بررسی خصوصیات محرک رشدی جدایه‌های بومی *Azotobacter* و تأثیر تلقیح آنها در شرایط تنش شوری بر رشد ذرت

هوشنگ خسروی[1]

دانشیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران؛ **hhosravi@areeo.ac.ir**

دریافت: **99/7/19** و پذیرش: **1400/3/19**

چکیده

بخش زیادی از خاک‌های ایران دارای درجات مختلفی از شوری بوده بطوریکه تولید محصول در این شرایط تنشی دارای محدودیت زیادی است. باکتری *Azotobacter* می‌تواند رشد گیاهان را توسط ساز و کارهای مختلف تحریک نمایند. تلقیح گیاهان با جدایه‌های برتر بومی این باکتری که با مناطق شور سازگار هستند ممکن است تحمل گیاه به تنش شوری را افزایش دهد. در این مطالعه، 20 جدایه *Azotobacter* بومی خاک‌های ایران از نظر توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، آزادسازی پتاسیم، تولید اکسین و سیدروفور مورد بررسی قرار گرفتند. توانایی تحمل به شوری جدایه‌ها در محیط کشت باکتری و در هدایت الکتریکی 10، 20، 30، 40 و 50 دسی‌زیمنس بر متر بررسی شد. شش جدایه منتخب در سه سطح شوری در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی و در سه تکرار بر رشد ذرت در شرایط گلخانه‌ای بررسی شدند. تنش شوری از طریق آبیاری با آب دارای هدایت الکتریکی 0/36 (آب معمولی)، 3 و 6 دسی‌زیمنس بر متر اعمال شد. نتایج آزمایشگاهی نشان داد که جدایه‌های Az63، Az69 و Az70 مؤثرترین جدایه‌ها از نظر توانایی حل‌کنندگی فسفات‌ها، آزادسازی پتاسیم و تولید سیدروفور بودند. همه جدایه‌ها در هدایت الکتریکی 10 و بیشتر جدایه‌ها در 20 دسی‌زیمنس بر متر به خوبی رشد کردند و دو جدایه Az22 و Az66 دارای توانایی رشد در 50 دسی‌زیمنس بر متر نیز بودند. نتایج آزمون گلخانه‌ای نشان داد که تلقیح با Az69 در حالت آبیاری با آب معمولی نسبت به شاهد بدون تلقیح، وزن خشک بلال را 64 درصد افزایش داد. تلقیح اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد ذرت در حالت آبیاری با آب دارای هدایت الکتریکی 3 و 6 دسی‌زیمنس بر متر نداشت. در این پژوهش جدایه Az69 برای بررسی‌های تکمیلی انتخاب شد.

واژه‌های کلیدی: محرک رشد، باکتری، تلقیح، شوری، هدایت الکتریکی.

[1]. نویسنده مسئول، آدرس :کرج، مشکین دشت، بلوار امام خمینی، ص .پ. 311-31785

مقدمه

شوری در کشاورزی عبارت از غلظت‌های بالای نمک‌های محلول در ناحیه اطراف ریشه است که در نهایت سبب کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند. این غلظت‌های بالای نمک، سبب کاهش قدرت جوانه زنی و کاهش جذب آب و همچنین موجب جذب نامتعادل عناصر غذایی ضروری توسط ریشه و کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند. سطح کل زمین‌های مبتلا به شوری در ایران حدود 34 میلیون هکتار برآورد شده است (بی‌نام 2، 1381). از مجموع 18 میلیون هکتار اراضی قابل کشت ایران حدود 6/8 میلیون هکتار آنها مبتلا به درجات مختلف شوری هستند (مؤمنی، 1388). کارهای زیادی برای توسعه گیاهان متحمل به شوری انجام شده است اما تاکنون موفقیت چندانی حاصل نشده است (مونس و تستر، 2008). بنابراین کاهش اثرات منفی شوری بر رشد گیاه بویژه استفاده از راهکارهای مبتنی بر کشاورزی پایدار مورد توجه محققین و دانشمندان است.

ریز جانداران مفید خاک از طریق ساز و کارهای مختلف بر مورفولوژی ریشه تأثیر گذاشته که برآیند آنها سبب بهبود رشد گیاهان می‌شوند. برخی از سویه‌های این ریزجانداران در کاهش اثرات تنشی در گیاهان موفقیت-هایی نشان داده‌اند. در آرژانتین از *Azospirillum* به عنوان مایه تلقیح برای مقابله با تنش شوری و خشکی استفاده می‌شود (گارسیا و همکاران، 2017). در بین باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، *Azotobacter* به دلیل توزیع گسترده در خاک‌ها و تولید طیف متنوعی از متابولیت‌ها به‌ویژه در ریزوسفر گیاهان دارای اهمیت ویژه‌ای است. این باکتری دارای توانایی تشکیل کیست[1] است که آن را در برابر شرایط نامساعد محیطی حفظ می‌کند. از بارزترین خصوصیات *Azotobacter* توانایی تثبیت نیتروژن مولکولی، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه و توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول است (خسروی، 1393).

ذرت (Zea mays. L) از جمله گیاهان زراعی مهم در ایران بوده که برای تغذیه انسان، دام و کاربردهای صنعتی کشت می‌شود. سطح زیر کشت ذرت در ایران حدود 360 هزار هکتار است (بی‌نام 1، 1399). همانند سایر گیاهان، تنش شوری رشد ذرت را تحت تأثیر قرار می‌دهد. جیانگ و همکاران (2006) گزارش کردند که با افزایش تنش شوری میزان وزن خشک و طول گیاهچه-های ذرت به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. عبدل‌غنی و همکاران (2015) اثر تلقیح ذرت با *Pseudomonas fluorescens*، *Pseudomonas putida* و *Azotobacter vinelandii* در شرایط تنش شوری معنی‌دار گزارش کرده-اند. تلقیح بذر چاودار با *Pseudomonas* sp. دارای توانایی تولید آنزیم دآمیناز سبب تحمل گیاه به تنش شوری شده و وزن خشک ریشه و اندام هوایی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش یافت (جی و هوانگ، 2008). گزارش شده که تلقیح ذرت با *Azotobacter* و *Azospirillum* تحت تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد بالاترین میزان ارتفاع بوته، ردیف بلال، تعداد دانه و وزن هزار دانه را ایجاد کرده است (ناصری و همکاران، 2013). گزارش شده که تلقیح ذرت با *Azotobacter* موجب کاهش اثرات تنش خشکی شده است (خسروی، 1398). اثر تلقیح گندم با سویه‌های ریزوبیوم در شرایط تنش شوری 7 و 10 دسی‌زیمنس بر متر بر رشد و جذب عناصر غذایی معنی‌دار گزارش شده است (خسروی و همکاران،1387). گزارش شده که تلقیح کلزا با *Pseudomonas* موجب کاهش اثرات تنشی حاصل از شرایط شور در این گیاه شده است (اخگر و همکاران، 1387).

هدف از انجام این پژوهش در مرحله اول غربالگری جدایه‌های بومی *Azotobacter* از نظر خصوصیات محرک رشدی و همچنین تحمل به سطوح مختلف شوری آنها و مشخص نمودن جدایه‌های برتر بود.

1. Cyst

هدف نهایی از این مطالعه، بررسی اثر تلقیح جدایه‌های مؤثر در شرایط تنش شوری بر رشد ذرت بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، تعداد 20 جدایه *Azotobacter* بومی خاک‌های ایران از نظر خصوصیات محرک رشدی شامل توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های آلی و معدنی نامحلول، آزادسازی پتاسیم، توانایی تولید تولید اکسین و سیدروفور، مورد بررسی قرار گرفتند. این جدایه‌ها از بانک ریزجانداران مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شدند. برای رشد *Azotobacter*، از محیط کشت وینوگرادسکی شامل دو جزء به شرح زیر استفاده شد: جزء اول شامل: فسفات هیدروژن دی‌پتاسیم، 5، سولفات منیزیم؛ 2/5، کلرید سدیم؛ 2/5، سولفات آهن III؛ 0/05 و سولفات منگنز؛ 0/05 گرم در یک لیتر آب مقطر حل و پ‌هاش محیط در حدود 7/3 تنظیم و به عنوان محلول ذخیره در یخچال نگهداری شد. جزء دوم شامل: مقدار 0/05 گرم از هر یک از املاح مولیبدات پتاسیم، برات سدیم، نیترات کبالت، سولفات مس و سولفات روی در یک لیتر آب مقطر حل و به عنوان محلول ذخیره در یخچال نگهداری شد. محیط کشت نهایی از اختلاط 50 میلی‌لیتر از محلول اول، 10 گرم مانیتول، یک میلی‌لیتر محلول دوم و 0/5 گرم کربنات کلسیم تهیه شد (کویکندال، 2015).

توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی و آلی نامحلول در محیط مایع با استفاده از اسپکتروفتومتری در طول موج 430 نانومتر اندازه‌گیری شد. برای این منظور از محیط کشت اسپربر حاوی 2/5 گرم در لیتر تری‌کلسیم فسفات $Ca_3(PO_4)_2$ برای فسفات معدنی و اسید فیتیک برای فسفات آلی استفاده شد (اسپربر، 1958). توانایی آزادسازی پتاسیم با استفاده از محیط کشت مایع الکساندورف[1] دارای کانی‌های میکای سفید (موسکویت) و میکای سیاه (بیوتیت) سنجش و مقدار پتاسیم آزاد شده با روش نشر شعله‌ای[2] اندازه‌گیری شد (مینا و همکاران، 2015 و ژانگ و کونگ، 2014). مقدار تولید اکسین جدایه‌ها با استفاده از روش سالکوفسکی و اسپکتروفتومتری در طول موج 535 نانومتر با بکارگیری غلظت‌های مختلف IAA بعنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (بنت و همکاران، 2001). سیدروفور با استفاده از محیط کشت کروم-آزورول-اس- آگار (CAS ،B.A[3]) و بر اساس محاسبه نسبت قطر هاله نارنجی رنگ به قطر کلنی اندازه‌گیری شد (شوین و نیلند، 1987).

بر اساس نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی تعداد 14 جدایه برای ادامه پژوهش انتخاب شدند. تحمل سویه-های انتخابی به شوری در محیط کشت مایع وینوگرادسکی در هدایت الکتریکی 10، 20، 30، 40 و 50 دسی‌زیمنس‌بر متر حاصل از کلرور سدیم مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها در دمای 28 درجه سانتیگراد بر روی شیکر انکوباتور دورانی به مدت یک هفته نگهداری و در نهایت مقدار OD نمونه‌ها در طول موج 600 نانومتر قرائت شد. کلیه بررسی‌های آزمایشگاهی مذکور در سه تکرار انجام شد.

تعداد 6 جدایه شامل Az11، Az63، Az69، Az70 که از نظر توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، آزادسازی پتاسیم، تولید سیدروفور و تولید اکسین دارای نتایج بهتری بودند جهت انجام آزمون گلخانه‌ای انتخاب شدند. همچنین دو جدایه Az22 و Az66 که بیشترین تحمل به شوری را در شرایط آزمایشگاهی داشتند نیز انتخاب شدند. برای تهیه مایه تلقیح، از محیط مایع وینوگرادسکی حاوی جدایه استفاده شد

آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. خاک مورد استفاده از مزرعه مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد. هر گلدان با 10 کیلوگرم خاک پر شد. بذر ذرت مورد استفاده، رقم سینگل کراس 704 بود که از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شد. در هر

[1] Aleksandrov

[2] Flame Photometer

[3] CAS Blue Agar

گلدان، چهار عدد بذر ذرت جوانه‌دار شده کشت شد که بعد از یک هفته گیاهان تنک شده و دو گیاه در هر گلدان نگهداری شد. عمل تلقیح در هنگام کاشت و با یک میلی‌لیتر به ازای هر بذر از مایه‌تلقیح با جمعیت حدود $1/5 \times 10^7$ سلول در میلی‌لیتر انجام شد. تیمارهای تلقیحی شامل جدایه‌های منتخب Az11، Az22، Az63، Az66، Az69، Az70 و همچنین مخلوطی از شش جدایه (Mix) بود.

شوری در سه سطح شامل آبیاری با آب معمولی با هدایت الکتریکی 0/36 دسی‌زیمنس بر متر (S0)، شوری سه دسی‌زیمنس بر متر (S3) و شوری شش دسی‌زیمنس بر متر (S6) اعمال شد. برای اعمال تنش شوری با رعایت نسبت جذب سدیم (SAR) از سه کاتیون سدیم، کلسیم و منیزیم که کاتیون‌های غالب خاک‌های شور هستند استفاده شد. این کاتیون‌ها از نمک‌های کلرید سدیم (NaCl)، سولفات منیزیم ($MgSO_4.6H_2O$) و کلرید کلسیم ($CaCl_2.2H_2O$) تأمین شدند. برای این منظور SAR آب آبیاری 10 در نظر گرفته شد. نسبت مولی کاتیون‌ها از فرمول زیر محاسبه شد:

$$SAR = \frac{Na^+}{\sqrt{\frac{1}{2}(Ca^{2+} + Mg^{2+})}}$$

تیمار شاهد با آب معمولی ایستگاه تحقیقات خاک و آب کرج با هدایت الکتریکی 0/36 دسی‌زیمنس بر متر و پ هاش 7/94 آبیاری شد. در طول دوره کشت، برای همه تیمارها رطوبت خاک بین 80 تا 100 درصد ظرفیت مزرعه به روش وزنی تأمین شد. بعد از 120 روز، گیاه از محل سطح خاک برداشت شد. فاکتورهای وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک بلال، محتوای کلروفیل و ارتفاع گیاه اندازه‌گیری شدند. شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج مدل Konica Minolta- SPAD 502 اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار DSAASTAT.XLS. Version 2010.5.04. و با روش One Way ANOVA انجام شد. میانگین‌ها با روش LSD[1] و در سطح احتمال 1 و 5 درصد مقایسه شدند.

نتایج

خصوصیات محرک رشدی

نتایج تجزیه واریانس مقادیر حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی و آلی نامحلول، آزادسازی پتاسیم، تولید اکسین و سیدروفور توسط جدایه‌ها در جدول 1 ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده، جدایه‌های *Azotobacter* از نظر خصوصیات محرک رشدی مذکور دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 1 درصد نشان دادند.

توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی و آلی نامحلول

در جدول 2 مقایسه میانگین‌ها در مورد توانایی جدایه‌ها در حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی و آلی نامحلول ارائه شده است. بهترین جدایه‌ها از نظر توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی به ترتیب مربوط به جدایه‌های Az63، Az70، Az62 و Az69 بود. همچنین بیشترین مقادیر حل‌کنندگی فسفات‌های آلی به ترتیب مربوط به جدایه‌های Az70، Az69 و Az63 بود.

[1]. The least significant differences

جدول 1- تجزیه واریانس خصوصیات محرک رشدی جدایه‌ها

منابع تغییرات	حل‌کنندگی فسفات معدنی	حل‌کنندگی فسفات آلی	آزادسازی پتاسیم	تولید اکسین	تولید سیدروفور
باکتری	67062/43**	1474/02**	10/29**	297/73**	64/60**
خطا	308/53	2/47	0/76	25/90	0/11
ضریب تغییرات	10/65	1/63	9/73	9/73	6/14

** معنی‌دار درسطح احتمال 1 درصد

جدول 2 -مقایسه میانگین توانایی حل‌کنندگی فسفات معدنی و فسفات آلی توسط جدایه‌ها

جدایه باکتری	توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی ($\mu g\ ml^{-1}$)	توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های آلی ($\mu g\ ml^{-1}$)
Az9	12/96 d-h	12/69 h
Az10	9/81 h	12/75 h
Az11	11/22 f-h	10/27 kl
Az12	11/65 f-h	10/90 j
Az22	17/31 c-f	15/28 f
Az26	17/20 c-g	9/96 l
Az42	11/08 gh	10/61 jk
Az53	14/19 d-h	11/65 i
Az58	16/92 d-g	20/93 c
Az62	23/33 c	16/22 e
Az63	133/33 a	22/42 b
Az66	18/63 cd	16/46 e
Az69	23/30 c	22/70 b
Az70	117/74 b	28/95 a
Az71	18/59 ce	17/60 d
Az1	11/37 fh	13/12 gh
Az2	12/47 eh	13/58 g
Az3	12/58 d-h	15/28 f
Az4	12/59 d-h	12/06 i
Az5	15/10 d-h	10/74 jk
Blank	-	-

توانایی آزادسازی پتاسیم

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به توانایی آزادسازی پتاسیم توسط جدایه‌های مختلف در جدول 3 ارائه شده است. بهترین جدایه‌ها از نظر توانایی آزادسازی پتاسیم در میکای موسکویت جدایه‌هایAz63 Az3، Az69، و Az22 و در میکای بیوتیت جدایه‌های Az63 ، Az70 و Az22 بودند.

توانایی تولید اکسین

مقایسه میانگین داده‌های مقدار اکسین تولید شده در جدول 3 نشان داده شده است. بر این اساس

جدایه‌ها از نظر توانایی تولید اکسین اختلاف معنی‌داری داشتند. بهترین جدایه در حضور ال-تریپتوفان، Az11 و بدون حضور ال-تریپتوفان، Az42 بود.

توانایی تولید سیدروفور

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به تولید سیدروفور توسط جدایه‌های مختلف در جدول 3 ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده برخی جدایه‌ها دارای توانایی تولید سیدروفور بودند. جدایه‌های Az69، Az63 و Az70 به ترتیب بهترین جدایه‌ها از نظر توانایی تولید سیدروفور بودند.

جدول 3- مقایسه میانگین داده‌های مربوط به توانایی آزادسازی پتاسیم، تولید سیدروفور و اکسین

جدایه باکتری	آزادسازی پتاسیم ($\mu g\ ml^{-1}$)		تولید سیدروفور (قطر هاله به کلونی)	تولید اکسین ($\mu g\ ml^{-1}$) سطح ال-تریپتوفان	
	بیوتیت	موسکویت		0mg l^{-1}	50mg l^{-1}
Az9	11/99 $^{j-l}$	14/68 $^{c-e}$	0 ^{g}	4/47 $^{l-p}$	4/93 $^{l-p}$
Az10	11/21 ^{l}	14/20 $^{d-f}$	0 ^{g}	7/72 $^{c-f}$	7/88 $^{b-e}$
Az11	14/05 $^{d-g}$	14/05 $^{d-g}$	1/40 ^{ef}	8/39 $^{a-c}$	9/11 ^{a}
Az12	11/52 $^{k-l}$	14/05 $^{d-g}$	0/47 ^{e}	8/00 $^{b-e}$	8/21 $^{b-d}$
Az22	16/1 $^{a-c}$	15/30 $^{b-d}$	1/29 ^{f}	4/21 $^{n-q}$	5/23 $^{j-n}$
Az26	11/05 ^{l}	14/05 $^{d-g}$	1/31 ^{f}	2/95 ^{r}	3/18 $^{q-r}$
Az42	11/21 ^{l}	14/68 $^{c-e}$	0 ^{g}	9/48 ^{a}	8/16 $^{b-d}$
Az53	14/36 $^{c-f}$	14/36 $^{c-f}$	0 ^{g}	4/92 $^{k-p}$	4/86 $^{k-p}$
Az58	14/68 ^{ce}	12/ $^{f-l}$78	0 ^{g}	4/92 $^{j-n}$	4/31 $^{m-q}$
Az62	14/52 ^{cf}	14/36 $^{c-f}$	2/15 ^{c}	5/54 $^{i-l}$	6/83 $^{e-h}$
Az63	15/63 ^{ab}	16/57 ^{a}	2/48 ^{b}	6/03 $^{g-k}$	4/07 $^{d-g}$
Az66	12/31 $^{g-l}$	14/84 $^{b-e}$	0 ^{g}	4/71 $^{l-p}$	5/02 $^{k-o}$
Az69	14/36 $^{c-f}$	14/84 $^{b-e}$	3/26 ^{a}	5/84 $^{g-l}$	6/27 $^{g-i}$
Az70	17/20 ^{a}	15/63 ^{ab}	2/12 ^{c}	6/40 $^{g-j}$	6/32 $^{g-i}$
Az71	12/15 $^{h-l}$	13/89 $^{d-h}$	0 ^{g}	3/34 $^{q-r}$	3/77 $^{p-r}$
Az1	12/15 $^{h-l}$	13/26 $^{e-k}$	0 ^{g}	4/96 $^{k-p}$	5/51 $^{i-m}$
Az2	11/36 ^{l}	13/42 $^{e-j}$	0 ^{g}	5/62 $^{h-l}$	5/99 $^{g-k}$
Az3	12/78 ^{l}	16/57 ^{a}	0 ^{g}	5/87 $^{g-l}$	6/32 $^{g-j}$
Az4	11/36 ^{l}	13/41 $^{e-j}$	1/71^{d}	4/96 $^{k-p}$	4/15 $^{n-r}$
Az5	14/68 $^{d-i}$	14/21 $^{d-f}$	0 ^{g}	6/32 $^{g-j}$	6/58 $^{f-i}$
Blank	11/82 $^{j-l}$	11/92 $^{j-l}$	-	-	-
Blank H_2O	11/57 $^{j-l}$	11/90 $^{j-l}$	-	-	-

توانایی تحمل جدایه‌ها به شوری

نتایج تجزیه واریانس داده‌های OD_{600} مربوط به توانایی رشد جدایه‌های مختلف *Azotobacter* در مقادیر مختلف هدایت الکتریکی در جدول 4 ارائه شده است. بر اساس این جدول در همه مقادیر مختلف شوری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 1 درصد مشاهده شد.

جدول 4- تجزیه واریانس داده‌های OD_{600} جدایه‌های مختلف در مقادیر مختلف هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)

منابع تغییرات	EC=10	EC=20	EC=30	EC=40	EC=50
باکتری	2/33**	1/55**	0/75**	0/90**	0/05**
خطا	0/02	0/02	0/01	0/001	0/002
ضریب تغییرات	6/1	9/69	22/53	4/87	6/84

** معنی‌دار درسطح احتمال 1 درصد

مقایسه میانگین توانایی رشد جدایه‌ها در EC=10 دسی‌زیمنس بر متر

مقایسه میانگین OD_{600} مربوط به جدایه‌های مختلف *Azotobacter* در EC=10 دسی‌زیمنس بر متر به روش LSD در جدول 5 ارائه شده است. همانطوریکه جدول نشان می‌دهد همه جدایه‌ها با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند. بنابراین این جدایه‌ها برای آزمون تحمل به سطح شوری بالاتر (EC=20) انتخاب شدند.

جدول 5– مقایسه میانگین داده‌های OD_{600} جدایه‌های مختلف در EC=10 دسی‌زیمنس بر متر

ردیف	تیمار	میانگین	گروه های همگن
1	Az26	3/03	a
2	Az62	3/00	a
3	Az 2	2/98	a
4	Az66	2/98	a
5	Az 4	2/94	a
6	Az12	2/92	a
7	Az71	2/91	a
8	Az22	2/88	a
9	Az70	2/60	ab
10	Az58	2/23	bc
11	Az63	2/01	c
12	Az11	1/96	c
13	Az3	1/34	d
14	Az69	1/34	d
15	Blank	0/00	e

مقایسه میانگین توانایی رشد جدایه‌ها در EC=20 دسی-زیمنس بر متر

مقایسه میانگین OD_{600} مربوط به جدایه‌های مختلف *Azotobacter* در EC=20 دسی‌زیمنس بر متر به روش LSD در سطح آماری 5 درصد در جدول 6 ارائه شده است. بر اساس نتایج جدول مذکور، تعداد 12 جدایه که با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند برای آزمون EC بالاتر (EC=30) انتخاب شدند

جدول 6- مقایسه میانگین OD_{600} جدایه‌های مختلف در EC=20 دسی‌زیمنس بر متر

ردیف	تیمار	میانگین	گروه های همگن
1	Az66	2/27	a
2	Az22	2/15	a
3	Az12	2/00	a
4	Az4	1/98	a
5	Az62	1/59	b
6	Az69	1/52	bc
7	Az71	1/46	bcd
8	Az63	1/22	cde
9	Az3	1/19	cde
10	Az11	1/12	de
11	Az26	1/02	ef
12	Az70	0/66	f
13	Az2	0/29	g
14	Az58	0/18	g
15	Blank	0/00	g

مقایسه میانگین توانایی رشد جدایه‌ها در EC=30 دسی-زیمنس بر متر

مقایسه میانگین OD_{600} جدایه‌های مختلف *Azotobacter* در EC=30 دسی‌زیمنس بر متر به روش LSD در سطح آماری 5 درصد در جدول 7 ارائه شده است. بر اساس نتایج جدول مذکور، تعداد 6 جدایه که با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند برای آزمون EC بالاتر (EC=40) انتخاب شدند.

جدول 7- مقایسه میانگین OD_{600} جدایه‌های مختلف در EC=30 دسی‌زیمنس بر متر

ردیف	تیمار	میانگین	گروه های همگن
1	Az66	1/34	a
2	Az12	1/09	ab
3	Az22	1/05	abc
4	Az69	0/93	bcd
5	Az62	0/88	bcd
6	Az11	0/72	cd
7	Az62	0/60	d
8	Az70	0/14	e
9	Az71	0/08	e
10	Az26	0/05	e
11	Az14	0/00	e
12	Az63	0/00	e
13	Blank	0/00	e

مقایسه میانگین توانایی رشد جدایه‌ها در EC=40 دسی-زیمنس بر متر

مقایسه میانگین OD_{600} مربوط به جدایه‌های مختـلف *Azotobacter* در EC=40 دسی‌زیمنس بر متر به روش LSD در سطح آماری 5 درصد در جدول 8 ارائه شده است. بر اساس نتایج جدول مذکور، تعداد 6 جدایه که با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند برای آزمون EC بالاتر (EC=50) انتخاب شدند.

جدول 8- مقایسه میانگین OD_{600} جدایه‌های مختلف در EC=40 دسی‌زیمنس بر متر

ردیف	تیمار	میانگین	گروه های همگن
1	Az62	1/49	a
2	Az22	1/83	b
3	Az26	1/02	c
4	Az66	0/95	c
5	Az12	0/73	d
6	Az69	0/36	e
7	Az11	0/00	f
8	Blank	0/14	f

مقایسه میانگین توانایی رشد جدایه‌ها در EC=50 دسی-زیمنس بر متر

مقایسه میانگین OD_{600} مربوط به جدایه‌های مختـلف *Azotobacter* در EC=50 دسی‌زیمنس بر متر به روش LSD در سطح آماری 5 درصد در جدول 9 ارائه شده است. بر اساس نتایج جدول مذکور، دو جدایه با شاهد اختلاف معنی داری داشتند.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای در جدول 10 ارائه شده است.

جدول 9- مقایسه میانگین OD_{600} جدایه‌های مختلف در EC=50 دسی‌زیمنس بر متر

ردیف	تیمار	میانگین	گروه های همگن
1	Az22	1/50	a
2	Az66	1/18	a
3	Az26	0/00	b
4	Az62	0/00	b
5	Az69	0/00	b
6	Blank	0/00	b

جدول 10- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای

pH	EC	بافت	رس	شن	سیلت	کربن‌آلی (OC)	رطوبت ظرفیت مزرعه (FC)	رطوبت پژمردگی دائم (PWP)	کربنات کلسیم معادل (CCE)	نیتروژن کل (N)	پتاسیم قابل جذب (K)	فسفر قابل جذب (P)	روی قابل جذب (Zn)	مس قابل جذب (Cu)	آهن قابل جذب (Fe)	منگنز قابل جذب (Mn)
	$dS\ m^{-1}$		%								$mg\ kg^{-1}$					
7/54	0/393	لومی شنی	13/5	65	21/5	0/42	3/24	4/8	10	0/04	380/30	2/8	0/5	1/2	5/3	11/9

اثر تیمارهای باکتری و شوری بر شاخص‌های مختلف رشد ذرت

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای باکتری و شوری بر وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع بوته، وزن خشک بلال و شاخص کلروفیل برگ ذرت در جدول 11 نشان داده شده است. بر اساس جدول مذکور بین سطوح مختلف باکتری و همچنین شوری اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده می‌شود.

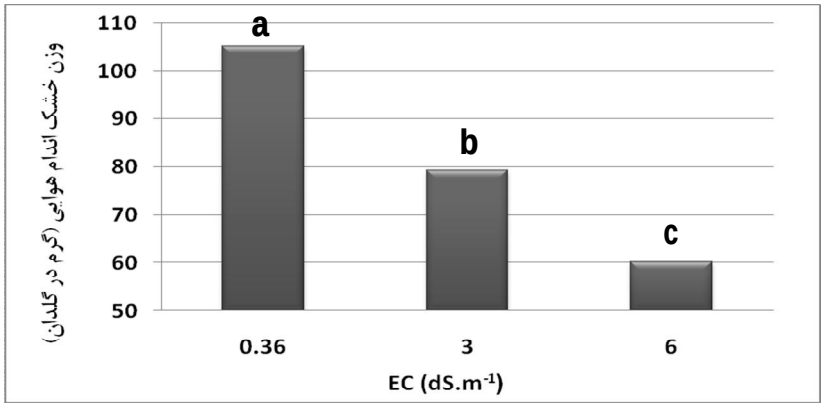
جدول 11- تجزیه واریانس اثر تیمارهای باکتری و شوری بر شاخص‌های مختلف رشد ذرت

	میانگین مربعات			
منابع	وزن خشک اندام هوایی	ارتفاع بوته	وزن خشک بلال	شاخص کلروفیل برگ
باکتری	130/4**	147/1^{ns}	14/816**	63/101^{ns}
شوری	12266/3**	32799/2**	362/732**	127/128**
خطا	41/4	99/2	19/097	66/118
ضریب تغییرات(cv%)	7/89	8/28	40/68	25/40

ns و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار درسطح احتمال 1 درصد

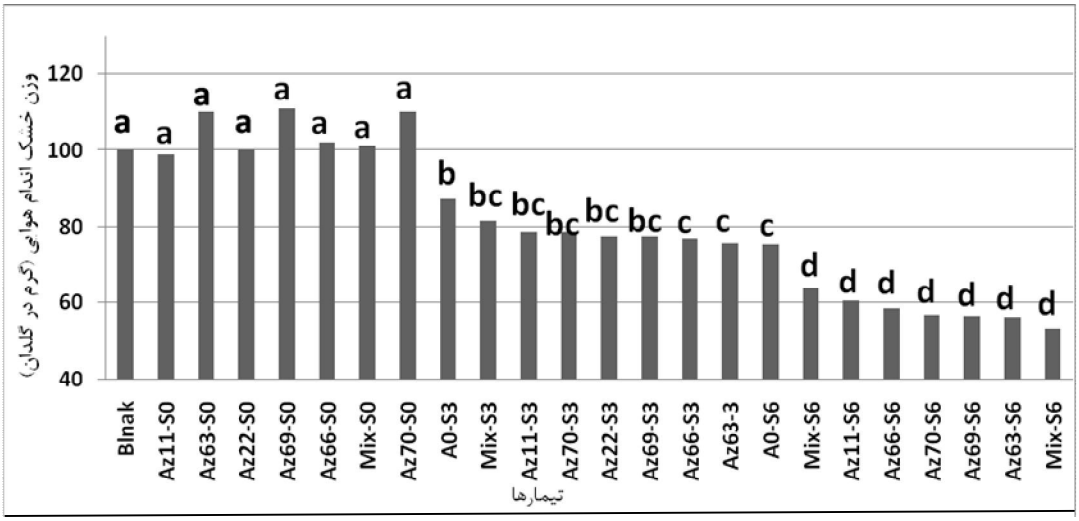
اثر تیمارهای باکتری و شوری بر وزن خشک اندام هوایی

مقایسه میانگین‌های اثر ساده شوری بر وزن خشک اندام‌هوایی در شکل 1 نشان داده شده است. شکل نشان می‌دهد که سطوح مختلف شوری بر وزن خشک اندام هوایی اختلاف معنی‌داری داشته‌اند.



شکل 1- مقایسه میانگین سطوح شوری بر وزن خشک اندام هوایی

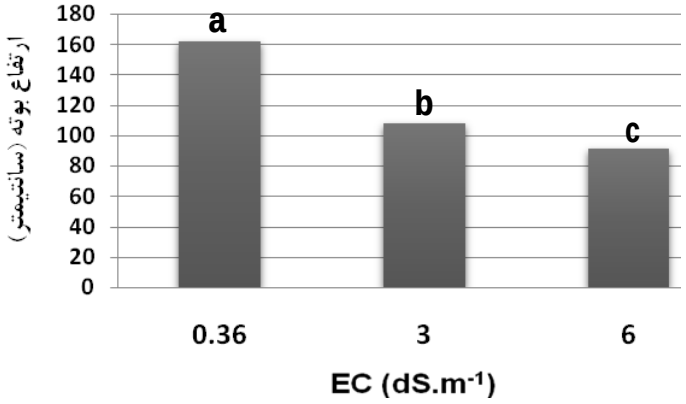
مقایسه میانگین‌تیمارهای باکتری و شوری نشان داد که تلقیح تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی نداشته است (شکل 2).



شکل 2- مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتری و شوری بر وزن خشک اندام هوایی

اثر تیمارهای باکتری و شوری بر ارتفاع بوته

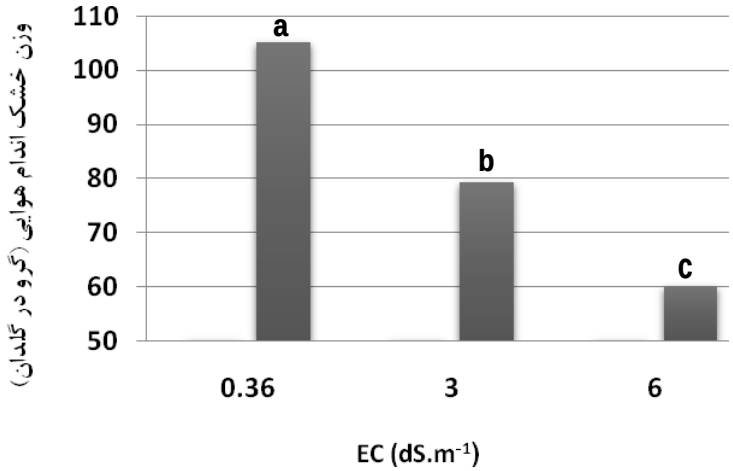
مقایسه میانگین اثر شوری بر ارتفاع بوته در شکل 3 نشان داده شده است. در این شکل شوری 3 دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد (شوری 0/36) موجب کاهش حدود 32 درصدی ارتفاع بوته شده است. این کاهش برای شوری 6 دسی‌زیمنس بر متر حدود 54 درصد بوده است.



شکل 3– اثر شوری بر ارتفاع بوته

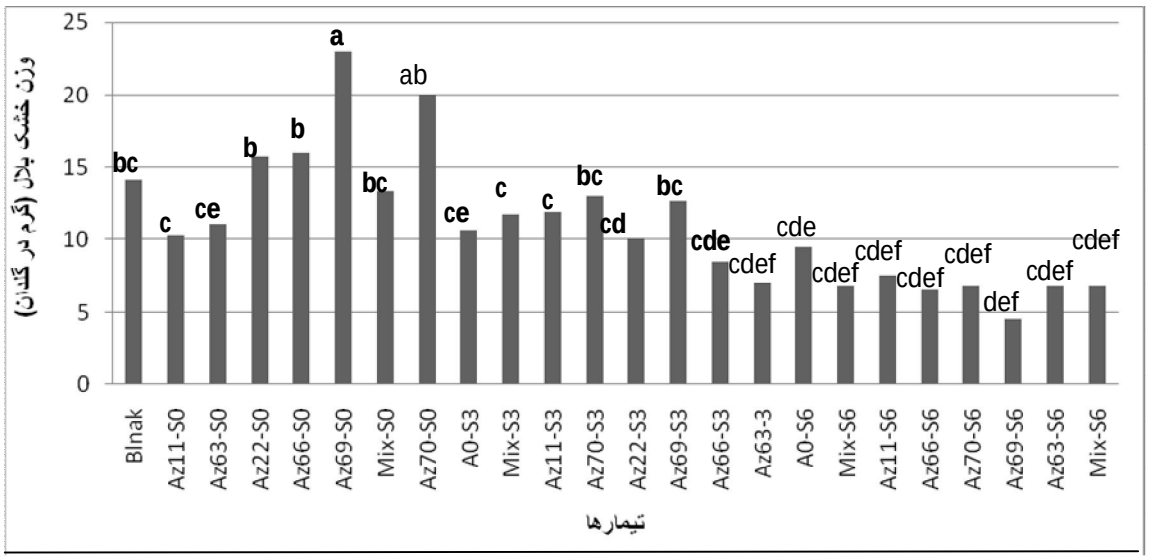
اثر تیمارهای باکتری و شوری بر وزن خشک بلال

مقایسه میانگین اثر تیمارهای شوری بر وزن خشک بلال در شکل 4 نشان داده شده است. در این شکل شوری 3 دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد (0/36 دسی‌زیمنس بر متر) موجب کاهش حدود 25 درصدی وزن خشک بلال شده است. این کاهش برای شوری 6 دسی‌زیمنس بر متر نسبت حدود 45 درصد بوده است.



شکل 4- اثر سطوح شوری بر وزن خشک بلال

مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتری و شوری بر وزن خشک بلال در شکل 5 نشان داده شده است. همانطوریکه از شکل مشخص است جدایه Az69 در تیمارآبیاری با آب معمولی (0/36 دسی‌زیمنس بر متر) اثر معنی‌داری بر وزن خشک بلال داشته است. در تیمار آبیاری با آب شور با EC=3 این جدایه میانگین بالاتری نشان داد اما این افزایش معنی دار نبود.



شکل 5- مقایسه میانگین اثر تیمارهای باکتری و شوری بر وزن خشک بلال

اثر تیمارهای باکتری و شوری بر شاخص کلروفیل برگ

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای باکتری و شوری بر شاخص کلروفیل برگ نشان داد که تلقیح تاثیر معنی‌داری بر این شاخص نداشته است (داده‌ها نشان داده نشده است).

بحث

علیرغم وجود مقادیر زیاد فسفر کل در خاک‌های ایران، بدلیل مقادیر بالای آهک، بیشتر فسفر آنها به شکل فسفات‌های نامحلول است که نمی‌تواند بوسیله گیاهان جذب شود. توانایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات در انحلال ترکیبات نامحلول به توانایی آنان در کاهش pH

خاک از طریق آزادسازی اسیدهای آلی و پروتون می‌باشد. در این پژوهش جدایه‌های Az69 و Az70 موجب بیشترین حلالیت فسفات‌های آلی و معدنی شدند. گزارش شده که *A. chroococcum* به علت انحلال فسفات‌ها سبب بهبود رشد گندم شده است (کوندو و گاور، 1980). اثر *A. chroococcum* در حل کردن فسفات‌های غیرآلی و افزایش رشد گندم بدین واسطه مثبت گزارش شده است (کومار و نارولا، 1999). اثر تلقیح ازتوباکتر به عنوان باکتری محرک رشد به همراه مواد آلی بر گیاه ذرت بررسی و نتایج نشان داد که قابلیت جذب نیتروژن و فسفر و میزان محصول ذرت به طور قابل توجهی افزایش یافت (هنساودین ،2003). اثر ریزوبیوم و باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر رشد گندم و جذب فسفر مثبت و معنی‌دار گزارش شده است (افضل و بانو، 2008).

جدایه‌های *Azotobacter* بر آزادسازی پتاسیم از دو نوع کانی میکا بیوتیت و موسکویت تأثیر معنی‌داری داشتند (جداول 1 و3). شنگ و هی (2006) بیان کردند که باکتری‌های محرک رشد به سبب ترشح اسیدهای آلی موجب آزادسازی پتاسیم از کانی‌های ایلایت و فلدسپار می‌شوند. میشوستین و همکاران (1981) نیز گزارش دادند که *A. chroococcum* در طی دو هفته حدود هفت درصد پتاسیم موجود در کانی ارتوکلاز را آزاد کرده است.

ال-تریپتوفان به عنوان یک پیش ماده برای بیوسنتز اکسین در باکتری‌ها شناخته شده است. لست و همکاران (1991) ایده مسیر وابسته به تریپتوفان را برای بیوسنتز اکسین ارائه دادند. بیشتر جدایه‌های این پژوهش در سطح 50 میلی‌گرم در لیتر ال-تریپتوفان اکسین تولید کردند. البته برخی جدایه‌ها بدون حضور ال-تریپتوفان هم اکسین تولید کردند. بنابراین احتمالاً این جدایه‌ها مسیر دیگری به غیر از ال-تریپتوفان برای بیوسنتز اکسین استفاده کرده‌اند. در تأیید این مسئله، برون و واکر (1970) گزارش کردند که بعضی از سویه‌های *A. chroococcum* در محیط مایع بدون اضافه کردن ال-تریپتوفان اکسین تولید کرده‌اند.

در این پژوهش برخی جدایه‌های Az63، Az69 و Az70 دارای توانایی تولید سیدروفور بودند ((جداول 1 و3). همانطوریکه در مورد فسفات‌ها هم اشاره شد در خاک‌های آهکی حلالیت ترکیبات آهن نیز کم بوده و لذا جذب آن توسط گیاه با مشکل مواجه است (چن و باراک، 1982). برخی باکتری‌های خاک از جمله *Azotobacter* توانایی تولید موادی به نام سیدورفور را دارند که قادر است با ترکیبات آهن نامحلول خاک تشکیل کلات داده و سبب افزایش قابلیت جذب آهن توسط ریشه گیاه شود (ویلا و همکاران، 2014؛ تیندل و همکاران، 2000 و کورنیش و پیج، 1998). گزارش شده است که تلقیح ذرت با یک سویه *Pseudomonas japonica* دارای توانایی تولید سیدروفور، بطور معنی‌داری وزن تر و خشک و ارتفاع گیاه را نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داده است (اسحاقی و همکاران،2019). در آزمایشات گلخانه-ای و مزرعه‌ای اثر تلقیح ذرت با باکتری‌های *Bacillus*، *Azotobacter* و *Pseudomonas* دارای توانایی تولید سیدروفور بررسی و گزارش شده که *Azotobacter* و *Pseudomonas* اثرات مثبت و معنی‌داری بر رشد گیاه داشته‌اند (جرک و همکاران، 2012).

نتایج بررسی اثر تیمارهای باکتری و شوری بر رشد ذرت در شرایط تنش شوری نشان داد که تلقیح با جدایه Az69 در تیمار (Az_{69}-S_0) که با آب معمولی (0/36 دسی‌زیمنس بر متر) آبیاری شده بود نسبت به شاهد بدون تلقیح، وزن خشک بلال را بطور معنی‌داری افزایش داد. اصغر و همکاران (2002) تولید اکسین را عامل افزایش عملکرد و ارتفاع بوته ذرت در اثر تلقیح *Azotobacter* و *Pseudomonas* گزارش کردند. لازم به ذکر است که در این مطالعه، Az69 بیشترین مقدار اکسین را در بین جدایه‌ها تولید کرد.

نتایج آزمایشگاهی نشان داد که باکتری‌ها در شوری‌های زیاد در کشت درون شیشه‌ای توانایی رشد از خود نشان دادند اما در شرایط گلخانه‌ای و در محیط خاک و گیاه حتی در شوری 3 و 6 دسی زیمنس بر متر، معنی-داری بر شاخص‌های رشد ذرت نداشتند عدم توفیق

جدایه‌ها در کاهش اثرات تنش شوری را بایستی در موضوعاتی غیر از توانایی رشد آنها در شرایط شور جستجو کرد. با اینکه گزارشات در مورد عدم موفقیت مایه‌تلقیح‌ها در شرایط تنشی اندک است با اینحال یان و همکاران (2015) در یک مطالعه مروری به اثرات منفی تنش شوری بر فعالیت ریزجانداران خاک پرداخته و به بررسی و مطالعه بیشتر در این زمینه تأکید کرده‌اند. پرابهاواتی و مالاله (2009) در یک بررسی گزارش دادند که 75 درصد سویه‌های ریزوبیوم در اثر شوری کارایی تولید اکسین را نداشتند. دشوال و کومار (2013) گزارش کردند که غلظت‌های بالای نمک بر خصوصیات منسوب به محرک رشد گونه‌های مختلف *Pseudomonas* از جمله تولید اکسین، سیدروفور و توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول اثرات منفی دارد. ثقفی و همکاران (1398) گزارش دادند که برخی از سویه‌های *Pseudomonas fluorescens* در غلظت‌های نمک 100 تا 200 میلی‌گرم در لیتر در شرایط آزمایشگاهی به خوبی رشد کردند با اینحال خصوصیات محرک رشدی آنها از قبیل توانایی تولید سیدروفور، اکسین، قابلیت انحلال فسفات در شرایط غیر شور و معمولی اندازه‌گیری شدند.

در این پژوهش خصوصیات منسوب به محرک رشد در شرایط معمولی و محیط کشت باکتری اندازه گیری شد. احمد و همکاران (2008) گزارش دادند که خصوصیات منسوب به محرک رشد باکتری‌ها مطابق روش‌های مرسوم و در شرایط محیط کشت باکتری و بدون اعمال تنش اندازه‌گیری می‌شوند و سپس بر روی گیاه و در شرایط تنشی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. بنابراین در مرحله آزمایشگاهی اگر سویه‌ای دارای توانایی تولید هورمون محر رشدی را نشان دهد ممکن است در شرایط تنشی از جمله شوری این ویژگی را بروز ندهد. در تأیید این موضوع کاردینال و همکاران (2015)، تعداد 100 سویه از ریزوسفر دو گیاه متحمل به شوری جداسازی و خصوصیات محرک رشدی آنها را در شرایط آزمایشگاهی بررسی و 22 سویه منتخب را در شرایط شور به جو تلقیح کردند. نتایج آنها نشان داد که بهترین سویه‌ها که در شرایط آزمایشگاهی بالاترین مقادیر را در خصوصیات محرک رشدی نشان داده بودند هیچ تأثیری بر رشد گیاه نشان ندادند. بر عکس سویه‌ای که در شرایط آزمایشگاهی خصوصیات محرک رشدی خوبی نشان نداده بود باعث افزایش قابل توجه رشد گیاه شد.

همانطوریکه ذکر شد در پژوهش حاضر نیز خصوصیات محرک رشدی باکتری‌ها در مرحله آزمایشگاهی در حالت غیر تنشی اندازه‌گیری شد لذا یکی از دلایل عدم موفقیت تلقیح در کاهش اثرات تنش شوری این می‌تواند باشد که ممکن است خصوصیات محرک رشدی باکتری‌ها در شرایط شور همانند شرایط معمولی ظهور و بروز پیدا نکرده باشد. بهرحال به نظر می‌رسد همیشه نمی‌توان خصوصیات رشد و فعالیت باکتری‌ها در شرایط کشت درون شیشه‌ای به شرایط پیچیده خاک تعمیم داد. در هر صورت بررسی اثر باکتری‌های حاصل از این پژوهش در شرایط شور نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد. بنابراین پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی خصوصیات محرک رشدی باکتری‌ها برای مطالعات در شرایط تنش شوری در محیط کشت باکتری نیز بررسی شود. همچنین گلیک (2012) پیشنهاد داده است که برای حصول نتیجه بهتر در غربالگری باکتری‌های محرک رشد بایستی ساز و کارهای محرک رشد دیگری را جستجو و مورد بررسی قرار داد.

نتیجه‌گیری

تلقیح ذرت با جدایه‌های بومی *Azotobacter* مقاوم به شوری نشان داد که در شرایط آبیاری با آب معمولی (هدایت الکریکی 0/36 دسی‌زیمنس بر متر) جدایه Az69 نسبت به شاهد بدون تلقیح، وزن خشک بلال را بطور معنی‌داری افزایش داد. با اینحال، تلقیح، اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد ذرت در شرایط آبیاری با آب دارای هدایت الکتریکی 3 و 6 دسی‌زیمنس بر متر نشان نداد. در این بررسی پیشنهاد شد که در تحقیقات آتی در مرحله غربالگری و خصوصیات محرک رشدی جدایه-ها در شرایط کشت درون شیشه‌ای و محیط شور نیز بررسی شود.

فهرست منابع:

1. اخگر، ع. 1387. جداسازی، شناسایی و بررسی باکتری‌های ریزوسفری دارای توانایی تولید آنزیم ACC دآمیناز در کاهش اثرات تنش شوری بر رشد کلزا. رساله دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران. 158 صفحه.
2. بی‌نام، 1399. گزارش برآورد سطح و تولید محصولات زراعی در سال زراعی 98-97. وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات.
3. بی‌نام، 1381. نقشه 1:1000000 منابع خاک و کاربری اراضی ایران. مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران- ایران.
4. خسروی, ه. 1398. واکنش ذرت به تلقیح با *ازتوباکتر* در شرایط تنش خشکی. پژوهش آب در کشاورزی (علوم خاک و آب), 33(1), 38-29.
5. خسروی، ه. 1393. *ازتوباکتر* و نقش آن در مدیریت حاصخیزی خاک. نشریه مدیریت اراضی، 2(2):94-79.
6. خسروی، ه.، ح. علیخانی و ب. یخچالی. 1387. بررسی اثر سویه‌های *ریزوبیوم* دارای آنزیم ACC دآمیناز بر رشد گندم در شرایط تنش شوری. مجله تحقیقات آب و خاک ایران (مجله علوم کشاورزی ایران)، 39(1): 103-93.
7. کبری ثقفی ک.، احمدی ج.، اصغرزاده ا.، رکنی زاده ح. و حسینی مزینانی م. 1398. جداسازی، شناسایی و بررسی ویژگیهای محرک رشدی سودوموناس‌های فلورسنت از ریزوسفر درختان زیتون در خاک‌های شور. نشریه زیست شناسی خاک، 7(1): 28-13.
8. مؤمنی ع. 1388. پراکنش جغرافیایی و سطوح شوری منابع خاک ایران. مجله پژوهش‌های خاک، 24(3): 215-203.
9. Abd El-Ghany, T.M., Masrahi, Y.S., Mohamed, A., Abboud, A., Alawlaqi, M.M. and Elhussieny, A., 2015. Maize (*Zea mays* L.) growth and metabolic dynamics with plant growth-promoting rhizobacteria under salt stresses. J Plant Pathol Microb, 6(305), p.2.
10. Afzal, A. and Bano, A., 2008. Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). Int J Agric Biol, 10(1), pp.85-88.
11. 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(2), pp.173-181.
12. Asghar, H., Zahir, Z., Arshad, M. and Khaliq, A. 2002. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. Biology and Fertility of Soils, 35(4): 231-237.
13. Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C.P. & Enebak, S. (2001). Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. Canadian Journal of Microbiology, 47(9): 793-800.
14. Brown, M.E., & Walker, N., (1970). Indolyl-3-acetic acid formation by *Azotobacter chroococcum*. Plant Soil. 32(1), 250-253.
15. Cardinale, M., Ratering, S., Suarez, C., Montoya, A.M.Z., Geissler-Plaum, R. and Schnell, S., 2015. Paradox of plant growth promotion potential of rhizobacteria and their actual promotion effect on growth of barley (Hordeum vulgare L.) under salt stress. Microbiological research, 181, pp.22-32.
16. Chen, Y., Barak, P. (1982). Iron nutrition of plants in calcareous soils. Adv. Agron. 35, 217-240.
17. Cornish, A.S., Page, W.J. (1998). The catecholate siderophores of *Azotobacter vinelandii*: Their affinity for iron and role in oxygen stress management. Microbiology, 144, 1747-1754.
18. Deshwal, V.K. and Kumar, P., (2013). Effect of salinity on growth and PGPR activity of Pseudomonads. Journal of Academia and Industrial Research, 2(6), pp.353-356.

19. Eshaghi, E., Nosrati, R., Owlia, P., Malboobi, M.A., Ghaseminejad, P. and Ganjali, M.R., 2019. Zinc solubilization characteristics of efficient siderophore-producing soil bacteria. Iranian Journal of Microbiology, 11(5), p.419.
20. García, J.E., Maroniche, G., Creus, C., Suárez-Rodríguez, R., Ramirez-Trujillo, J.A. and Groppa, M.D., 2017. In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. Microbiological Research, 202, pp.21-29
21. Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica 2012: 1–15.
22. Hasanudin, H. 2003. Increasing of the nutrient and uptake availability of N and P and through corn yield of inoculation of Mycorrhiza and Azotobacter on ultisol organic matter. Journal of Agriculture Sciences of Indonesia, 5(1): 83 – 89.
23. Jarak, M., Mrkovački, N., Bjelić, D., Joscaron, D., Hajnal-Jafari, T. and Stamenov, D., 2012. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on maize in greenhouse and field trial. African Journal of Microbiology Research, 6(27), pp.5683-5690.
24. Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, L.R. & Fields, M.W. 2006. Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an Athalassohaline lake in northwestern China. Appl. Environ. Microb. 72(6), 3832-3845.
25. Kumar, V. and N. Narula. 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. Biology and Fertility of Soils, 28: 201-305.
26. Kundu, B.S., & Gaur, A.C., (1980). Establishment of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria in the rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of the wheat crop. Plant Soil. 57, 223–230.
27. Kuykendall, L.D. 2015. Rhizobilaes. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, Published by John Wiley & Sons, Inc, in Association with Bergey's Manual Trust.17:1-33.
28. Last R.L., Bissinger, P.H., Mahoney, D.J., Radwanski, E.R., & Fink, G.R. (1991). Tryptophan mutants in Arabidopsis – the consequences of duplicated tryptophan synthase beta genes. Plant. Cell. 3 (4), 345–358.
29. Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K. & Bajpai, V.K. (2015). Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): Isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. Ecological Engineering, 81: 340-347.
30. Mishustin, E., Smironova, G. & Lokhmacheva, R. (1981). The decomposition of silicates by microorganisms and the use of silicate bacteria as bacterial fertilizers. Biology Bulletin Academy of Sciences of the USSR (USA).
31. Munns, R., & Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annu RevPlant Biol 59:651–81. doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
32. Naseri, R., Moghadam, A., Darabi, F., Hatami, A. and Tahmasebei, G.R. 2013. The Effect of deficit irrigation and *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* on grain yield, yield components of maize (SC 704) as a second cropping in western Iran. Bull. Env. Pharmacol. Life Sci, 2(10): 104-112.
33. Prabhavati, E. & Mallalah, K.V. (2009). Effect of salt concentration on indole acetic acid production byRhizobium sp. nodulating horse gram. International Journal of Agricultural Sciences.5(1): 46-49.
34. Schwyn, B., & Neilands, J.B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Anal. Biochem. 160, 47-56.
35. Sheng, X.F. & He, L.Y. (2006). Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of Bacillus edaphicus and its mutants and increased potassium uptake by wheat. Canadian Journal of Microbiology, 52(1): 66-72.

36. Sperber, J.I. (1958). The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Crop and Pasture Science, 9(6): 778-781.
37. Tindale, A.E., Mehrotra, M., Ottem, D., & Page, W.J. (2000). Dual regulation of catecholate siderophore biosynthesis in *Azotobacter vinelandii* by iron and oxidative stress. Microbiology, 146, 1617-1626.
38. Villa, J.A., Ray, E.E., & Barney, B.M., (2014). *Azotobacter vinelandii* siderophore can provide nitrogen to support the culture of the green algae *Neochloris oleoabundans* and *Scenedesmus sp*. BA032. FEMS Microbiol. Lett. 351(1), 70-77.
39. Yan N., Marschner P., Cao W., Zuo C. & Qin W. (2015) Influence of salinity and water content on soil microorganisms. International Soil and Water Conservation Research, 3: 316–323.
40. Zhang, C. & Kong, F. (2014). Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. Applied Soil Ecology, 82: 18-25.

Evaluation of Plant Growth-Promoting Properties of Native Azotobacter Isolates and the Effect of their Inoculation on Growth of Forage Maize under Salinity Stress

H. Khosravi[1]
Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran; E-mail: hkhosravi@areeo.ac.ir
Received: October, 2020 & Accepted: june, 2021

Abstract

Large areas of Iranian soils have different levels of salinity; so the crop production in those area is very limited. *Azotobacter* can stimulate plant growth by various mechanisms. Inoculation of plants with superior native isolates of *Azotobacter* that are compatible with saline areas may enhance plant growth under salinity stress. In this study, 20 isolates of *Azotobacter* isolated from Iranian soils were evaluated in terms of phosphate solubility, potassium releasing, auxin and siderophore production. Salinity tolerance of isolates was investigated in bacterial culture medium at electrical conductivity of 10, 20, 30, 40 and 50 $dS.m^{-1}$. Six selected isolates at three levels of salinity were evaluated on maize Single Cross 704 in a factorial completely randomized block design with three replications in a greenhouse condition. Salinity stress was applied through irrigation water (0.36, 3 and 6 $dS.m^{-1}$). The laboratory results revealed that Az63, Az69 and Az70 were the most effective isolates in terms of phosphate solubilization and potassium releasing and siderophore production. All isolates of *Azotobacter* grown very well in saline media with electrical conductivity of 10 $dS.m^{-1}$ but some of them could grow in saline media with electrical conductivity of 20 $dS.m^{-1}$. Az22 and Az66 isolates were more tolerant to salinity and they survive at electrical conductivity of 50 $dS.m^{-1}$. The greenhouse results showed that dry weight of clusters increased 64 percent compared to the control when plant inoculated with Az69 isolate under normal irrigation water. Inoculation had no significant effect on growth indices when electrical conductivity of irrigation water was 3 or 6 $dS.m^{-1}$. In this study, Az69 isolate was suggested for further studies.

Keywords: Bacteria, Electrical Conductivity, Growth promoter, Inoculation, Salinity.

[1]. Corresponding author: Soil Biology Department, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran