اسید و سیتوکینین در برگ گیاه ذرت را دارا است.

**عملکرد دانه:** تجزیه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری عملکرد دانه نشان داد که اثرات اصلی تیمارها و اثر متقابل کود اوره و باکتری آزوسپیریولوم لیپوفروم در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). در شکل ۶ مشاهده می‌گردد که در تیمار تلقیح سودوموناس ۸ درصد عملکرد دانه نسبت به تیمار شاهد (عدم تلقیح باکتری) افزایش یافت.

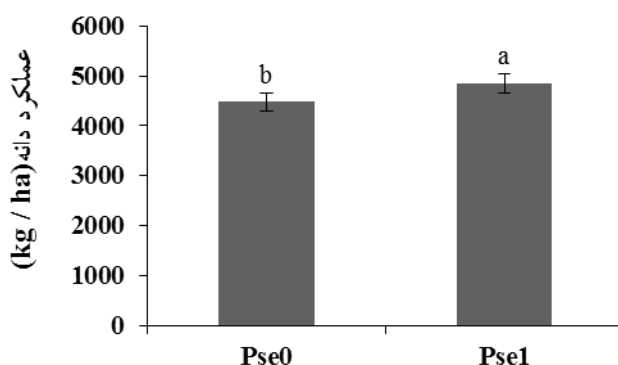
کاربرد *Pseudomonas* و *Azotobacter Chroococcum* نسبت به تیمار شاهد در گیاه کلزا باعث افزایش عملکرد گیاهی گردید به طوری که در تیمار کاربرد این دو کود بیولوژیکی (۰/۰۸ گرم در گیاه) عملکردی معادل با ۱۱/۲ تن در هکتار و در تیمار شاهد عملکردی معادل با ۸/۵ تن در هکتار حاصل گردید (Salim et al., 2018).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بالاترین میزان عملکرد دانه از ترکیب تیماری کود اوره (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) × تلقیح با باکتری آزوسپیریولوم لیپوفروم با میانگینی معادل با ۵۵۰۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین میزان عملکرد دانه در ترکیب تیماری عدم کاربرد کود اوره × عدم تلقیح با میانگین

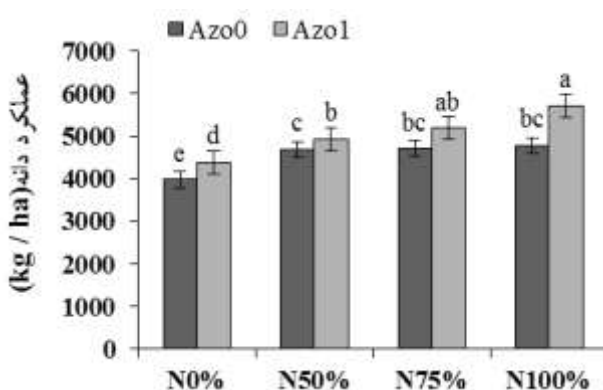
اثر متقابل کاربرد باکتری سودوموناس و آزوسپیریولوم نشان داد بیشترین و کمترین میزان غلظت سیتوکینین به ترتیب در ترکیب تیماری کاربرد همزمان سودوموناس و آزوسپیریولوم و عدم کاربرد آنها مشاهده شد که افزایش ۱۳۹/۹ درصدی را حاصل نمود (شکل ۵). کاربرد همزمان سودوموناس و آزوسپیریولوم بیشترین غلظت سیتوکینین را تولید کرد که نسبت به ترکیبات تیماری عدم کاربرد سودوموناس و آزوسپیریولوم، کاربرد آزوسپیریولوم بدون سودوموناس و کاربرد سودوموناس بدون آزوسپیریولوم به ترتیب افزایش ۱۳۹/۹، ۴۵/۵، ۱۱۴/۷ درصدی را سبب گردید که حاکی از تأثیر بیشتر کاربرد همزمان سودوموناس و آزوسپیریولوم بر غلظت تولید سیتوکینین است که اثرات سینرژیستی بین سودوموناس و آزوسپیریولوم را نشان داد. به نظر می‌رسد بواسطه نقش مثبت این دو باکتری در تولید و تنظیم‌کننده‌های رشد (از جمله سیتوکینین) این دو باکتری نسبت به هم دارای اثرات سینرژیستی هستند که باعث افزایش غلظت سیتوکینین شده و بر رشد و نمو گیاه مؤثر است.

بیش از ۹۰ درصد میکروارگانیسم‌های یافت‌شده در ریزوسفر گیاهی از طریق همزیستی قابلیت تولید سیتوکینین را دارند. اگر چه تولید درون‌زاد سیتوکینین توسط گیاهان هنوز مورد بحث است و جستجو برای ژن‌های مسئول بیوستز سیتوکینین در گیاهان تا کنون ناموفق بوده است با این وجود توجه زیادی به باکتری‌های محرک رشد تولیدکننده سیتوکینین





شکل ۶- مقایسه میانگین اثر باکتری سودوموناس فلورسنس بر عملکرد دانه. Pse0 = عدم کاربرد سودوموناس، Pse1 = کاربرد سودوموناس. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف کود اوره و باکتری آزوسپیریلوم لیپوفروم بر عملکرد دانه. (Azo0 = عدم کاربرد آزوسپیریلوم، Azo1 = کاربرد آزوسپیریلوم و N = مقادیر کود اوره صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد که به ترتیب معادل با صفر، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار است). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

رشد گیاه و عملکرد دانه گزارش شد (Noel *et al.*, 1996). در تحقیق دیگری استفاده از کودهای بیولوژیکی باعث بهبود عملکرد و راندمان مصرف مواد مغذی در گیاهان شد (Schutz *et al.*, 2018).

#### نتیجه‌گیری

در این آزمایش استفاده از ترکیب باکتری آزوسپیریلوم و کود نیتروژن بر میزان غلظت هورمون اکسین، سیتوکینین، جیبرلین و همچنین عملکرد دانه اثر مثبت و افزایشی نشان داده است. و در عملکرد دانه کاربرد آزوسپیریلوم در کنار کود نیتروژن توانست علاوه بر افزایش عملکرد، ۲۵٪ میزان مصرف کود شیمیایی نیتروژن را کاهش دهد. استفاده از باکتری‌های

معادل با ۴۰۰۰ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد (شکل ۷). محققین تأثیر مثبت این باکتری‌ها را به دلیل اثرات مختلف این ریزباکتری‌ها در تثبیت نیتروژن و قابلیت دسترسی بهتر فسفر و همچنین ترشح مواد تنظیم‌کننده و تحریک‌کننده رشد گزارش کردند (Egamberdiyeva and Houflich, 2003). در گیاهانی مانند سورگوم، گندم، سویا و جو کاربرد تلفیقی کودهای زیستی تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفر بر تعادل بیشتر عناصر غذایی مؤثرتر از کاربرد انفرادی آنها است. (Lukas *et al.*, 2018, Aseri *et al.*, 2008). تأثیر مستقیم اکسین و سیتوکینین تولیدشده بوسیله باکتری‌های محرک رشد گیاه در کلزا مورد بررسی قرار گرفت و یک همبستگی بالایی بین اکسین مشتق‌شده از تریپتوفان بوسیله باکتری‌های محرک

تنظیم‌کننده رشد گیاه چه به صورت انفرادی و یا کاربرد توأم (به علت اثرات سینرژیستی) آنها با کود نیتروژن از طریق اثر مثبت و افزایشی که بر میزان غلظت هورون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه داشته است و از طرفی به دلیل افزایش کارایی مصرف نیتروژن موجب افزایش عملکرد دانه گردیده است.

## منابع

- انصاری، م. ح.، اردکانی، م. ر.، اسدی رحمانی، ه.، پاک‌نژاد، ف. و حبیبی، د. (۱۳۹۴) اثر سویه‌های فلورسنت سودومونادس (*Pseudomonas fluorescent*) بر وضعیت تنظیم‌کننده‌های رشد، قندهای محلول و پرولین ذرت تحت تنش خشک. مجله فیزیولوژی محیطی گیاهی ۳۹: ۵۴-۴۲.
- حق‌پرست تنها، م. ر. (۱۳۷۱) تغذیه و متابولیسم گیاهان. چاپ اول، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت.
- حمیدی، آ.، فلاوند، ا.، دهقان شعار، و. م.، ملکوتی، م. ج.، اصغرزاده، ا. و چوگان، ر. (۱۳۸۵) اثرات کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه بر عملکرد ذرت علوفه‌ای. پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی ۷: ۲۲-۱۶.
- دباغیان، ز.، پیردشتی، ه. الف.، عباسیان، الف.، بهاری ساروی، س. ح. (۱۳۹۴) تأثیر کودهای زیستی تیوباسیلوس، ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و گوگرد آلی بر گره‌زایی و عملکرد سویا (*Glycine max*). نشریه زراعت ۱۰۷: ۲۵-۱۷.
- رضوانی مقدم، پ.، امیری، م. ب. و سیدی، س. م. (۱۳۹۳) اثر مصرف کودهای آلی و زیستی بر عملکرد، میزان روغن و ترکیب اسیدهای چرب روغن کنجد (*Sesamum indicum L.*). مجله علوم زراعی ایران ۱۶: ۲۰۹-۲۲۱.
- صالح راستین، ا. (۱۳۸۰) کودهای بیولوژیک، خاک و آب. جلد ۱۲. ویژه‌نامه کودهای بیولوژیک.
- شفیعی، ف.، رعایایی اردکان، م.، صعودی، م. ر.، علمایی، م. (۱۳۸۶) بررسی تولید ترکیبات اندولی و فعالیت نیتروژنازی جدایه‌های بومی *Azospirillum spp.* همیار در نیشکرهای ایران. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۰: ۱۸۰-۱۸۹.
- شکاری، ف.، شکاری، ف.، ابراهیم‌زاده، ا. و اسماعیل‌پور، ب. (۱۳۸۴) تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در کشاورزی و باغبانی. انتشارات دانشگاه مشهد.
- عرب، س. م.، اکبری، غ. ع.، علیخانی، ع.، ارزانش، م. ح. و اله‌دادی، الف. (۱۳۸۷) بررسی توانایی تولید اکسین توسط باکتری‌های جداسازی شده بومی جنس آزوسپیریلوم و ارزیابی اثرات محرک رشدی جدایه برتر بر گیاه ذرت شیرین. مجله پژوهش‌های زراعی ایران ۶: ۲۲۵-۲۱۷.
- فلاح، ع.، مؤمنی، س. و شریعتی، ش. (۱۳۹۳) بررسی اثرات کودهای زیستی باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و کود نیتروژنه بر پارامترهای کمی و کیفی گندم (*Triticum aestivum*). تحقیقات کاربردی خاک ۲: ۱۰۳-۱۱۴.
- قربانپور، م.، حسینی، ن.، خدایی مطلق، م. و سلگی، م. (۱۳۹۳) تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری سودوموناس بر رشد، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis L.*). فصل‌نامه گیاهان دارویی ۱۳: ۸۹-۱۰۰.
- کافی، م.، زند، ا.، کامکار، ب.، شریفی، ح. ر. و گلدانی، م. (۱۳۷۹) فیزیولوژی گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- Ahmad, F., Ahmad, I. and Khan, M. S. (2008) Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research* 163: 173-181
- Aseri, G. K., Jain, N., Panwar, J., Rao, A. V., Meghwal, P. R. (2008) Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of pomegranate (*Punica granatum L.*) in Indian Thar Desert. *Scientia Horticulturae* 117: 130-135
- Bashan, Y. and Levanony, H. (1990) Effect of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Canadian Journal of Microbiology* 36: 591-608
- Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C. P. and Enebak, S. (2001) Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 47: 793-800.

- Bertrand, H., Nalin, R., Bally, R. and Marel, J. C. C. (2001) Isolation and identification of the most efficient plant growth promoting bacteria associated with canola. *Biology and Fertility of Soil* 33: 152-156.
- Bottini, R., Fulchieri, M., Pearce, D. and Pharis, R. (1989) Identification of gibberellins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. *Plant Physiology* 90: 45-47
- Bubarai, M. L. and Rao, S. (2018) "The role of biofertilizer in soils health and their influence on plant growth. A review." *Global Journal for Research Analysis* 7: 8.
- Cassan, F., Maiale, S., Masciarelli, O., Vidal, A., Luna, V. and Ruiz, O. (2009) Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *European Journal of Soil Biology* 45: 12-19.
- Dolfode, V. D. (2017) Effect of biofertilizers on the soil status of brinjal fields. *Life Sciences International Research Journal* 4: 1.
- Egamberdiyeva, D. and Hoflich, G. (2003) Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 973-978.
- Fulchieri, M., Lucangeli, C. and Bottini, R. (1993) Inoculation with *Azospirillum* affects growth and gibberellin status of corn seedling roots. *Plant Cell Physiology* 34: 1305-1309.
- Glick, B. R. (1995) The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 109-117.
- Kapulnik, Y., Sarig, S., Nur, A., Okon, Y. and Henis, Y. (1982) The effect of *Azospirillum* inoculation on growth and yield of corn. *Israel Journal of Botany* 31: 247-255.
- Karnwal, A. (2009) Production of indole acetic acid by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of ltryptophan and rice root exudates. *Journal of Plant Pathology* 91: 61-63.
- Le, T. A., Pek, Z., Takacs, S., Nemenyi, A., Daood, H. G. and Helyes, L. (2018) The effect of plant growth promoting Rhizobacteria on the water-yield relationship and carotenoid production of processing tomatoes. *Horticulture Science* 53: 816-822.
- Lucangeli, C. and Bottini, R. (1997) Effects of *Azospirillum* spp. on endogenous gibberellin content and growth of maize (*Zea mays* L.) treated with uniconazol. *Symbiosis* 23: 63-71.
- Lukas, S., Andreas, G., Mathias, M., Adrian, M., Thomas, B., Paul, M. and Natarajam, M. (2018) Improving crop yield and nutrient use efficiency via biofertilization-a global meta-analysis. *Frontiers in Plant Science* 68: 2204.
- Masto, R. E., Chhonkar, P. K., Singh, D. and Patra, A. K. (2006) Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisoiil". *Soil Biology and Biochemistry* 38: 1577-1582.
- Misko, A. L. and Germida, J. J. (2002) Taxonomic and functional diversity of pseudomonad isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiology Ecology* 42: 399-407.
- Noel, T. C., Sheng, C., Yost, C. K., Pharis, R. P. and Hynes, M. F. (1996) Rhizobium leguminosarum as a plant growth-promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce. *Canadian Journal of Microbiology* 42: 279-283.
- Pati, B. R., Sengupta, S. and Chandra, A. K. (1995) Impact of selected phyllospherie diazotrophs on the growth of wheat seedlings and assay of the growth substances produced by the diazotrophs. *Microbiological Research* 150: 121-127 .
- Patten, C. and Glick, B. R. (2002) Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology* 3795-3801.
- Raja, P., Uma, S., Gopal, H. and Govindarajan, K. (2006) Impact of bio inoculants consortium on rice root exudates, biological nitrogenfixation and plant growth. *Journal of Biological Sciences* 6: 815-823.
- Salamone, I. E. G., Hynes, R. K. and Nelson, L. M. (2001) Cytokinin production by plant growth-promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology* 47: 404-411.
- Saleh Rastin, N. (2001) Biofertilizers and their role in order to reach to sustainable agriculture. A Compilation of Papers of Necessity for the Production of Biofertilizers in Iran 1-54.
- Salim, H. A., Aziz, A. K., Mahdi, M. H., Ali, M. A. K., Salman, M. H., Hussein, M. M. and Hadi, T. A. (2018) Effect of bio-fertilizers *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens* on growth of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica). *Journal of Advances in Biology* 11.
- Samman, S., Chow, J. W. Y., Foster, M. J., Ahmad, Z. I., Phuyal, J. L. and Petocz, P. (2008) Fatty acid composition of edible oils derived from certified organic and conventional agricultural methods. *Food Chemistry* 109: 670-674.
- Schutz, L., Gattinger, A., Meier, M., Muller, A., Boller, T., Mader, P. and Mathimaran, N. (2018) Improving crop yield and nutrient use efficiency via biofertilization-a global meta-analysis. *Frontiers in Plant Sciences* 8: 1-13.
- Smith, D. L. and Miransari, M. (2014) Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 99: 110-121.
- Sweszynska, D. and Sawicka, A. (2000) Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays* ssp. *Saccharata* L.) under different cultivation conditions. *Polish Journal of Environmental Studies* 9: 505-509

- Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N. K. K., Pal, R. D., Saxena, A. K., Shekhar Nautiyal, C. and Johri, B. N. (2005) Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science* 89: 136-150.
- Vessey, J. K. and Buss, T. J. (2002) *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation and N accumulation in grain legumes: Controlled environment studies. *Canadian Journal of Microbiology* 82: 282-290.
- Young, L. J. (1999) Oxytocin and vasopressin receptors and species-typical social behaviors. *Hormones and Behavior* 36: 212-221.
- Zhao, Y. (2010) Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology* 61: 49-64.

## Effect of dual microorganism inoculations of seed on the amount of plant growth regulators and barley grain yield under different nitrogen levels

Hamideh Khalaj<sup>1\*</sup>, Tahereh Hasan Abadi<sup>2</sup>, Maryam Delfani<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty member, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran-Iran.

<sup>2</sup> Young Researchers and Elites Club, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Department of Agronomy and Plant Physiology, University of Ilam, Iran

(Received: 27/11/2018, Accepted: 13/02/2019)

### Abstract

In order to investigate the effects of dual phosphorus and Azospirillum solubilizing bacteria on hormonal condition and barley grain yield under different levels of nitrogen, an experiment was conducted in Agricultural Research Station of Islamic Azad University of Karaj, in 2014. The experiment was carried out as a factorial split-plot design based on randomized complete block design with three replications. The treatments included the main factor of the nitrogen fertilizer in four levels (0, 50, 75 and 100%, equivalent to zero, 150, 225 and 300 kg per Hectares respectively) and sub factors including *Azospirillum lipophorum* bacteria in two levels (application and non-application of bacteria) and also *Pseudomonas fluorescens* bacterium in two levels (application and non-application of bacteria). The results showed that application of 75% nitrogen and *A. lipophorum* and the application of the main treatment of *P. fluorescens* produced the highest amount of auxin hormone. The interactions of urea and *A. lipophorum* and the dual interactions of *A. lipophorum* and *P. fluorescens* produced the highest levels of cytokinin hormone. The levels of hormones showed in the triple treatments of 100% nitrogen, *A. lipophorum* and *P. fluorescens* bacteria compared to the control treatment (not treatments) had 261.1% difference. The highest grain yield was observed in *p. fluorescens* (4700 kg ha<sup>-1</sup>) treatment and using 100% application of urea and *A. lipophorum* (5500 kg ha<sup>-1</sup>). As a result, the application of nitrogen fertilizer and the use of both types of biological fertilizers led to an increase in the production of hormones that ultimately increased root growth, ultimately, increased water absorption and nutrients from the soil and increased grain yield.

**Key words:** Auxin, Bacteria, Cytokinin, Gibberellins, Hormone

