

The Effect of plant growth promoting bacteria in hydroponics cultivation conditions on iron concentration, yield and phenolic compounds of lettuce

Parastoo Molaei*¹, Fatemeh Nekounam², Mohammad BabaAkbari Sari³

- 1- MSc Graduated Student, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
- 2- Assistants. Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
- 3- Assistant Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

Corresponding Author: Parastoo Molaei. pmolaei@znu.ac.ir

Introduction

Over time, water deficit and environmental pollution by traditional agriculture that forces the producer to contribute to competitive and sustainable agriculture. Leafy vegetables are beneficial to human health, therefore, to adapt an eco-friendly approach in some vegetables, the partial substitution (25–50%) of mineral NPK by biofertilizers in lettuce improves the yield and agronomic features and produces healthy plants for human nutrition as well. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) from Asteraceae family is considered as one of the most popular salad vegetables as a cool season crop. PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) are rhizosphere bacteria that improve plant growth through a broad range of processes, i.e., phosphate solubilization, biological nitrogen fixation, siderophore manufacturing, phytohormone manufacturing, antifungal activity, systemic resistance induction and plant-microbe symbiosis promotion. The promoting of growth and yield of horticultural crops such as cucumber, potato, tomato and spinach by plant growth promoting bacteria inoculation at nutrient solutions under soilless systems have also been reported.

Material and Methods

In order to study the effect of growth-promoting bacteria on the yield, iron concentration and phenolic compounds of lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire) under floating systems, the experiment was carried out in a completely randomized design with three replications in the Research greenhouse of University of Zanjan, during 2020. Experiment treatments consisted of five levels of PGPB (*Pseudomonas vancouverensis*, *Pseudomonas Koreensis*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas putida*, and one level of combined bacteria (*Pantoea agglomerans*+*Pseudomonas Koreensis* + *Pseudomonas putida*+ *Pseudomonas vancouverensis*)) and control plant (without bacteria treated).

Application of bacteria was done in two stages, one step before cultivation as seed inoculation and the next step as root inoculation. Lettuce plants grown in hydroculture condition with Hoagland nutrient solution. Growth conditions were environmentally controlled at a relative humidity of 60/70 % day/night and temperature was maintained between 20 and 17 °C. At 40 days after transplanting date, the lettuce head were harvested. The freshly harvested lettuce head were immediately weighed separately of each plant for fresh weight determination. Leaf samples were dried at 72 °C for 48 h in a drying oven and kept for further investigations. Also, leaf number per plant, chlorophyll and carotenoids contents, Fe concentration, total phenol, total flavonoids and anthocyanin contents were measured.

Results

The obtained results in the current study indicated that the application of PGPB on lettuce caused significant increase in growth, photosynthetic pigments and iron concentration. The maximum growth rate and photosynthetic pigments content was observed in combined four bacteria treatment, so that , an increase of 388.2% chlorophyll a, 439.8% chlorophyll b, 398.3% total chlorophyll, 246.3% carotenoids contents, 42.6% plant fresh weight and 22.2% number of leaves was obtained compared to control plants. Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) can enhance growth and development of plants. PGPB have direct and indirect influences on plant growth process. The immediate promotion of growth involves either supplying the plant with a compound produced by the bacteria, i.e., phytohormones, or promoting certain nutrient uptake from the setting. Whereas, the indirect plant growth promotion happens when PGPB decreases or prevents the deleterious impacts of one or more phytopathogenic species.

Plants inoculated with PGPB showed higher leaf iron concentration compared to control plant. Thus inoculation with combined four bacteria induced a 26.2 % increase of lettuce leaves iron concentration. The obtained results in the current study revealed that the inoculation with PGPB significant decreased the total phenol, flavonoid and

anthocyanin contents. The maximum content of phenol ($483 \mu\text{g g}^{-1}\text{FW}$), flavonoid ($188.1 \mu\text{g g}^{-1}\text{FW}$) and anthocyanin ($27.5 \mu\text{mol g}^{-1}\text{FW}$) were observed in control plants compared to treated plants.

Conclusion

According to the results of this research, the use of PGPB in the hydroculture system, on the one hand, led to a significant increase in iron absorption, the synthesis of photosynthetic pigments, and subsequently promote growth and increases lettuce yield. On the other hand, due to facilitating the growth conditions and increasing the absorption of nutrients for the host plants as a result of inoculation with PGPB, led to a decreases of phenolic compounds including total phenol, total flavonoid and anthocyanin contents.

Keywords: Anthocyanin, Hydroponics, Iron, PGPR, Phenolic compounds.

مجلس
العلماء
الاسلام

اثر باکتری‌های محرک رشد در شرایط آب‌کشت بر غلظت آهن، عملکرد و ترکیبات فنولیک کاهو

پرستو مولائی*^۱، فاطمه نکونام^۲، محمد بابا اکبری ساری^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

*مسئول مکاتبات: پرستو مولائی pmolaei@znu.ac.ir

چکیده

یکی از مهمترین سبزی‌های برگ‌دار، کاهو (*Lactuca sativa* L.) است که مقصد تولید آن به بازارهای بین‌المللی و ملی می‌باشد. یکی از سبزی‌هایی است که در سیستم‌های کشت هیدروپونیک شناور، برای بهره‌وری بالاتر در استفاده از آب و کودها تولید می‌گردد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد برای افزایش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی در نظام‌های پایدار کشاورزی دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. بدین جهت، به منظور بررسی تاثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آب‌کشت، بر ویژگی‌های کیفی و عملکرد کاهو رقم New Red Fire، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح از باکتری‌های محرک رشد (*Pseudomonas vancouverensis*، *Pseudomonas Koreensis*، *Pseudomonas putida*، *Pantoea agglomerans*، ترکیب چهار گونه باکتری) و تیمار شاهد بدون تلقیح باکتریایی بود. صفات مورد بررسی شامل وزن تر بوته، تعداد برگ، محتوای فنول کل و فلاونوئید کل، محتوای آنتوسیانین، غلظت آهن، کلروفیل‌ها و کاروتنوئید کل بود. نتایج نشان داد، اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر صفات مورد بررسی معنی‌دار گردید. بیشترین عملکرد بیولوژیک، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و غلظت آهن در برگ، با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی مشاهده شد، به‌طوری‌که افزایش ۳۸۸/۲ درصد کلروفیل a، ۴۳۹/۸ درصد کلروفیل b، ۳۹۸/۳ درصد کلروفیل کل، ۲۴۶/۳ درصد محتوای کاروتنوئید، ۲۶/۲ درصد غلظت آهن، ۴۲/۶ درصد وزن تر بوته و ۲۲/۲ درصد تعداد برگ نسبت به گیاهان شاهد حاصل شد. با این حال، کاربرد باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو با تسهیل شرایط رشد و افزایش جذب عناصر غذایی، موجب کاهش معنی‌دار سنتز ترکیبات فنولیک از جمله محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین در مقایسه با گیاهان شاهد، در شرایط آب‌کشت گردید. با توجه به اینکه بهترین تیمار این پژوهش در اغلب صفات مورد بررسی، کاربرد باکتری ترکیبی بود، برای دستیابی به حداکثر عملکرد، افزایش سودمندی کل و کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، استفاده از باکتری ترکیبی توصیه می‌شود. البته اگر بتوان با اعمال راهکارهایی به صورت همزمان کیفیت تغذیه‌ای کاهو به‌ویژه محتوای ترکیبات فنولیکی و فلاونوئیدی گیاه را نیز در شرایط آب‌کشت افزایش داد، بسیار مطلوب‌تر خواهد بود.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین، آهن، باکتری‌های محرک رشد گیاهی، ترکیبات فنولی، هیدروپونیک.

مقدمه

امروزه در سراسر جهان، کشت بدون خاک سبزی‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف رایج شده است. سیستم‌های هیدروپونیک نسبت به کشت خاکی دارای فوایدی از جمله، استفاده مجدد از آب و عناصر غذایی، کنترل مطلوب شرایط محیطی و پیشگیری از بیماری‌ها و آفات خاکزی می‌باشند (Lommen, 2007). کاربرد بیش از حد کودهای شیمیایی در کشاورزی، موجب افزایش

خطرات زیست‌محیطی و آسیب به سلامت انسان، حیوانات، اکوسیستم، کاهش بهره‌وری کشاورزی و اختلال در تعادل اکوسیستم طبیعی گردیده است. امروزه جهت اجتناب از چنین بحران‌های زیست‌محیطی، تولید کودهای زیستی سازگار با محیط‌زیست با کارایی اقتصادی و سود بالاتر در مقایسه با کودهای شیمیایی مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است. برای بهبود بهره‌وری کشاورزی و پایداری عملکرد، استفاده از باکتری‌های محرک رشد به عنوان کودهای زیستی، در مدیریت کشاورزی مدرن بسیار مهم می‌باشد (Zandi and Basu, 2016). کاربرد میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR)، از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، انحلال عناصر غذایی، کنترل تنش‌های زیستی و غیرزیستی، سیستم انتقال آهن، رقابت با عوامل بیماری‌زا و تولید انواع هورمون‌های گیاهی، موجب ارتقای رشد و افزایش کیفیت در گیاهان میزبان می‌گردند (Lugtenberg and Kamilova, 2009). استگل‌مایر و همکاران (Stegelmeier et al., 2022) گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد (PGPB) با کاهش تنش از طریق ACC دآمیناز، افزایش در دسترس بودن مواد مغذی از طریق حلالیت فسفر، سیدروفورها و تثبیت نیتروژن و همچنین کنترل زیستی بیماری‌های قارچی گیاهان در تولید هیدروپونیک، منجر به افزایش بیشتر عملکرد، پایداری محیطی و امنیت غذایی می‌شوند. علاوه بر این، راهی (Rahi, 2016) گزارش داد، باکتری‌های محرک رشد اثر مثبتی بر فعالیت فتوسنتزی، عملکرد گیاه، افزایش طول و رشد ریشه دارند. در میان باکتری‌های گرم منفی خاک، باکتری‌های *Pseudomonas* فراوان‌ترین جنس در ریزوسفر هستند. سویه‌های این جنس می‌توانند رشد گیاه را با تولید آنزیم‌ها، فیتوهورمون‌ها، سیدروفورها² و آنتی‌بیوتیک‌ها تقویت کنند (Esitken et al., 2010; Kumar et al., 2015). گوپتا و همکاران (Gupta et al., 2014) گزارش کردند، گونه‌های مختلف این جنس، توانایی تولید سیدروفور، فنالین، کیتیناز و پراکسیدازها را دارند. سیدروفورها از عوامل کلات‌کننده آهن و عامل انتقال آهن (III) به گیاه میزبان می‌باشند. انواع مختلفی از سیدروفورها در جنس‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد شناسایی و مورد مطالعه قرار گرفتند و ارتباط بین سنتز سیدروفورها با جذب آهن و تحریک رشد در باکتری‌های محرک رشد و گونه‌های مختلف گیاهان گزارش شده است (Sharma et al., 2013; Cézard et al., 2015; Cunrath et al., 2015). آهن یکی از عناصر ریزمغذی و ضروری برای رشد گیاه می‌باشد که در سنتز کلروپلاست و فرآیندهای مختلف مانند فتوسنتز، تنفس و بیوسنتز کلروفیل نقش بسیار مهمی دارد، همچنین عنصر آهن جزء اصلی در سیستم احیاء سلولی محسوب می‌شود (Nagajyoti et al., 2010; Kobayashi and Nishizawa, 2012). افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ از جمله کلروفیل توسط باکتری‌های محرک رشد علاوه بر توانایی افزایش جذب آهن، می‌تواند بر افزایش تثبیت نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و به تبع آن افزایش مقدار نیتروژن برگ‌ها نیز موثر باشد. علاوه بر این، افزایش غلظت کلروفیل با افزایش جذب نیتروژن رابطه مستقیمی دارد، چراکه نیتروژن نقش مهمی را در ساختمان کلروفیل ایفا می‌نماید (Mahfouz and Sharaf-Eldin, 2007). ریزوباکتری‌های محرک رشد در محیط کشت می‌توانند به صورت قارچ‌کش‌های بیولوژیکی و عوامل کنترل زیستی عمل نمایند (Singh et al., 2011). دینگ و همکاران (Ding et al., 2014) گزارش کردند، ترکیب جامعه باکتریایی در سیستم‌های کشت هیدروپونیک تحت تاثیر فعل و انفعالات گیاه میزبان قرار دارد. نقش این میکروارگانیسم‌ها در مدیریت کشاورزی پایدار بسیار مهم است.

کاهو با نام علمی *Lactuca sativa* L. مهم‌ترین سبزی سالادی، حاوی مقادیر فراوانی از فیبر، منگنز، فسفر، آهن، پتاسیم، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین‌های C، E و ترکیبات فنولی می‌باشد (Kim et al., 2016). منزوکو و همکاران

¹ - Plant growth promoting rhizobacteria

² - Siderophore

(Manzocco et al., 2011) گزارش کردند، گیاهان کاهو در شرایط کشت هیدروپونیک نسبت به کشت خاکی دارای عملکرد و کیفیت بالاتری هستند. محققین بسیاری بهبود کیفیت و کمیت گیاهان، تحت تاثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد در هر دو سیستم کشت خاکی و هیدروپونیک را تایید کرده‌اند (Lee et al., 2010). افزایش وزن تر ریشه، اندام هوایی و عملکرد با کاربرد سویه‌های باکتری سودوموناس همراه با محلول‌های غذایی در شرایط کشت بدون خاک در گیاهان خیار، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و اسفناج (Yasufumi and Kaneaki, 2003) گزارش شد. با توجه به کمبود تحقیقات در این زمینه و تمرکز مطالعات گذشته بر تاثیر کودهای زیستی در شرایط کشت خاکی، این تحقیق با هدف بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد، سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنولیکی و غلظت آهن در گیاه کاهو رقم New Red Fire در شرایط آبکشت انجام شد.

مواد و روش

مواد گیاهی و شرایط کشت

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در قالب طرح کاملاً تصادفی بر گیاه کاهو رقم New Red Fire در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح از باکتری‌های محرک رشد (*Pantoea*، *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas Koreensis*، *Pseudomonas vancouverensis*)، ترکیب چهار گونه باکتری) و تیمار شاهد شامل گیاهان بدون تلقیح باکتریایی بودند. تیمارهای آزمایشی در ۶ مخزن جداگانه اعمال شدند. سوسپانسیون جدایه‌های خالص باکتری‌های مورد آزمایش با جمعیت 10^7 تا 10^8 (CFU/gr) از شرکت زیست فناور سبز در شهر تهران تهیه گردید. تلقیح باکتری‌ها در دو مرحله، یک مرحله قبل از کشت به صورت بذرمال و مرحله بعدی به صورت تلقیح ریشه انجام شد. برای این منظور ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت یک دقیقه استریل سطحی شد، سپس به منظور حذف هیپوکلریت سدیم، بذرها با آب مقطر استریل ۱۰ بار شستشو شدند. پس از آن، بذرها استریل شده به ارلن مایرهای حاوی سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی اضافه شدند و به مدت ۴۵ دقیقه بر روی شیکر با دور ۱۲۰ rpm در دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از طی زمان مذکور، بذور در شرایط استریل فراهم شده با استفاده از دستگاه هود لامینار، از داخل ارلن مایرها خارج و به منظور حذف رطوبت اضافی روی آلومینیوم فویل استریل پخش شدند. در مرحله بعد، هنگام انتقال گیاهچه‌ها به مخزن محلول غذایی، از سوسپانسیون باکتری‌ها به ناحیه ریشه هر گیاهچه محلول‌پاشی انجام شد. شرایط دمایی گلخانه در روز 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شب 17 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد در روز و ۶۰ درصد در شب بود. برخی خصوصیات آب مورد استفاده در جدول یک آورده شده است.

جدول ۱- غلظت کاتیون‌ها و آنیون‌های آب مورد استفاده (میلی‌گرم در لیتر)

Table 1- The concentration of cations and anions of the used water (mg.l⁻¹)

pH	EC (dS.m ⁻¹)	منیزیم Magnesium	نیترات Nitrates	بی‌کربنات HCO ₃ ⁻	کلریدها Chlorides	سولفات‌ها SO ₄ ²⁻	کلسیم Calcium	آهن Fe	پتاسیم Potassium	سدیم Sodium
7.2	0.18	22.5	2.4	12	4.2	88.3	0.99	0.09	0.1	1.3

شرایط کشت

ابتدا بذور پیش تیمار شده و بدون پیش تیمار (شاهد)، درون گلدان‌های کوچک حاوی پرلایت کشت و پس از ۷۲ ساعت بذور شروع به جوانه‌زنی نمودند. گلدان‌ها به مدت یک هفته با آب مقطر آبیاری و به مدت سه هفته با محلول غذایی هوگلند تغذیه شدند. پس از ظهور ۴ برگ اصلی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های مشبک منتقل گردیدند، سپس در محلول غذایی هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) به صورت شناور قرار گرفتند (جدول ۲). این آزمایش متشکل از ۶ مخزن بسته و مستقل به ابعاد ۹۰×۴۰×۲۵ سانتی‌متر و به طور میانگین دارای ۶۳ لیتر محلول غذایی بود. در هر مخزن دو پمپ هوا با قدرت ۸ لیتر در دقیقه برای هوادهی کافی و هم زدن محلول غذایی تعبیه شد. pH و هدایت الکتریکی یک روز در میان اندازه‌گیری و به ترتیب 2 ± 0.2 و $5/8 \pm 0.2$ دسی‌زیمنس بر متر در طول آزمایش به طور تقریبی حفظ شد.

جدول ۲- ترکیب یونی محلول غذایی مورد استفاده (میلی‌گرم در لیتر)

Table 2- The ionic composition of the studied nutrient solution (mg.l⁻¹)

NO ₃ ⁻	SO ₄ ⁻²	H ₂ PO ₄ ⁻	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	NH ₄ ⁺
651	147	73.5	175.5	120	36	13.5

صفات مورد ارزیابی

۴۰ روز پس از انتقال نشاء به مخزن‌های حاوی محلول غذایی، بوته‌ها برداشت و وزن تر بوته با ترازوی دیجیتال با دقت یک صدم اندازه‌گیری شد. تعداد برگ در هر بوته هنگام برداشت شمارش گردید. محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئید به روش آرنون (Arnon, 1967) اندازه‌گیری شد. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۶۳، ۶۴۵، ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید و با استفاده از معادله‌های زیر بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر به ترتیب میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه شدند. A میزان جذب در طول موج‌های مورد نظر، V حجم نهایی بر حسب میلی‌لیتر و W وزن نمونه بر حسب گرم است.

$$\text{Chlorophyll a (mg g}^{-1} \text{ FW)} = [12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645})] \times V / (W \times 1000)$$

$$\text{Chlorophyll b (mg g}^{-1} \text{ FW)} = [22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663})] \times V / (W \times 1000)$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg g}^{-1} \text{ FW)} = [(20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{663})) \times V / (W \times 1000)]$$

$$\text{Carotenoids (mg g}^{-1} \text{ FW)} = [7.6(A_{480}) - 1.49(A_{510})] \times V / (W \times 1000)$$

میزان آنتوسیانین برگ با روش واگنر (Wagner, 1979) اندازه‌گیری شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید. در این معادله (A) مقدار جذب، (Σ) ضریب خاموشی معادل ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر، (b) عرض کوت و (c) مقدار آنتوسیانین را نشان می‌دهد.

$$A = \Sigma bc$$

به منظور اندازه‌گیری غلظت آهن در اندام هوایی، ابتدا نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه خشک و پس از آن آسیاب شدند. آماده‌سازی عصاره به روش هضم تر انجام شد و غلظت آهن با استفاده از دستگاه جذب اتمی قرائت گردید. محتوای فنول کل برگ با معرف فولن-سیکالتو تعیین شد. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت و با استفاده از منحنی استاندارد اسیدگالیک غلظت محتوای فنول کل محاسبه شد (Sondal and Laima,)

1999). میزان فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت و محتوای فلاونوئید نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین متانولی بدست آمد (Zhishen *et al.*, 1999).

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 26.0، مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم افزار GraphPad Prism 8.4.3 انجام شد.

نتایج و بحث

رنگی‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آب‌کشت بر میزان رنگی‌های فتوسنتزی در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). به طور کلی تیمارهای باکتریایی موجب افزایش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۱). بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در تیمار باکتری ترکیبی مشاهده شد. بیشترین محتوای کاروتنوئید با اعمال تیمارهای باکتری ترکیبی و باکتری پانتوآگلومرانس بدست آمد. کاربرد تیمار باکتری ترکیبی در شرایط آب‌کشت، موجب افزایش ۳۸۸/۲ درصد کلروفیل a، ۴۳۹/۸ درصد کلروفیل b، ۳۹۸/۳ درصد کلروفیل کل و ۲۴۶/۳ درصد محتوای کاروتنوئید، نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۱).

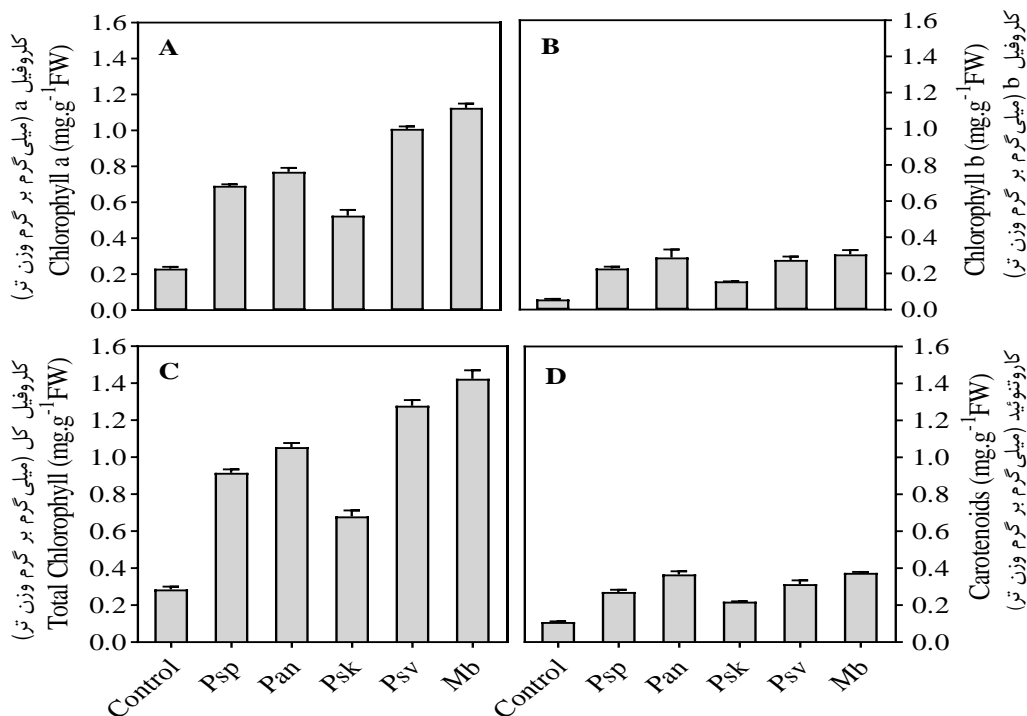
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر رنگی‌های فتوسنتزی در کاهو رقم نیو رد فایر

Table 3- ANOVA (mean squares) for the effect of application plant growth promoting rhizobacteria on photosynthetic pigments of lettuce cultivar New Red Fire

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean of squares			
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoids
تیمار Treatment	5	0.31**	0.02**	0.51**	0.03**
خطا Error	12	0.001	0.001	0.002	0.000
ضریب تغییرات C.V. (%)	-	9.96	10.31	9.81	8.23

** : معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

** : Significance at the 0.01 of probability level



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در کاهو رقم نیو رد فایر. غلظت کلروفیل a (A)، غلظت کلروفیل b (B)، غلظت کلروفیل کل (C)، غلظت کاروتنوئید (D). Psp: سودوموناس پوتیدا، Pan: پانتواگلومرانس، Psk: سودوموناس کورینسیس، Psv: سودوموناس ونکورنسیس، Mb: سودوموناس کورینسیس + سودوموناس ونکورنسیس + پانتواگلومرانس.

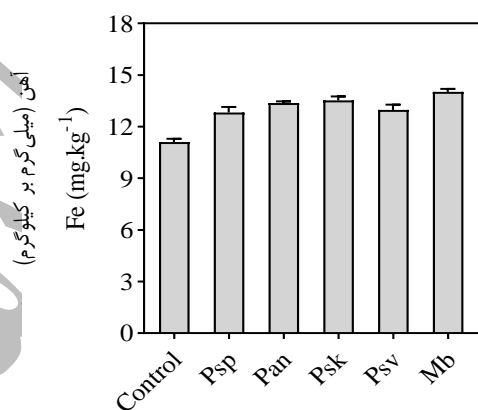
Figure 1- Mean comparison effect of plant growth promoting rhizobacteria application on photosynthetic pigments of lettuce cv. New Red Fire. Chlorophyll a (A), density o Chlorophyll b (B), Total chlorophyll (C), Carotenoids (D). Psp: *Ps. putida*, Pan: *Pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *Pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱ و ۳)، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و پارامترهای رشد با کاربرد باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو در شرایط آب‌کشت می‌توان بیان داشت، باکتری‌های محرک رشد به دلیل تولید سیدروفورها موجب افزایش جذب آهن توسط ریشه شده و همچنین با افزایش فراهمی و انتقال نیتروژن، پتاسیم و فسفر، علاوه بر افزایش سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی، باعث افزایش فتوسنتز و تحریک رشد شده‌اند. افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی اعم از محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان مختلف با کاربرد باکتری‌های محرک رشد در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است (Zeinali Bafghi et al., 2020; Turan et al., 2014). از طرفی مطالعات نشان داده است، کمبود مقدار آهن در گیاهان علاوه بر ایجاد کلروز و کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و پراکسیداز می‌شود، زیرا ساختار این آنزیم‌ها دارای آهن پورفیرین می‌باشند (Esnaashari and Enteshari, 2018). کمبود آهن در گیاهان موجب کاهش سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل و برخی کاروتنوئیدها در برگ می‌گردد (Fathi amirkhiz et al., 2015). با توجه به نتایج بدست آمده در گیاهان شاهد می‌توان علت کاهش سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به گیاهانی که با باکتری‌های محرک رشد تلقیح یافته بودند، کاهش مقدار جذب آهن توسط گیاه بیان داشت. نتایج

مشابهی در افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کاهو با کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط کشت خاکی گزارش شده است (Biswas *et al.*, 2013)، که نتایج پژوهش حاضر را تایید می‌نماید.

غلظت آهن در اندام هوایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر غلظت آهن در اندام هوایی، در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به طور کلی کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت موجب افزایش معنی‌دار غلظت آهن نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۲). حداکثر غلظت آهن در اندام هوایی با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد، ۲۶/۲ درصد افزایش غلظت آهن در اندام هوایی بدست آمد. کمترین مقدار غلظت آهن در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۲). باکتری‌های محرک رشد با تولید سیدروفورها موجب کلات کردن آهن و ورود آن به داخل سلول‌های گیاه میزبان از طریق ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین و لینگاندهای شیمیایی با میل اختصاصی و ترکیبی بالا برای پیوند شدن با آهن III می‌شوند (Cézard *et al.*, 2015; Cunrath *et al.*, 2015). افزایش جذب آهن با کاربرد باکتری باسیلوس در گیاه بادام‌زمینی (Liu *et al.*, 2017)، باکتری *Providencia sp.* در گیاه گندم (Mishra *et al.*, 2012)، آنتروباکتر در گیاه سویا (Ramesh *et al.*, 2014)، باکتری سودوموناس در گیاه عدس (Mishra *et al.*, 2011) و گیاه ذرت (Alipour and Sobhanipour, 2012) گزارش شده است. همسو با نتایج بدست آمده، قدم‌خانی و همکاران (Ghadamkhani *et al.*, 2017) بیان کردند بیشترین مقدار آهن قابل جذب در گیاه گندم با کاربرد ترکیبی باکتری‌های محرک رشد حاصل شد، که نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر را تایید می‌نماید.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر غلظت آهن در اندام هوایی کاهو رقم نیو رد فایر. Psp: سودوموناس پوتیدا، Pan: پانتواگلومرانس، Psk: سودوموناس کورینسیس، Psv: سودوموناس ونکورنسیس، Mb: سودوموناس ونکورنسیس + سودوموناس کورینسیس + سودوموناس ونکورنسیس + پانتواگلومرانس.

Figure 2- Mean comparison effect of plant growth promoting rhizobacteria application on Fe Concentration in aerial organs of lettuce cv New Red Fire. Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*.

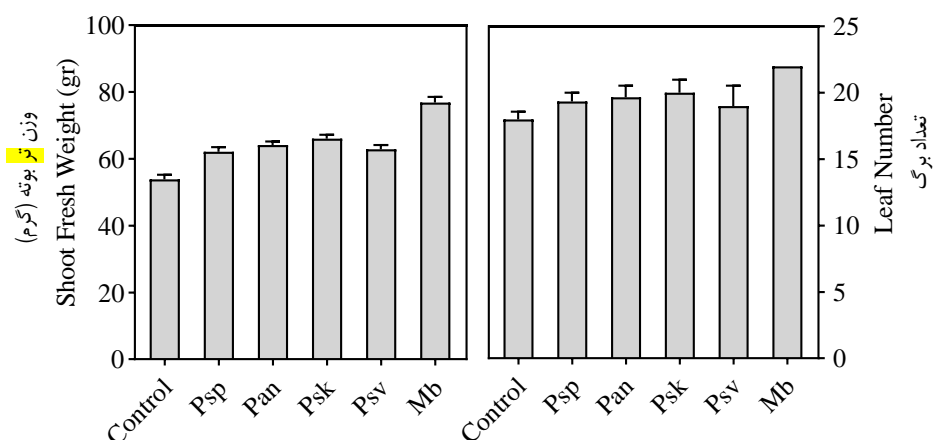
جدول ۴- تجزیه واریانس اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در کاهو رقم نیو رد فایر

Table 4- ANOVA (mean squares) for the effect of plant growth promoting rhizobacteria application on some physiological and morphological traits of lettuce cv New Red Fire

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean of squares					
		آهن Fe	آنتوسیانین Anthocyanin	وزن تر بوته shoot Fresh weight	تعداد برگ Leaf number	فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل Total flavonoids
تیمار Treatment	5	3.05**	185.42**	166.06**	5.33 ^{ns}	61637.42**	4723.65**
خطا Error	12	0.17	0.46	5.35	2.44	130.33	16.39
ضرب تغییرات C.V (%)	-	1.83	14.78	2.65	2.17	13.08	6.73

^{ns}, ^{**}: به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد
^{ns}, ^{**}: Non-significant and Significance at the 0.01 of probability level, respectively

وزن تر بوته و تعداد برگ نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر وزن تر بوته در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به طور کلی اعمال تیمارهای باکتریایی در شرایط آبکشت موجب افزایش معنی‌دار وزن تر بوته نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۳). حداکثر وزن تر بوته با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی (افزایش ۴۲/۶ درصد) نسبت به گیاهان شاهد بدست آمد، کمترین وزن تر بوته در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر وزن تر بوته و تعداد برگ در کاهو رقم نیو رد فایر. Psp: سودوموناس پوتیدا، Pan: پانتواگلومرانس، Psk: سودوموناس کورینسیس، Psv: سودوموناس ونکورنسیس، Mb: سودوموناس کورینسیس + سودوموناس-ونکورنسیس + سودوموناس پوتیدا + پانتواگلومرانس.

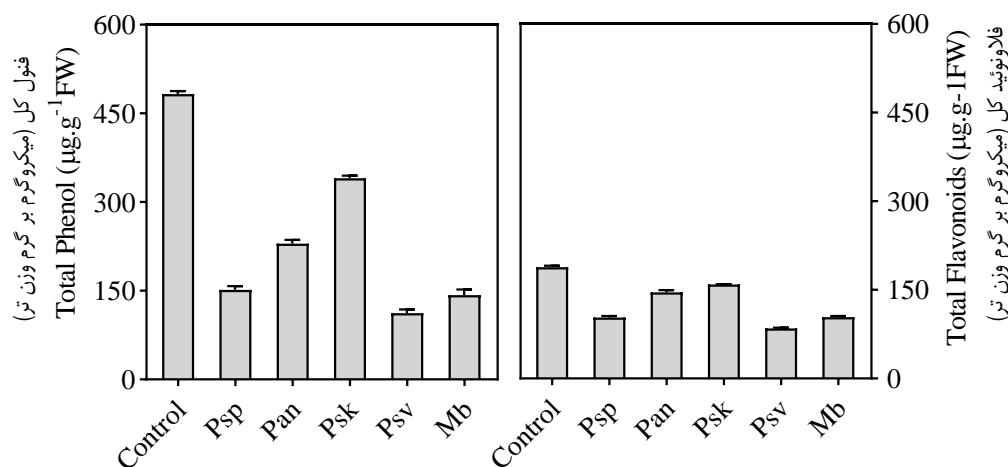
Figure 3- Mean comparison effect of plant growth promoting rhizobacteria application on shoot fresh weight and leaf number of lettuce cv New Red Fire. Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر میزان تعداد برگ اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۴). بیشترین تعداد برگ در بوته با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد ۲۲/۲ درصد، تعداد برگ در بوته افزایش یافت (شکل ۳). باکتری‌های محرک رشد از طریق سنتز اسیدهای آلی و کاهش

pH، موجب افزایش جذب عناصر غذایی و همچنین با افزایش تولید هورمون‌های محرک رشد از جمله ایندول استیک اسید و جیبرلین موجب گسترش سیستم ریشه‌ای و با محدودیت در جذب کلر و سدیم، رشد گیاه میزبان را بهبود می‌بخشد (Erturk *et al.*, 2011; Tsavkelova *et al.*, 2005). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها و افزایش پارامترهای رشد از جمله افزایش وزن تر بوته و تعداد برگ با کاربرد تیمارهای باکتریایی در شرایط آبکشت می‌توان بیان داشت؛ باکتری‌های مورد آزمایش با افزایش معنی‌دار سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ موجب افزایش فرآیند فتوسنتز و سوخت و ساز در گیاه میزبان و همچنین موجب تحریک رشد، افزایش تقسیم سلولی و پارامترهای رشد شده است. افزایش معنی‌دار وزن تر بخش هوایی گیاه کلم با کاربرد باکتری‌های محرک رشد (Abdollahi *et al.*, 2020)، تاثیر معنی‌دار بر عملکرد وزن تر و خشک، غلظت روی و آهن بخش هوایی گیاه اسفناج با تلقیح باکتری‌های سودوموناس (Bolhasani *et al.*, 2020) در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است، که نتایج پژوهش حاضر را تایید می‌نماید.

محتوای فنول و فلاونوئید کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر محتوای فنول و فلاونوئید کل در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به طور کلی کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت موجب کاهش معنی‌دار محتوای فنول و فلاونوئید کل نسبت به گیاهان شاهد شد، بیشترین مقدار محتوای فنول و فلاونوئید کل در گیاهان شاهد و کمترین مقدار محتوای فنول و فلاونوئید کل با اعمال باکتری سودوموناس و نکورنسیس حاصل شد (شکل ۴).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر محتوای فنول کل و فلاونوئید کل در کاهو رقم نیو رد فایر. Psp: سودوموناس-پوتیدا، Pan: پانتوآگلومرانس، Psk: سودوموناس کورینسیس، Psv: سودوموناس و نکورنسیس، Mb: سودوموناس کورینسیس + سودوموناس-ونکورنسیس + سودوموناس پوتیدا + پانتوآگلومرانس.

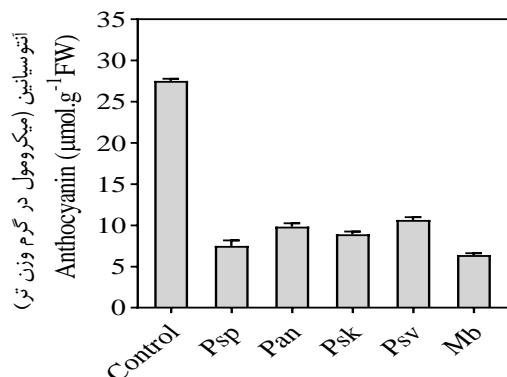
Figure 4- Mean comparison effect of plant growth promoting rhizobacteria application on total phenol and total flavonoids content of lettuce cv New Red Fire. Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*.

ترکیبات فنولی از جمله ترکیبات آلی در گیاهان هستند که به دلیل وزن مولکولی کم و ساختار محلول در آب، موجب تنظیم فشار اسمزی در تنش‌ها می‌گردند. همچنین دارای توانایی پاکسازی رادیکال‌های آزاد به طور ویژه‌ای می‌باشند (Chishaki

(and Horiguchi, 1997). مطالعات پیشین نشان داده است، در شرایط کاهش جذب آهن برای گیاهان، فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز در اندام هوایی و ریشه کاهش و میزان پراکسیداسیون لیپیدها در بخش هوایی و هیدروژن پراکسید در ریشه افزایش می‌یابد (Sun et al., 2016; Kiani Chalmardi et al., 2012). بر این اساس شاید بتوان گفت گیاهان شاهد به دلیل کاهش جذب آهن نسبت به گیاهان تحت تیمارهای باکتریایی در شرایط کمبود جذب آهن بوده‌اند و کمبود آهن باعث ایجاد اختلال در ساختار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده است، به همین علت ترکیبات فنولی برای جبران کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته‌اند. آنزیم‌ها در ساختار خود دارای آهن پورفیرین می‌باشند و به عنوان گروه‌های پروستتیک، نقش بسیار مهمی را در متابولیسم‌های گیاهی ایفا می‌نمایند (Bannister et al., 1987). افزایش سنتز ترکیبات فنولیک از نشانه‌های انعطاف‌پذیری متابولیکی گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی و تغذیه‌ای می‌باشد (Ferreira et al., 2015; Kallala et al., 2018). قشلاقی و همکاران (Gheshlaghi et al., 2019) گزارش کردند محلول‌پاشی آهن در گیاه یونجه موجب کاهش معنی‌دار محتوای فنول کل و فلاونوئید کل گردید. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش و همسویی آن با تحقیقات پیشین می‌توان بیان داشت مقدار آهن قابل جذب در گیاه، به طور معنی‌داری بر محتوای ترکیبات فنولیک اثر دارد.

محتوای آنتوسیانین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر محتوای آنتوسیانین در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به طور کلی کاربرد تیمارهای باکتریایی در شرایط آبکشت موجب کاهش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین برگ نسبت به گیاهان شاهد گردید و بیشترین مقدار محتوای آنتوسیانین برگ (mol g^{-1} FW $^{1/54}$) در گیاهان شاهد حاصل شد (شکل ۵). آنتوسیانین‌ها از جمله ترکیبات فنولی در گیاهان می‌باشند (Khoo et al., 2017). محققین تجمع آنتوسیانین‌ها را در گیاهان بیشتر در شرایط کاهش جذب نیتروژن گزارش کرده‌اند و علت را جایگزینی مصرف کربوهیدرات‌ها جهت سنتز رنگیزه‌های آنتوسیانین به جای متابولیسم نیتروژن بیان داشته‌اند (Taiz and Zeiger, 2010). کاهش جذب عناصر غذایی در محیط ریشه موجب افزایش ترکیبات فنولی در گیاهان می‌گردد (Widodo et al., 2010). تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد، موجب افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه و بهبود دسترسی به عناصر غذایی توسط گیاه میزبان می‌شود. علاوه بر این، باکتری‌های محرک رشد با تولید سیدروفورها موجب افزایش جذب و انتقال عنصر آهن در گیاهان می‌گردد. آهن از جمله ترکیبات فعالی می‌باشد که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان از قبیل تنفس میتوکندریایی، فتوسنتز، بیوسنتز هورمون‌ها، آسیمیلاسیون عنصر نیتروژن، حفاظت اسمزی و همچنین از بین بردن انواع اکسیژن فعال تاثیر می‌گذارد (Hansch and Mendel, 2009). همسو با نتایج بدست آمده در این پژوهش، افزایش سنتز ترکیبات فنولی در شرایط کمبود آهن در گیاه سورگوم نیز گزارش شده است (Saboora and Behjati, 2017)، که نتایج بدست آمده در این تحقیق از جمله سنتز بیشتر ترکیبات فنولی و محتوای آنتوسیانین در گیاهان شاهد را تایید می‌نماید.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر محتوای آنتوسیانین در کاهو رقم نیو رد فایر. Psp: سودوموناس پوتیدا، Pan: پانتواگلومرانس، Psk: سودوموناس کورینسیس، Psv: سودوموناس ونکورنسیس، Mb: سودوموناس ونکورنسیس + سودوموناس ونکورنسیس + سودوموناس پوتیدا + پانتواگلومرانس.

Figure 5- Mean comparison effect of plant growth promoting rhizobacteria application on anthocyanin content of lettuce cv New Red Fire. Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش، کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت از یک سو موجب افزایش معنی‌دار جذب آهن، سنتز حداکثری رنگیزه‌های فتوسنتزی و متعاقباً تحریک رشد و افزایش پارامترهای رشد و عملکرد از جمله وزن تر بوته و تعداد برگ در گیاه کاهو رقم New Red Fire گردید، از سوی دیگر در این آزمایش با توجه به تسهیل شرایط رشد و افزایش جذب عناصر غذایی برای گیاهان میزبان در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت، سنتز ترکیبات فنولیکی از جمله محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. لذا بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان از باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو رقم New Red Fire جهت افزایش پارامترهای رشد، عملکرد و غلظت آهن در شرایط آبکشت استفاده نمود. البته اگر بتوان با اعمال راهکارهایی به صورت همزمان کیفیت تغذیه‌ای کاهو به‌ویژه محتوای ترکیبات فنولیکی و فلاونوئیدی گیاه را نیز افزایش داد بسیار مطلوب‌تر خواهد بود. در کل انجام تحقیقات بیشتر برای یافتن راهکارهای زیستی به‌منظور افزایش عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای کاهو و سایر گیاهان برای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و استفاده بهینه منابع آبی در شرایط آبکشت، پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت‌های گروه علوم باغبانی، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان و همچنین از کارشناس واحد تحقیق و توسعه شرکت زیست فناور سبز جناب آقای مهندس پژمان قاسمی‌نژاد جهت همکاری‌های لازم در انجام این پژوهش، قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

- 1- Abdollahi, S., Golchin, A., & Shahryari, F. (2020). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on organic acids production and concentration of lead and cadmium in cabbage. *Journal of Water and Soil* 34(3): 737-754. (In Persian with English abstract)
- 2- Alipour, Z.T., & Sobhanipour, A. (2012). The effect of Thiobacillus and Pseudomonas fluorescent inoculation on maize growth, and Fe uptake. *Annals of Biological Research* 3(3): 1661-1666.
- 3- Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112-21.
- 4- Biswas, J.C., Ladha, J.K., Dazzo, F.B., Yanni, Y.G., & Rolfe, B.G. (2013). Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agronomy Journal* 92: 880-886.
- 5- Bolhasani, Z., Ronaghi, A.M., Ghasemi, R., & Zarei, M. (2020). Influence of growth promoting rhizobacteria and organic matter on the concentration of micronutrients of spinach in a calcareous soil affected by salinity. *Iranian Journal of Soil Research* 34(1): 81-94. (In Persian with English abstract)
- 6- Cézard, C., Farvacques, N., & Sonnet, P. (2015). Chemistry and biology of pyoverdines, Pseudomonas primary siderophores. *Current Medicinal Chemistry* 22(2): 165-186.
- 7- Chishaki, N., & Horiguchi, T. (1997). Responses of secondary metabolism to nutrient deficiency. *Soil Science and Plant Nutrition* 43: 987-991.
- 8- Cunrath, O., Gasser, V., Hoegy, F., Reimann, C., Guillon, L., & Schalk, I.J. (2015). A cell biological view of the siderophore pyochelin iron uptake pathway in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environmental Microbiology* 17(1): 171-185.
- 9- Ding, J., Zhang, Y., Zhang, H., Li, X., Sun, Z., Liao, Y., Xia, X., Zhou, Y., Shi, K., & Yu, J. (2014). Effects of *Fusarium oxysporum* on rhizosphere microbial communities of two cucumber genotypes with contrasting Fusarium wilt resistance under hydroponic condition. *European Journal of Plant Pathology* 140(4): 643-653.
- 10- Erturk, Y., Cakmakci, R., Duyar, O., & Turan, M. (2011). The effects of plant growth promoting rhizobacteria on vegetative growth and leaf nutrient contents of hazelnut seedling (Turkish hazelnut CV. Tombul and Sibir). *International Journal of Soil Science* 6(3): 188-198.
- 11- Esnaashari, E., & Enteshari, S. (2018). Effects of iron chloride, iron chelate and nano-iron on enzymatic and non-enzymatic antioxidant mechanisms in melissa officinalis under aluminum treatment. *Journal of Plant Process and Function* 7(23): 193-204. (In Persian with English abstract)
- 12- Esitken, A., Yildiz, H. E., Ercisli, S., Donmez, M. F., Turan, M., & Gunes. A. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae* 124: 62-66.
- 13- Fathi Amirkhiz, K., Amini Dehaghi, M., & Heshmati, S. (2015). Study the effect of iron chelate on Chlorophyll content, photochemical efficiency and some biochemical traits in Safflower under deficit irrigation condition. *Iranian Journal of Field Crop Science* 46(1): 137-145. (In Persian with English abstract)
- 14- Ferreira, J., Cornacchione, M., Liu, X., & Suarez, D. (2015). Nutrient composition, forage parameters, and antioxidant capacity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in response to saline irrigation water. *Journal of Agriculture* 5: 577-597.
- 15- Ghadamkhani, A., Enayatizamir, N., & Norouzi Masir, M. (2017). Effect of plant growth promoting bacteria on soil available iron and its uptake by wheat. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 8(2): 53-64. (In Persian)

- 16- Gheshlaghi, Z., Khorassani, R., Kafi, M., & Fotovat, A. (2019). Comparison of foliar and soil Fe fertilization on medicago scutellata physiological -biochemical characteristics and active iron in soils containing different amounts of lime. *Journal of Crop Production and Processing* 9(4): 113-128. (In Persian)
- 17- Gupta, A., Gopal, M., Thomas, G.V., Manikandan, V., Gajewski, J., Thomas, G., Seshagiri, S., Schuster, S.C., Rajesh, P., & Gupta, R. (2014). Whole genome sequencing and analysis of plant growth promoting bacteria isolated from the rhizosphere of plantation crops coconut, cocoa and arecanut. *PLoS One* 9(8).
- 18- Hansch, R., & Mendel, R.R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, and Cl). *Current Opinion in Plant Biology* 12: 259-266.
- 19- Hoagland, D.R., & Arnon, D.I. (1950). The water culture method for growing plants without soil. *Circular* 347: 39.
- 20- Kallala, N., Wissal, M., Jelali, K., Kais, Z., & Mhadhbi, H. (2018). Inoculation with efficient nitrogen fixing and indoleacetic acid producing bacterial microsymbiont enhance tolerance of the model legume *Medicago truncatula* to iron deficiency. *Biomedicine Research International* 1-14.
- 21- Khoo, H., Azlan, A., Tang, S., & Lim, S. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins colored pigments as food, pharmaceutical ingredients and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research* 61(1): 1361779.
- 22- Kiani Chalmardi, Z., Abdolzadeh, A., & Sadeghipour, H.R. (2012). Evaluation of the effects of silicon nutrition on alleviation of iron deficiency in rice plants (*Oriza sativa* L.) with emphasis on growth and antioxidant enzymes activity. *Journal of Plant Biology* 4(14): 61-74.
- 23- Kim, M.J., Moon, Y., Kopsell, D.A., Park, S., Tou, J.C., & Waterland, N.L. (2016). Nutritional value of Crisphead 'Iceberg' and Romaine lettuces (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural Science* 8(11): 1.
- 24- Kobayashi, T., & Nishizawa, N.K. (2012). Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology* 63: 131-152.
- 25- Kumar, P.G., Suseelendra, D., Amalraj, E.L.D., & Reddy, G. (2015). Isolation of fluorescent *Pseudomonas* spp. from diverse agro-ecosystems of India and characterization of their PGPR traits. *Journal of Bacteriology* 5: 13-24.
- 26- Lee, S., Ahn, I., Sim, S., Lee, S., Seo, M., Kim, S., Park, S., Lee, Y., & Kang, S. (2010). *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduced blossom-end rot of tomato fruits in a hydroponic system. *European Journal of Plant Pathology* 126(1): 1-11.
- 27- Liu, D., Yang, Q., Ge, K., Hu, X., Qi, G., Du, B., Liu, K., & Ding, Y. (2017). Promotion of iron nutrition and growth on peanut by *Paenibacillus illinoisensis* and *Bacillus* sp. strains in calcareous soil. *Brazilian Journal of Microbiology* 1-15.
- 28- Lommen, W.J.M. (2007). The canon of potato science: 27. Hydroponics. *European Potato Journal* 50: 3-4.
- 29- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology- Nature* 63(1).
- 30- Mahfouz, S.A., & Sharaf- Eldin, A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics* 2: 361-366.
- 31- Manzocco, L., Foschia, M., Tomasi, N., Maifreni, M., Costa, L.D., Marino, M., Cortella, G., & Cesco, S. (2011). Influence of hydroponic and soil cultivation on quality and shelf life of ready-

- to-eat lamb's lettuce (*Valerianella locusta* L. Laterr). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91: 1373-1380.
- 32- Mishra, P.K., Bisht, S.C., Ruwari, P., Joshi, G.K., Singh, G., Bisht, J.K., & Bhatt, J.C. (2011). Bioassociative effect of cold tolerant *Pseudomonas* spp. and *Rhizobium leguminosarum*-PR1 on iron acquisition, nutrient uptake and growth of lentil (*Lens culinaris* L.). *European Journal of Soil Biology* 47: 35-43.
- 33- Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., & Sreekanth, T.V.M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters* 8(3): 199-216.
- 34- Rahi, A. (2016). Effect of supernitroplasm and biosuprophosphate biofertilizers on morphological and physiological traits of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Science and Technology of Greenhouse Cultivation* 7 (26): 135-125.
- 35- Rana, A., Saharan, B., Nain, L., Prasanna, R., & Shivay, Y.S. (2012). Enhancing micronutrient uptake and yield of wheat through bacterial PGPR consortia. *Soil science and Plant Nutrition* 58(5): 573-582.
- 36- Ramesh, A., Sharma, S.K., Sharma, M.P., Yadav, N., & Joshi, O.P. (2014). Plant growth-promoting traits in *Enterobacter cloacae* subsp. *dissolvens* MDSR9 isolated from soybean rhizosphere and its impact on growth and nutrition of soybean and wheat upon inoculation. *Agricultural Research* 3(1): 53-66.
- 37- Saboora, A., & Behjati, R. (2017). The effect of boron and iron deficiency on the contents of photosynthetic pigments, carbohydrates and phenolic compounds in two cultivars of *Sorghum bicolor* L. *Iranian Journal of Plant Biology* 9(3): 18-38. (In Persian with English abstract)
- 38- Sharma, A., Shankhdar, D., & Shankhdhar, S.C. (2013). Enhancing grain iron content of rice by the application of plant growth promoting rhizobacteria. *Plant and Soil Environment* 59: 89-94
- 39- Singh, J.S., Pandey, V.C., & Singh, D.P. (2011). Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 140: 339-353.
- 40- Sonald, S.F., & Laima, S.K. (1999). Phenolics and cold tolerance of brassica napus. *Journal of Plant Agriculture* 1-5.
- 41- Stegelmeier, A.A., Rose, D.M., Joris, B.R., & Glick, B.R. (2022). The use of PGPB to promote plant hydroponic growth. *Plants* 11: 2783.
- 42- Sun, C., Wu, T., Zhai, L., Li, D., Zhang, X., Xu, X., Ma, H., Wang, Y., & Han, Z. (2016). Reactive oxygen species function to mediate the Fe deficiency response in a Fe-efficient apple genotype: an early response mechanism for enhancing reactive oxygen production. *Frontier in Plant Science* 7: 1726.
- 43- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5th Ed.). Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- 44- Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., & Netrusoe, A.I. (2005). Auxin production by bacteria associated with orchard roots. *Microbiology* 74: 233-273.
- 45- Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Güneş, A., Karagöz, K., Kotan, R., & Dursun, A. (2014). Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 38: 327-333.
- 46- Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- 47- Widodo, B., Broadley, M.R., & Rose, T. (2010). Response to zinc deficiency of two lines with contrasting tolerance is determined by root growth maintenance and organic acid exudation rates and not by zinc-transporter activity. *New Phytologist* 186: 400-414.

- 48- Yasufumi, U., & Kaneaki, H. (2003). Selection of PGPR which promotes the growth of spinach. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 74: 157-162.
- 49- Zandi, P., & Basu, S.K. (2016). Role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) as bioFertilizers in stabilizing agricultural ecosystems. *Organic Farming for Sustainable Agriculture* 71-87.
- 50- Zeinali Bafghi, M., Gholamnezhad, J., Esmailzadeh-Hosseini, A.R., Shirmardi, M., & Jafari, A. (2020). Influence of growth promoting bacteria on growth and physiological characters of pistachio in saline soils. *Horticultural Plants Nutrition* 2(2): 107-129. (In Persian with English abstract)
- 51- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.