تاثیر باکتری محرک رشد *Stenotrophomonas maltophilia* حل‌کننده روی بر رشد ذرت در شرایط آزمایشگاه

بنفشه رضایی نیکو[۱]، نعیمه عنایتی ضمیر[۲*] و مجتبی نوروزی مصیر[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۳

پذیرش نهایی:۱۳۹۶/۱۲/۲۵

کلمات کلیدی:

کود زیستی،

پتاسیم،

روی،

فسفر،

رشد

* عهده دار مکاتبات

n.enayatzamir@scu.ac.ir

چکیده

روی، یکی از عناصر کم مصرف ضروری مورد نیاز گیاهان است که قابلیت جذب آن در خاک‌های آهکی پایین است. باکتری‌های حل کننده روی نامحلول در افزایش دسترسی گیاه به روی نقش دارند. به منظور جداسازی باکتری‌های حل‌کننده روی از منبع اکسید روی، نمونه خاک از ریزوسفر ذرت تهیه و با استفاده از محیط کشت جامد و مایع دارای روی از منبع اکسید روی غربال‌گری شدند. هم‌چنین تعداد ۵۰ جدایه باکتری از ریزوسفر ذرت جداسازی گردیدند. که از بین این جدایه‌ها ۱۶ جدایه که دارای شاخص انحلال بالاتری بودند بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برای مطالعات بیش‌تر انتخاب شدند. جدایه‌ای که دارای توانایی بیش‌تری در انحلال روی، فسفر، پتاسیم و تولید اکسین بود انتخاب و شناسایی شد. این جدایه *Stenotrophomonas maltophilia* بود. تاثیر این جدایه بر رشد گیاه ذرت بررسی گردید. این پژوهش در زیستگاه درون شیشه‌ای با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام شد. در هر لوله یک بذر کشت گردید. فاکتورهای آزمایش شامل دو سطح باکتری B_1 (شاهد)، B_2 (*stenotrophomonas maltophilia*) و سه سطح کود سولفات‌روی Zn_0 (بدون افزودن کود)، Zn_{20} (۲۰میلی‌گرم بر کیلوگرم کود) و Zn_{40} (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کود) بودند. بعد از یک دوره ۲۰ روزه شاخص کلروفیل اندازه‌گیری و بخش هوایی و ریشه ذرت برداشت شد. صفات وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، طول ریشه و بلندی گیاه اندازه-گیری شد. این بررسی نشان داد پیامد مایه‌زنی باکتری بر همه ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد معنی‌دار است. تمام ویژگی‌های ذکر شده در حضور باکتری و بدون مصرف کود سولفات روی بالاترین مقادیر را داشتند. با توجه به توانایی *Stenotrophomonas maltophilia* در انحلال روی، فسفر و پتاسیم و مشکل قابلیت جذب روی در خاک‌های آهکی، می‌توان از این سویه پس از تایید در تحقیقات مزرعه‌ای، به عنوان کود زیستی بهره‌گیری کرد.

مقدمه

ذرت،گیاهی است که بعد از گندم بزرگ‌ترین سطح زیر کشت اراضی زراعی دنیا را به خود اختصاص داده است و از نظر تولید محصول، بعد از گندم و برنج، در رتبه سوم قراردارد (۳۳). روی (Zn) عنصر ضروری برای گیاهان، انسان‌ها و ریزجانداران است (۱۰). روی، یک ماده مغذی ضروری برای رشد گیاهان است و در واکنش‌های مختلف آنزیمی، فرآیند متابولیسم و واکنش‌های اکسیداسیون و احیا مورد نیاز می‌باشد. این فلز، معمولا پس از آهن "دومین فلز فراوان در جانداران" است و تنها فلزی است که در همه کلاس‌های آنزیمی ظاهر می‌شود(۸). روی، در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در گیاهان نقش دارد (۴۱). فعالیت آنزیم کربنیک‌آنهیدراز، به‌سرعت در اثر کمبود روی، کاهش می‌یابد. کربنیک‌آنهیدراز، در سیتوپلاسم و کلروپلاست تجمع می‌یابد و واکنش تبدیل دی‌اکسیدکربن به بیکربنات و بالعکس را کاتالیز می‌کند که به فراهم شدن دی‌اکسیدکربن برای فتوسنتز کمک می‌نماید (۴۱). عنصر روی از طریق محافظت از گروه سولفیدریل باعث سنتز کلروفیل می‌گردد(۵۲). روی باعث سنتز اکسین است و واکنش فتوشیمیایی کلروفیل را کاتالیز می‌کند (۳۴ و ۶۲). بیش از ۵۶ درصد خاک‌های زراعی ایران، مقدار روی قابل عصاره‌گیری با DTPA کم‌تر از ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم داشته (دچار کمبود روی می باشند) و تنها ۳۱ درصد از خاک‌ها بیش‌تر از یک میلی‌گرم بر کیلوگرم روی قابل جذب دارند. حد بحرانی روی در خاک‌های ایران ۰/۵ تا ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (۵۹). کود روی به صورت سولفات روی به کار برده می‌شود که بعد از کاربرد در خاک، بسته به نوع خاک و واکنش‌های شیمیایی که اتفاق می‌افتد، به صورت ترکیبات غیر قابل دسترس گیاه در می‌آید (۲۰).

به‌گروهی از باکتری‌های مفید ریزوسفری که باعث افزایش در رشد گیاه می‌شوند، باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] گفته می‌شود. امروزه افزایش روز افزون استفاده از PGPRها در کشاورز، به عنوان روشی جایگزین برای کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و مکمل‌ها به منظور جلوگیری از آلودگی محیط زیست محسوب می‌شود(۲). این باکتری‌ها از راه‌های گوناگون، مانند تولید هورمون‌ها (اکسین، سیتوکنین و جبرلین)، تولید اسیدهای آلی و در نتیجه کاهش pH ، افزایش رهاسازی عناصر غذایی، تولید آنزیم ACC دی‌آمیناز[2]، افزایش حلالیت فسفر، تثبیت نیتروژن جو، افزایش حلالیت آهن بواسطه تولید سیدروفور[3] سبب انحلال ترکیبات نامحلول روی و به تبع آن، باعث افزایش جذب عناصرغذایی و هم‌چنین جلوگیری از اثرات زیان آور تنش‌های محیطی و در نهایت افزایش رشد گیاه می‌شوند (۴۲). روی غیرقابل‌استفاده را می‌توان با استفاده از باکتری‌های حل‌کننده روی به شکل قابل استفاده درآورد. نقش اصلی این باکتری‌ها در انحلال روی، کاهش pH به ۵ یا کم‌تر از طریق تولید اسیدهای آلی یا معدنی، انحلال روی و به دنبال آن افزایش زیست فراهمی این عنصر است (۵۶). علاوه بر فراهمی مواد مغذی برای گیاهان، PGPR ها هم‌چنین از گیاهان محافظت می‌کنند. آن‌ها فعالیت پاتوژن‌ها را با تولید متابولیت‌های ضد قارچی متعدد، مانند سیدورفورها، آنزیم‌های هیدرولیتیک و آنتی بیوتیک‌ها سرکوب می‌کنند (۱۴)؛ بنابراین، می‌توانند به عنوان جایگزین برای کودهای شیمیایی و قارچ‌کش‌ها مورد استفاده قرارگیرند و از این رو تولید پایدار، ایمنی زیست محیطی و هزینه تولید پایین‌تر را تامین کنند. این استدلال با گزارش‌های قبلی تایید شده است که تلقیح گیاهان با PGPR منجر به بهبود تغذیه، رشد زیاد گیاهان و عملکرد بالا شده است (۱۶). تاثیرات بسیار مثبت PGPRها بر رشد محصولات مختلف، مانند نیشکر، ذرت، گندم، برنج، کلزا، آفتابگردان و سایر گیاهان در شرایط محیطی متغیر، در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای مشاهده شده است (۱۶ و

1 Plant growth-promoting rhizobacteria
2 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase
3 Siderophore

۲۷). افزایش ۹ درصدی عملکرد گندم با استفاده از کنسرسیوم *Bacillus thuringiensis* و *Serratia* sp.گزارش شده است(۱ و ۴۹). علاوه بر افزایش عملکرد، PGPRها هم‌چنین تأثیر قابل توجهی در جذب مواد مغذی توسط گیاهان دارند. این ویژگی ریزوباکتری‌ها توجه پژوهشگران را به سوی بهره‌برداری از آن‌ها در غنی‌سازی غلات متمرکز کرده است. رامش و همکاران (۵۴) گزارش دادند که باکتری‌های باسیلوس حل‌کننده روی، موجب افزایش جذب روی در گندم و سویا شده است. به طور گسترده‌ای گزارش شده که تنوع زیادی در منشا و عملکرد PGPRها وجود دارد و پتانسیل رشد آن‌ها برای خاک‌های خاص، گونه‌های گیاهی، ژنوتیپ‌ها و ارقام بسیار خاص است (۳۸، ۴۳ و ۶۴). از این‌رو، بررسی جامع جوامع باکتری بومی، جمعیت و ویژگی‌های آن‌ها برای ارزیابی تنوع باکتری‌های بومی و توزیع آن‌ها در ریزوسفر برخی از محصولات مورد نیاز است (۹ و ۵۱).

اثرات PGPR بر رشد گیاهان مختلف در انواع مختلف خاک در شرایط اقلیمی متغیرگوناگون، متفاوت است؛ بنابراین، لازم است کشت سویه‌های میکروبی خاص هر منطقه برای توسعه بیولوژیک، به منظور به‌دست آوردن حداکثر عملکرد و مواد مغذی یک محصول خاص انجام گیرد (۱۹ و ۲۶). غنی‌سازی زیستی یک رویکرد جاری است که با هدف افزایش قابلیت زیست‌پذیری مواد مغذی، مانند روی و آهن در محصولات اصلی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶۱). گوپتا و همکاران[1] (۲۴) گزارش کردند در اثر استفاده از باکتری‌های PGPR با ویژگی محرک رشدی انحلال عناصر غذایی از جمله فسفر، عملکرد گیاه افزایش پیداکرد. استیکن و همکاران[2] (۱۸) در پژوهشی روی توت فرنگی نشان‌دادند با کاربرد باکتری‌های *Pseudomonas* و *Bacillus* میزان روی در توت‌فرنگی و در نهایت عملکرد گیاه افزایش پیدا می‌کند. باکتری‌های *Pseudomonas*، *Stenotrophomonas* و *Bacillus* به عنوان یاکتری محرک رشد با توانایی تولید اکسین و سرکوب عوامل بیماری زا باعث بهبود رشد و عملکرد خیار شدند (۳۰).

شکیل و همکاران[3] (۶۰) گزارش کردند که استفاده از باکتری‌های انحلال کننده روی *Bacillus* sp. و *Bacillus cereus*، تاثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه برنج، ارتفاع گیاه، محتوای کلروفیل و وزن هزار دانه دارد. افزایش رشد و عملکرد گندم در اثر کاربرد باکتری‌های *Azosprilium* و *Pseudomonas* و *Rhizobium* به همراه کود شیمیایی توسط ناز و همکاران[4](۴۷) گزارش شد.

با توجه به مشکل جذب روی توسط گیاه در خاک‌های آهکی استفاده از باکتری‌های حل‌کننده روی می‌تواند به جذب روی توسط گیاه کمک نماید؛ بنابراین، در پژوهش حاضر باکتری‌های محرک رشد گیاه با توانایی انحلال روی نامحلول از ریزوسفر ذرت جداسازی شدند و در تاثیر جدایه‌ی با شاخص انحلال بالاتر بر ویژگی‌های رشدی گیاه ذرت، بررسی گردیدند.

مواد و روش:

نمونه برداری از خاک

تعداد ۱۰ نمونه خاک به صورت تصادفی از منطقه پیرامون ریشه ذرت کشت شده برداشت و سپس نمونه مرکب از آن تهیه گردید و در پاکت استریل به آزمایشگاه انتقال داده و در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

جداسازی و شناسایی باکتری‌ها

به منظور جداسازی باکتری‌ها از خاک ریزوسفری، ده گرم از خاک ریزوسفری به ارلن‌های حاوی ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (سدیم کلرید ۰/۷ درصد) منتقل شد و نمونه‌ها به مدت ۳۰دقیقه تکان داده شدند. پس از تهیه سری رقت و کشت بر روی محیط آگار مغذی بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری، باکتری‌ها بر اساس تفاوت در خصوصیات ظاهری کلنی‌ها از روی محیط آگار خالص‌سازی شدند.

1- Gupta *et al.*
2- Esitken *et al.*
3- Shakeel *et al.*
4- Naz *et al.*

ارزیابی کیفی انحلال روی

به این منظور جدایه‌ها بر روی محیط کشت حداقل نمک-های معدنی حاوی ترکیب نامحلول اکسید روی به روش لکه‌گذاری کشت داده شدند. به این صورت که ۱۰ میکرولیتر از کشت شبانه باکتری‌های خالص شده بر روی محیط کشت قرار داده شدند و بعد از پنج روز باکتری‌هایی که نسبت قطر کلنی به قطر هاله آن‌ها یک یا بیش‌تر شد، به عنوان سویه‌های برتر انتخاب شدند. محیط کشت شامل ۱۰ گرم لیترگلوگز، ۱ گرم/لیتر سولفات آمونیوم، ۰/۲ گرم/لیتر کلرید پتاسیم، ۰/۱ گرم/لیتر دی پتاسیم هیدروژن فسفات، ۰/۲ گرم/لیتر سولفات منیزیم در pH ۷، منبع نامحلول اکسید روی (۰/۱ درصد) و آگار (۱۷ گرم در لیتر) است (۵۷). شاخص انحلال روی با استفاده از فرمول (۱) محاسبه شد (۱۵):

فرمول(۱) $$\text{شاخص انحلال} = \frac{\text{قطر کلنی} + \text{قطر هاله}}{\text{قطر کلنی}}$$

ارزیابی کمی انحلال روی

به میزان یک درصد حجمی از کشت شبانه باکتری‌ها به ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع حاوی نمک نامحلول اکسید روی تلقیح گردید. بعد از تلقیح، نمونه‌های باکتریایی در دمای ۲۸ درجه سلسیوس با سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه تکان داده شده و بعد از آن به مدت ۵ روز گرماگذاری شدند. سپس pH نمونه‌ها (هر باکتری در سه تکرار) قرائت گردید و هم‌زمان نمونه‌ها برای حذف باقی‌مانده‌ها و سلول‌ها سانتریفیوژ شدند و غلظت روی در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل GBC قرائت گردید.

آزمون های بیوشیمیایی:

برای این منظور باکتری‌هایی که توانایی بیش‌تری در انحلال ترکیبات نامحلول روی، پتاسیم و فسفر داشتند، با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. آزمون-های بیوشیمیایی، شامل رنگ‌آمیزی گرم، تست اسنات، رشد در محیط مک‌کانکی آگار، رنگ آمیزی اسپور، آزمون OF[1]، تست اکسیداز، آزمون کاتالاز،تست هیدرولیز نشاسته، تست هیدرولیز ژلاتین، آزمون تحمل به شوری، آزمون TSI[2]، آزمون مصرف قند، آزمون SIM[3]، آزمون اوره آز، آزمون احیای نیترات، تست MR-VP[4] وآزمون سیمون سیترات اگار بودند(۶).

اندازه‌گیری ویژگی‌های محرک رشدی جدایه‌های باکتریایی

ارزیابی کمی انحلال فسفر: از کشت شبانه باکتری‌ها به میزان یک درصد حجمی به ۲۵میلی‌لیتر محیط کشت مایع PVK[5] تلقیح شد و نمونه‌ها(هر باکتری در سه تکرار) به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و سرعت ۱۲۵ دور در دقیقه انکوبه شدند. ترکیب محیط کشت شامل گلوکز ۱۰گرم/لیتر، تری کلسیم فسفات ۵ گرم/لیتر، سولفات آمونیوم ۰/۵ گرم/لیتر، سدیم کلرید ۰/۲ گرم/لیتر، سولفات منیزیم (هفت آبه) ۰/۱ گرم/لیتر، پتاسیم کلرید ۰/۲ گرم/لیتر، عصاره مخمر ۰/۵ گرم/لیتر، سولفات منگنز (یک آبه) ۰/۰۰۲ گرم/لیتر، و سولفات آهن (هفت آبه) ۰/۰۰۲ گرم/لیتر بود (۵۰). بعد ازپنج روز pH نمونه‌ها قرائت شد و همزمان نمونه‌ها به منظور حذف بقایا و سلول‌ها سانتریفیوز (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) شدند ویک میلی‌لیتر از عصاره رویی با ۵ میلی لیتر معرف آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط گردید و در نهایت با آب مقطر حجم نهایی به ۵۰ میلی لیتر رسانده شد و مقدار فسفر حل شده توسط جدایه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتردر طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد (۳۲) و استانداردهای فسفر (۰، ۰/۵، ۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ میکرومولار) با استفاده از پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات[6] برای رسم منحنی استاندارد تهیه گردید.

ارزیابی کمی انحلال پتاسیم:

به این منظور از کشت شبانه باکتری‌ها به میزان یک درصد حجمی به درون ارلن‌های حاوی ۲۵ میلی‌لیتر از محیط کشت الکساندروف تلقیح شد. محیط کشت حاوی

1- Oidative- Fermentative

2- Triple Sugar Iron
3- Sulfide Indole Motility
4- Methyl red and Voges–Proskauer
5- Pikovskaya
6- KH2PO4

گلوکز ۵ گرم/لیتر، سولفات منیزیم ۷ آبه ۰/۵ گرم/لیتر، فسفات کلسیم ۲ گرم/لیتر، کربنات کلسیم ۰/۱ گرم/لیتر، کلرید آهن ۰/۰۰۶ گرم/لیتر و کانی ورمی‌کولایت ۳ گرم درلیتر(۷ pH) بود (۲۸). نمونه‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس با سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه انکوبه شدند؛ سپس pH نمونه‌ها قرائت گردید و به منظور حذف باقی‌مانده‌ها و سلول، سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) شدند و پس از آن مقدار پتاسیم حل شده با استفاده از دستگاه شعله سنجی قرائت گردید.

اندازه‌گیری کیفی تولید اکسین

برای تعیین تولید هورمون اکسین از محیط Luria Bertani tryptophan حاوی ۵ گرم گلوکز، ۵گرم کلرید سدیم، ۵گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم تریپتون، ۰/۵ گرم تریپتوفان و ۲۰ گرم آگار (در حجم یک لیتر) استفاده شد (۷). جدایه‌های باکتری بر روی محیط کشت به صورت خطی کشت و با کاغذ صافی پوشانده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. پس از زمان ذکر شده کاغذهای صافی از روی کلنی‌های رشد یافته تا قطر ۲ میلی‌متر برداشته شد و با معرف سالکوفسکی (۱۵۰ ملی لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی لیتر $FeCl_3.6H_2o$) آغشته گردید (۵). تغییر رنگ کاغذ به رنگ صورتی حداکثر تا ۱۰ دقیقه نشان‌دهنده توانایی تولید هورمون اکسین توسط جدایه‌هاست.

شناسایی مولکولی جدایه برتر

جدایه برتر از نظر انحلال روی با استفاده از پرایمرهای 16S rDNA، پرایمر رفت1492R و پرایمر برگشت 8F شناسایی شد (۲۹).

کشت ذرت در شرایط درون شیشه‌ای

به‌منظور نشان دادن تاثیر باکتری‌های محرک رشد با توانایی انحلال روی، فسفر، پتاسیم و تولید اکسین بر ویژگی‌های رشدی گیاه ذرت، آزمایش در شرایط آزمایشگاهی طرحی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در پنج تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری در دو سطح B_1 (شاهد)، B_2 (*Stenotrophomonas maltophilia*)، کود سولفات روی در سه سطح Zn_0 (بدون افزودن کود روی)، Zn_{20} (۲۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) و Zn_{40} (۴۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) بودند. توصیه کود سولفات روی برای ذرت به میزان ۴۰ کیلوگرم در هکتار است. فسفر مورد نیاز گیاه با افزودن سوپرفسفات تریپل (۵۰ کیلوگرم در هکتار) و نیتروژن از منبع اوره (۵۰۰ کیلوگرم در هکتار) تامین شد (۳۹). بذرهای ذرت به مدت ۵ دقیقه درون هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شدند. سپس چندین بار با آب مقطر استریل شسته شدند (۲۲). خاک به همراه ماسه (هر لوله حاوی ۱۶ گرم خاک و ۴ گرم ماسه) اتوکلاو شدند تا بذرها و تیمارهای مورد نظردر شرایط استریل به درون آن‌ها اعمال گردند. بافت خاک مورد آزمایش کلی‌لوم بود و از ماسه به منظور سبک شدن بافت خاک استفاده شد. برای تهیه مایه تلقیح کشت شبآن‌های از باکتری مورد نظر تهیه و درون لوله‌هایی که نیاز به تیمار باکتری داشتند به میزان ۲۰ میکرولیتر از مایه تلقیح باکتری (10^9Cfu/ml) در شرایط استریل مایه‌زنی شد. بعد از اعمال تیمارها، لوله‌های آزمایش (۳۰لوله) در شرایط گلخآن‌های نگهداری شدند. بعد از یک دوره ۲۰ روزه شاخص کلروفیل با اسپد، وزن خشک ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری گردید.

آنالیز آماری

تجزیه واریانس کلیه صفات مورد بررسی با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید.

نتایج

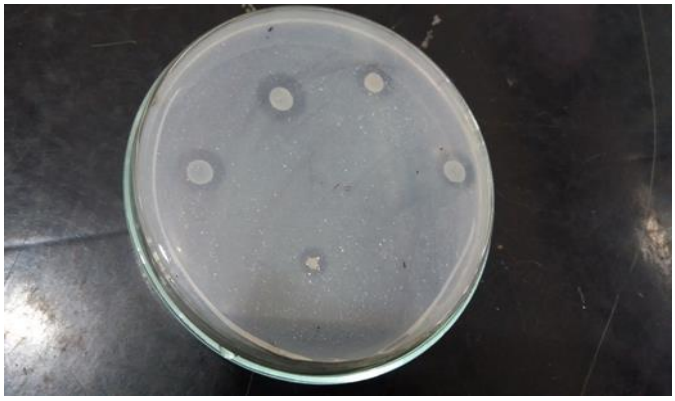
ارزیابی کیفی انحلال روی:

در مجموع از پنجاه جدایه، ۱۶ جدایه که دارای شاخص انحلال بالاتری بودند، برای ارزیابی سایر صفات محرک رشدی استفاده شدند. نتایج مربوط به ارزیابی کیفی انحلال روی در جدول(۱) آورده شده است. بیش‌ترین مقادیر شاخص انحلال روی مربوط به جدایه‌های Z1، Z3، Z15 و Z9 بود.

ارزیابی کمی انحلال روی

نتایج انحلال ترکیب نامحلول اکسید روی مربوط به ۱۶ جدایه در محیط مایع اختصاصی حاوی ترکیب نامحلول اکسید روی در جدول ۲ آورده شده است.

بیش‌ترین میزان روی آزاد شده در محیط مایع، مربوط به باکتری (*Stenotrophomonas maltophilia*) z13 به مقدار ۴۴/۸ میلی‌گرم در لیتر بود.



شکل(۱) هاله انحلال روی توسط برخی جدایه‌ها در پلیت حاوی اکسید روی
Feature (1) Zinc solubilization halo by some isolates on plate containing zinc oxide

جدول(۱) ارزیابی کیفی انحلال روی توسط جدایه‌ها
Table (1) Qualitative evaluation of zinc solubilization by isolates

شاخص انحلال Solubilization index	قطر هاله(میلی متر) Halo diameter (mm)	قطر کلنی(میلی متر) Colony diameter (mm)	قطر هاله+کلنی(میلی‌متر) Colony+halo Diameter (mm)	پاسخ(Response) / کد باکتری (Bacterial code)
۰	۰	۰	0	Control
2.3	6.5	5	11.5	z1
2	4	4	8	z2
2.3	7.5	5.5	13	z3
2.18	6.5	5.5	12	z4
2	6	6	12	z5
2	5.5	5.5	11	z6
2	5	5	10	z7
2	5	5	10	z8
2.2	6	5	11	z9
2	6	6	12	z10
2	5.5	5.5	11	z11
2.08	6.5	6	12.5	z12
2	6	6	12	z13
2.08	6.5	6	12.5	z14
2.3	6.5	5	11.5	z15
2	4.5	4.5	9	z16

هم‌چنین هم‌بستگی معنی‌داری بین کاهش مقادیر pH و انحلال روی توسط جدایه‌ها به‌دست آمد (r=-0.88**). انحلال روی توسط جدایه‌ها می‌تواند به علت تولید اسیدهای آلی، از جمله ۲-کتوگلوکونیک اسید باشد که pH محیط را کاهش می‌دهند و باعث افزایش انحلال ترکیبات روی در محیط مایع می‌شوند (۳۵). راج کومار و همکاران[1](۵۳)، گزارش کردند که *Pseudomonas* sp دارای توانایی انحلال روی است. انحلال روی به دلیل توانایی جدایه‌ها در تولید اسید و کاهش pH می‌باشد که منجر به آزادسازی روی از منابع نامحلول می‌شود. باکتری‌های حل‌کننده روی در محیط مایع، pH کم‌تری را در مقایسه با شاهد نشان می‌دهند (۴۶).

شناسایی بیوشیمیایی جدایه‌های حل‌کننده روی

بر اساس آزمون‌های انجام شده از بین ۱۶جدایه، ۱۳ جدایه متعلق به جنس *Bacillus*، ۲ جدایه متعلق به جنس *Pseudomonas* و یک جدایه متعلق به جنس *Stenotrophomonas* بود. اسامی جنس باکتری‌ها در جدول ۳ آورده شده است.

شناسایی مولکولی جدایه برترحل‌کننده روی

بر اساس نتایج به‌دست آمده از مقایسه توالی 16S rDNA جدایه Z13 تشابه ۹۸ درصدی با باکتری *Stenotrophomonas maltophilia* داشت. جدایه مذکور با کد دسترسی MG263615 در NCBI ثبت گردید.

ارزیابی کمی انحلال فسفر توسط جدایه‌ها

نتایج انحلال فسفر توسط جدایه‌ها در محیط مایع PKV در جدول ۳ آورده شده است. بیش‌تر میزان انحلال فسفر مربوط به جدایه‌های Z4، Z5، Z1 و Z12 به ترتیب با مقادیر ۹۳، ۹۳، ۸۷/۸۳ و۸۵/۲۳ میلی‌گرم در لیتر بود. هم‌چنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین کاهش مقدار pH و افزایش انحلال فسفر به‌دست‌آمد (r=-0.87**). انحلال ترکیبات نامحلول فسفر به سبب تولید اسیدهای آلی است (۲۲). برخی از سویه‌های *Bacillus megaterium* و *Arthrobacter* قادر به تولید اسیدهای آلی و سیدروفور می‌باشندکه نقش مهمی در آزادسازی فسفر از منابع نامحلول تری کلسیم فسفات ایفا می‌کنند (۱۳). مقدار pH محیط توسط جدایه‌ها نشان دهنده تولید اسید به‌وسیله باکتری برای انحلال فسفر می‌باشد. چن و همکاران (۱۳) با بررسی نوع و میزان اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌ها دریافتند که باکتری‌هایی که اسیدهای آلی بیش‌تری تولید نموده‌اند، سبب کاهش بیش‌تر pH در محیط شده و بیش‌ترین میزان حل‌کنندگی فسفر را به خود اختصاص دادند. تولید اسیدهای معدنی مانند اسید سولفوریک، اسید نیتریک و اسید کربنیک به وسیله ریزجانداران نیز، موجب انحلال ترکیبات نامحلول فسفر می‌شود (۲۵).

ارزیابی کمی انحلال پتاسیم در محیط مایع

نتایج توان انحلال پتاسیم در محیط مایع الکساندروف در جدول۴ ارائه شده است. بیش‌ترین میزان پتاسیم آزاد شده مربوط به جدایه‌های Z2 و Z13 است. هم‌چنین هم‌بستگی منفی معنی‌داری بین مقادیر انحلال پتاسیم و pH در سطح احتمال ۰/۰۱ مشاهده شد (r=-0.52*). چن و همکاران (۱۳)، گزارش کردندکه *Bacillus megaterium* و *Arthrobacter* قادر به تولید اسیدهای آلی و سیدروفور هستند که می‌توانند نقش مهمی در آزادسازی عناصری مثل پتاسیم، آهن و فسفر از کانی‌های بیوتیت و تری کلسیم فسفات ایفا کنند. گزارش‌های مبنی بر رها سازی پتاسیم از کانی عمدتا به باکتری‌های *باسیلوس* و *سودوموناس* تعلق دارد (۳۷ و ۱۷). باکتری‌های جنس *باسیلوس* جز باکتری‌های متداول خاک هستند که نقش مهمی در تجزیه سیلیکات‌ها در طی فرایند خاکسازی ایفا می‌کنند (۳۷). تحقیقات نشان داده‌اند که توانایی باکتری‌ها در تجزیه کانی‌ها می‌تواند به علت تولید و ترشح پروتون، اسیدهای آلی، سیدروفورها و پلی ساکاریدهای خارج سلولی باشد (۲۳ و ۳۵). برای انحلال ترکیبات نامحلول، همیشه کاهش pH اتفاق نمی‌افتد؛ چون سویه‌های انحلال کننده ممکن است سازوکارهای دیگری برای انحلال ترکیبات نامحلول یا کم‌محلول داشته باشند (۲۲). آنزیم‌های فیتاز، فسفاتاز و تبادل آنیونی بین آنیون اسید آلی تولید شده

1- Rajkumar *et al.*

توسط ریزجانداران با آنیون‌هایی مانند فسفات می‌تواند باعث انحلال و آزادسازی ترکیبات نامحلول هم‌چون فسفات کلسیم شود (۵۸)

ارزیابی تولید اکسین

اندازه‌گیری کیفی تولید توسط جدایه Z13 که دارای خصوصیات محرک رشدی بهتری در مقایسه با سایر جدایه‌ها بودند، به صورت کیفی صورت گرفت. جدایه مذکور قادر به تولید اکسین بود. کومار و همکاران (۳۶) گزارش کردند که *Pseudomonas* spp. قادر به تولید هورمون اکسین هستند.

جدول(۲) ارزیابی کمی انحلال روی در محیط مایع

Table(2) Quantitative evaluation of zinc solubilization by isolates

مقدار انحلال Solubilization amount (mg/L)	pH	پاسخ(Response) / کدباکتری (Bacterial code)
14.70	7.20	Control
20.75	6.60	z1
23.2	6.50	z2
15.95	6.70	z3
6.50	6.90	z4
14.65	6.73	z5
16.50	6.72	z6
11.70	6.80	z7
14.15	6.70	z8
17.20	6.71	z9
26.05	6.47	z10
12.80	6.42	z11
21.705	6.57	z12
44.80	6.00	z13
21.85	6.55	z14
14.40	6.77	z15
11.65	6.79	z16

شناسایی بیوشیمیایی جدایه‌های حل‌کننده روی

بر اساس آزمون‌های انجام شده از بین ۱۶جدایه، ۱۳ جدایه متعلق به جنس *Bacillus*، ۲ جدایه متعلق به جنس *Pseudomonas* و یک جدایه متعلق به جنس *Stenotrophomonas* بود. اسامی جنس باکتری‌ها در جدول ۳ آورده شده است.

شناسایی مولکولی جدایه برترحل‌کننده روی

بر اساس نتایج به‌دست آمده از مقایسه توالی 16S rDNA جدایه Z13 تشابه ۹۸ درصدی با باکتری*Stenotrophomonas maltophilia* داشت. جدایه مذکور با کد دسترسی MG263615 در NCBI ثبت گردید.

ارزیابی کمی انحلال فسفر توسط جدایه‌ها

نتایج انحلال فسفر توسط جدایه‌ها در محیط مایع PKV در جدول ۳ آورده شده است. بیش‌تر میزان انحلال فسفر مربوط به جدایه‌های Z4، Z5، Z1 و Z12 به ترتیب با مقادیر ۹۳، ۹۳، ۸۷/۸۳ و۸۵/۲۳ میلی‌گرم در لیتر بود. هم‌چنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین کاهش مقدار pH و افزایش انحلال فسفر به‌دست‌آمد (r=-0.87**). انحلال ترکیبات نامحلول فسفر به سبب تولید اسیدهای آلی است (۲۲). برخی از سویه‌های *Bacillus megaterium* و *Arthrobacter*قادر به تولید اسیدهای آلی و سیدروفور می‌باشندکه نقش مهمی در آزادسازی فسفر از منابع نامحلول تری کلسیم فسفات ایفا می‌کنند (۱۳). مقدار pH محیط توسط جدایه‌ها نشان دهنده تولید اسید به‌وسیله باکتری برای انحلال فسفر می‌باشد. چن و همکاران[1] (۱۳) با بررسی نوع و میزان اسیدهای آلی تولید شده توسط باکتری‌ها دریافتند که باکتری‌هایی که اسیدهای آلی بیش‌تری تولید نموده‌اند، سبب کاهش بیش‌تر pH در محیط شده و بیش‌ترین میزان حل‌کنندگی فسفر را به خود اختصاص دادند. تولید اسیدهای معدنی مانند اسید سولفوریک، اسید نیتریک و اسید کربنیک به وسیله ریزجانداران نیز، موجب انحلال ترکیبات نامحلول فسفر می‌شود (۲۵).

ارزیابی کمی انحلال پتاسیم در محیط مایع

نتایج توان انحلال پتاسیم در محیط مایع الکساندروف در جدول۴ ارائه شده است. بیش‌ترین میزان پتاسیم آزاد شده مربوط به جدایه‌های Z2 و Z13 است. هم‌چنین هم‌بستگی منفی معنی‌داری بین مقادیر انحلال پتاسیم و pH در سطح احتمال ۰/۰۱ مشاهده شد (r=-0.52*). چن و همکاران (۱۳)، گزارش کردندکه *Bacillus megaterium* و *Arthrobacter* قادر به تولید اسیدهای آلی و سیدروفور هستند که می‌توانند نقش مهمی در آزادسازی عناصری مثل پتاسیم، آهن و فسفر از کانی‌های بیوتیت و تری کلسیم فسفات ایفا کنند. گزارش‌های مبنی بر رها سازی پتاسیم از کانی عمدتا به باکتری‌های *باسیلوس* و *سودوموناس* تعلق دارد (۳۷ و ۱۷). باکتری‌های جنس *باسیلوس* جز باکتری‌های متداول خاک هستند که نقش مهمی در تجزیه سیلیکات‌ها در طی فرایند خاکسازی ایفا می‌کنند (۳۷). تحقیقات نشان داده‌اند که توانایی باکتری‌ها در تجزیه کانی‌ها می‌تواند به علت تولید و ترشح پروتون، اسیدهای آلی، سیدروفورها و پلی ساکاریدهای خارج سلولی باشد (۲۳ و ۳۵). برای انحلال ترکیبات نامحلول، همیشه کاهش pH اتفاق نمی‌افتد؛ چون سویه‌های انحلال کننده ممکن است سازوکارهای دیگری برای انحلال ترکیبات نامحلول یا کم‌محلول داشته باشند (۲۲). آنزیم‌های فیتاز، فسفاتاز و تبادل آنیونی بین آنیون اسید آلی تولید شده توسط ریزجانداران با آنیون‌هایی مانند فسفات می‌تواند باعث انحلال و آزادسازی ترکیبات نامحلول هم‌چون فسفات کلسیم شود (۵۸)

ارزیابی تولید اکسین

اندازه‌گیری کیفی تولید توسط جدایه Z13 که دارای خصوصیات محرک رشدی بهتری در مقایسه با سایر جدایه‌ها بودند، به صورت کیفی صورت گرفت. جدایه مذکور قادر به تولید اکسین بود. کومار و همکاران (۳۶) گزارش کردند که *Pseudomonas* spp. قادر به تولید هورمون اکسین هستند.

1- Chen *et al.*

جدول(۳) ارزیابی کمی انحلال فسفر در محیط مایع
Table(3) Quantitative evaluation of phosphorous solubilization by isolates

مقدار انحلال (میلی گرم در لیتر) **Solubilization amount (mg/L)**	**pH**	نام جنس **Name of genus**	پاسخ (**Response**) / کد باکتری (**Bacterial code**)
2.58	6.8	–	Control
85.25	4.92	*Bacillus*	z1
41.33	5.53	*Bacillus*	z2
41.33	5.42	*Bacillus*	z3
93	4.89	*Bacillus*	z4
93	4.85	*Bacillus*	z5
25.833	5.4	*Pseudomonas*	z6
38.75	5.34	*Bacillus*	z7
18.08	5.83	*Pseudomonas*	z8
69.75	4.99	*Bacillus*	z9
67.16	4.93	*Bacillus*	z10
49.08	4.93	*Bacillus*	z11
87.83	4.9	*Bacillus*	z12
38.75	5.72	*Stenotrophomonas*	z13
38.75	5.43	*Bacillus*	z14
67.16	4.88	*Bacillus*	z15
10.33	6.17	*Bacillus*	z16

تاثیر *Stenotrophomonas maltophilia* بر رشد ذرت

تاثیر باکتری بر شاخص کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد کاربرد باکتری محرک رشد بر شاخص کلروفیل در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۵). کاربرد باکتری باعث افزایش معنی‌دار ($P<0.05$) شاخص کلروفیل در مقایسه با شاهد (بدون باکتری) شد (شکل ۲). در این تحقیق بیش‌ترین میزان کلروفیل مربوط به تیمار باکتری بود که افزایش ۲۱ درصدی را در مقایسه با شاهد سبب شد (شکل ۲). هرچند اثرات متقابل باکتری و یطح کود روی معنی‌دار نبود، اما در حضور کود سولفات روی و باکتری شاخص کلروفیل بالاتر بود(داده‌ها نشان داده نشده است). عنصر روی با تاثیر بر غلظت عناصر آهن و منگنز (عناصر مورد نیاز در ساخت کلروفیل) می‌تواند به طور غیر مستقیم باعث افزایش محتوای کلروفیل شود (۳۴). اسلام و همکاران[1] (۳۰) باکتری *Stenotrophomonas maltophilia* را از ریزوسفر خیار جداسازی و افزایش غلظت نیتروژن را در برگ خیار در حضور این باکتری و در نتیجه افزایش شاخص کلروفیل در برگ خیار را گزارش کردند (۳۰). جنسک و همکاران[2] (۳۱) بیان کردند که علت افزایش کلروفیل در گیاهان تلقیح شده جذب بیشتر آب و عناصر معدنی از جمله روی است. باکتری با فراهمی آب و عناصرغذایی برای گیاه، ساخت کلروفیل را افزایش می‌دهد و انتقال آب و مواد فتوسنتزی را در گیاه تسهیل و در نتیجه، عملکرد گیاه افزایش پیدا می‌کند(۴۰).

1- Islam *et al.*
2- Jenschke *et al.*

جدول(٤) ارزیابی کمی انحلال پتاسیم در محیط مایع

Table(4) Quantitative evaluation of potassium solubilization by isolates

مقدار انحلال **Solubilizing amount (mg/L)**	**pH**	پاسخ(**Response**) / کد باکتری (**Bacterial code**)
3.08	7.19	Control
10.28	6.54	z1
12.34	6.56	z2
10.28	6.63	z3
10.28	6.49	z4
10.28	6.50	z5
8.22	6.73	z6
8.22	6.67	z7
6.17	6.52	z8
10.28	6.44	z9
10.28	6.73	z10
8.22	6.53	z11
8.22	6.56	z12
12.34	6.52	z13
6.17	6.65	z14
8.22	6.40	z15
8.22	6.57	z16

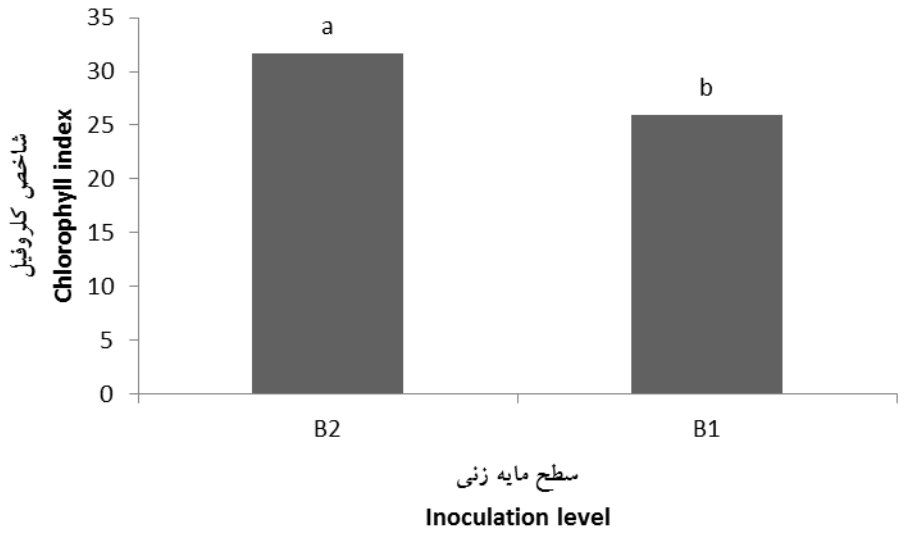
جدول(٥) میانگین مربعات پیامد تیمارها بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده ذرت

Table (5)Mean square of treatments effect on measured parameters of zea mays

وزن خشک اندام هوایی Dry weight of shoot	وزن تر اندام هوایی Wet weight of shoot	ارتفاع ساقه Shoot height	وزن خشک ریشه Dry weight of root	وزن تر ریشه Wet weight of root	طول ریشه Root length	کلروفیل Chlorophyll	درجه آزادی DF	منبع تغییرات SOV
241.98^{ns}	67774.53*	15.28*	59797.03**	338812.13**	3.66^{ns}	27.82 ^{ns}	2	کود (Fertilizer)
10936.66**	211344.13**	42.48**	35226.13**	368077.63**	29.6**	240.83 **	1	باکتری (Bacteri)
1467.6**	4408.92^{ns}	4.78^{ns}	364.43^{ns}	22228.13^{ns}	3.5^{ns}	27.1 ^{ns}	2	کود*باکتری (Fer*Bac)
270.26	21300.85	3.24	1964.95	21650.86	1.5	3.72	24	خطا (Erorr)

** Significant at p<0.01

**معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۱ و ns عدم معنی‌داری



شکل(۲) آزمون میانگین اثر ساده باکتری بر شاخص‌کلروفیل گیاه
Figure (2) Mean comparison of Bacterium main effect on chlorophyll index of plant

ستون‌های با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند
Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

وزن تر و خشک اندام هوایی و ارتفاع ساقه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل باکتری و کود شیمیایی بر وزن خشک اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۵). اثر متقابل باکتری وکود شیمیایی بر وزن تر ساقه و ارتفاع ساقه معنی‌دار نشد (جدول۵). اما اثر ساده باکتری بر وزن تر اندام هوایی و ارتفاع ساقه در سطح یک معنی‌دار بود. اثر ساده کود نیز بر وزن تر و ارتفاع اندام هوایی در سطح پنج درصد معنی‌دار شد(جدول۵). در این تحقیق بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار باکتری و بدون کود(Zn0B2) بود که افزایش ۸۷ درصدی، در مقایسه با شاهد داشت (شکل۳). در تمام سطوح کودی کاربرد باکتری موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی شد؛ اما این افزایش کم‌تر از تیمار(Zn0B2) بود. آزمون میانگین اثرات ساده تیمارها(جدول۶) نشان دهنده تاثیر معنی‌دار باکتری (تیمارB2) بر افزایش ارتفاع ساقه و وزتر تر اندام هوایی بود. افزودن کود سولفات روی نیز باعث افزایش ارتفاع ساقه و وزن تر اندام هوایی شد. بیش‌ترین وزن تر و ارتفاع اندام هوایی مربوط به تیمارZn40 (۴۰ کیلوگرم در هکتار کود) بود که به ترتیب افزایش ۲۲/۲۳ و ۲۰/۱۱ درصدی در مقایسه با تیمار Zn0(بدون مصرف کود) را نشان دادند(جدول۶). سودها و استالین[1] (۶۲) در آزمایش تاثیر کود سولفات روی بر گیاه برنج، به این نتیجه رسیدند که کود روی باعث افزایش ارتفاع گیاه برنج می‌شود. آن‌ها افزایش ارتفاع گیاه رابه علت تاثیر عنصر روی بر فعالیت آنزیم‌ها و متابولیسم اکسین(از طریق افزایش ابعاد سلول-ها)در گیاهان ذکر کردند. نژاد و همکاران[2](۴۸) افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی لوبیا را در شرایط آزمایشگاهی تحت تاثیر کاربرد ۵۰ میکرومولار کود سولفات روی گزارش کردند.

اسلام و همکاران (۳۰) افزایش وزن و ارتفاع اندام هوایی گیاه خیار را توسط *Stenotrophomonas maltophilia* در کشت گلخآن‌های گزارش کردند (۳۰).

1- Sudha *et al.*
2- Nejad *et al.*

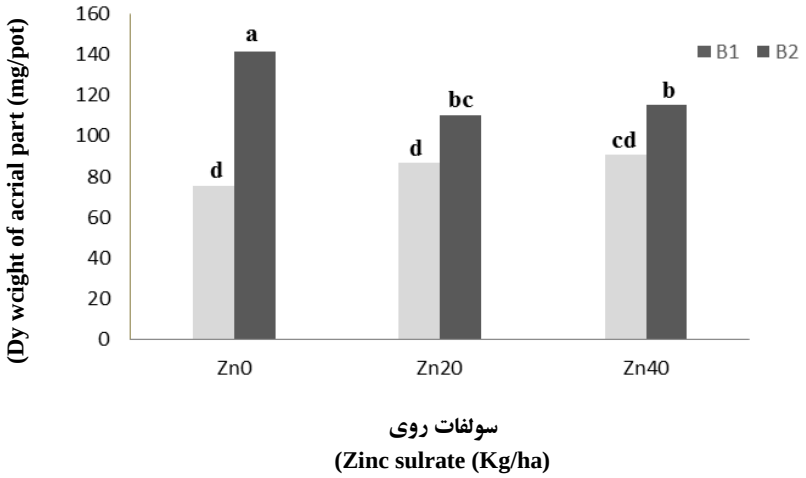
مسیحا وهمکاران[1] (۴۴) گزارش کردند باکتری *Stenotrophomonas maltophilia* با کنترل عوامل بیماریزای گیاهی باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شود. نتایج ممتاز و همکاران[2] (۴۶) در آزمایش تاثیر باکتری‌های انحلال‌کننده روی *Bacillus sp.*، *Bacillus aryabhattai* و *Bacillus subtilis* بر گیاه ذرت نشان دادند که این باکتری‌ها، به ترتیب دارای تاثیر افزایش ۲۰۷، ۱۷۶ و ۱۷۳ درصدی بر وزن تر ساقه ذرت در مقایسه با شاهد (عدم تلقیح باکتری) هستند؛ هم‌چنین این باکتری ها دارای تاثیر افزایش ۱۰۳، ۱۷۲ و ۱۵۲ درصدی بر طول ساقه ذرت بودند که می‌تواند به علت تاثیر باکتری‌های محرک رشد و عنصر روی بر محتوای کلروفیل باشد که به تبع آن فتوسنتز افزایش می‌یابد و مواد فتوسنتزی بیش‌تری به نقاط مختلف گیاه از جمله ساقه منتقل می‌شود و ارتفاع ساقه افزایش می‌یابد. موهیت[3] (۴۵) نشان داد که در اثر تلقیح بذر گندم با باکتری‌های ریزوسفری جدا شده از خاک، کلروفیل، ارتفاع ساقه و طول ریشه به طور معنی‌داری افزایش پیدا کردند. با افزایش در ارتفاع ریشه و ساقه وزن آن‌ها نیز افزایش خواهدیافت. تیمار گیاه گندم و اسفناج با باکتری های محرک رشد از جنس‌های *Bacillus*، *Pseudomonas* و *Paenibacillus* باعث افزایش در وزن تر و خشک ساقه و ریشه، ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه و سطح برگ، در مقایسه با شاهد شد که این اثرات به سبب تاثیر باکتری‌ها در فعالیت‌های آنزیمی، جذب آب و عناصرغذایی و هم‌چنین تولید اکسین است که توسط ریشه جذب می‌شود و باعث افزایش سطح ریشه و درنهایت جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه می‌گردد (۱۱). گلیک و همکاران[4](۲۱) گزارش کردند فعالیت باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، سبب افزایش فراهمی عناصر غذایی گیاه در ریزوسفر و درنتیجه افزایش عملکرد کلزا می‌شود. همبستگی قوی بین تولید فیتوهورمون‌ها در شرایط آزمایشگاهی و اثرات آن‌ها روی رشد و توسعه گیاه آفتابگردان در شرایط گلخانه‌ای توسط کارلوس و همکاران[5](۱۲) گزارش شده است. بت و همکاران[6] (۴) گزارش کردند که تلقیح میکروبی گیاه، سبب افزایش معنی‌دار عملکرد بیولوژیک گیاه به دلیل بهبود دسترسی و جذب بهتر فسفر می‌شود و در نهایت موجب افزایش تجمع ماده خشک گیاه می‌گردد. کاربرد کودهای بیولوژیک به واسطه تولید هورمون‌های محرک رشد، به‌ویژه اکسین، سبب افزایش رشد و ارتفاع گیاه می‌شود (۶۳).

وزن تر و خشک و طول ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل باکتری و کود بر وزن تر و خشک و طول ریشه معنی‌دار نبوده (جدول ۵)؛ اما اثرات ساده باکتری و کود بر وزن تر و خشک ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۵). هم‌چنین اثر ساده باکتری طول ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار است. آزمون میانگین اثرات ساده تیمارها (جدول۶) نشان دهنده تاثیر معنی‌دار باکتری (تیمارB2) بر افزایش وزن تر و خشک ریشه بود. افزودن کود سولفات روی نیز باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه شد. آزمون میانگین داده‌های مربوط به طول ریشه، نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار تیمارB2 (مایه‌زنی با *Stenotrophomonas maltophilia*) بود (شکل۴).

باکتری‌های محرک رشد به دلیل داشتن توانایی تولید اکسین(۴۲) که نقش موثری در طول ریشه دارد، می‌توانند باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه شوند که در این صورت وزن ریشه نیز افزایش پیدا می‌کند (۱۱). از طرفی باکتری با فراهمی روی مورد نیاز گیاه و روی نیز به واسطه تاثیر بر ساخت هورمون اکسین (۶۲) باعث افزایش رشد ریشه‌های گیاه می شود.

1- Messiha *et al.*
2- Mumtaz *et al.*
3- Mohite *et al.*
4- Glick *et al.*
5- Carlos *et al.*
6- Bath *et al.*



شکل(۳) آزمون میانگین پیامد تیمارها بر وزن خشک اندام هوایی

Figure(3) Mean comparison of treatments effect on dry weight of aerial part

ستونهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

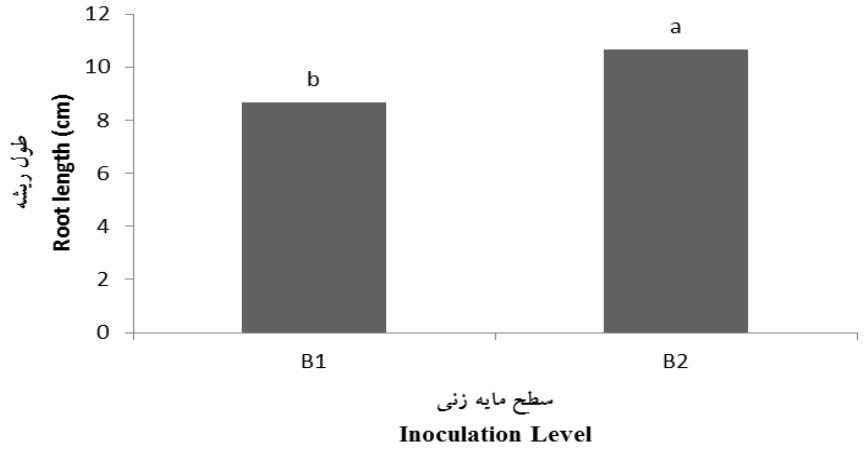
جدول(٦) مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارها بر برخی خصوصیات گیاه ذرت

Table (6) Mean comparison of the main effect of treatments on some characteristics of maize

ارتفاع ساقه Shoot height (cm)	وزن تر اندام هوایی Aerial part wet weight	وزن خشک ریشه Root dry weight (mg/pot)	وزن تر ریشه Root wet weight	ویژگی Properties / تیمار Treatment
11.93[b]	674.53[b]	105.8[b]	440.87[b]	B1
14.31[a]	842.4[a]	174.33[a]	662.4[a]	B2
11.73[b]	697[b]	76.3[c]	436.1[b]	Zn0
13.55[a]	726.4a[b]	119.7[b]	454.9[b]	Zn20
14.09[a]	852[a]	224.2[a]	763.9[a]	Zn40

ستونهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)



شکل(٤) آزمون مقایسه میانگین اثر ساده باکتری بر وزن طول ریشه

Figure(4) Mean comparison of Bacterium main effect on root length

استفاده از باکتری‌های محرک رشد، سبب افزایش حجم ریشه‌ها گردیده که در نهایت جذب آب و موادغذایی را افزایش می‌دهند و باعث افزایش عملکرد گیاه می‌شوند(۳). استفاده از باکتری محرک رشد سبب افزایش وزن خشک و تر ریشه، سیستم تارهای کشنده و طول ریشه‌ها می‌شود و علت آن افزایش هورمون IAA توسط باکتری‌ها می‌باشد (۵۵). اسلام و همکاران (۳۰) گزارش کردند که باکتری *stenotrophomonas maltophilia* با توانایی تولید اکسین باعث افزایش وزن و طول ریشه در گیاه خیار، در مقایسه با شاهد می‌شود (۳۰).

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که در تمامی خصوصیات رویشی گیاه ذرت استفاده از باکتری محرک رشد و حل‌کننده روی *Stenotrophomonas maltophilia* می‌تواند تاثیر معنی‌داری بر بهبود رشد گیاه داشته باشدکه خود می‌تواند به علت توانایی باکتری در انحلال عناصر غذایی مهمی از جمله روی، فسفر و پتاسیم و هم‌چنین تولید اکسین باشد. با توجه به این مهم که امروزه هدف افزایش عملکرد در اثر مصرف هر چه بیش‌تر کود شیمیایی نمی‌باشد، تلاش می‌شود تولید محصول بر اساس اصول کشاورزی پایدار استوار باشد که تحقیقات زیادی در مورد کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در تولید بیش‌تر و سالم‌تر محصول صورت گرفته است. هم‌چنین برای رفع مشکل کمبود روی در خاک های آهکی می-توان از PGPRs با توانایی انحلال روی و دیگر ویژگی-های برجسته محرک رشدی به عنوان جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی استفاده کرد. از آن‌جاکه این آزمایش در مدت زمان کوتاه و در شرایط درون شیشه‌ای انجام شده است، بنابراین نتایج آزمایش فقط برای شرایط مندرج در این تحقیق صادق است و برای تعمیم دادن آن به سایر شرایط و طبیعت باید آزمایش تکمیلی و در شرایط گلخانه و مزرعه صورت گیرد.

منابع

1. Abaid-Ullah, M., Hassan, M. N., Jamil, M., Brader, G., Shah, M.K.N., Sessitsch, A., and Hafeez, F. Y. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria: An alternate way to improve yield and quality of wheat (*Triticum aestivum*). International Journal of Agriculture and Biology, 17: 51-60.

2. Ashrafuzzaman, M., Hossein, F.A., Razi Ismail, M., Anamul Hoque, M.D., Zahurul Islam, M., Shahidullah, S.M., and Meon, S. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. African Journal of Biotechnology, 8: 1247-1252.

3. Banchio, E., Bogino, P.C., Zygadlo, J., and Giordano, W. 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana L*. Biochemical Systematics and Ecology, 36(10): 766-771.

4. Bath, S.A., Thenua, O.V.S., Shivakumar, B.G., and Malik, J.K. 2005. Performance of summer green gram [*Vigna radiate (L.) Wilczek*] as influenced by biofertilizers and phosphorus nutrition. Haryana Journal of Agronomy, 21(2): 203-205.

5. 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: 793–800.

6. Brenner, D. J., Krieg, N. R, Statey, J T. 2005. Bergie's manual systematic bacteriology. 2nd ed. New York: Springer, Part C.

7. Bric, J.M., Bostock, R.M., Silverstone, S.E. 1991. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. Applied and Environmental Microbiology, 57(2):535-538.

8. Broadley, M.R., White, P.J., Zelko, I., Lux, A. 2007. Zinc in plants. Journal of New Phytologist, 173(4):677–702.

9. Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E.V.L., and Schulze-Lefert, P. 2013. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. Annual Review of Plant Biology, 64, 807-838.

10. Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? Plant and Soil, 302(1-2): 1-17.

11. Cakmakc, R., Erat, M., Erdogan, U., and Donmez, M.F. 2007. The influence of plant growth–promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 170(2): 288-295.

12. Carlos, M. H. J., Stefani, P. V. Y., Janette, A. M., Melani, M. S. S., and Gabriela, P. O. 2016. Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and IAA production on plant growth-promoting bacteria. Microbiological research, 188: 53-61.

13. Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., and F.T., Shen. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. Applied Soil Ecology, 34: 33–41.

14. Chowdhury, S.P., Hartmann, A., Gao, X., and Borriss, R. 2015. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens FZB42*–a review. Frontiers in Microbiology, 6:1-11.

15. Edi-Premono, M. Moawad, A. and Vleck, L.G. Effect of phosphate solubilizing Pseudomonas putida on the growth of maize and it survival in the rhizosphere, Indones. Journal of Crop Science. 11 (1996) 13–23.

16. El-Sayed, W. S., Akhkha, A., El-Naggar, M. Y., and Elbadry, M. 2014. In vitro antagonistic activity, plant growth promoting traits and phylogenetic affiliation of rhizobacteria associated with wild plants grown in arid soil. Frontiers in Microbiology, 5.

17. Enayatizamir, N., and Landi, A. 2017. Potassium solubilizing bacteria ability to increase wheat growth and potassium uptake under in vitro condition. Journal of Water and Soil. 31(4): 1120-1134. (in Persian).

18. Esitken, A., Yildiz, H.E., Ercisli, S., Donmez, M.F., Turan, M., and Gunes, A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically growth strawberry. Journal of Scientia Horticulturae, 124: 62-66.

19. Farag, M.A., Zhang, H., and Ryu, C.M. 2013. Dynamic chemical communication between plants and bacteria through airborne signals: induced resistance by bacterial volatiles. Journal of Chemical Ecology, 39(7): 1007-1018.

20. Gandhi, A., Muralidharan, G., Sudhakar, E., and Murugan, A. 2014. Screening for elith zinc solubilization bacterial isolate from rice rhizosphere environment. International Journal of Recent Scientific Research, 5(12): 2201-2204.

21. Glick, B.R., Liu, C., Ghosh, S., and Dumbroff, E.B. 1997. Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Soil Biology and Biochemistry, 29(8): 1233-1239.

22. Goteti, P. K., Emmanuel, L. D. A., Desai, S. and Shaik, M. H. A., 2013. Prospective zinc solubilising bacteria for enhanced nutrient uptake and growth promotion in maize (*Zea mays* L.). International Journal of Microbiology, 1-7.

23. Groudev, S.N. 1987. Use of heterotrophic microorganisms in mineral biotechnology. Acta Biotechnologica, 7: 299–306.

24. Gupta, M., Kiran, S., Gulati, A., Singh, B., and Tewari, R. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of Aloe barbadensis Miller. Microbiological Research, 167: 358-363.

25. Gyaneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L.J., and Poole, P.S. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Plant and Soil, 245: 83-93.

26. Habibi, S., Djedidi, S., Prongjunthuek, K., Mortuza, M.F., Ohkama-Ohtsu, N., Sekimoto, H., and Yokoyoma, T. 2014. Physiological and genetic characterization of rice nitrogen fixer PGPR isolated from rhizosphere soils of different crops. Plant and Soil, 379(1-2), 51-66.

27. Hassan, M. N., Afghan, S., and Hafeez, F. Y. 2010. Suppression of red rot caused by Colletotrichum falcatum on sugarcane plants using plant growth-promoting rhizobacteria. Biocontrol, 55(4): 531-542.

28. Hu, X., Chen, J., and Guo, J. 2006. Two phosphate-and potassium-solubilizing bacteria isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22(9): 983-990.

29. Hussain, A., Abdel-Salam, M.S., Abo-Ghalia, H., Hagazy, W.K., and Hafez, S.S. 2017. Optimization and molecular identification of novel cellulose degrading

bacteria isolated from Egyptian environment. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 15(1):77-85.

30. Islam, S., Akanda, A.M., Prova, A., Islam, M.T., and Hossain, M.M. 2016. Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from cucumber rhizosphere and their effect on plant growth promotion and disease suppression. Frontiers in Microbiology, 6:1-12.

31. Jenschke, G., Brandes, B., Kuhn, A.J., Schoder, W.H., Becker, J.S., and Godlbdd, D.L. 2000. The mycorrhizal fungus *Paxillus* in volutes magnesium to Norway spruce seedlings. Evidence from stable isotope labeling. Plant and Soil, 220: 243-246.

32. Jeon, J.S., Lee, S.S., Kim, H.Y., Ahn, T.S., and Song, H.G. 2003. Plant growth promoting in soil by some inoculated microorganism. Journal of Microbiology, 271-276.

33. Karimi, A. H. 1996. Agronomy and forage plants. Tehran University Press. Page 414. (Translated in Persian).

34. Kaya, C., and Higgs, D. 2002. Response of tomato (*Lycopersicom esculentum L.*) cultivars to foliar application of zinc when grown in sand culture at low zinc. Scientia Horticulturae, 93(1): 53-64.

35. Kumar, P., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K. 2012. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. Microbiological Research, 167: 493– 499.

36. Kumar, P., Kaushal, N. and Dubey, R.C., 2015. Isolation and identification of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (*Pseudomonas* spp.) and their effect on growth promotion of Lycopersicon esculentum L. Academia Arena, 7(5):44-51.

37. Liu, W., Xu, X., Wu, X., Yang, Q., Luo, Y., and Christie, P. 2006. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture. Environmental Geochemistry and Health, 28: 133-140.

38. Lucy, M., Reed, E., and Glick, B. R. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. Antonie van leeuwenhoek, 86(1): 1-25.

39. Malakouti, M.J. and Gheibi, M.N. 2000. Determination of critical levels of nutrients in soil, plant, and fruit for the quality and yield improvements in strategic crops of Iran. Second ed. (completely revised). High Concoil for Appropriate Use of Pesticides and Chemical Fertilizers, Ministry of Agriculture, Pp. 92. Karaj, Iran.

40. Marius, S., Octavita, A., Eugen, U., Vlad, A. 2005. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus anuus L.*). Genetics and Molecular Biology, 12(2): 11-17.

41. Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed., Academic PreHarcourt Brace Company, Pub. Co. New York.889 p.

42. Mehboob, I., Naveed, M. and Zahir, Z.A. 2009. Rhizobial association with non-legumes: mechanisms and applications. Critical Reviews in Plant Science, 28(6), pp.432-456.

43. Mehta, P., Walia, A., Kulshrestha, S., Chauhan, A., and Shirkot, C.K. 2015. Efficiency of plant growth-promoting P-solubilizing *Bacillus circulans CB7* for enhancement of tomato growth under net house conditions. Journal of Basic Microbiology, 55(1): 33-44.

44. Messiha, N.A.S., Van Diepeningen, A.D., Farag, N.S., Abdallah, S.A., Janse, J.D., and Van Bruggen, A.H.C. 2007. *Stenotrophomonas maltophilia*: a new potential biocontrol agent of Ralstonia solanacearum, causal agent of potato brown rot. European Journal of Plant Pathology, 118(3): 211-225.

45. Mohite, B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. Soil Science and Plant Nutrtion, 13(3): 638-649.

46. Mumtaz, M.Z., Ahmad, M., Moazzam, J., and Tanveer, H., 2017. Zinc solubilizing *Bacillus spp.* Potential candidates for biofortification in maize. Journal of Microbiology Research, 202: 51-60.

47. Naz, I., Ahmad, H., Nasreen Khohar. S., Khan, K., and Hussain Shah, A. 2016. Impact of zinc solubilizing bacteria on zinc content of wheat. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences. 16 (3): 449-454.

48. Nejad, R. K., Najafi, F., Arvin, P. and Firuzeh, R., 2014. . Study different levels of zinc sulphate (ZnSO4) on fresh and dry weight, leaf area, relative water content and total protein in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plant. Plant Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 3: 144-151.

49. Pereg, L., and McMillan, M. 2015. Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for increasing productivity in cotton cropping systems. Soil Biology and Biochemistry, 80: 349-358.

50. Pikovskaya, R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. Microbiology, 17: 362-370.

51. Piromyou, P., Noisangiam, R., Uchiyama, H., Tittabutr, P., Boonkerd, N., and Teaumroong, N. 2013. Indigenous microbial community structure in rhizosphere of Chinese kale as affected by plant growth-promoting rhizobacteria inoculation. Pedosphere, 23(5): 577-592.

52. Powell, S.R. 2000. The antioxidant properties of zinc. Journal of Nutrition, 130: 1447-1449.

53. Rajkumar, M., Freitas, H. 2008. Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of Ricinus communis in soil contaminated with heavy metals. Journal of Chemosphere, 71:834–842.

54. Ramesh, A., Sharma, S.K., Sharma, M.P., Yadav, N., and Joshi, O.P. 2014. Inoculation of zinc solubilizing *Bacillus aryabhattai* strains forimproved growth, mobilization and biofortification of zinc in soybean and wheat cultivated in Vertisols of central India. Applied Soil Ecology, 73: 87– 96.

55. Russo, A., Vettori, L., Felici, C., Fiaschi, G., Morini, S., and Toffanin, A. 2008. Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 on *Prunus cerasifera* L. clone Mr. S 2/5 plants. Journal of Biotechnology, 134(3): 312-319.

56. Sarathambal, C., Thangaraju, M., Paulraj, C. and Gomathy, M. 2010. Assessing the Zinc solubilization ability of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in maize rhizosphere using labelled 65 Zn compounds. Indian Journal of Microbiology, 50: 103-109.

57. Saravanan, V.S., Subramoniam, S.R. and Raj, S.A. 2004. Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (zsb) isolates. Brazilian Journal of Microbiology, 35(1-2):121-125.

58. Sarikhani, M.R., Malboobi, M.A. and Ebrahimi, M. 2014. Phosphate solubilizing bacteria: Isolation of Bacteria and Phosphate Solubilizing Genes, Mechanism and Genetics of Phosphate Solubilization. Agricultural Biotechnology Journal, 6(1):77-110.

59. Shahbazi, K., and Besharati, H. 2013. Overview of agricultural soil fertility status of Iran. Land Management Journal, 1: 1-15.

60. Shakeel, M., Rais, A., Hassan, M.N. and Hafeez, F.Y. 2015. Root associated *Bacillus* sp. improves growth, yield and zinc translocation for basmati rice (Oryza sativa) varieties. Frontiers in Microbiology, 6(1286): 1-12.

61. Stein, A. J. 2010. Global impacts of human mineral malnutrition. Plant and Soil, 335:133–154.

62. Sudha, S., and Stalin, S. 2015. Effect of zinc on yield, quality and grain zinc content of rice genotypes. International Journal of Farm Sciences, 5(3): 17-27.

63. Vessy, K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571- 586.

64. Zahid, M., Abbasi, M.K., Hameed, S., and Rahim, N. 2015. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (Zea mays L.). Frontiers in Microbiology, 6:207.

Agricultural Engineering (Scientific Journal of Agriculture), 41 (2), Summer, 2018

Effect of zinc solubilizing growth promoter bacterium on plant growth under laboratory conditions

B. Rezaee nikoo[1], N. Enayatizamir[2*] and M. Norouzi Masir[3]

1. M.Sc. graduate student of Soil Science, Department of Soil Science, Shahid Chamran University of Ahvaz
2. Associate Prof., Department of Soil Science, Shahid Chamran University of Ahvaz,
3. Assistant Prof., Department of Soil Science, Shahid Chamran University of Ahvaz

ABSTRACT

Introduction Zinc is one of the imperative micronutrients required relatively in small concentrations in tissues for healthy growth and reproduction of plants. Zinc deficiency in plants leads to reduced membrane integrity and synthesis of carbohydrates, auxins, nucleotides, cytochromes, and chlorophyll and develops susceptibility to heat stress. The solubility of Zn is highly dependent upon soil pH and moisture and hence arid and semiarid areas are often zinc-deficient. The use of microorganisms with the aim of improving nutrients availability for plants is an important practice and necessary for agriculture. Zinc-solubilizing microorganisms can solubilize zinc from inorganic and organic pools of total soil zinc and can be utilized to increase zinc availability to plants. Therefore, the present study was carried out to isolate and characterize native zinc-solubilizing bacteria from Zea mays rhizosphere and evaluate their zinc-solubilizing potential and the effect of zinc solubilizing isolate on Zea mays growth.

Materials and Methods In vitro zinc solubilization assay of isolates was done using 0.1% zinc from zinc oxide in both plate and broth assays. Actively growing cultures of each isolates were spot-inoculated (7 µL) onto the agar and plates were incubated at 28°C for 120 h. The clearing zone around colony was recorded. Quantitative study of zinc solubilization was studied in 150 mL conical flasks containing 50 mL of liquid mineral salt medium. The broth was inoculated with 500 µL of overnight grown bacterial inoculum and incubated for 120 h at 160 rpm in an incubator shaker at 28°C. After incubation, the culture broth was centrifuged and the concentration of Zn in the supernatant was estimated in atomic absorption spectrophotometer. Among these isolates, 18 isolates with a solubility index of 1 and higher were selected based on morphological, biochemical and physiological characteristics for further studies. An isolate with more ability to dissolve zinc, phosphorus, potassium and auxin production was selected to investigate the effect of isolate on Zea mays growth. Maize seeds of cultivable variety were surface sterilized with 10% sodium hypochlorite for 10 min and washed several times with sterile distilled water. Seeds were treated with inoculum containing 10^8 cfu·ml^{-1} of isolate. A factorial experiment in a completely randomized design with five replications was conducted. The treatments included two levels of bacteria B1 (control), B2 (*stenotrophomonas maltophilia*) and zinc sulfate fertilizer at three levels of Zn_0 (control), Zn_{20} (20 kg/ha) and Zn_{40} (40 kg/ha). After 20 days of sowing, plants were removed from the tubes carefully and biometric parameters like, Chlorophyll index, root length, shoot length and dry mass of plants were recorded as the indicative of plant growth.

ARTICLE HISTORY

Received:13 May, 2017
Accepted: 16 March, 2018

Key words:
Fertilizer,
Growth,
Phosphorus,
Potassium,
Zinc

* Corresponding author
n.enayatzamir@scu.ac.ir

Results and Discussion A total of 50 bacterial isolates were isolated from corn rhizosphere. Of all, sixteen isolates showed solubilization halo on plate agar medium. Among the cultures, Z1, Z3 and Z16 showed the highest solubilisation zone in ZnO amended medium with maximum solubility index (1.3). Quantitative assay for zinc solubilisation revealed that Z13 was able to dissolve 44.8 ppm from ZnO in liquid medium while solubility index of this isolate was lower than above the mentioned isolates (1). Of all, isolate Z13 with the highest zinc solubilisation by broth assay was characterized and identified as *Stenotrophomonas* species based on Gram-negative reaction, endospore-forming cells, and other biochemical and physiological properties. This isolate was able to produce auxin and dissolve insoluble phosphorus and potassium from the source tricalcium phosphate and vermiculte, respectively. One of these strains (Z13), *Stenotrophomonas*, was used as inoculum in corn culture.

Seed bacterization of maize with zinc solubilising *Stenotrophomonas* enhanced the plant growth significantly after 15 days. Results indicated a significant interaction effect of bacterium and fertilizer on shoot dry weight and chlorophyll content ($P<0.01$). The maximum spad index and wet weight of aerial part was obtained in the presence of bacterium and without using of zinc sulfate. The main effect of bacterium on wet and dry weight of root and wet weight of aerial part, root length and shoot height was significant ($P<0.01$).The highest chlorophyll index and aerial part dry weight were related to bacterial treatments, which showed an increase of 34.7% and 87%, respectively, compared to control (without fertilizer and bacteria).

Conclusion PGPR is known as a group of useful rhizospheric bacteria that increase plant growth. Today, the increasing use of PGPRs in agriculture is an alternative to chemical fertilizers to prevent environmental contamination..