Archive of SID

نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد سوم، شماره دوم، ۱۳۹۲
http://ejsms.gau.ac.ir

جداسازی و بررسی برخی از صفات محرک رشد گیاهی سودوموناس‌های فلورسنت بومی مزارع سویای استان گلستان

*مرضیه مقامی[۱]، محسن علمایی[۲]، میرحسن رسولی‌صدقیانی[۳] و اسماعیل دردی‌پور[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه، [۴]دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۵

چکیده

این پژوهش با هدف اطلاع از صفات محرک رشد گیاهی سودوموناس‌های فلورسنت موجود در خاک‌های استان گلستان انجام گرفت. به این منظور از تعداد ٤٥ خاک ریزوسفری گیاه سویا تعداد ۳۰ جدایه سودوموناس فلورسنت جداسازی و برخی از صفات محرک رشد گیاهی آن‌ها مانند توان تولید سیانیدهیدروژن، اکسین، سیدروفور و توان حلالیت فسفات نامحلول معدنی مورد بررسی قرار گرفت. توان تولید سیدروفور جدایه‌ها با استفاده از محیط CAS-Agar به‌طور نیمه‌کمی مورد ارزیابی قرار گرفت که بهترین جدایه، جدایه $P_{1/15}$ با متوسط نسبت قطر هاله به کلنی ۳/۱۰ بود و جدایه $P_{11/1}$ با نسبت قطر هاله به کلنی ۱/۲۹ کم‌ترین میزان تولید را داشت. توان تولید سیانیدهیدروژن جدایه‌ها با استفاده از محیط TSA غنی شده با گلایسین مورد ارزیابی قرار گرفت که بهترین جدایه، جدایه $P_{1/4}$ با تولید HCN خیلی‌زیاد (گروه ٤) بود. توان تولید اکسین جدایه‌ها نیز تحت شرایط غلظت‌های صفر و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان انجام گرفت، که جدایه $P_{1/4}$ با تولید اکسین ۹۲/۰۱ میکروگرم در میلی‌لیتر در حضور تریپتوفان بیش‌ترین میزان تولید این هورمون و جدایه $P_{5/2}$ با تولید ۲/٦۲ میکروگرم در میلی‌لیتر کم‌ترین میزان تولید را داشت. نتایج این پژوهش نیز نشان داد همه جدایه‌های مورد مطالعه توان حلالیت فسفات نامحلول معدنی را در محیط مایع داشتند. توان حلالیت فسفات معدنی جدایه‌ها با استفاده از محیط پیکوفسکی (PKV) مایع انجام گرفت، که جدایه $P_{2/7}$ با حلالیت ٤٤/۲۸ میلی‌گرم در لیتر بیش‌ترین میزان و جدایه $P_{11/1}$ با حلالیت ۱۲/۰۷ میلی‌گرم در لیتر کم‌ترین میزان حلالیت را داشتند.

واژه‌های کلیدی: اکسین، باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB)، ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR)، سودوموناس فلورسنت، سیدروفور، سیانیدهیدروژن

* مسئول مکاتبه: maghami.marzieh@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

ریزوسفر را ناحیه‌ای با فعالیت‌های فشرده میکروبی که حاصل ترشحات ریشه‌ای گیاه می‌باشد، تعریف کرده‌اند. جوامع میکروبی این منطقه از نظر کمی و کیفی با جوامع میکروبی خاک غیرریزوسفری تفاوت بسیار زیادی دارند. باکتری‌های منطقه ریزوسفر را که می‌توانند بر رشد گیاه اثرات مثبت داشته باشند و رشد گیاه را تحریک کنند، به اصطلاح PGPR[1] گویند (صالح‌راستین، ۱۹۹۸). ریزوباکترهای محرک رشد گیاه گروهی از باکتری‌های ناهمگون هستند که علاوه‌بر منطقه ریزوسفر در سطح ریشه و درون بافت ریشه نیز یافت می‌شوند و با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی در افزایش رشد و عملکرد گیاه ایفای نقش می‌کنند و قادرند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم کمیت و کیفیت رشد گیاه را بهبود بخشند (اردکانی و همکاران، ۲۰۱۰). این باکتری‌ها به‌صورت "مستقیم" با تحریک رشد گیاه از طریق مکانیسم‌های تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی مانند تولید هورمون‌های گیاهی، حل‌کنندگی فسفات (PSB)[2]، تسریع فرآیند معدنی شدن و یا "غیرمستقیم" با کنترل عوامل بیماری‌زا از طریق تولید ترکیبات مختلف مانند سیانیدهیدروژن، سیدروفور، متابولیت‌های ضدقارچ و آنتی‌بیوتیک‌ها به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند (رسولی‌صدقیانی و همکاران، ۲۰۰۵). ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) بخش کوچکی (۵-۲ درصد) از ریزوباکترها هستند که رشد گیاه را تحریک می‌کنند و این باکتری‌ها در طیف وسیعی از گیاهان زراعی به‌منظور افزایش رشد از طریق افزایش دانه در بوته، وزن بوته، عملکرد و کنترل بیماری به‌کار برده می‌شوند. استفاده از ریزوباکترهای محرک رشد به‌طور پیوسته در کشاورزی در حال افزایش است و راهی برای جایگزینی کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و مکمل‌ها برای جلوگیری از آلودگی محیط زیست ارایه می‌دهند (اشرف‌زمان و همکاران، ۲۰۰۹).

باکتری‌های جنس سودوموناس از سری باکتری‌های محرک رشد هستند که به‌طور وسیعی در طبیعت گسترش پیدا کرده‌اند و می‌توانند از بیش‌تر محیط‌ها شامل خاک، ریزوسفر و فیلوسفر گیاه یا آب جدا شوند (الکساندر و زوبرر، ۱۹۹۳) و به‌عنوان یک کنترل‌کننده بیولوژیکی نیز عمل می‌کنند. باکتری‌های جنس *سودوموناس* به‌دلیل توزیع گسترده در خاک، توانایی کلونیزاسیون ریزوسفر بسیاری از گیاهان و تولید طیف متنوعی از متابولیت‌های محرک رشد گیاهی از جمله تولید سیدروفور (میر، ۲۰۰۰)، تولید سیانیدهیدروژن (اسچیپرز و همکاران، ۱۹۹۰)، تولید اکسین (پتن و گلیک، ۲۰۰۲) و حل‌کنندگی فسفات (رشید و همکاران، ۲۰۰٤) از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند.

1- Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
2- Phosphate Solubilizing Bacteria

www.SID.ir

Archive of SID

وجه تمایز *سودوموناس‌های فلورسنت*، تولید پیگمان‌های فلورسنت است. آن‌ها در برابر نور فرابنفش (۲۴۵ نانومتر) و به‌ویژه در شرایط کمبود آهن، خاصیت فلورسنس دارند. این پیگمان‌های با خاصیت فلورسنت و محلول در آب، از گروه سیدروفورها هستند (هافت و همکاران، ۱۹۹۱). سیدروفورها ترکیبات کلات آهن با وزن ملکولی کم هستند (کم‌تر از ۱۰۰۰ دالتون[1]) که به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها و قارچ‌ها) برای مقابله با کمبود آهن تولید می‌شوند (بوپاسی و رائو، ۱۹۹۹) و قابلیت دسترسی آهن در ریزوسفر گیاه را افزایش می‌دهند. از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر در تولید سیدروفورها غلظت آهن قابل‌جذب می‌باشد زیرا سنتز یا جذب سیدروفور توسط باکتری‌ها تنها در شرایط کمبود آهن امکان‌پذیر است (میلاگرس و همکاران، ۱۹۹۹). بسیاری از سلول‌های میکروبی به‌منظور مقابله با مشکل کمبود آهن قابل جذب در محیط خاک (غلظت آهن کم‌تر از ۲۰ میکرومولار) اقدام به ترشح سیدروفور می‌کنند. سیدروفور ترشح شده قادر است عنصر آهن سه‌ظرفیتی را به شکل کلات محلول در آورد که در این حالت برای سلول‌هایی که دارای پذیرنده‌های غشایی خاص باشند، قابل‌جذب می‌گردد (وسی، ۲۰۰۳). گرچه وظیفه اصلی سیدروفورها به‌دست آوردن آهن از هیدروکسیدهای نامحلول، یا از آهن جذب شده در بخش‌های جامد است اما آن‌ها قادرند که آهن را از میان فرم‌های متنوع محلول و غیرمحلول آهن مانند سیترات‌فریک، فسفات‌فریک، ترانسفرین، فریتین یا پیوندهای آهن در قندها و گلیکوزیدها یا حتی از کلات‌کننده‌های مصنوعی آهن مثل EDTA، به‌دست آورده و به‌صورت کلات در اختیار گیاه قرار دهند (لوگشواران و همکاران، ۲۰۰۹).

سودوموناس‌ها با تولید متابولیت ثانویه سیانیدهیدروژن یکی از گروه‌های اصلی ریزوباکترها با پتانسیل کنترل‌کننده بیولوژیک نیز محسوب می‌شوند (کرمر و سوئیسی، ۲۰۰۱). تولید سیانیدهیدروژن به‌وسیله باکتری‌های ریزوسفری مفید، یکی از مکانیسم‌های بسیار مهم کنترل بیولوژیکی پاتوژن‌های گیاهی است (نادین و همکاران، ۲۰۱۰). HCN تولید شده، سیستم تنفسی قارچ‌های بیماری‌زا را مختل نموده و از این طریق موجب توقف رشد آن‌ها می‌گردد. سیانید بازدارنده قوی آنزیم سیتوکروم اکسیداز (جزو نهایی چرخه تنفس هوازی) در بسیاری از موجودات زنده است. در گونه‌های سودوموناس بیوسنتز سیانیدهیدروژن (تولید سیانیدهیدروژن و دی‌اکسیدکربن از گلایسین) توسط آنزیم هیدروژن سیانید اکسیداز موجود در غشاء انجام می‌پذیرد (کاستریک، ۱۹۷۵). این آنزیم به اکسیژن مولکولی

۱- واحد جرم اتم معادل جرم یک پروتون یا نوترون

www.SID.ir

Archive of SID

بسیار حساس بوده و تنها بعضی از گونه‌های *سودوموناس* به‌ویژه *سودوموناس فلورسنت* دارای چنین آنزیمی هستند و حداکثر تولید سیانیدهیدروژن توسط این باکتری‌ها در پایان مرحله رشد تصاعدی و ابتدای فاز ساکن می‌باشد (لاویل و همکاران، ۱۹۹۸). یکی دیگر از مهم‌ترین خصوصیات باکتری‌های محرک رشد از جمله باکتری‌های *سودوموناس* تولید فیتوهورمون‌های محرک رشد گیاه می‌باشد. از جمله هورمون‌های گیاهی می‌توان به اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها، اتیلن‌ها و... اشاره کرد. در این میان اکسین‌ها و اتیلن نقش بسیار مهمی در توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و افزایش سطح جذب آب و عناصر و در نهایت افزایش عملکرد گیاه ایفا می‌کند. منطقه ریزوسفر سرشار از مواد لازم برای فعالیت‌های میکروبی می‌باشد که توسط ریشه فراهم می‌شود. این مواد شامل اسیدهای آلی، قندها، ویتامین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و دیگر متابولیت‌های گیاهی هم‌چون L-tryptophane (پیش‌ماده سنتز اکسین) و هورمون‌های مختلف مثل IAA می‌باشند (لینچ، ۱۹۹۰). از آن‌جایی‌که توانایی بیوسنتز IAA تنها محدود به گیاهان عالی نمی‌باشد بلکه میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها نیز توانایی تولید این هورمون گیاهی را دارند مقادیر بسیار جزیی IAA ترشح شده در ریشه گیاه ژن ***sipdc*** را در باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) فعال می‌کند. این ژن در ساخت IAA دخالت دارد (وسی، ۲۰۰۳). باکتری‌های جنس سودوموناس از دسته باکتری‌هایی هستند که توانایی انحلال فسفات معدنی را نیز دارا می‌باشند. میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات به گروهی از میکروارگانیسم‌ها اطلاق می‌گردد که قادرند از طریق مکانیسم‌هایی چون ترشح اسیدهای آلی، آزادسازی یون هیدروژن در سطح خارجی سلول باکتری و تولید اسیدهای غیرآلی سبب آزادسازی فسفر از ترکیبات نامحلول معدنی خاک گردند (رودریگرز و فراگا، ۱۹۹۹).

به‌طورکلی هدف از انجام این پژوهش جداسازی باکتری‌های گونه *سودوموناس فلورسنت* از ریزوسفر گیاه سویا و برآورد فاکتورهای محرک رشدی این باکتری‌ها و استفاده از سویه‌های مؤثر برای ساخت مایه تلقیح مناسب بوده است.

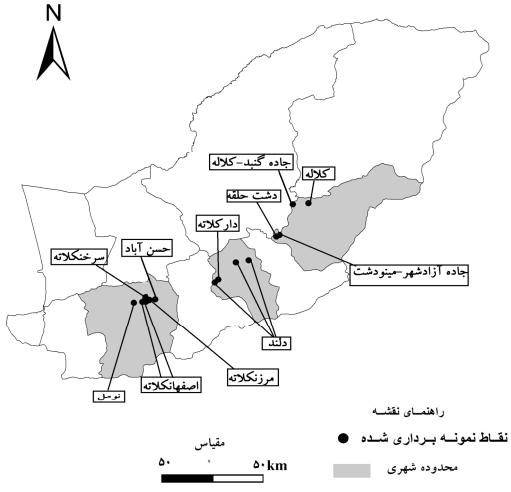
مواد و روش‌ها

جداسازی: به‌منظور جداسازی سودوموناس‌های فلورسنت، ۱٤ مزرعه سویا در سطح استان گلستان انتخاب شد که موقعیت جغرافیایی نقاط نمونه‌برداری شده بر روی شکل ۱ نشان داده شده است و از هر مزرعه حداقل ۳ بوته به‌طور تصادفی به آزمایشگاه انتقال داده شد. سپس ۱۰ گرم خاک فراریشه‌ای

www.SID.ir

Archive of SID

به همراه ریشه به ارلن‌های شامل ۹۰ میلی‌لیتر محلول بافر شامل ۸ گرم NaCl، ۰/۲ گرم KCl، ۱/٤٤ گرم Na_2HPO_4، ۰/۲٤ گرم KH_2PO_4 منتقل گردید. سپس مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد و پس از آن‌که سوسپانسیون چند دقیقه به حالت سکون گذاشته شد از محلول رویی ۱ میلی‌لیتر به لوله‌های آزمایش شامل ۹ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد پپتون سترون اضافه کرده و عمل رقت‌سازی را تا رقت 10^{-6} ادامه داده است. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از سه رقت آخر را با در نظر گرفتن ۳ تکرار برای هر تیمار با استفاده از روش کشت پخش سطحی بر روی محیط جامد king B کشت گردید. ظروف کشت به‌مدت ٤۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور قرار داده شدند و پس از این مدت اقدام به جداسازی پرگنه‌هایی گردید که در برابر لامپ UV خاصیت فلورسنس نشان می‌دادند. با تاباندن لامپ UV دستی بر روی ظرف پتری کشت شده پرگنه‌هایی که دارای پرتوافشانی واضح‌تری بودند را انتخاب کرده و سپس از هر پرگنه یک حلقه برداشته و روی محیط king B به روش خطی توزیع گردید و تک‌کلنی‌های با پرتوافشانی در زیر تابش لامپ UV را به‌عنوان باکتری خالص بر روی محیط king B ذخیره نموده و به‌منظور اطمینان بیش‌تر، جدایه‌های نام برده از نظر شکل ظاهری، تحرک در محیط نیمه‌جامد، آزمون‌های گرم، اکسیداز و کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفتند (رسولی‌صدقیانی و همکاران، ۲۰۰٦).



شکل ۱- نقشه نقاط نمونه‌برداری شده.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری صفات PGP باکتری‌ها

تولید سیدروفور

محیط کشت CAS Agar: برای تهیه این محیط براساس روش اصلاح‌شده الکساندر و زوبرر (۱۹۹۱) چهار محلول به‌طور مجزا تهیه، استریل و سپس با هم مخلوط شد.

الف- محلول معرف Fe-CAS: این محلول از اختلاط ۱۰ میلی‌لیتر $FeCl_3.6H_2O$ ۱ میلی‌مولار (در محلول ۱۰ میلی‌مولار اسید کلریدریک) با ۵۰ میلی‌لیتر محلول شامل ۶۰/۵ میلی‌گرم CAS[1] (۱/۲۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) تهیه شد. این مخلوط ارغوانی تیره به آرامی و همراه با تکان‌های پیوسته به ۴۰ میلی‌لیتر محلول آب مقطر شامل ۷۲/۸ میلی‌گرم HDTMA (۱/۸۲ میلی‌گرم در لیتر) اضافه شد. محلول آبی تیره به‌دست آمده اتوکلاو و تا ۵۰ درجه سرد شد.

ب- محلول بافر: برای تهیه محلول بافر، ۳۰/۲۴ گرم PIPES در ۷۵۰ میلی‌لیتر محلول نمکی حل شد. محلول نمکی شامل ۰/۳ گرم KH_2PO_4، ۰/۵ گرم NaCl و ۱ گرم NH_4Cl است. pH این محلول با استفاده از محلول ۵۰ درصد KOH در ۶/۸ تنظیم گردید و سپس حجم نهایی آن به ۸۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مخلوط به‌دست آمده پس از افزودن ۱۵ گرم آگار اتوکلاو و تا ۵۰ درجه سرد شد.

ج- محلول غذایی: شامل ۲ گرم گلوکز، ۲ گرم مانیتول، ۴۹۳ میلی‌گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۱۱ میلی‌گرم $CaCl_2.7H_2O$، ۱/۱۷ میلی‌گرم $MnSO_4.7H_2O$، ۱/۴ میلی‌گرم H_3BO_3، ۰/۰۴ میلی‌گرم $CuSO_4.5H_2O$، ۱/۲ میلی‌گرم $ZnSO_4.7H_2O$ و ۱ میلی‌گرم $Na_2MoO_4.7H_2O$ در ۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر است. این محلول نیز پس از اتوکلاو تا دمای ۵۰ درجه سرد گردید.

د- محلول کازآمینواسید: برای تهیه این محلول، ۳ گرم کازآمینواسید در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس به‌وسیله کاغذ صافی غشایی با قطر ۰/۴۵ میکرون استریل شد.

پس از آماده شدن ۴ محلول بالا، محلول غذایی به محلول بافر و محلول کازآمینواسید اضافه گردید. سپس همراه با هم زدن آرام و بدون ایجاد حباب، محلول معرف Fe-CAS به آن‌ها اضافه و در پلیت پخش گردید. پلیت‌های شامل محیط CAS Agar پس از انجماد با تیغ استریل به ۴ قسمت مساوی تقسیم شدند و از سوسپانسیون تازه جدایه‌ها با جمعیت (4×10^8 CFU/ml) به اندازه ۵ میکرولیتر در وسط هر قسمت با روش قطره‌گذاری تلقیح شدند. توانایی تولید سیدروفور از روی تغییر رنگ آبی به نارنجی و با

1- Chrome Azurol S (CAS)

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری هاله نارنجی رنگ تشکیل شده در اطراف کلنی باکتری‌ها و در فواصل زمانی ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعت ارزیابی گردید. هم‌چنین قطر کلنی باکتری و نسبت قطر هاله به قطر کلنی نیز اندازه‌گیری و محاسبه شد (الکساندر و زوبرر، ١٩٩٣). لازم به ذکر است که برای جلوگیری از خطا در نقطه‌گذاری و هم‌چنین اختلاف قطر محیط‌ها در پتری تکرار گذاشته شده و متوسط ٣ تکرار را مقایسه می‌کنند.

تولید سیانیدهیدروژن: برای اندازه‌گیری میزان تولید سیانیدهیدروژن ابتدا جدایه‌ها در پلیت‌های شامل محیط TSA (Tryptic Soy Agar) (١٥ گرم کازئین هیدرولیز شده به طریقه آنزیمی، ٥ گرم آرد سویای هضم شده به‌وسیله آنزیم پپسین، ٥ گرم کلرید سدیم، ١٥ گرم آگار و ١٠٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر) غنی شده با گلایسین (٤/٤ گرم در لیتر) کشت داده شدند. سپس کاغذ صافی‌های خیسانده شده در پیکرات سدیم (پیکریک اسید ٠/٥ درصد و کربنات سدیم ٢ درصد) در قسمت داخلی درب پلیت گذاشته شد و اطراف درب آن با نوار پارا فیلم بسته شد. پلیت‌ها به‌مدت ١٢٠ ساعت داخل انکوباتور در دمای ٢٨ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. توانایی تولید سیانیدهیدروژن از روی تغییر رنگ کاغذ صافی ارزیابی گردید (دونات و همکاران، ٢٠٠٤). تغییر رنگ کاغذ صافی‌ها به‌ترتیب از کرم (تولید HCN کم)، قهوه‌ای روشن (تولید HCN متوسط)، قهوه‌ای تیره (تولید HCN زیاد)، تا آجری (تولید HCN خیلی زیاد) متغیر بود که به‌ترتیب با درجه‌بندی ١ تا ٤ مشخص شد (جدول ١).

تولید هورمون رشد اکسین: اندازه‌گیری توان تولید اکسین با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از معرف سالکوسکی (Salkowski) انجام گرفت. برای این منظور باکتری‌های جدا شده در محیط TSA کشت شدند و برای مدت ٣ روز در دمای ٢٨ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. از کلنی‌های رشدیافته برای تلقیح ارلن‌های ٥٠ میلی‌لیتری شامل ١٠ میلی‌لیتر محیط TSB (Tryptic Soy Broth) شامل L-Tryptophane با غلظت‌های صفر و ٥٠ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده شد. از ارلن‌های نام برده در زمان ٧٢ ساعت نمونه‌گیری شد و پس از گذراندن مراحل سانتریفیوژ، مخلوطی از نمونه و معرف سالکوسکی (٢ میلی‌لیتر محلول نیم مولار $FeCl_3$ و ٩٨ میلی‌لیتر $HClO_4$ ٣٥ درصد) به نسبت ٢:١ تهیه و میزان هورمون اکسین تولید شده در طول موج ٥٣٠ نانومتر اندازه‌گیری شد (بنت و همکاران، ٢٠٠١). سپس با استفاده از منحنی استاندارد غلظت اکسین تولید شده توسط جدایه‌ها در یک زمان و با دو غلظت انتخابی صفر و ٥٠ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ١). آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام گردید. لازم به ذکر است که آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ٣ تکرار بود.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری میزان حلالیت فسفات معدنی: به‌منظور اندازه‌گیری میزان حلالیت فسفر در محیط مایع، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط PKV شامل: (۱۰ گرم glucose، ۰/۵ گرم $(NH_4)\ S_2O_4$، ۰/۲ گرم NaCl، ۰/۲ گرم KCl، ۰/۱ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۵گرم $MnSO_4.7H_2O$، ۰/۵ گرم $FeSO_4.7H_2O$، ۰/۵ گرم yeast extract و ۵۰ گرم تری‌کلسیم فسفات) منتقل گردید. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۲۰ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ (دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه) و ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات وانادات مخلوط گردید. نمونه شاهد محیط کشت بدون باکتری بود. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه از زمان انکوباسیون نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه، میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. میزان حلالیت فسفر توسط باکتری با مقایسه این جذب با منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف KH_2PO_4 محاسبه گردید (جئون و همکاران، ۲۰۰۳). آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

از میان جدایه‌های مورد آزمایش، جدایه $P_{1/15}$ با متوسط نسبت قطر هاله به قطرکلنی ۳/۱۰ بیش‌ترین و جدایه $P_{11/1}$ با نسبت قطر هاله به کلنی ۱/۳۹ کم‌ترین میزان تولید سیدروفور را داشتند (جدول ۲). لوپر و هنکلز (۱۹۹۹) بیان داشتند که گسترش قطر هاله می‌تواند به‌عنوان معیاری از میزان تولید سیدروفور به‌کار رود اما به‌رغم یکسان بودن جمعیت اولیه باکتری به هنگام تلقیح در محیط CAS-Agar، باکتری‌ها در این محیط سرعت رشد متفاوتی داشتند و حتی با گذشت زمان اختلاف قطر کلنی آن‌ها به حداکثر رسید به‌طوری‌که می‌توانست بر اندازه نسبت آن به قطر هاله تشکیل شده تأثیر بگذارد. بنابراین نسبت قطر هاله به کلنی می‌تواند به‌عنوان شاخص دقیق‌تری برای مقایسه توانایی تولید سیدروفور جدایه‌های مختلف به‌کار رود. نتایج به‌دست آمده از آزمون تولید سیدروفور نشان می‌دهد سویه‌های سودوموناس فلورسنت مورد استفاده در این بررسی قابلیت به‌نسبت خوبی در تولید سیدروفور دارند که با نتایج سایر پژوهش‌گران مانند رسولی‌صدقیانی و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت داشت. هاله اطراف کلنی همه سویه‌های مورد استفاده در این پژوهش نارنجی تا نارنجی مایل به قرمز بود. در پژوهشی میلاگرس و همکاران (۲۰۰۳) بیان داشتند که در محیط CAS-Agar سیدروفورهای منوهیدروکسامات و تری‌هیدروکسامات به‌ترتیب رنگ نارنجی مایل به قرمز و نارنجی ایجاد می‌کنند،

www.SID.ir

Archive of SID

در حالی‌که کمپلکس‌های کاتکولی موجب تغییر رنگ محیط از آبی به ارغوانی تا قرمز مایل به ارغوانی می‌گردند. با استناد به گزارش‌های نام برده، می‌توان گفت که بیش‌تر سیدروفورهای تولید شده توسط سویه‌های *سودوموناس فلورسنت* مورد بررسی از نوع هیدروکسامات می‌باشند.

نتایج به‌دست آمده از ارزیابی سیانیدهیدروژن نشان داد که میزان توان تولید سیانیدهیدروژن ۱ جدایه ($P_{1/4}$) از ۳۰ جدایه مورد مطالعه در حد خیلی زیاد، دو جدایه ($P_{11/4}$ و $P_{13/6}$) در حد زیاد، ۹ جدایه در حد کم و بقیه در حد متوسط بودند (جدول ۱). پژوهش‌های انجام شده توسط کرمر و سوئیسی (۲۰۰۱) نیز نشان داده است که تقریباً ۳۲ درصد از یک مجموعه شامل ۲۰۰۰ جدایه باکتری، توانایی تولید سیانید داشته‌اند. مقدار HCN تولید شده از صفر تا کمی بیش از ۳۰ نانومول به‌ازای هر میلی‌گرم سلول متغیر بوده است. توانایی تولید HCN به‌طور عمده در بین باکتری‌های سودوموناس متمرکز بوده و برخی از باکتری‌های ریزوبیومی نیز توان تولید سیانید را از خود نشان داده‌اند. به عقیده آن‌ها تولید HCN با افزایش مقدار گلایسین در محیط افزایش می‌یابد. آن‌ها هم‌چنین پیشنهاد کردند که توانایی تولید HCN توسط باکتری‌های PGPR یک قابلیت بالقوه و مکانیسمی مناسب برای کنترل بیولوژیک علف‌های هرز می‌باشد که باید به‌عنوان یک جنبه جدید در روش‌های تقویت و تحریک رشد گیاهان زراعی و افزایش عملکرد محصول، بیش‌تر مورد توجه قرار گیرد. کاستریک (۱۹۹٤) نیز بیان داشت که آزمایش‌های فیزیولوژیک اولیه بر روی تولید HCN توسط گونه ***P. aeruginosa*** نشان داده است که دو عامل تأثیرگذار بر سنتز این گاز، فاز رشد و سطح اکسیژن می‌باشد.

نتایج به‌دست آمده از بررسی توان تولید اکسین جدایه‌های *سودوموناس فلورسنت* نیز نشان داد که همه جدایه‌های مورد مطالعه توانایی تولید اکسین را در هر دو شرایط با و بدون تریپتوفان داشتند گرچه میزان تولید اکسین در شرایط با تریپتوفان خیلی بیش‌تر بود. به‌طورکلی دامنه تولید اکسین در این پژوهش ۹۲/۰۱–۲/۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که بیش‌ترین میزان تولید مربوط به جدایه $P_{1/4}$ (۹۲/۰۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در شرایط با تریپتوفان و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به جدایه $P_{5/2}$ (۲/۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در شرایط بدون تریپتوفان بود (جدول ۱). در بررسی انجام شده توسط بنت و همکاران (۲۰۰۱) نیز مشخص شد که سودوموناس‌های فلورسنت توانایی تولید مقادیر اکسین را در حضور غلظت‌های مختلف تریپتوفان و حضور نداشتن آن داشتند. پژوهش‌های سلطانی‌طولارود و همکاران (۲۰۰۸) بر روی میزان تولید اکسین ۲۵ جدایه سودوموناس فلورسنت نشان دادند که همه جدایه‌های مورد مطالعه توانایی تولید اکسین را داشتند و متوسط میزان تولید ۲/٤٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر و دامنه آن از ٤/۵–۱/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود.

www.SID.ir

Archive of SID

بیش‌ترین مقدار حلالیت فسفر نیز مربوط به جدایه $P_{2/7}$ با حلالیت ٤٤/۲۸ میلی‌گرم در لیتر و کم‌ترین مربوط به جدایه $P_{11/1}$ با حلالیت ۱۲/۰۷ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۲). توانایی انحلال فسفات در محیط به عوامل مختلفی بستگی دارد که از آن جمله می‌توان به نوع و مقدار اسیدهای آلی، نوع منبع کربنی مورد استفاده میکروارگانیسم‌ها، نوع منبع فسفاته (مینرالوژی و ترکیب شیمیایی منبع فسفاته)، سایر عناصر مانند فلزات سنگین و نوع محیط کشت اشاره نمود. تمامی این عوامل قادر هستند پتانسیل انحلال فسفات در میکروارگانیسم‌ها را تحت‌تأثیر قرار دهند. به‌طورکلی وجود مقادیر زیاد فسفر در خاک‌های آهکی و دسترسی نداشتن آن از مشکلات خاک‌های کشور ما می‌باشد.

جدول ۱- نتایج به‌دست آمده از ارزیابی توان تولید سیانیدهیدروژن و توان تولید هورمون اکسین جدایه‌های *سودوموناس‌های فلورسنت* در دو محیط با و بدون تریپتوفان.

نام جدایه	میزان تولید هورمون اکسین بعد از گذشت ۷۲ ساعت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)		سیانیدهیدروژن	نام جدایه	میزان تولید هورمون اکسین بعد از گذشت ۷۲ ساعت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)		سیانیدهیدروژن
	بدون تریپتوفان	دارای تریپتوفان			بدون تریپتوفان	دارای تریپتوفان	
$P_{5/1}$	۳/۳۳^{lm}	٤/۳۹^{jk}	۲	$P_{1/1}$	۷/۸۷^{d}	۱۱/۳۲^{c}	۱
$P_{5/2}$	۲/۰٥^{m}	۲/٦۲^{k}	۲	$P_{1/4}$	٤۸/٤۸^{a}	۹۲/۰۱^{a}	٤
$P_{5/3}$	۳/۸٦^{hijklm}	۱۰/٤۱^{cd}	۲	$P_{1/9}$	۱۳/۷۳^{b}	۱٤/٦۸^{b}	۲
$P_{5/4}$	۲/۷۲^{lm}	٥/۳۸^{ijk}	۲	$P_{1/15}$	۷/۷۲^{d}	۸/۸۲^{cdefgh}	۲
$P_{10/1}$	۳/۳۷^{jklm}	٥/۱۸^{ijk}	۲	$P_{1/19}$	۱۱/٦۹^{c}	۱٦/۷٤^{b}	۲
$P_{10/2}$	۳/۷٦^{hijklm}	٥/۳٤^{ijk}	۲	$P_{2/1}$	٤/۹۱^{efghijk}	٦/۳۹^{fghij}	۱
$P_{10/3}$	٤/۳۹^{ghijkl}	٦/۳٦^{fghij}	۱	$P_{2/4}$	٦/٦۲^{def}	۹/٤۱^{cdef}	۱
$P_{10/4}$	٥/۸٥^{defgh}	۸/۳۷^{cdefghi}	۲	$P_{2/7}$	۳/۸۸^{hijklm}	٤/۱۰^{Jk}	۲
$P_{10/5}$	٦/٦۲^{def}	۸/۳۱^{cdefghi}	۲	$P_{3/1}$	۳/٥٥^{ijklm}	٥/٥۷^{hijk}	۲
$P_{11/1}$	۱۱/۲٤^{c}	۱٥/۱٥^{b}	۲	$P_{3/2}$	٤/٥۱^{fghijkl}	٥/۳٦^{ijk}	۱
$P_{11/4}$	٦/٦۸^{de}	۷/۸٤^{defghi}	۳	$P_{3/3}$	٦/۹۹^{de}	۸/۸٦^{cdefgh}	۲
$P_{13/2}$	٥/٥۹^{efghi}	۱۰/۱۸^{cde}	۱	$P_{3/4}$	٤/۱٤^{hijklm}	۱۱/٥۹^{c}	۲
$P_{13/3}$	٤/۳٤^{hijkl}	٥/٦۱^{hijk}	۱	$P_{4/1}$	٥/٥۰^{efghijk}	٦/۷۱^{fghij}	۱
$P_{13/6}$	٥/٥۳^{efghij}	٦/۹۳^{efghij}	۳	$P_{4/7}$	٤/۹۳^{efghijk}	٥/۹۳^{hijk}	۲
$P_{13/9}$	٦/٤۸^{dfg}	۹/۲۱^{cdefg}	۱	$P_{4/12}$	٥/۳٤^{efghijk}	٥/۷٥^{hijk}	۲

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- میانگین میزان تولید سیدروفور و حلالیت فسفات معدنی توسط *سودوموناس‌های فلورسنت*.

نام جدایه	حلالیت فسفات (میلی‌گرم بر لیتر)	قطر هاله به قطر کلنی			نام جدایه	حلالیت فسفات (میلی‌گرم بر لیتر)	قطر هاله به قطر کلنی		
		۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت			۲٤ ساعت	٤۸ ساعت	۷۲ ساعت
$P_{5/1}$	۱۸/۰۰^{efg}	۲/٤٤^{fgh}	۲/۵۹^{fg}	۲/۳٦^{fgh}	$P_{1/1}$	۳۵/٦۵^{b}	۲/۱۵^{k}	۲/۲٦^{k}	۲/۳۷^{fgh}
$P_{5/2}$	۱۷/۸۷^{fg}	۲/۲٤^{ijk}	۲/۲٦^{k}	۲/۳۲^{fghi}	$P_{1/4}$	۱۹/۳۹^{efg}	۳/۰۱^{ab}	۳/۰٤^{ab}	۲/۸۵^{bc}
$P_{5/3}$	۱۹/۸۷^{efg}	۲/۳۲^{hij}	۲/٤۹^{ghi}	۲/٤۰^{fg}	$P_{1/9}$	۱٦/٤۷^{gh}	۱/۵^{m}	۱/۷۳^{m}	۱/٤۸^{no}
$P_{5/4}$	۱۸/۵۲^{efg}	۲/۲۵^{ijk}	۲/۳٤^{ijk}	۲/۳۳^{fghi}	$P_{1/15}$	۱٦/۲۳^{gh}	۲/۹۹^{b}	۳/۱۸^{a}	۳/۱۵^{a}
$P_{10/1}$	۱٦/۵۸^{gh}	۲/۳۱^{hij}	۲/٤٤^{ghij}	۲/۳٦^{fgh}	$P_{1/19}$	۱۲/۲۹^{i}	۲/٦۹^{dc}	۳^{bc}	۲/۹۲^{b}
$P_{10/2}$	۲۲/۲۷^{ef}	۲/۵۲^{ef}	۲/۷۱^{ef}	۲/٦۲^{de}	$P_{2/1}$	۳۵/۰٦^{b}	۲/٤۵^{efgh}	۲/۳^{jk}	۲/۱۳^{ij}
$P_{10/3}$	۱٦/۷٦^{gh}	۱/۵۱^{m}	۱/٦۸^{m}	۱/۵۸^{nm}	$P_{2/4}$	۲۹/۷۷^{cd}	۲/۱۷^{jk}	۲/٤^{hijk}	۲/۰۳^{jk}
$P_{10/4}$	۱۹/۹٤^{efg}	۱/٤۷^{m}	۱/۵۱^{no}	۱/٤۳^{no}	$P_{2/7}$	٤٤/۲۸^{a}	۳/۱٤^{ab}	۳^{bc}	۲/۷٤^{bcd}
$P_{10/5}$	۱۷/٦۳^{gh}	۲/۳۱^{hij}	۲/۵۲^{gh}	۲/٤۳^{fg}	$P_{3/1}$	۱۹/۷۹^{efg}	۲/۷۸^{c}	۳/۱٤^{a}	۳/۱۲^{a}
$P_{11/1}$	۱۲/۰۷^{i}	۱/۵^{m}	۱/۳۹^{o}	۱/۲۹^{o}	$P_{3/2}$	۲۸/٤۲^{d}	۳/۱۵^{a}	۲/۹۹^{bc}	۲/۳۸^{fgh}
$P_{11/4}$	۲۰/۵۵^{efg}	۳/۰۲^{ab}	۲/۸۷^{cd}	۲/٦۷^{d}	$P_{3/3}$	۲۰/۲۵^{efg}	۱/۷۲^{l}	۱/۹۱^{l}	۱/۸۷^{kl}
$P_{13/2}$	۳۲/۷۳^{bc}	۲/٤۸^{efg}	۲/۸۱^{de}	۲/۱۸^{hij}	$P_{3/4}$	۱۸/۲۲^{efg}	۲/۳٤^{ghi}	۲/۳٤^{ijk}	۲/۲۱^{ghij}
$P_{13/3}$	۳۳/۱۷^{b}	۳/۰۰^{b}	۳/۰٦^{ab}	۳/۱۱^{a}	$P_{4/1}$	۲۲/۳۲^{e}	۲/۳۰^{hij}	۲/۳۱^{jk}	۲/۲٦^{fghi}
$P_{13/6}$	۱٦/۷٦^{gh}	۲/۳۳^{ghi}	۲/٤۷^{ghi}	۲/٤۷^{ef}	$P_{4/7}$	۱۳/٤۷^{h}	۲/٤۳^{fgh}	۲/٤^{hijk}	۲/۲۲^{ghij}
$P_{13/9}$	۳۰/٦٦^{cd}	۲/۵۹^{de}	۲/۵۵^{gh}	۲/۲۳^{ghij}	$P_{4/12}$	۱٦/٤۱^{gh}	۱/۵٤^{m}	۱/٦۳^{mn}	۱/۷^{lm}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری ندارند.

منابع

1.Alexander, D.B., and Zuberer, D.A. 1991. Use of Chrome Azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol. Fertil. Soils. 12: 39-45.

2.Alexander, D.B., and Zuberer, D.A. 1993. Responses by iron-efficient oat cultivation with siderophore- producing bacteria in a calcareous soil. Biol Fert soils. 16: 118-124.

3.Ardakani, S., Heidary, A., Tayebi, L., and Mohammadi, M. 2010. Promotion of cotton seedling growth characteristics by the development and use of new bioformulations. Inter. J. Bot. 6: 2. 95-100.

4.Ashrafuzzaman, M., Farid Akhtar, H.M., Razi Ismail, M., Anamul Hoque, M., Zahurul Islam, S., Shahidullah, M., and Sariah, M. 2009. Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. Afri. J. Biotechnol. 8: 7. 1247-1252.

www.SID.ir

Archive of SID

5.Bent, E., Tvzun, S., Chanway, C.P., and Enebak, S. 2001.Alterations in plant growth and root hormone levels of lodge pole pines inoculated with rhizobacteria. Can. J. Microbiol. 47: 793-800.
6.Boopathi, E., and Rao, K.S. 1999. A siderophore from *Pseudomonas putida* type A1: Structural and biological characterization. Biochimica et Biophysica Acta. 1435: 3.
7.Castric, P.A. 1975. Glycine metabolism by *Pseudomonas aeruginosa*: hydrogen cyanide biosynthesis. J. Bacteriol. 130: 826-831.
8.Castric, P.A. 1994. Influence of oxygen on the *Pseudomonas aeruginosa* hydrogen cyanide synthase. Curr. Microbiol. 29: 19-21.
9.Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M., and Perez, G. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proligerus*, a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Island. Plant and Soil. 226: 967-978.
10.Hofte, M., Seong, K.Y., Jurkevitch, E., and Verstraete, W. 1991. Pyoverdin production by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain $7SNK_2$: Ecological significance in soil. Plant and soil. 130: 249-257.
11.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. J. Microbiol. 41: 271-276.
12.Kremer, R.J., and Souissi, T. 2001. Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. Curr Microbiol. 43: 182-186.
13.Laville, J., Blumer, C., Von Schroetter, C., Gaia, V., Defago, G., Keel, C., and Haas, D. 1998. Characterization of the *hcnABC* gene cluster encoding hydrogen cyanide synthase and anaerobic regulation by ANR in the strictly aerobic biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0. J. Bacteriol. 180: 3187-3196.
14.Logeshwaran, P., Thangaraju, M., and Rajasundari, K. 2009. Hydroxamate siderophores of endophytic bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* isolated from sugarcane roots. Austr. J. Basic Appl. Sci. 3: 4. 3564-3567.
15.Loper, J.E., and Henkels, M.D. 1999. Utilization of heterologous siderophores enhances level of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. Appl. Environ. Mic. 65: 5357-5363.
16.Lynch, J.M. 1990. The rhizosphare. John Wiley and sons Ltd. Chichester. England. 300p.
17.Meyer, D.M. 2000. Pyoverdins:Pigments siderophores and potential taxanomic markers of fluorescent *pseudomonas* species. Arch. Microbiol. 174: 135-142.
18.Milagers, M.F., Machuca, A., and Napoleao, D. 1999. Detection of siderophore production from sevrel fungi and bacteria by chrome azurol S (CAS) agar plate assay. J. Microbiol. Met. 37: 1-6.
19.Milagres, A.M.F., Machuca, A., and Napoleao, D. 2003. Use of CAS-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by *Aspergillus*. Appl Microbiol. 36: 177-181.

www.SID.ir

Archive of SID

20.Nadine, J., Coste De, V., Gadkar, J., and Filion, M. 2010. *Verticillium dahliae* alters *Pseudomonas spp*. populations and HCN gene expression in the rhizosphere of strawberry. J. Microbiol. 56: 11. 906-915.
21.Patten, C., and Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indole acetic Acid in Development of the Host plant Root System. Appl. Environ. Microbiol. 68: 8. 3795-3801.
22.Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., Alam, S., and Latif, F. 2004. Organic acids productions solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under *in vitro* conditions. Pak. J. Biol. Sci. 7: 187-196.
23.Rasouli Sadaghiani, M.H., Kavazi, K., Rahimian, H., Malakouti, M.J., and Asadi, H. 2006. An Evaluation of the Potentials of Indigenous *Fluorescent Pseudomonads* of Wheat Rhizosphere for Producing Siderophore. J. Soil Water Sci. 20: 133-143.
24.Rasouli Sadaghiani, M.H., Kavazi, K., Rahimian, H., Malakouti, M.J., and Asadi, H. 2005. Population Density and Identification of *Fluorescent Pseudomonads* Associated with Rhizosphere of Wheat. J. Soil Water Sci. 19: 224-234. (In Persian)
25.Rodriguez, H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotech adv. 17: 319-339.
26.Salehrastin, N. 1998. Biological Fertilizer. J. Soil Water Sci. 12: 1-36. (In Persian)
27.Schippers, B., Bakker, A.W., Bakker, P.A.H.M., and Vanpeer, R. 1990. Beneficial and deleterious effects of HCN-production *pseudomonads* on rhizosphere interaction. Plant and Soil. 129: 75-83.
28.Soltani Tolarood, A., Salehrastin, N., Khavazi, K., Asadi, H., and Abaszadeh, P. 2008. Isolation and study Plant Growth Promoting properties of *Pseudomonas fluorescens* species in soils of Iran. J. Soil Water Sci. 21: 187-199. (In Persian)
29.Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 225: 571-586.

www.SID.ir

Archive of SID

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 3(2), 2013
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Isolation and identification of *Psedomonas Fluorecens* and evaluation of their plant growth promoting properties in soils Golestan province

***M. Maghami[1], M. Olamaee[2], M.H. Rasuli Sadaghiani[3] and E. Dordipour[4]**

[1]M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [3]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Urmia University, [4]Associate Prof., Dept of Soil Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 02/14/2012; Accepted: 12/05/2012

Abstract

The aim of this study was to investigate the promoting characteristics of plant growth, *Pseudomonas fluorescens* in the soils of Golestan province. Thirty *Pseudomonas fluorescens* species were isolated from 45 rhizospheric soils of soybean plants and their growth promoting potentials were studied as a function of sidrophore and hydrogen cyanide production rate, auxin and also mineral phosphate dissolution potential. The ability of production of isolates siderophore evaluated semiquantitively by CAS-Agar medium and the best isolate was $P_{1/15}$ with the average ratio of halo diameter to 3.10 colone and isolates $P_{11/1}$ with the zone diameter to colony 1.29 had the lowest production. The ability of HCN production of isolates evaluated by TSA medium riched by glycine and the best isolate was $P_{1/4}$ with the extreme HCN production. The ability of isolates in auxin production also performed under condition of 0 and 50 tryptophane concentrations and $P_{1/4}$ isolate with 92.01 µg/ml auxin production in the present of tryptophane had the highest rate of production of this hormone and isolates $P_{5/2}$ to produce 2.62 µg/ml had the lowest production. The isolates ability of dissolution of mineral phosphate by liquid PKV medium and $P_{2/7}$ isolate with the 44.28 mg/l had the most solubility and isolates $P_{11/1}$ with a solubility of 12.07 mg/l had the lowest solubility.

Keywords: Auxin, Phosphate solubilizing bacteria, Plant growth, Promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens*, Sidrophore, Hydrogen cyanide

* Corresponding Authors; Email: maghami.marzieh@yahoo.com

www.SID.ir