

اثر تنش‌های خشکی و شوری بر تولید هورمون IAA در باکتری‌های جداسازی شده از خاک‌های شور و شور-سدیمی

رضا سلیمانی، حسن توفیقی و حسینعلی علیخانی*

دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۲ / پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۲۳

گروه مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

*مسئول مکاتبات: halikhani@ut.ac.ir

چکیده. این تحقیق به منظور ارزیابی توانایی تولید هورمون Indole acetic acid (IAA) به وسیله باکتری‌های جداسازی شده از خاک‌های متأثر از خشکی و شوری اجرا شد. به همین منظور ضمن جداسازی ۴۰۰ باکتری از خاک‌های با درجات مختلف قابلیت هدایت الکتریکی و نسبت سدیم تبادل، تغییرات تولید IAA، اثر مقادیر مختلف تریپتوفان و تنش‌های خشکی و شوری بر تولید این هورمون تحت بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر تنش‌های خشکی و شوری بر تغییرات تولید IAA از نظر آماری معنی‌دار بود. گونه باکتری *Arthrobacter siccitolerans* (جداسازی شده از خاک‌های شور-سدیمی)، مولد هورمون IAA است و مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که این باکتری در وضعیت تنش خشکی به میزان ۸۴/۳ درصد نسبت به جدایه RS11، هورمون بیشتری تولید کرد. در حالی که جدایه RS11 در شرایط بدون تنش خشکی در مرحله اول غربالگری، بیشترین مقدار IAA ($10.42 \mu\text{g.ml}^{-1}$) را نسبت به سایر باکتری‌ها تولید کرد. همچنین *A. siccitolerans* تا قابلیت الکتریکی برابر با ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر و پتانسیل اسمزی ۲۵- بار همچنان به تولید IAA ادامه داد. مقدار تولید هورمون IAA به ازای مصرف هر واحد تریپتوفان، در این باکتری برابر با ۰/۱ و در باکتری‌های دیگر، کمتر از ۰/۱ بود. با توجه به آزمون‌های انجام شده، برتری نسبی باکتری یادشده محرز شد و برای انجام آزمون‌های مزرعه‌ای در تنش‌های موجود در خاک‌های متأثر از خشکی، شوری و شور-سدیمی پیشنهاد شد.

واژه‌های کلیدی. خشکی، نسبت جذب سطحی سدیم، هدایت الکتریکی، هورمون IAA

The effect of drought and salinity tensions on IAA production in isolated bacteria from saline and saline-sodic soils

Reza Soleimani, Hasan Tofighi and Hosseinali Alikhani*

Received 09.12.2013 / Accepted 13.07.2015

Department of Soil Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran

*Correspondent author: halikhani@ut.ac.ir

Abstract. This investigation was carried out to evaluate Indole acetic acid (IAA) production by isolated bacteria from drought and salinity affected soils. Four hundred bacteria were isolated from soils with different levels of electrical conductivity (EC) and sodium adsorption ratio (SAR). Then the ability of these bacteria to produce IAA and the effects of different amounts of tryptophan and drought-salinity tensions on IAA production were analyzed. Results indicated that the effects of drought and salinity tensions on variability of IAA production were statistically significant. One of the bacterial species isolated from saline-sodic soils, *Arthrobacter siccitolerans*, was IAA producer and data comparison indicated that under drought stress conditions it produced IAA 84.3% higher than isolate RS11. While isolated RS11 produced highest rate of IAA ($10.42 \mu\text{g.ml}^{-1}$) under normal conditions. Also, *A. siccitolerans* continued to produce IAA until the EC was 40 dS.m^{-1} and OP (Osmosis pressure) was -20 bar. The amount of IAA production per unit of applied tryptophan in this bacterium was 0.1 and in others it was lesser. According to experiments, the relative preference of this bacterium was verified and proposed for field experiments in drought, salinity and salinity-sodicity affected soils.

Keywords. drought, electrical conductivity, IAA, sodium adsorption ratio

مقدمه

یکی از مهم ترین آثار مستقیم باکتری های محرک رشد گیاه، تولید هورمون IAA (Indole Acetic Acid) به منزله متابولیت ثانویه می باشد. این هورمون جزء اکسین های فعال فیزیولوژیکی است. نقش اساسی اکسین، در القاء ریشه زایی و تشکیل آغازنده ریشه اثبات شده است (Mangang et al., 2015). به طوری که در غلظت های کمتر از 10^{-8} مولار، نقش های فیزیولوژیکی دیگری نیز در گیاه ایفا می کند که از آن جمله می توان به تغییر در معماری ریشه (Root Architecture) و الگودهی اندام ها (Organ Patterning) اشاره کرد (Woodward et al., 2005; Lamine et al., 2008). در وضعیت تنش های خشکی و شوری، کاهش جوانه زنی بذر و رشد گیاه را به اختلال در تولید هورمون IAA در گیاه نسبت می دهند (Dilfuza, 2011). به طوری که مصرف IAA در غلظت های کم و به طور پیوسته پیشنهاد شده است (Fernandez-Falcon et al., 2005). تولید IAA به وسیله ریزوموجودات خاک از جمله باکتری ها به طور پیوسته انجام می گردد (Mandal et al., 2007). باکتری ها، این هورمون را به منظور بهبود فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه و ایجاد شرایط مناسب در سیکل تشدید رشد خود تولید می کنند (Mohite, 2013). هورمون IAA تولید شده در این باکتری ها، با متعادل کردن توزیع اکسین در گیاه، فرایندهای رشد و نمو گیاه از جمله توسعه ریشه را تنظیم می کند (Spaepen, et al., 2007). مقدار IAA تولید شده بستگی به عوامل ژنتیکی و محیطی دارد. با توجه به محدود بودن مسیر تولید IAA در هر گیاه، باکتری ها، با ایجاد تنوع در مسیرهای تولید IAA، به تولید پایدار آن در جهت رشد گیاه کمک می کنند (Spaepen & Vanderleyden, 2012). مسیرهای اصلی بیوسنتز IAA شامل مسیر Indole-3-Acetamide (IAM)، مسیر Indole-3-Pyruvate (IPA) و مسیر تربیتامین (Tra) است و بیوسنتز هورمون IAA در باکتری ها، بیشتر از مسیر IAM و گاهی از مسیر IPA انجام می شود (Mohite, 2013). با توجه به وابسته بودن مسیر تولید IAA، به تربیتوفان (Trp-dependent pathway)، در مرحله اول، ژن *iaaM* آنزیم تربیتوفان

مونواکسیژناز (Tryptophan-2-monooxygenase) را کد می کند. این آنزیم تربیتوفان را به IAM تبدیل می کند. در مرحله دوم مسیر، ژن *iaaH* آنزیم ایندول استامید هیدرولاز (-IAM hydrolase) را کد می کند و آنزیم ایندول استامید هیدرولاز، IAM را به IAA و آمونیوم تبدیل می کند (Matsukawa et al., 2007). همچنین تولید هورمون IAA به شدت به وضعیت محیطی موجود در آشیان اکولوژیکی باکتری ها، از جمله فاکتورهای لازم برای فعالیت های میکروبی شامل اسیدهای آلی، قندها و دیگر متابولیت های گیاهی مثل L-Tryptophane (پیش ماده تولید اکسین) وابسته است. در تحقیقاتی مشخص شد که توان تولید اکسین توسط *Pseudomonas putida* با افزودن تربیتوفان به محیط کشت باکتری، افزایش یافت (Patten & Glick, 2002). به طوری که در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تربیتوفان، به ترتیب ۱۴/۵، ۲۲/۵، ۲۶/۲ و ۳۲/۷ میکروگرم در میلی لیتر IAA تولید شد. در تحقیقات دیگر نیز مشخص شده است که مصرف تربیتوفان، توانایی تولید هورمون IAA را به وسیله باکتری سودوموناس افزایش داد به طوری که Bent و همکاران گزارش کردند که در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تربیتوفان، به ترتیب ۷/۱، ۱۲ و ۹۶ میکروگرم در میلی لیتر IAA تولید شد (Bent et al., 2001). در بین گونه های مختلف باکتری نیز تفاوت های زیادی در مقدار تولید هورمون IAA گزارش شده است به طوری که *Ensifer meliloti* و *Rhizobium leguminosarum* به ترتیب ۲۰ و ۲ میکروگرم در میلی لیتر IAA تولید کردند (Dilfuza, 2011).

تاکنون مطالعه ای در باب توان تولید هورمون IAA در باکتری های بومی در خاک های مناطق جنوب غربی کشور که تحت تنش با درجات مختلف خشکی، شوری و شور-سدیمی قرار دارند و همچنین پاسخ های باکتری های مولد، به تنش های شوری و خشکی انجام نشده است. بنابراین تحقیق حاضر به منظور تعیین مناسب ترین جدایه باکتری مولد هورمون IAA از نظر توانایی تحمل خشکی و شوری و کاراترین آن از نظر مصرف تربیتوفان انجام شد.

مواد و روش‌ها

اسپکتروفتومتر سنجش شد؛ به نحوی که ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شد. در مرحله غربالگری اولیه، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری در مرحله غربالگری اولیه به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت دارای ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان و در مرحله بعد به منظور مقایسه کارایی مصرف تریپتوفان همین مراحل با استفاده از محیط کشت حاوی مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت، سوسپانسیون خالص باکتری به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ g) شد و سلول‌های باکتری از محیط کشت و مواد مترشحه جدا شدند. محلول رویی به نسبت ۱ به ۲ با معرف سالکوفسکی (۱۵۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ۰/۵ مولار) مخلوط گردید. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و آن‌گاه با استفاده از اسپکتروفتومتر، مقدار جذب نور در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Patten & Glick, 2002). مقدار تولید هورمون IAA با مقایسه جذب آن با جذب در نمودار استاندارد تهیه‌شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

آزمون میزان تحمل به تنش کم‌آبی باکتری‌ها با استفاده از PEG-6000

به منظور ارزیابی میزان تحمل جدایه در برابر سطوح مختلف تنش کم‌آبی، از توان رشد آنها در محیط کشت TSB حاوی غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ استفاده شد. براساس معادله (Michel & Kaufmann, 1973) غلظت‌های صفر، ۲۰۲/۲، ۲۹۵/۷، ۳۶۷/۷، ۴۲۸/۴ و ۴۸۱/۹ گرم پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ به ازای هر کیلوگرم محیط کشت TSB معادل پتانسیل‌های آبی صفر، ۵-، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰- و ۲۵- بار است. میزان رشد جدایه‌ها با اندازه‌گیری OD (Optical density) محیط رشد آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و درصد کاهش رشد هر جدایه در سطوح مختلف پلی‌اتیلن گلیکول در مقایسه با میزان رشد همان جدایه در محیط TSB محاسبه شد. سه تکرار از محیط TSB تلقیح نشده حاوی مقادیر مختلف پلی‌اتیلن گلیکول نیز به‌عنوان شاهد جهت

برای تهیه نمونه‌های خاک و جداسازی باکتری‌ها از خاک با استفاده از دستگاه موقعیت‌یاب جهانی (GPS) و دستگاه EC سنج پرتابل، اقدام به مکان‌یابی و نمونه‌برداری از توده خاک‌های شور، شور-سدیمی و معمولی و خاک ریزوسفری گیاه گندم در استان خوزستان و جنوب استان ایلام شد. نمونه‌های مرکب خاک به مقدار دو کیلوگرم از این خاک‌ها از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری تهیه شد و نمونه‌ها پس از هوا خشک کردن به منظور تجزیه‌های شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس از خاک‌ها، گل اشباع تهیه‌شده و pH و EC عصاره اشباع، غلظت کلسیم، غلظت سدیم و پتاسیم به روش فلیم فتومتری اندازه‌گیری شدند (Page et al., 1982). باتوجه به این نتایج Sodium Adsorption Ratio محاسبه شد. با توجه به نتایج تجزیه شیمیایی خاک‌ها، از خاک‌های شور، شور-سدیمی و معمولی ۵۶ نمونه خاک برای جداسازی باکتری‌ها انتخاب شد. به‌این‌منظور، ابتدا سوسپانسیون همگن از هر نمونه، با انتقال ۱۰ گرم خاک به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. سوسپانسیون تهیه‌شده، در شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و پس از آن، سری‌های رقت (از 10^{-1} تا 10^{-9}) تهیه گردید. در نهایت، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت، بر روی پلیت حاوی محیط کشت Nutrient Agar با روش کشت چمنی پخش شد (Wang et al., 2007). تمام پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز گرماگذاری شدند. به منظور خالص‌سازی جدایه‌ها، کلنی‌های تشکیل شده از بالاترین رقت‌های هر نمونه کشت شده انتخاب و دوباره بر روی محیط کشت NA رشد داده شدند. کلونی‌هایی که پس از کشت‌های متوالی مشابهت داشتند انتخاب شده و برای استفاده بعدی روی محیط کشت شیب‌دار در یخچال نگهداری شدند.

ارزیابی جدایه‌های باکتری از نظر توان تولید هورمون IAA

توانایی تولید هورمون IAA با روش پیشنهادی Bric انجام شد. برای اندازه‌گیری کمی تولید IAA در محیط کشت مایع، شدت رنگ ایجاد شده در اثر استفاده از محلول سالکوفسکی با دستگاه

در میلی لیتر، تنش خشکی در شش سطح شامل صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵- بار و تنش خشکی در ۶ سطح شامل صفر، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دسی زیمنس بر متر با چهار تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و نتایج تجزیه واریانس به دست آمد. سپس با استفاده از آزمون چنددامنه ای دانکن (DMRT)، میانگین داده ها در سطح ۵٪ با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه شیمیایی خاک های نمونه برداری شده نشان داد که محدوده شوری خاک ها بین ۰/۱ تا ۲۶/۳ دسی زیمنس بر متر و SAR بین ۰/۱ تا ۳۰/۱۲ (میلی اکی والان بر لیتر) قرار داشت. همچنین سدیم، کلسیم و منیزیم محلول خاک به طور میانگین به ترتیب ۵۶، ۲۲ و ۱۷ میلی اکی والان بر لیتر و میانگین pH خاک ها ۷/۶۱ بود. در مجموع تعداد ۴۰۰ جدایه باکتری از خاک ریزوسفری و غیر ریزوسفری جداسازی گردید.

فراوانی مقادیر تولید هورمون IAA توسط جدایه های باکتری

فراوانی مقادیر تولید هورمون IAA در محدوده های با فاصله های ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتری در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود، مقادیر بالای تولید هورمون IAA، فراوانی های کمی داشت؛ به طوری که تنها در ۳ درصد از باکتری ها، مقدار تولید هورمون IAA، بیشتر از ۹ میکروگرم در میلی لیتر بوده و از طرفی، مقدار تولید IAA در ۳۴ درصد از باکتری ها، کمتر از ۱/۵ میکروگرم در میلی لیتر بود. تولید هورمون IAA در محدوده میانه جمعیت (۶-۴/۵ میکروگرم در میلی لیتر)، دارای فراوانی برابر با ۱۹ درصد بود (شکل الف). همچنین مشخص شد که ۷۸ درصد از باکتری های جداسازی شده از ناحیه ریزوسفری و ۵۴ درصد از باکتری های جداسازی شده از ناحیه غیر ریزوسفری (توده خاک)، مولد هورمون IAA بودند (شکل اب). در این تحقیق، تفاوت های دیگری نیز در کمیت تولید IAA در شرایط ریزوسفری و غیر ریزوسفر مشاهده شد (شکل اج). به طوری که بیشترین فراوانی تولید هورمون

تعیین میزان OD این محیط در وضعیت فوق تهیه شد (Sandhya et al., 2009).

آزمون میزان تحمل در برابر تنش شوری

به این منظور، توان رشد جدایه های مختلف باکتری در محیط کشت TSB حاوی مقادیر مختلف نمک های کلرید سدیم، کلرید کلسیم و کلرید منیزیم تحت ارزیابی قرار گرفت. مقادیر نمک اضافه شده به نحوی تنظیم شد که نتیجه آن، ایجاد شوری های صفر، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دسی زیمنس بر متر بود. سپس تغییرات رشد جدایه ها با اندازه گیری OD محیط رشد آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و در بین جدایه ها با هم مقایسه شد.

شناسایی جدایه برتر

برای شناسایی باکتری های برتر به روش ژنتیکی (16S rRNA)، استخراج DNA با روش استاندارد انجام شد (Dauphin et al., 2009). ابتدا لیز سلول و تغییر ماهیت دادن پروتئین با به کارگیری بافر لیزکننده (لیزوزیم، EDTA، SDS، پروتئیناز K)، صورت گرفت و سپس با استفاده از فنل و کلروفرم تمام اجزای غیر از اسیدهای نوکلئیک رسوب داده شد (K Maciel et al., 2009). در پایان، با استفاده از استات سدیم و اتانول مطلق سرد، DNA موجود در محلول رسوب کرد. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (PCR) با شرایط تکثیر استاندارد انجام شد. در این تحقیق، برای تکثیر ژن 16S rDNA جدایه منتخب از پرایمرهای (A19-F2) FP (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3') و RP(A1R1)(5'AAGGAGGTGATCCAGCCGCA3') (Lorraine, et al., 2000). محصول به دست آمده از PCR در ژل آگارز ۱ درصد، بارگذاری و بعد از مشاهده باند مشخص تحت نظر با توجه به راهنما، برای تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شد.

تجزیه های آماری

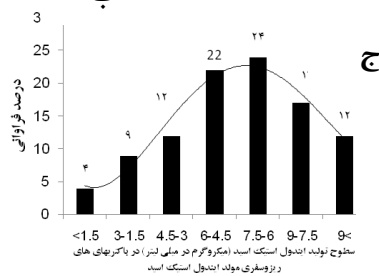
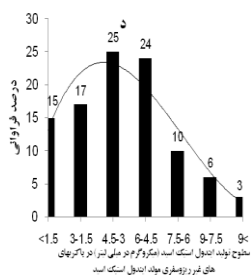
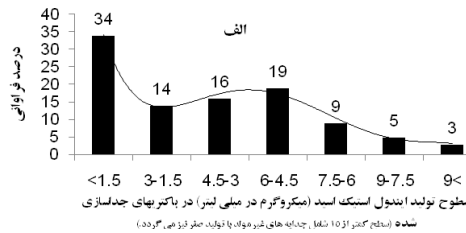
آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی، تیمار تریپتوفان در شش سطح شامل صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم

ریزوسفری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین تولید هورمون IAA با آزمون چند-دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد که در بین باکتری-های ریزوسفری، جدایه‌های RS11، RSS57، RN74، RSS32 و RS2 به ترتیب با تولید ۱۰/۴۱، ۱۰/۳۷، ۱۰/۰۳ و ۱۰/۰۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بیشترین مقدار تولید هورمون IAA را داشته و در بالاترین گروه آماری قرار گرفتند. همچنین در بین باکتری‌های غیر ریزوسفری، جدایه‌های RSS15 و BSS207 به ترتیب با تولید ۹/۴۲ و ۹/۳۱ میکروگرم در میلی-لیتر بیشترین مقدار تولید هورمون IAA را داشتند و در بالاترین گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). Kavamura و همکاران (2013) نشان دادند که ۳۰٪ از باکتری‌ها بیشتر از ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و تمام باکتری‌های جنس *Bacillus* کمتر از ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر هورمون IAA تولید کردند.

IAA در باکتری‌های ریزوسفری، مربوط به محدوده ۷/۵-۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و در تحت باکتری‌های غیرریزوسفری، مربوط به محدوده ۴/۵-۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. به عبارت دیگر، اوج نمودار در تحت باکتری‌های جداسازی شده از خاک ریزوسفری به سمت مقادیر بیشینه و در تحت باکتری‌های جداسازی شده از خاک غیرریزوسفری به سمت مقادیر کمینه تولید هورمون IAA کشیده شده‌است. در همین زمینه Mohote (2013) ۱۰ جدایه از ریزوسفر گندم و ذرت با توانایی تولید هورمون IAA گزارش کرد که ۵ باکتری شامل *Bacillus B. Lactobacillus acidophilus megaterium B. cereus subtilis* و *L. acidophilus* کارایی بیشتری داشتند و بین ۵/۱۴ تا ۱۶/۲۲ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA تولید کردند.

تغییرات تولید هورمون IAA

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت‌های بین تولید هورمون IAA در جدایه‌های باکتری ریزوسفری و غیر-



شکل ۱- مقایسه فراوانی تولید هورمون IAA در جدایه‌های باکتری تحت مطالعه. الف- فراوانی تولید در جدایه‌های باکتری؛ ب- نسبت باکتری‌های مولد و غیر مولد؛ ج- مقایسه فراوانی در باکتری‌های ریزوسفری مولد؛ د- مقایسه فراوانی در باکتری‌های غیرریزوسفری مولد.

Fig. 1. Comparison of IAA production frequency in isolated bacteria.

جدول ۱- خلاصه نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تولید هورمون IAA توسط جدایه های ریزوسفری و غیر ریزوسفری.

Table 1. Results of variance analysis (mean squares) of IAA production by rhizospheric and non-rhizospheric bacteria.

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	احتمال
جدایه های ریزوسفری			
تکرار	۲	۴/۲۱ ^{ns}	۰/۳۴۲
تولید IAA	۸۹	۳۴۵/۶ ^o	۰/۰۱۳
خطا	۱۷۸	۲۴/۲	
CV%=۸/۴۳			
جدایه های غیر ریزوسفری			
تکرار	۲	۸/۷۵ ^{ns}	۰/۴۷۱
تولید IAA	۳۰۹	۶۵۶/۴ ^o	۰/۰۲۲
خطا	۶۱۸	۵۳/۶	
CV%=۶/۱۲			

* نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد می باشد

جدول ۲- مقادیر هورمون IAA تولید شده توسط جدایه های باکتری برتر ریزوسفری و غیر ریزوسفری.

Table 2. Amounts of IAA produced by upper rhizospheric and non-rhizospheric isolated bacteria

ردیف	جدایه های ریزوسفری	میانگین تولید IAA (μg.ml ⁻¹)	شیب منحنی تحمل به تنش خشکی	ردیف	جدایه های غیر ریزوسفری	میانگین تولید IAA (μg.ml ⁻¹)	شیب منحنی تحمل به تنش شوری
۱	RS11	۱۰/۴۱a	-۰/۱۷۰c	۱	BS153	۹/۴۲a	-۰/۱۷۸b
۲	RN74	۱۰/۳۷a	-۰/۱۹۳c	۲	BSS207	۹/۳۱a	-۰/۱۳۲c
۳	RSS57	۱۰/۰۳a	-۰/۱۲۸a	۳	BS80	۹/۲۷b	-۰/۱۰۴b
۴	RSS32	۱۰/۰۱a	-۰/۱۸۴c	۴	BSS174	۹/۱۷b	-۰/۱۰۸b
۵	RS2	۱۰/۰a	-۰/۱۸۸c	۵	BN276	۹/۰۲b	-۰/۱۲۶c
۶	RN76	۹/۷۶b	-۰/۱۹۹c	۶	BSS179	۸/۲۸c	-۰/۱۰۱b
۷	RN83	۹/۷۵b	-۰/۱۹۴c	۷	BSS172	۸/۱۳c	-۰/۱۱۵b
۸	RN80	۹/۳۳b	-۰/۲۱۳d	۸	BSS234	۸/۰۱c	-۰/۱۲۵c
۹	RN65	۸/۷۴c	-۰/۱۵۷b	۹	BS96	۷/۵۴c	-۰/۱۲۴c
۱۰	RS10	۸/۷۱c	-۰/۱۳۷a	۱۰	BSS192	۶/۷۳d	-۰/۰۹۸a

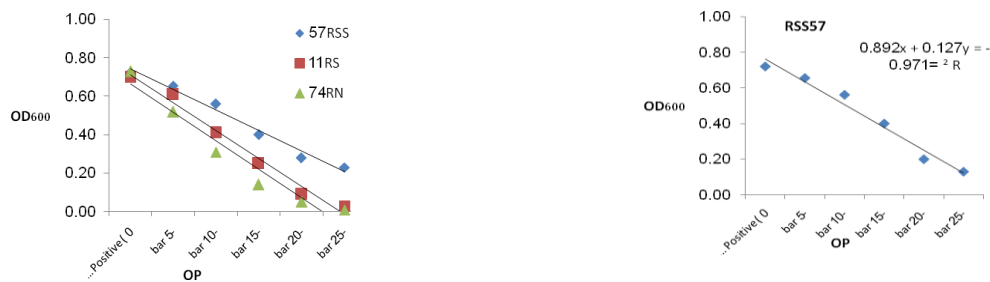
میانگین هایی که با حرف یا حروف مشترک مشخص شده اند بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری با هم ندارند.

R=Rhizosphere, B=Bulch, S=Saline, SS=Saline- sodic, N=Non-saline soils

مقایسه توان تحمل تنش به خشکی و شوری

در باب سنجش تنش خشکی، با حل کردن مقادیر مختلف ماده PEG 6000 در محیط کشت باکتری، قابلیت استفاده مولکول-های آب کاهش یافته و پتانسیل های اسمزی متفاوتی ایجاد شد. همان طور که در شکل ۲ در باب جدایه RSS57 مشاهده می-گردد، با افزایش غلظت PEG 6000 در محیط کشت، چگالی نوری (OD₆₀₀) به عنوان معیاری از رشد باکتری روند کاهش نشان داد. شیب منحنی حاصل، نشان دهنده شدت پاسخ جدایه

باکتری به تنش ایجاد شده است. به طوری که شیب کاهشی کمتر (شیب ملایم تر)، نشان دهنده تحمل نسبی بیشتر است که درباره جدایه RSS57 این شیب برابر با -۰/۱۲۸ بود (شکل ۲). وضعیت کاهشی چگالی نوری و مقایسه سه جدایه برتر مولد هورمون IAA در شکل ۲ نشان داده شده است. همان طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، جدایه RSS57 نسبت به جدایه های دیگر دارای توان تحمل به خشکی بیشتری بود و پس از آن، جدایه های RS10 و BSS192 با شیب های ۰/۱۳۷ و -۰/۱۳۹ در رتبه های بعدی قرار گرفتند.



ب

الف

شکل ۲- (الف) اثر تنش خشکی بر روند رشد جدایه RSS57 و (ب) مقایسه سه جدایه برتر مولد هورمون IAA.

Fig. 2. The impact of drought tension on A) growth trend of RSS57 isolate and B) comparison of three high IAA producers. OP= Osmosis potential.

اثر مصرف تریپتوفان در سطوح مختلف تنش خشکی بر تولید هورمون IAA

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر غلظت‌های مختلف تریپتوفان، تنش خشکی و برهم‌کنش آنها بر مقدار تولید هورمون IAA به ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین، مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که مصرف تریپتوفان در تحت جدایه RSS57 باعث تولید هورمون IAA بیشتری نسبت به سایر جدایه‌ها شد. این جدایه، در غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان، مقدار ۴/۲۲ میکروگرم در میلی‌لیتر هورمون IAA در جدایه RS11 (با تولید ۲/۲۹ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۸۴/۳ درصد افزایش نشان داد. درحالی‌که جدایه RS11، در وضعیت بدون تنش خشکی در مرحله اول غربال‌گری، بیشترین مقدار IAA را تولید کرد (جدول ۲).

همچنین، ارزیابی توان تحمل شوری جدایه‌ها با استفاده از محلول‌های نمکی (ترکیبی از کلریدهای سدیم، کلسیم و منیزیم) نشان داد که در این شرایط نیز، با افزایش EC، چگالی نوری (OD₆₀₀) به منزله معیاری از رشد باکتری تغییر یافت. در این حالت نیز، روند کلی شیب منحنی حاصل، شدت پاسخ جدایه‌های باکتری را به تنش شوری نشان داد؛ به طوری که شیب کاهشی کمتر، نشان‌دهنده تحمل نسبی بیشتر است. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود جدایه RSS57 با شیب ۰/۰۶۷-، پرتحمل‌ترین جدایه و پس از آن جدایه‌های RN65 و BSS192 به ترتیب با شیب‌های ۰/۰۹۱- و ۰/۰۹۸- در رتبه‌های بعدی قرار داشتند.

جدول ۳- خلاصه نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تغییرات تولید هورمون IAA متأثر از مصرف تریپتوفان و سطوح تنش خشکی. ** و * به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطوح ۱ و ۵ درصد می‌باشد.

Table 3. Results of variance analysis (mean square) of IAA production variation as affected by tryptophan application and drought tension levels.

احتمال	میانگین مربعات	درجه آزادی	منبع تغییر
۰/۴۸۲	۱۴/۳۲ ^{ns}	۳	تکرار
۰/۰۰۲	۴۷۶/۳ ^{**}	۹	جدایه باکتری
۰/۰۱۳	۱۶۲/۷ [*]	۵	مصرف تریپتوفان
۰/۰۱۱	۲۷۴/۵ [*]	۵	تنش خشکی
۰/۰۳۴	۸۷۶/۲ [*]	۴۵	جدایه* تریپتوفان
۰/۰۲۶	۶۳۴/۷ [*]	۴۵	جدایه* تنش خشکی
۰/۰۱۷	۴۲۹/۶ [*]	۲۵	تریپتوفان* تنش خشکی
۰/۰۴۱	۹۸۳/۷ [*]	۲۲۵	جدایه* تریپتوفان* تنش خشکی
	۲۴/۲	۱۰۵	خطا

تریپتوفان (یک میکروگرم در لیتر) تولید کردند که بیان گر ۱۰ برابر بودن کارایی مصرف تریپتوفان و تولید هورمون IAA در جدایه RSS57 نسبت به جدایه RSS192 بود. درباب دیگر جدایه ها نیز کارایی کمتر از ۰/۱ بود. کارایی مصرف تریپتوفان از فرمول زیر محاسبه شد:

$$E_t = (P_t - P_c) / Trp_{app}$$

E_t = تولید هورمون در تیمار با P_t ، کارایی مصرف تریپتوفان مصرف تریپتوفان

P_c = تولید هورمون در تیمار بدون مصرف تریپتوفان

Trp_{app} = مقدار تریپتوفان مصرف شده

در دیگر تیمارهای مصرف تریپتوفان نیز این روند ملاحظه شد؛ به طوری که در غلظت ۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تریپتوفان نیز، ۲۸/۳ درصد افزایش تولید هورمون IAA حاصل شد (جدول ۴). در جدایه های دیگر نیز همین روند وجود داشت و جدایه های با توان تحمل خشکی و شوری بالاتر (جدایه های RS10 و BSS192) هم نتوانستند مقادیر درخور ملاحظه ای هورمون IAA با مصرف تریپتوفان تولید کنند و پایداری تولید مناسبی نسبت به جدایه RSS57 نداشتند. به عبارت دیگر افزایش تولید IAA با توجه به روند افزایشی غلظت تریپتوفان ناچیز بود و در تیمار ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر تریپتوفان، مقدار تولید IAA از ۲/۱۶ میکروگرم در میلی لیتر تجاوز نکرد. محاسبه کارایی مصرف تریپتوفان نیز نشان داد که در تیمار ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر، جدایه های RSS57 و BSS192، به ترتیب ۰/۱ و ۰/۰۱ میکروگرم در لیتر هورمون IAA به ازاء مصرف هر واحد

جدول ۴- تغییرات تولید هورمون IAA جدایه های برتر در اثر مصرف مقادیر مختلف تریپتوفان (با اعمال تنش های خشکی).

Table 4. IAA production variability of bacteria as affected by tryptophan treatments.

ردیف	جدایه های باکتری	غلظت تریپتوفان (میکروگرم در میلی لیتر)					
		صفر	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	۲۵۰
۱	RS11	۱/۱۲d	۲/۲۹d	۳/۳۵c	۴/۴۳b	۵/۰۶b	۵/۲۷a
۲	RN74	۱/۱۲d	۱/۱۷d	۲/۴۲c	۳/۱۲b	۳/۱۸b	۳/۲۲b
۳	RSS57	۱/۵۰d	۴/۲۲b	۵/۶۱a	۶/۱۸a	۶/۴۹a	۶/۸۵a
۴	RSS32	۱/۶۱d	۲/۰۴d	۳/۶۱c	۴/۶۴b	۴/۹۴b	۵/۰۲b
۵	RS2	۱/۱۴e	۱/۲۴d	۲/۲۹c	۲/۵۷c	۲/۹۶c	۳/۱۵b
۶	RN65	۰/۱۰d	۱/۰۱d	۲/۲۶c	۲/۳۴c	۲/۲۷c	۲/۲۹c
۷	RS10	۰/۱۲d	۲/۱۵d	۲/۹۵c	۳/۱۰c	۳/۱۵c	۳/۱۸c
۸	BS153	۱/۵۵d	۱/۹۲d	۲/۴۱c	۳/۳۷c	۴/۲۲b	۴/۳۴b
۹	BSS207	۱/۴۸d	۱/۷۸d	۲/۳۶c	۳/۲۹c	۴/۲۶b	۴/۴۳b
۱۰	BSS192	۱/۴۲e	۱/۷۹d	۲/۰۱d	۲/۰۵d	۲/۱۰d	۲/۱۶d

- میانگین هایی که با حرف مشترک مشخص شده اند براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری با هم ندارند.

۴/۸۰ میکروگرم در میلی لیتر و کاهش تولید، به ترتیب ۶۴/۵ و ۶۵/۲ درصد بود (جدول ۵). Ali و همکاران (2009) گزارش کردند که در باکتری های جنس *Pseudomonas* با افزایش مصرف تریپتوفان از ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر مقدار تولید ۷/۹۳ میکروگرم در میلی لیتر در جدایه RSS57 بود. با اعمال تنش ۵- بار، تولید در این جدایه به ۷/۳۹ میکروگرم در

در این تحقیق، با ملاحظه اثر تنش خشکی و برهم کنش تنش خشکی و مصرف تریپتوفان، برتری جدایه RSS57 مشخص شد. به نحوی که علاوه بر اثر پذیری کمتر از تنش خشکی در تنش های با شدت کم، در تنش نهایی (۲۵- بار) نیز این جدایه باکتری توانست به تولید خود ادامه دهد. در حالی که در جدایه های RS11 و RSS32، تولید هورمون IAA، به ترتیب ۴/۸۲ و

میلی‌لیتر می‌رسد که نشان دهنده ۷/۳۰ درصد کاهش تولید IAA از ۹/۵۲ به ۲۸/۴۱ میکروگرم در میلی‌لیتر افزایش یافت.

جدول ۵- مقایسه تغییرات تولید هورمون IAA در سه جدایه برتر، متأثر از برهم‌کنش مصرف تریپتوفان و تنش خشکی.

Table 5. Comparison of variability in IAA production of three upper isolates as affected by tryptophan and drought tension interaction.

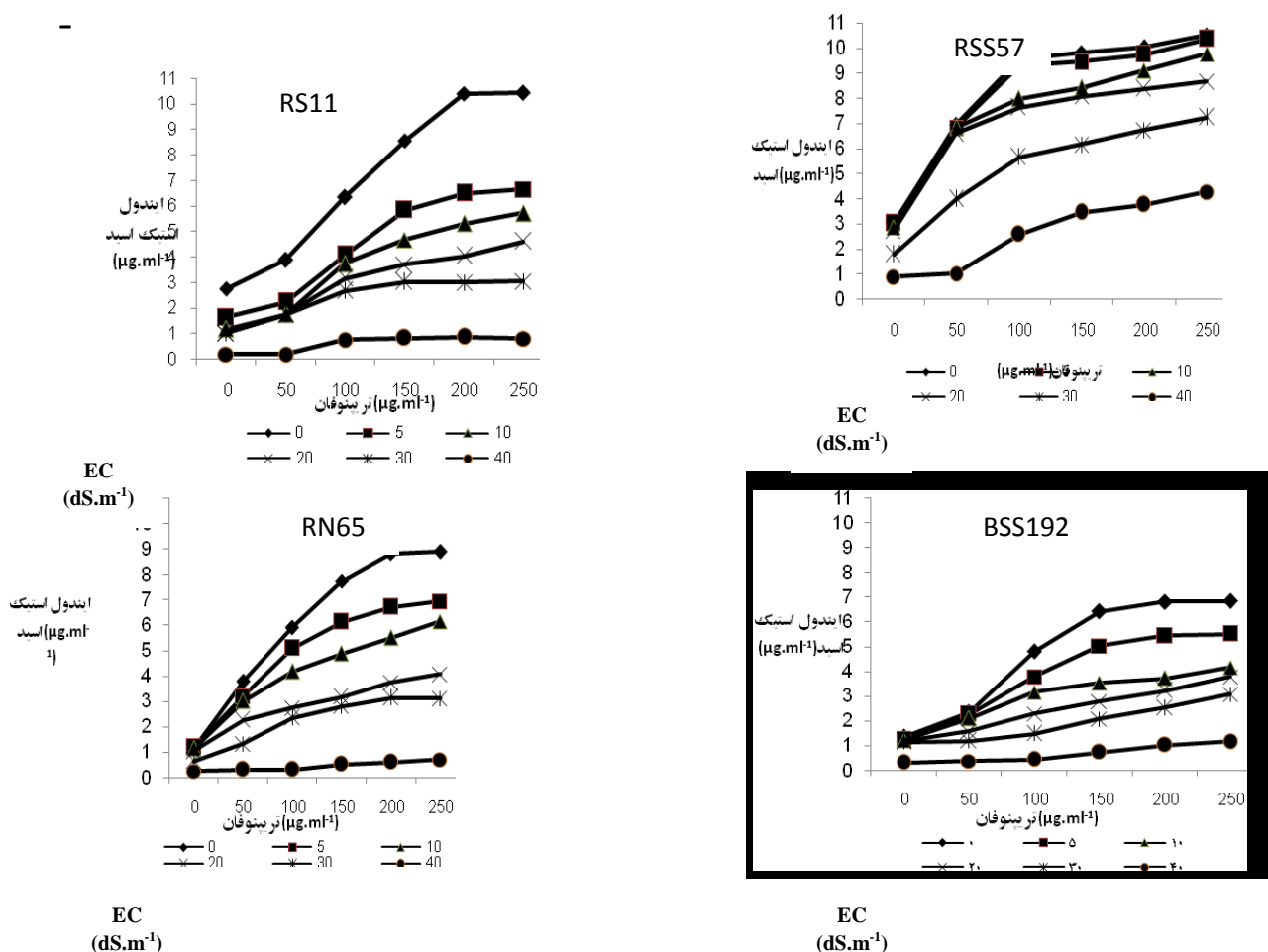
میانگین	غلظت تریپتوفان (میکروگرم در میلی‌لیتر)						تنش خشکی (بار)
	۲۵۰	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر	
<u>جدایه RSS57</u>							
۷/۹۳A	۱۰/۸۸a	۱۰/۰۳a	۹/۹۸a	۸/۷۴b	۵/۹۴b	۲/۰۲d	۰
۷/۳۹A	۱۰/۱۳a	۹/۷۰a	۸/۹۷b	۷/۸۹b	۵/۷۳b	۱/۹۴d	-۵
۶/۳۱B	۸/۴۱b	۷/۹۵b	۷/۲۸b	۶/۸۴c	۵/۶۸b	۱/۷۱d	-۱۰
۵/۰۵C	۶/۳۳b	۶/۱۳b	۶/۰۴b	۵/۵۹b	۴/۵۵c	۱/۶۸d	-۱۵
۳/۵۲D	۴/۴۰c	۴/۳۰c	۴/۰۳c	۳/۸۶d	۲/۸۶d	۱/۶۵d	-۲۰
۰/۷۰E	۰/۹۳c	۰/۸۵e	۰/۷۸e	۰/۷۲e	۰/۵۳e	۰/۴۰e	-۲۵
<u>جدایه RS11</u>							
۶/۵۵A	۱۰/۴۶a	۱۰/۴۱a	۸/۹۳b	۴/۳۰c	۲/۸۴d	۱/۷۲d	۰
۴/۸۲B	۷/۰۸b	۷/۲۸b	۵/۹۷c	۴/۰۸c	۲/۹۴b	۱/۵۴d	-۵
۳/۹۱B	۶/۰۹b	۵/۱۵c	۴/۵۱c	۳/۵۸c	۲/۸۹d	۱/۲۱e	-۱۰
۳/۲۰B	۴/۵۶c	۳/۹۹c	۳/۶۶c	۳/۱۱c	۲/۶۷d	۱/۱۸e	-۱۵
۲/۴۶C	۲/۹۰d	۲/۸۷d	۲/۸۹d	۲/۵۴d	۲/۴۰d	۱/۱۵e	-۲۰
۰/۰۰D	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰۰۰e	-۲۵
<u>جدایه RSS32</u>							
۶/۳۲A	۱۰/۳۹a	۱۰/۳۷a	۷/۳۲b	۴/۵۸c	۲/۷۸d	۲/۴۸d	۰
۴/۸۰B	۶/۹۹b	۶/۸۴b	۶/۶۵b	۴/۴۸c	۲/۵۹d	۱/۸۶d	-۵
۴/۱۱B	۵/۷۱b	۵/۷۱b	۵/۴۴b	۳/۲۵c	۲/۴۸d	۱/۸۱d	-۱۰
۳/۲۵C	۳/۸۷b	۳/۷۵c	۴/۸۴c	۳/۲۰c	۲/۲۹d	۱/۷۷e	-۱۵
۲/۷۸C	۳/۱۶c	۳/۱۰c	۳/۶۱c	۳/۱۶c	۲/۱۰d	۱/۷۲d	-۲۰
۰/۰۰D	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	-۲۵

میانگین‌هایی که با حرف مشترک مشخص شده اند براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری با هم ندارند.

تنش در سطح EC برابر با ۵ دسی‌زیمنس بر متر) روی هم قرار گرفتند (شکل ۳). همچنین با مصرف مقادیر کم تریپتوفان نیز، این جدایه برتر توانست مقادیر نسبی قابل ملاحظه‌ای از هورمون IAA نسبت به دیگر جدایه‌ها در وضعیت مشابه، تولید کند. در جدایه‌های دیگر، کاهش تولید IAA از شوری از ۵ دسی‌زیمنس بر متر شروع شده و این موضوع در شکل ۳ با مشاهده فاصله ایجاد شده منحنی‌های تنش شوری، نسبت به منحنی بدون تنش شوری (شاهد) مشخص می‌شود.

اثر مصرف تریپتوفان و سطوح تنش شوری بر تولید هورمون IAA

بررسی تغییرات تولید هورمون IAA در اثر برهم‌کنش تنش شوری و مصرف تریپتوفان در جدایه RSS57 نشان داد که مقدار شوری برابر با ۵ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شرایط بدون تنش شوری اثر چندانی بر روند تولید IAA در این جدایه نداشت به طوری که منحنی حاصل از هر دو حالت (بدون تنش و



شکل ۳- روند تغییرات تولید هورمون IAA توسط ۴ جدایه برتر در سطوح مختلف تریپتوفان و تنش شوری.

Fig. 3. The trend of variability in IAA production by 4 upper isolates at different levels of tryptophan and salinity tension.

سلول‌های مرده جانداران خاک در ریزوسفر نسبت به توده خاک، فراوانی و مقدار تولید هورمون IAA در باکتری‌های جدا شده از ریزوسفر بیشتر بود.

در وضعیت تنش‌های خشکی، شوری و شور-سدیمی، ترشحات ریشه‌ای به تبعیت از رشد گیاه، کمتر بود و تریپتوفان کمتری در اختیار باکتری‌ها قرار می‌گرفت (Ahmed *et al.*, 2008). از-طرفی، جمعیت باکتری‌ها و توده‌های مرده آنها، کمتر بود و منبع تریپتوفان فراوانی در دسترس باکتری قرار نمی‌گرفت. بنابراین کارایی بیشتر مصرف تریپتوفان در این شرایط، تعیین‌کننده موثر-بودن تلقیح بوده و به تدریج با افزایش ریشه‌های گیاه، اثر متقابل باکتری و گیاه در جهت گسترش رشد هر دو موجود زنده پیش می‌رفت. Swain و همکاران (2007) گزارش کردند که

در این تحقیق، با توجه به این که نمونه برداری اولیه به تعداد زیاد و از خاک‌های با درجات مختلف EC و SRA انجام شد، باکتری‌های جداسازی شده نیز به همان نسبت، متنوع بودند و توانایی‌های متفاوتی در تولید هورمون IAA در شرایط تنش‌های خشکی و شوری و کارایی‌های مختلفی نسبت به مصرف تریپتوفان از خود نشان دادند. Dilfuza (2011) گزارش کرد که ۹۰ درصد از باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر، قادر به تولید هورمون IAA بودند. با توجه به تجزیه و تحلیل نمودارهای فراوانی، مشخص شد که توانایی تولید هورمون IAA در سطوح بالا، در باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر گندم نسبت به باکتری‌های جداسازی شده از توده خاک بیشتر بود. به نظر می‌رسد که به دلیل وجود ترکیباتی مانند هیدرات‌های کربن و ترکیبات آلی در ترشحات ریشه‌ای اطراف ریشه و همچنین

کننده از خشکی از جمله ترهالوز و گلوتامین است و همین موضوع باعث دوام آنها در وضعیت تنش خشکی و شوری شده است. هرچند در مورد *A. siccitolerans* گزارشی از تولید IAA مشاهده نشد اما درباب گونه‌های دیگر این جنس تحقیقاتی انجام شده است. Banerjee و همکاران (2010) تولید هورمون IAA را در برخی از گونه‌های *Arthrobacter* در حدود ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش کردند.

نتیجه‌گیری

با استفاده از چندین مرحله آزمون و مقایسه جدایه‌ها، یک باکتری متعلق به گونه *Arthrobacter siccitolerans* که از ریزوسفر گندم در خاک شور-سدیمی جدا شده بود، ویژگی-های باکتری برتر را داشت. به طوری که محاسبه کارایی مصرف تریپتوفان نشان داد که در تیمار ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، باکتری مقدار ۰/۱ میکروگرم در لیتر هورمون IAA به ازای مصرف هر واحد تریپتوفان (یک میکروگرم در لیتر) تولید کرد که این مقدار تولید، نسبت به دیگر جدایه‌ها بالاترین مقدار بود. همچنین باکتری مذکور، دارای پایداری تولید هورمون IAA در تنش خشکی و شوری بود و کارایی بالایی نیز در مصرف تریپتوفان داشت. بنابراین، با توجه به نتایج، این جدایه گزینه مناسبی برای انجام آزمون‌های مزرعه‌ای به‌منزله باکتری محرک رشد گیاه در تنش‌های موجود در خاک‌های شور و شور-سدیمی مناطق خشک و نیمه‌خشک در جنوب غربی کشور محسوب می‌شود و می‌تواند به توسعه رشد ریشه، جذب بیشتر آب و عناصر غذایی و در نتیجه افزایش عملکرد گیاهان در اوضاع دشوار محیطی کمک کند.

باکتری *Bacillus subtilis* مقادیر متغیری از هورمون IAA تولید کرد. Ahmad و همکاران (2005) نشان دادند که تعدادی از جدایه‌های *Pseudomonas fluorescens* قادر بودند در محیط NB بدون افزودن تریپتوفان، مقادیر بین ۵/۳۴ تا ۲۲/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA تولید کنند. همچنین، باکتری RSS57 در وضعیت تنش‌های خشکی و شوری، بیشتر از دیگر جدایه‌ها، هورمون IAA تولید کرده و پایداری تولید در پتانسیل‌های اسمزی مختلف و مقادیر شوری کم تا زیاد را از خود نشان داد. اهمیت این موضوع از آنجا مشخص می‌شود که محققین مختلف از جمله Berg و همکاران (2013) اظهار کردند که بخشی از توانایی یک گونه گیاهی برای سازش با شرایط تنش خشکی و شوری به میکروارگانیسم‌های توانا به تولید هورمون‌های رشد گیاهی به‌ویژه IAA در همان وضعیت بستگی دارد. از آن‌جا که بخشی از کاهش رشد گیاه در شوری-های پایین، به کاهش تولید هورمون IAA گیاهی در بافت گیاهی نسبت داده می‌شود، لذا هورمون IAA تولیدی از طریق باکتری‌های تحمل‌کننده شوری، می‌تواند جبران‌کننده این خلاء در گیاه باشد (Alqarawi, et al., 2014).

نتیجه‌شناسایی جدایه باکتری برتر

پس از انجام مراحل شناسایی ژنتیکی، نتایج تعیین توالی‌ها، در سایت NCBI بررسی شد و با توجه به میزان قرابت‌ها مشخص شد که به احتمال ۹۹ درصد این جدایه باکتری متعلق به گونه *Arthrobacter siccitolerans* می‌باشد. Narvaez- و Narvaez-Reinaldo (2010) همکاران گزارش کردند که باکتری‌های جنس *Arthrobacter* که از ریزوسفر گیاهان مناطق خشک جداسازی شد، تجمع‌دهنده ترکیبات محافظت-

References

- Ahmed, R., Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z.A., and Mahmood, T. 2008. Effect of compost enriched with N and L-tryptophan on soil and maize. – *Agronomy Sustainable Development* 28: 299-305.
- Ali, B., Sabri, A.N., Ljung, K., and Hasnain. 2009. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum*

aestivum L. – *Letters in Applied Microbiology* 48: 542-547.

- Alqarawi, A.A., Abd Allah, E.F., Hashem, A., Al Huqail, A., Asma, Abdulaziz, A. and Al-Sahli A.A. 2014. Impact of abiotic salt stress on some metabolic activities of *Ephedra alata* Decne. – *Journal of Food, Agriculture and Environment* 12: 620-625.

- Banerjee, S., Palti, R., Sengupta, C., and Standing, D.** 2010. Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. – Australian Journal of Crop Science 4: 378-383.
- Bent, E., Tuzan, S., Chanway, C.P. and Enebak, S.** 2001. Alteration in plant growth and root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. – Canadian Journal of Microbiology 47:793-800.
- Berg, G., Alavi, M., Schmidt, C.S., Zachow, C., Egamberdieva, D. and Lugtenberg, F.B.** 2013. Biocontrol and osmoprotection for plants under saline conditions. In: J. de Bruijn Frans (Ed.), Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere. – Wiley-Blackwell, USA.
- Dauphin, L., Moser, A. and Bowen, M.D.** 2009. Evaluation of five commercial nucleic acid extraction kits for their ability to inactivate *Bacillus anthracis* spores and comparison of DNA yields from spores and spiked environmental samples. – Journal of Microbiology Methods 76:30-37.
- Dilfuza, E.** 2011. Indole-acetic acid production by root associated bacteria and its role in plant growth and development. In: Keller, A.H., and Fallon, M.D. (Ed.), Auxins: Structure, Biosynthesis and functions. – Nova Science Publishers, Inc.
- Fernandez-Falcon, M., Borges, A. and Borges-Perez, A.** 2003. Induced resistance to *Fusarium* wilt of banana by exogenous applications of indoleacetic acid. – Phytoprotection 84:149-153.
- Lamine, B., Maria, L.V. and Marc-Andre, F.** 2008. Induction and growth of hairy roots for the production of medicinal compounds. – Electronic Journal of Integrative Bioscience 3:1-9.
- Lorraine, G.W., D.L. Balkwill, F.H. Crocker, B.N. Bjornstad, and Robert, V.M.** 2000. Genetic diversity among *Arthrobacter* Species collected across a heterogeneous series of terrestrial deep-subsurface sediments as determined on the basis of 16S rRNA and *recA* gene sequences. – Applied Environmental Microbiology 66: 3454-3463.
- Kavamura, V.N., Santos, S.N., and Melo, I.S.** 2013. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. – Microbiological Research 168: 183-191.
- Maciel, B.M., Santos, A.C.F., Dias, J.C.T., Vidal, R.O., Dias, R.G.C., Gross, E., Cascardo, J.C.M. and Rezende, R.P.** 2009. Simple DNA extraction protocol for a 16S rDNA study of bacterial diversity in tropical landfarm soil used for bioremediation of oil waste. – Genetics and Molecules Research 8: 375-388.
- Mandal, S.M., Mondal, K.C., Dey, S. and Pati, B.R.** 2007. Optimization of cultural and nutritional conditions for indole-3-acetic acid (IAA) production by a *Rhizobium* sp. isolated from root nodules of *Vigna mungo* (L.) Hepper. – Research Journal of Microbiology 2: 239-246.
- Mangang, J.S., Deaker, R. and Rogers, G.** 2015. Early seedling growth response of lettuce, tomato and cucumber to *Azospirillum brasilense* inoculated by soaking and drenching. – Horticultural Science 42: 37-46.
- Matsukawa, E., Nakagawa, Y., Iimura, Y. and Hayakawa, M.** 2007. Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. – Actinomycetologica 21: 32-39.
- Michel, B.E. and Kaufmann, M.R.** 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. – Plant Physiology 51:914-916.
- Mohite, B.** 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. – Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13: 638-649.
- Narváez-Reinaldo, J.J., Barba, I., González-López, J., Tunnacliffe, A. and Manzanera, M.** 2010. Rapid method for isolation of desiccation-tolerant strains and xeroprotectants. – Applied Environmental Microbiology 76: 5254-5262.
- Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R.** 1982. Methods of Soil Analysis. 2nd Edn. – American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.
- Patten, C.L. and Glick, B.R.** 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of host plant root system. – Applied Environmental Microbiology 68: 3795-3801.
- Sandhya, V., Ali S.K.Z., Minakshi, G., Reddy, G. and Venkateswarlu, B.** 2009. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. – Biology and Fertility of Soils 46: 17-26.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R.** 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. – FEMS Microbiological Review 31:425-448.
- Spaepen, S. and Vanderleyden, J.** 2012. Auxin and plant-microbe interactions. – Cold Spring Harbor Perspectives Biology 10: 1-14.
- Swain, M.R., Naskar, S.K. and Ray, R.C.** 2007. Indole-3-acetic acid production and effect on sprouting of yam. (*Dioscorea rotundata* L.) Minisett by *Bacillus subtilis* isolated from culturable cowdung microflora. – Polish Journal of Microbiology 56: 103-110.

Wang, Q.F., Li, W., Liu, Y.L., Cao, H., Li, Z. and Guo, G.Q. 2007. *Bacillus qingdaonensis* sp. nov., a moderately haloalkaliphilic bacterium isolated from a crude sea-salt sample collected near Qingdao in eastern China. – International Journal of Systematic Evolution in Microbiology 57: 1143-1147.

Woodward, A.W. and Bartel, B. 2005. Auxin: regulation, action, and interaction. – Annuals of Botany 95: 707-730.

Soleimani, R., Tofighi, H. and Alikhani, H. 2015. The effect of drought and salinity tensions on IAA production in isolated bacteria from saline and saline-sodic soils. – Nova Biologica Reperta 2: 186-198.

سلیمانی، ر.، توفیقی، ح. و علیخانی، ح.ع. ۱۳۹۴. اثر تنش‌های خشکی و شوری بر تولید هورمون IAA در باکتری‌های جداسازی شده از خاک‌های شور و شور-سدیمی. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲: ۱۹۸-۱۸۶.