ارزیابی صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت جداسازی شده از ورمی‌کمپوست

تقی داداش‌پور دابانلو، علی اشرف سلطانی طولارود[1]، اکبر قویدل و پیمان عباس‌زاده دهجی

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی؛ **taghy23@gmail.com**

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی؛ **ali_soltani_t@yahoo.com**

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی؛ **ghavidel@uma.ac.ir**

استادیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان؛ **p.abbaszadeh@vru.ac.ir**

دریافت: **98/5/2** و پذیرش: **99/2/15**

چکیده

سودوموناس‌های فلورسنت یکی از مؤثرترین گروه ریزجانداران افزاینده‌ی رشد گیاه می‌باشند که به دلیل داشتن ویژگی‌های منحصر به فردی از قبیل قابلیت تحرک در ریزوسفر، سرعت رشد و تکثیر بالا و پتانسیل بالای کلونیزاسیون ریشه گیاهان مختلف، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده‌اند. در اکثر پژوهش‌های صورت گرفته در زمینه جداسازی این باکتری‌ها، خاک ریزوسفری گیاهان مختلف معمولاً به‌عنوان منبع جداسازی آنها استفاده می‌شود. این در حالی است که حضور باکتری‌های *سودوموناس* در کودهای آلی مختلف و جداسازی آنها از این منابع توسط پژوهشگران گزارش شده است. لذا این پژوهش با هدف جداسازی سودوموناس‌های فلورسنت از ورمی‌کمپوست، بررسی صفات محرک رشد گیاهی و بیوکنترلی این باکتری‌ها انجام شد. بدین‌منظور کود آلی ورمی‌کمپوست تازه از یک شرکت معتبر تولید کننده تهیه و پس از اندازه‌گیری برخی خواص شیمیایی و زیستی، باکتری‌های سودوموناس فلورسنت با استفاده از محیط کشت King B از آن جداسازی گردید. سپس توانایی جدایه‌های جداسازی شده در تولید فیتوهورمون اکسین، حل‌کنندگی تری‌کلسیم فسفات، تولید سیدروفور و ترشح متابولیت‌های محدود کننده‌ی رشد عوامل بیمارگر مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق، در مجموع 43 جدایه سودوموناس فلورسنت بر اساس پرتوافشانی زیر لامپ UV و خاصیت فلورسنس از ورمی‌کمپوست جداسازی و خالص‌سازی شد. نتایج حاصل از ارزیابی صفات محرک رشدی در باکتری‌های جداسازی شده نشان داد که کلیه این جدایه‌ها توانایی تولید اکسین و توانایی حل‌کنندگی فسفات‌های معدنی نامحلول را داشتند. متوسط میزان تولید اکسین 2/51 میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین (708 میلی‌گرم در لیتر) و کمترین (203 میلی‌گرم در لیتر) میزان حل‌کنندگی تری‌کلسیم فسفات به ترتیب مربوط به جدایه‌های P15 و P43 بود. جدایه P35 با نسبت قطر هاله به کلنی 2/04 (پس از 48 ساعت) و 2/12 (پس از 72 ساعت)، قوی‌ترین باکتری از نظر تولید سیدروفور بود. نتایج حاصل از اندازه‌گیری تولید سیانید هیدروژن نشان داد که 88/35 درصد از جدایه‌ها توانایی ترشح این متابولیت را داشتند. در این آزمایش همه باکتری‌های جداسازی شده قادر به تولید آنزیم پروتئاز نبودند. جدایه P17 با بیشترین نسبت قطر هاله به کلنی (2/7) قوی‌ترین باکتری از نظر تولید این آنزیم بود. تولید آنزیم سلولاز در هیچ‌کدام از جدایه‌های مورد مطالعه در این پژوهش مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: کود آلی، باکتری‌های محرک رشد، جداسازی، خاصیت فلورسنس، افزایش رشد گیاه، عوامل بیمارگر گیاهی

---

[1]. نویسنده مسئول آدرس: اردبیل، بلوار دانشگاه، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم و مهندسی خاک

مقدمه

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[1]، گروه ناهمگنی از باکتری‌های خاک هستند که در فیلوسفر، ریزوسفر، سطح و داخل ریشه حضور داشته و می‌توانند کمیت و کیفیت رشد گیاه را به صورت مستقیم و غیر مستقیم بهبود بخشند. جنس‌های مختلفی از باکتری‌های خاکزی توانایی افزایش رشد گیاه را دارند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به باکتری‌های جنس *سودوموناس*، *باسیلوس*، *آزوسپریلیوم*، *بوخلدریا*، *آرتروباکتر* و *اروینیا* اشاره نمود (کالیت‌کیویز و کپ‌زینسکا، 2008).

پژوهش‌های انجام شده در زمینه باکتری‌های محرک رشد گیاهی حاکی از آن است که سودوموناس‌های فلورسنت یکی از موثرترین گروه ریزجانداران افزایش دهنده‌ی رشد گیاه می‌باشند. این باکتری‌ها به دلیل رشد و تکثیر بالا، سازگاری سریع با شرایط محیطی مختلف، توانایی بالا در رقابت با سایر ریزجانداران در اشغال آشیان‌های اکولوژیک مناسب و کلونیزاسیون بالای ریشه‌ی گیاهان و تولید متابولیت‌های محرک رشد از پتانسیل بالایی برای بهبود رشد گیاه و افزایش محصول در واحد سطح برخوردار می‌باشند (ویاس و گولاتی، 2009). باکتری‌های جنس *سودوموناس* پس از کلونیزه کردن بذر، فیلوسفر، ریزوسفر و سطح ریشه، با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی از قبیل تولید هورمون‌های گیاهی (مانند ایندول استیک اسید، جیبرلیک اسید، آبسزیک اسید، زئاتین و سیتوکنین) انحلال ترکیبات کم‌محلول و نامحلول عناصر غذایی و در نتیجه افزایش زیست فراهمی عناصری چون فسفر، پتاسیم و روی، افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی، برهمکنش‌های مثبت با ریزجانداران مفید موجود در ریزوسفر به خصوص قارچ‌های میکوریزی و افزایش عملکرد و فعالیت آنها و حذف یا تعدیل اثرات بیمارگرهای گیاهی (با اشغال آشیان‌های اکولوژیک مناسب، ایجاد تغییرات در مرفولوژی سلول‌های گیاهی و در نتیجه افزایش مقاومت آنها در برابر عوامل پاتوژن، توقف رشد بیمارگرها از طریق تولید ترکیبات سمی از قبیل سیانید هیدروژن، انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتریوسین‌ها و تولید و ترشح انواع مختلف آنزیم‌های لیزکننده دیواره سلولی) باعث بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند (ساهاران، 2011؛ گلیک، 2005؛ کلاما و همکاران، 2010).

ورمی‌کمپوست یک اصلاح کننده‌ی آلی غنی از عناصر غذایی با جمعیت میکروبی فعال است که حاصل کنش متقابل میکروارگانیسم‌ها و کرم‌های خاکی در طول تجزیه بقایای آلی می‌باشد. این ماده‌ی شبیه به پیت، به دلیل ساختار دانه‌ای خیلی ریز، نسبت کربن به نیتروژن پایین، تخلخل بالا، ظرفیت بالای نگه‌داری آب، دارا بودن میکروارگانیسم و متابولیت‌های تولید شده توسط این موجودات و کرم‌های خاکی و همچنین زیست فراهم بودن قسمت اعظم عناصر غذایی موجود در آن، یک کود آلی با پتانسیل بالا برای افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی می‌باشد (دومین گوز و همکاران، 2010). افزایش رشد و کیفیت محصولات زراعی مختلف در نتیجه‌ی کاربرد ورمی‌کمپوست توسط محققین مختلف نشان شده است.

در اکثر کارهای تحقیقاتی در زمینه جداسازی باکتری‌های محرک رشد گیاهی، خاک ریزوسفری گیاهان مختلف معمولاً به‌عنوان منبع جداسازی این ریزجانداران مورد استفاده قرار می‌گیرد. این در حالی است که حضور باکتری‌های افزاینده رشد محصولات زراعی در کودهای آلی مختلف و جداسازی آنها از این منابع توسط پژوهشگران گزارش شده است (گوپی‌ناتان و پراکاش، 2014؛ سیواسان‌کاری و آناندهاراج، 2014؛ سیواسان‌کاری و دانیل، 2010؛ نورزاده‌روشن و همکاران، 1394). از جمله کودهای آلی غنی از میکروارگانیسم‌های مفید خاک، ورمی‌کمپوست می‌باشد. این کود از تنوع و جمعیت میکروبی بالایی برخوردار بوده و می‌تواند به عنوان یک منبع مناسب جهت جداسازی باکتری‌های محرک رشد گیاهی استفاده شود (گوپال و همکاران، 2009؛ المر، 2009؛ یاسیر و همکاران، 2009a؛ اساکیامال و همکاران، 2015). بنابراین اهداف این تحقیق عبارت بودند از:

1- جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت از کود آلی ورمی‌کمپوست

2- ارزیابی برخی خصوصیات محرک رشدی آنها (تولید ایندول استیک اسید (IAA) و بررسی قدرت حل‌کنندگی ترکیبات معدنی نامحلول فسفر در باکتری‌های سودوموناس فلورسنت جداسازی شده، اندازه‌گیری میزان تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن، آنزیم پروتئاز و سلولاز).

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این پژوهش کود آلی ورمی‌کمپوست تازه از یک شرکت معتبر تولید کننده تهیه و به‌منظور جلوگیری یا به حداقل رساندن تغییرات در

[1]. Plant Groth Promoting Rhizobacteria; PGPR

فعالیت‌های زیستی آن، در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

اندازه‌گیری برخی خواص شیمیایی و زیستی کود ورمی-کمپوست

از خصوصیات شیمیایی متداول pH و EC در عصاره (1 به 10) با استفاده از دستگاه pH متر و EC متر (جرج و همکاران، 2006)، ماده آلی به روش والکلی و بلاک (1934)، نیتروژن کل با دستگاه کجلدال (برمنر و مالوانسی، 1982)، فسفر محلول به روش رنگ‌سنجی و پتاسیم کل با دستگاه فلیم‌فتومتر (بنسال و کاپور، 2000) اندازه‌گیری شد. از خواص زیستی تنفس پایه به روش اندرسون (1982)، تنفس تحریک شده به روش آلیف و نانیپیری (1995)، جمعیت باکتری و قارچ به روش (والوم، 1982؛ کوسی، 1983) و جمعیت میکروبی به روش محتمل‌ترین تعداد ممکن (علی اصغرزاده، 1385) تعیین گردید.

جداسازی و خالص سازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت

بدین‌منظور، 10 گرم از از کود ورمی‌کمپوست به ارلن‌های حاوی 90 میلی‌لیتر محلول بافر استریل (کلرید سدیم 0/9 درصد) منتقل و پس از تکان دادن به مدت 30 دقیقه روی دستگاه شیکر با سرعت 150 دور در دقیقه شیک، سری رقت تهیه شد. پس از آن 0/1 میلی‌لیتر از هر سری رقت بر روی محیط کشت King B پخش و پلیت‌ها به مدت 48 تا 72 ساعت در انکوباتور با دمای 28 درجه سانتی‌گراد خوابانیده شدند. در مرحله بعد پلیت‌ها با استفاده از لامپ UV از نظر وجود کلنی‌هایی با خاصیت فلورسنس بررسی و باکتری‌های دارای این خاصیت به-عنوان جدایه‌های سودوموناس فلورسنت جداسازی و خالص‌سازی شدند. باکتری‌های خالص‌سازی شده مجددا بر اساس پرتوافشانی زیر لامپ UV بررسی و جدایه‌های فاقد خاصیت فلورسانس حذف گردیدند (اسکاد و همکاران، 2001).

ارزیابی صفات محرک رشدی گیاهی باکتری‌های جداسازی شده

از صفات محرک رشد گیاهی تولید اکسین (مواد شبه IAA) به روش پتن و گلیک (2002)، توان حل فسفات-های معدنی نامحلول در محیط مایع به روش اسپربر (1958)، توان تولید سیدروفور به روش آلکساندر و زوبرر (1991)، توان تولید پروتئاز به روش مورفر و همکاران (1995) و توان تولید سلولاز به روش مجیدی و همکاران (2011) اندازه‌گیری گردید. تولید سیانید هیدروژن توسط جدایه‌های جداسازی شده به روش دونیت- کورئا و همکاران (2004) ارزیابی گردید. بدین‌منظور ابتدا جدایه-ها در پلیت‌های حاوی محیط NB غنی شده با گلایسین (4/4 گرم در لیتر) کشت داده شدند. سپس یک کاغذ صافی آغشته به محلول معرف شامل کربنات سدیم 2 درصد و اسید پیکریک 0/5 درصد در قسمت داخلی درب پلیت قرار داده شد. پلیت‌های درز بندی شده با استفاده از پارافیلم، به مدت 5 روز در انکوباتور با دمای 28 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و براساس تغییر رنگ کاغذ صافی از رنگ زرد اولیه (عدم تولید) به کرم (کم)، نارنجی (متوسط)، قهوه‌ای تیره (زیاد) و آجری (خیلی زیاد) که به‌ترتیب از 0 تا 4 درجه‌بندی شدند میزان تولید سیانید هیدروژن تعیین گردید.

تجزیه‌های آماری

آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. تجزیه‌های آماری داده‌ها توسط نرم افزار SAS و رسم نمودارها به وسیله نرم افزار Excel انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های شیمیایی و کود ورمی‌کمپوست مورد استفاده

برخی خواص زیستی و شیمیایی کود ورمی کمپوست استفاده شده در این تحقیق در جداول 1 و 2 نشان داده شده است. کود مورد استفاده غیرشور و پ‌هاش آن نسبتاً قلیایی و از نظر عناصر غذایی پرمصرف غنی بود. مقدار جمعیت باکتری‌ها، قارچ‌ها و کل جامعه میکروبی و همچنین میزان شاخص زیستی تنفس میکروبی کود بالا بود. این نتایج حاکی از اثر مثبت کرم‌های خاکی کمپوستر بر فعالیت جامعه میکروبی ورمی‌کمپوست است. در این تحقیق میزان جمعیت قارچ‌های موجود در کود کمتر از باکتری‌ها اندازه‌گیری شد که در این خصوص نتایج مشابهی توسط دیگر محققین گزارش شده است (اساکیامال و همکاران، 2015؛ آنانتاکریش‌ناسامی و گوناسکاران، 2015).

جدول 1- برخی خصوصیات شیمیایی ورمی‌کمپوست مورد استفاده

EC	pH	K	P	N	OM	OC
($dS\ m^{-1}$)		($mg\ kg^{-1}$)			%	
1/75	7/8	1/17	4/3	1/86	17/92	10/4

OC: کربن آلی؛ OM: ماد آلی N: نیتروژن؛ P: فسفر؛ K: پتاسیم؛ EC: هدایت الکتریکی

جداسازی و ارزیابی صفات محرک رشد گیاهی باکتری-های سودوموناس فلورسنت

جداسازی

در مجموع 43 جدایه سودوموناس فلورسنت بر اساس پرتوافشانی زیر لامپ UV و خاصیت فلورسنس از ورمی‌کمپوست جداسازی و خالص‌سازی گردید. این جدایه‌های برای بررسی صفات محرک رشد گیاهی آنها و استفاده‌های بعدی بر روی محیط کشت شیب‌دار در دمای یک الی چهار درجه‌سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

ارزیابی صفات محرک رشد گیاهی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت جداسازی شده

به‌منظور بررسی توانایی افزایش رشد گیاهی باکتری‌های جداسازی شده، قدرت انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول، تولید هورمون اکسین، سیدروفور، سیانید هیدروژن، آنزیم پروتئاز و سلولاز این جدایه‌ها مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج حاصل از ارزیابی توان تولید ایندول استیک اسید (IAA[1]) نشان داد که همه جدایه‌های سودوموناس فلورسنت جداسازی شده توانایی تولید این فیتوهورمون را در مقادیر متفاوت داشتند. متوسط میزان تولید و دامنه آن توسط باکتری‌های مورد مطالعه به‌ترتیب 2/51 و 1/35-11 میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین مقدار تولید این فیتوهورمون گیاهی در جدایه P6 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با بیشتر جدایه‌ها داشت (جداول 3 و 5). یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های محرک رشد گیاه تولیدی توسط باکتری‌های PGPR، ایندول استیک اسید می‌باشد. این فیتوهورمون در غلظت کم می‌تواند فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل تقسیم و توسعه یافتگی سلول، تمایز بافت‌ها را در گیاه تحت تأثیر قرار داده و به-ویژه با افزایش چشم‌گیر زیتوده ریشه موجب افزایش سطح جذب آب و عناصر غذایی و بهبود رشد گیاه گردد (راجا و همکاران، 2008؛ پتن و گلیک، 2002؛ اسپائین و همکاران، 2007). مطالعه پژوهش‌های انجام شده در خصوص باکتری‌های محرک رشد گیاهی نشان می‌دهد که باکتری‌های گروه سودوموناس فلورسنت از مهم‌ترین و فراوان‌ترین ریزجانداران تولید کننده‌ی هورمون اکسین می‌باشند (خاکی‌پور و همکاران، 2008). در این پژوهش صد در صد جدایه‌های حاصل از ورمی‌کمپوست توانایی تولید این هورمون را داشتند. تولید مقادیر متفاوت فیتوهورمون اکسین توسط این گروه از باکتری‌ها توسط محققین مختلف گزارش شده است (سلطانی طولارود و همکاران، 1386؛ آحئمد و خان، 2012؛ احمد و همکاران، 2005؛ عباس‌زاده و همکاران، 2010). در یک پژوهش سیواسانکاری و آناندهاراج (2014) باکتری‌های *Bacillus* spp.، *Alcaligenes* spp.، *Erwinia* spp.، *Serratia* spp. و *Pseudomonas* spp. را از ورمی‌کمپوست جداسازی نمودندکه این باکتری‌ها توانایی تولید به ترتیب 24/2، 14/7، 11/3، 16/8 و 19/6 میکروگرم در میلی‌لیتر اکسین را در حضور 5 میکروگرم در میلی‌لیتر ال-تریپتوفان داشتند. در تحقیقی دیگر سیواسانکاری و همکاران (2014) گزارش کردند که در میان باکتری‌های جداسازی شده از ورمی‌کمپوست، سویه دیگری از باکتری جنس *سودوموناس*، 18/67 میکروگرم در میلی‌لیتر اکسین را در حضور یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر ال-تریپتوفان تولید نمود. در آزمایشی گوپی‌ناتان و پراکاش (2014) باکتری‌های محرک رشد گیاهی متفاوتی منجمله *سودوموناس* دارای توانایی تولید اکسین را از کود ورمی‌کمپوست جداسازی نمودند. تولید اکسین در دامنه 6/47-0/39 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌وسیله باکتری‌های جداسازی شده از ورمی‌کمپوست توسط آراکتم و همکاران (2016) گزارش گردید.

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارزیابی انحلال تری کلسیم فسفات توسط جدایه‌های سودوموناس فلورسنت مورد مطالعه و همچنین تغییرات pH محیط کشت، در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول 3). همه جدایه‌ها توانایی انحلال ترکیب نامحلول مزبور را داشتند و جدایه‌های P15 و P43 به ترتیب با میزان انحلال 708 میلی‌گرم در لیتر و 203 میلی‌گرم در لیتر قوی‌ترین و ضعیف‌ترین جدایه در این خصوص بودند. مقایسه pH مربوط به محیط کشت حاوی جدایه‌های مورد مطالعه با تیمار شاهد بدون ریزجاندار نشان داد که رشد و نمو تمامی جدایه‌ها موجب کاهش معنی‌دار این پارامتر شدند.

[1] Indole-3-acetic acid

بیشترین و کمترین مقدار این کاهش در مقایسه با شاهد به‌ترتیب 2/84 و 2/18 واحد بود (جدول 5). یکی از خصوصیات محرک رشد گیاهی باکتری‌های جنس *سودوموناس* افزایش انحلال منابع نامحلول عناصر غذایی منجمله ترکیبات معدنی نامحلول فسفر می‌باشد که با توجه به واکنش‌پذیری بالای آنیون‌های فسفات موجود در فاز محلول خاک با کاتیون‌های Mg^{2+} ,Ca^{2+} ,Fe^{3+} و Al^{3+} و تشکیل رسوب، این توانایی باکتری‌های محرک رشد می‌تواند به افزایش زیست فراهمی و تغذیه فسفر گیاه کمک کند. پژوهشگران مختلف توانایی سودوموناس‌های فلورسنت جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان مختلف و ورمی‌کمپوست را در انحلال ترکیبات معدنی نامحلول فسفر گزارش نموده‌اند (شارما و همکاران، 2017؛ آذرمی و همکاران، 1393؛ سیواسانکاری و آناندهاراج 2014؛ نوری و سعود، 2012). ریزجانداران محرک رشد گیاهی با استفاده از مکانسم‌های مختلفی باعث افزیش حلالیت ترکیبات نامحلول فسفر می‌شوند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به اسیدی نمودن سلول و محیط اطرافشان و کاهش pH از طریق تولید اسیدهای آلی و معدنی کردن فسفر آلی توسط اسید فسفاتاز اشاره نمود. گروه کربوکسیل و هیدروکسیل اسیدهای آلی (گلوکونیک اسید و کتوگلوکونیک اسید) کاتیون‌های متصل به فسفات (کلسیم، منیزیم و آهن) را کلات نموده و با کاهش pH در خاک‌های بازی باعث افزایش انحلال یون فسفات می‌شوند (وایت‌لو، 2000؛ شارما و همکاران، 2017).

یافته‌های این مطالعه نشان داد که 41/86 درصد از باکتری‌های سودوموناس فلورسنت جداسازی شده از ورمی‌کمپوست توانایی رشد و تولید سیدروفور در محیط CAS [1] را نداشتند. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به نسبت قطر هاله به کلنی جدایه‌ها در رابطه با تولید سیدروفور در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول 4). نسبت قطر هاله به کلنی در 48 ساعت از 1/14 تا 2/04 و در 72 ساعت از 1/02 تا 2/12 متغیر بود (جدول 6). جدایه P35 با نسبت قطر هاله به کلنی 2/04 (پس از 48 ساعت) و 2/12 (پس از 72 ساعت)، قوی‌ترین باکتری از نظر تولید سیدروفور بود که تفاوت معنی‌داری با دیگر جدایه‌ها از نظر تولید این متابولیت داشت. سیدروفورها ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم و لیگاندهای شیمیایی با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای پیوند شدن با آهن III می‌باشند که تمایل زیاد به جذب آهن دارند. تولید سیدروفور سازوکاری است که توسط ریزجانداران مختلف خاک به منظور مقابله با تنش کمبود فرم قابل جذب آهن استفاده می‌شود. متابولیت ترشحی بخش اعظم این عنصر را به فرم کلات محلول در آورده و برای سلول‌هایی که دارای پذیرنده‌ی غشایی اختصاصی باشند، قابل‌دسترس می‌نماید. ریزجانداران محرک رشد با این سازوکار آهن را از دسترس عوامل بیمارگر گیاهی خارج نموده و با سرکوب این عوامل باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند (کتی‌یار و همکاران، 2018؛ یو و همکاران، 2011). همچنین گزارشات علمی حاکی از آن است که کمپلکس سیدروفور-آهن تولیدی توسط ریزجانداران برای برخی از گیاهان نیز قابل استفاده می‌باشد که بدین طریق ریزجاندار می‌تواند به تأمین بخشی از آهن موردنیاز گیاه نیز کمک نماید (کومارا و همکاران، 2018؛ گودا و همکاران، 2018). یکی از باکتری‌های محرک رشد گیاهی توانمند در خصوص تولید سیدروفور، باکتری‌های گروه سودوموناس فلورسنت می‌باشد. سویه‌های مختلف از این باکتری‌ها قادرند مقادیر متفاوتی از این متابولیت را تولید کرده و به‌وسیله آن هم رشد عوامل بیمارگر گیاهی را محدود یا سرکوب کنند و هم تا حدودی و در مورد برخی از گیاهان به تغذیه آهن گیاه کمک نمایند (آذرمی و همکاران، 1393؛ سیواسانکاری و آناندهاراج 2014؛ گلیک، 1995؛ رسولی صدقیانی و همکاران، 1387).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری تولید سیانید هیدروژن توسط جدایه‌ها در این پژوهش نشان داد که 88/35 درصد از جدایه‌ها توانایی ترشح مقادیری متفاوت از این متابولیت را داشتند. 32/55 درصد از جدایه‌ها توانایی تولید با درجه خیلی زیاد (4)، 23/25 درصد توانایی تولید با درجه زیاد (3)، 11/62 درصد توانایی تولید با درجه متوسط (2)، 20/93 درصد توانایی تولید با درجه کم (1) و 11/62 درصد عدم توانایی تولید (0) سیانید هیدروژن را داشتند (جدول 6). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مورد استفاده‌ی باکتری‌های محرک رشد در جلوگیری از رشد و نمو عوامل بیمارگر گیاهی تولید سیانید هیدروژن می‌باشد. این متابولیت ثانویه برای قارچ-های بیمارگر سمی بوده و مانع از فعالیت آنها در محیط ریزوسفر می‌شود. سیانید هیدروژن توسط باکتری‌های به-طور مستقیم از پرولین، گلایسین و یا گلیکوزیدهای سیانوژنیک ساخته می‌شود. مطالعه پژوهش‌های انجام شده حاکی از آن است که تولید این متابولیت توسط باکتری‌ها علاوه بر بیوکنترلی بیمارگرها در محیط ریشه، به تشکیل و گسترش ریشه‌های مویین گیاهی کمک شایانی کرده و از این طریق نیز می‌تواند موجب افزایش رشد گیاه گردد (اسچیپرز و همکاران، 1987). باکتری‌های گروه

[1] Chrome Azurol S

سودوموناس فلورسنت از جمله باکتری‌هایی هستند که به‌طور گسترده به‌منظور کنترل بیولوژیک پاتوژن‌ها در ریزوسفر استفاده می‌گردند. اکثر جدایه‌های بررسی شده این باکتری‌ها توسط محققین مختلف قابلیت بالایی در تولید سیانید هیدروژن نشان داده‌اند (ناگاراجکومار و همکاران، 2004؛ آذرمی و همکاران، 1393؛ کریمر و سوئیسی، 2001).

بررسی نتایج حاصل از توانایی تولید آنزیم پروتئاز در باکتری‌های جداسازی شده نشان داد که همه باکتری‌ها قادر به رشد در محیط کشت اسکیم میلک آگار بودند، اما همه آنها توانایی تولید این آنزیم را نداشتند. تولید آنزیم پروتئاز به شکل هاله شفاف بی رنگ با حاشیه‌ای کاملا واضح در اطراف کلنی جدایه‌های مورد مطالعه در محیط کشت مشاهده شد. در این تحقیق 55/81 درصد از جدایه‌ها قادر به تولید این آنزیم بودند که بیشترین نسبت قطر هاله به کلنی (2/7) در جدایه P17 و کمترین مقدار آن (1/41) در جدایه P41 مشاهده شد (جداول 5 و 6). از جمله سازوکارهایی که توسط باکتری‌های جنس *سودوموناس* برای نابودی عوامل بیمارگراستفاده می‌شود تولید آنزیم پروتئاز است. این آنزیم تولیدی موجب تجزیه و تخریب دیواره سلولی یاخته‌های قارچ و مخمر می‌شود (نابتی و همکاران ، 2014). محققین مختلف تولید این آنزیم توسط باکتری‌های محرک رشد گیاهی را گزارش نموده‌اند. در یک بررسی دجوریک و همکاران (2011) تعدادی باکتری سودوموناس فلورسنت را از ریزوسفر گیاه ذرت جداسازی و نشان دادند که باکتری‌های جداسازی شده توان تولید آنزیم پروتئاز را دارند. گلزاری و همکاران(1390) نیز گزارش نمودند که تمامی 11 سویه باکتری سودوموناس فلورسنت مورد مطالعه آن‌ها توانایی تولید این آنزیم را داشتند. در تحقیقی دیگر سلطانی طولارود و همکاران (1398) نشان دادند که فقط پنج جدایه از 10 جدایه دارای صفات محرک رشد گیاهی و مقاوم به کادمیوم و سرب توانایی تولید آنزیم پروتئاز را داشتند. شایان ذکر است که آنزیم پروتئاز تولیدی توسط باکتری‌های ریزوسفری در تجزیه بقایای آلی نیتروژن‌دار در خاک نیز از اهمیت بسیار زیادی برخوردار بوده و نقش مهمی در حفظ حاصلخیزی این اکوسیستم از طریق مشارکت در چرخه نیتروژن میان گیاهان و اجزاء خاک دارد.

تولید آنزیم سلولاز در هیچ‌کدام از جدایه‌های مورد مطالعه در این پژوهش مشاهده نگردید، این در حالی بود که این باکتری‌ها در محیط‌کشت مندل- ریس دارای کربوکسیل متیل سلولز به خوبی رشد کرده و کلنی‌های نسبتاً بزرگی را در محیط‌کشت ایجاد نمودند. عدم تولید این آنزیم توسط برخی از باکتری‌های محرک رشد توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (نورزاده‌روشن و همکاران، 1394؛ سلطانی طولارود و همکاران، 1398).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این پژوهش فراوانی ریزجانداران فعال موجود در ورمی‌کمپوست مورد مطالعه بالا بود، بنابراین می‌توان بخشی از اثرات مفید این کود آلی در کشاورزی را به جامعه میکروبی آن نسبت داد. نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری‌های سودوموناس فلورسنت قابل جداسازی از کود ورمی‌کمپوست می‌باشند. بررسی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات محرک رشد گیاهی و بیوکنترلی این باکتری‌ها نشان داد که تعدادی از جدایه‌ها توانایی قابل ملاحظه‌ای در تولید ایندول استیک اسید، حل‌کنندگی تری کلسیم فسفات، تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن و آنزیم پروتئاز دارند که پیشنهاد می‌گردد میزان کنترل عوامل بیمارگر توسط آنها در شرایط آزمایشگاهی و همچنین تأثیر آنها بر رشد و نمو گیاهان زراعی مختلف در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای بررسی گردد که در صورت حصول نتایج مطلوب از این مطالعات، جدایه‌های قوی می‌توانند در تهیه کود و آفت‌کش زیستی مورد استفاده قرار گیرند.

جدول 2- برخی خصوصیات زیستی ورمی‌کمپوست مورد استفاده

تنفس پایه	تنفس برانگیخته	جمعیت باکتری	جمعیت قارچ	جمعیت کل میکروبی
$(mg\ CO_2.g^{-1}day^{-1})$		تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی[1] در گرم کود		عدد در گرم خشک کود
1/18	4/32	$4/4\times10^7$	$6/2\times10^5$	$2/08\times10^7$

[1] Colony Formation Units; CFU_S

جدول 3- تجزیه واریانس توانایی جدایه‌های مختلف باکتری در حل‌کنندگی تری کلسیم فسفات، تغییرات pH محیط‌کشت و تولید اکسین

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		حل‌کنندگی فسفر	pH	اکسین
جدایه	42	0/063**	0/499**	7/00**
خطا	86	0/02	0/013	2/22
ضریب تغییرات		0/65	0/96	12/6

**: معنی‌دار در سطح یک درصد

جدول 4- تجزیه واریانس توانایی جدایه‌های مختلف باکتری در تولید آنزیم پروتئاز و سیدروفور

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		پروتئاز	سیدروفور	
			دو روز	سه روز
جدایه	42	0/208**	0/034**	0/036**
خطا	86	0/048	0/01	0/01
ضریب تغییرات		1/78	0/54	0/91

**: معنی‌دار در سطح یک درصد

جدول 5- مقایسه میانگین توانایی جدایه‌های مختلف باکتری در حل‌کنندگی تری کلسیم فسفات، تغییرات pH محیط‌کشت و تولید اکسین

جدایه	اکسین	حل‌کنندگی فسفات	pH
		mg L^{-1}	
P1	2/18dh	291ip	4/29cg
P2	2/38bg	216qs	4/10fm
P3	1/35i	288kp	4/50bc
P4	2/64bf	302jo	4/45b
P5	3/51ad	279kp	3/99km
P6	11/0a	442df	4/02in
P7	5/28ac	336hk	4/23dj
P8	6/04ab	463de	3/95in
P9	2/09dh	395eg	4/08gm
P10	2/45bg	390fh	4/13fi
P11	2/26df	504cd	4/22dk
P12	2/41bh	386fh	4/14dl
P13	2/16bh	422ef	4/26di
P14	2/11ch	498cd	4/36bd
P15	2/12ch	708a	4/24di
P16	1/66ei	697a	4/09dk
P17	1/72di	693a	3/86cg
P18	1/89dh	611ab	4/52be
P19	1/85ei	564bc	4/12dk
P20	2/21ch	323ik	4/07dj
P21	2/65bf	510cd	3/98dh

P22	1/88dh	310im	3/87di
P23	3/47ad	317il	4/02fm
P24	1/53fi	296ip	4/00im
P25	1/83dh	262lp	4/07cf
P26	2/37bh	245qs	4/17dh
P27	1/76di	216rs	4/22dh
P28	1/80di	216rs	4/07cf
P29	2/79ac	325ik	4/11mn
P30	2/04dh	287lp	4/16cf
P31	2/06di	277lp	4/17dh
P32	2/08dh	332gi	4/30dk
P33	1/94dh	390fh	4/16dk
P34	2/92ae	309jo	4/02cg
P35	1/46gi	295jo	4/24el
P36	2/96ae	256np	4/20jn
P37	1/91dh	252pr	4/25hm

جدول 6- مقایسه میانگین توانایی جدایه‌ها در تولید HCN، آنزیم پروتئاز، سلولاز و تولید سیدروفور در روزهای مختلف

جدایه	HCN	پروتئاز	سیدروفور		سلولاز
			دو روز	سه روز	
	*	قطر هاله به کلونی			
P1	4	2/06bd	1/26dg	1/20be	-
P2	2	2/43ab	1/30df	1/24be	-
P3	1	1/81de	1/14g	1/18be	-
P4	0	2/07bd	1/36ce	1/40bc	-
P5	4	-	-	-	-
P6	1	-	-	-	-
P7	0	-	1/44c	1/54b	-
P8	4	-	-	-	-
P9	4	-	-	-	-
P10	3	-	-	-	-
P11	3	-	1/34ce	1/28be	-
P12	1	-	-	-	-
P13	3	-	1/38ce	1/24be	-
P14	3	2/16bd	1/16fg	1/28be	-
P15	4	-	1/16fg	1/12ce	-
P16	4	2/10bd	-	-	-
P17	4	2/70a	1/16fg	1/34be	-
P18	1	2/23bd	1/18fg	1/12ce	-
P19	1	2/13bd	1/26eg	1/30be	-
P20	0	-	1/36ce	1/26be	-
P21	3	-	1/36ce	1/02e	-
P22	2	2/41ab	1/20gh	1/14ce	-
P23	1	-	1/16fg	1/08de	-
P24	3	-	1/60b	1/50bc	-
P25	2	2/10bd	-	-	-
P26	2	2/38ab	-	-	-
P27	4	2/03be	1/34ce	1/32be	-

P28	2	2/16bd	-	-	-
P29	1	-	-	-	-
P30	0	2/00be	-	-	-
P31	4	2/07bd	-	-	-
P32	1	2/23bd	-	-	-
P33	0	1/94ce	1/18fg	1/42bd	-
P34	4	2/28bc	1/22fg	1/18be	-
P35	4	-	2/04a	2/12a	-
P36	3	-	-	-	-
P37	3	-	-	-	-
P38	1	1/92ce	-	-	-
P39	3	2/00be	1/40cd	1/20be	-
P40	3	-	1/18fg	1/04de	-
P41	4	1/41f	1/20fg	1/04de	-
P42	4	2/03be	-	-	-
P43	4	1/63f	1/40cd	1/34be	-

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد؛ -: عدم تولید متابولیت مورد نظر

*: اعداد 0، 1، 2، 3 و 4 به‌ترتیب بیانگر عدم تولید، تولید کم، متوسط، زیاد و خیلی زیاد سیانید هیدروژن می‌باشد

فهرست منابع:

1. آذرمی، ف.، مظفری، و.، عباسزاده دهجی، پ.، حمیدپور، م. 1393. جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنس از ریزوسفر درختان پسته و تعیین برخی خصوصیات محرک رشدی آنها. نشریه زیست شناسی خاک، جلد 2: 173-186.
2. رسولی صدقیانی، م.ح.، ملکوتی، م.ج.، خاوازی، ک.، قنادی مراغه، م. 1387 . نقش سیدروفور سودوموناس‌های فلورسنت در جذب روی توسط گندم با استفاده از ایزوتوپ Zn^{65}. مجله علوم و فنون هسته‌ای، جلد 43 :20-30.
3. سلطانی طولارود، ع. ا.، صالح راستین، ن.، خاوازی، ک.، اسدی رحمانی، ه.، عباسزاده دهجی، پ. 1386. جداسازی و بررسی صفات محرک رشد گیاهی برخی از سودوموناس‌های فلورسنت بومی خاکهای ایران. مجله علوم خاک و آب، جلد 21: 277-289.
4. سلطانی طولارود، ع. ا.، عیوضی نی، م.، قویدل، ا.، عباس زاده دهجی، پ.، گلی کلانپا، ا. 1398. جداسازی، غربالگری و بررسی صفات محرک رشد گیاهی ریزجاندارن مقاوم به کادمیوم و سرب. تحقیقات کاربردی خاک، در حال انتشار.
5. علی اصغرزاده، ن. 1385. روش‌های آزمایشگاهی در بیولوژی خاک. انتشارات دانشگاه تبریز.
6. گلزاری، ه.، پنجه‌که، ن.، احمدزاده، م.، سالاری، م.، صداقتی خروی، ا. 1390. مطالعه نقش موثر برخی متابولیت‌های باکتری سودوموناس فلورسنت در کنترل نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* روی گوجه‌فرنگی. مجله دانش گیاه-پزشکی ایران، 42 (1): 113-124.
7. نورزاده‌روشن، ا.، قربانی نصرآبادی، ر.، بارانی مطلق، م.، یامچی، ا. 1394. بررسی برخی ویژگی‌های افزاینده رشدی جدایه‌های باکتریایی به‌دست آمده از کودهای جانوری و شناسایی جدایه‌های برگزیده. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، جلد 5 (3): 129-144.
8. Abbas-Zadeh, P., Saleh-Rastin, N., Asadi-Rahmani, H., Khavazi, K., Soltani, A., Shoary-Nejati, R. and Miransari. M. 2010. Plant growth-promoting activities of fluorescent pseudomonads, isolated from the Iranian soils. Acta Physiologiae Plantrum 32: 281 -288.
9. Ahemad, M., and Khan, M.S. 2012. Effect of fungicides on plant growth promoting

activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica campestris*) rhizosphere. Chemosphere. 86: 945-950.
10. Ahmad, F., Ahmad, L. and Saghir, M. 2005. Indol acetic acid production by the indogenous isolates of *Azotobacter* and *Pseudomonas fluorescens* in the presence and absence of Tryptophan. Turkish Journal of Biology 29: 29-34.
11. Alef, K. and Nannipieri, P. 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London, 453p.
12. Alexander, D.B. and Zuberer, D. A. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biology and Fertility of Soils 12: 39-45.
13. Ananthakrishnasamy, S. and Gunasekaran, G. 2015. Growth Assessment of Microorganisms in Vermicomposting of Municipal Wastes Materials in Different Days. International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR) 1: 1-9.
14. Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. In: Page A.L. and Mille R.H. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Micro Biological Properties, American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 831-871.
15. Arraktham, S., Tancho, A., Niamsup, P. and Rattanawaree, P. 2016. The potential of bacteria isolated from earthworm intestines, vermicompost and liquid vermicompost to produce indole-3-acetic acid (IAA). Journal of Agricultural Technology 12: 229-239.
16. Bansal, S. and Kapoor, K.K. 2000. Vermicomposting of crop residues and cattle dung with Eisenia foetida. Biores. Technology 73: 95-98.
17. Bremner, J.M. and Mulvaney, C.S. 1982. Nitrogen—total. methods of soil analysis. Part 2. chemical and microbiological properties, (methodsofsoilan2), 595-624.
18. Djuric, S., Pavic, A., Jarak, M., Pavlovic, S., Starovic, M., Pivic, R. and Josic, D. 2011. Selection of indigenous fluorescent pseudomonad isolates from maize rhizospheric soil in vojvodina as possible PGPR. Romanian Biotechnological Letters 16: 6580-6590.
19. Domínguez, J., Aira, M. and Gómez Wastes to Resources (pp. 93-114). Springer, Berlin Heidelberg.Brandón, M. 2010. Vermicomposting earthworms enhance the work of microbes. In: H. Insam, I. Franke-Whittle and M. Goberna, (Eds.), Microbes at Work: From
20. Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M. and Perez-Galdona, R. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage treeshrub legume endemic to the Canary Island. Plant Soil 266: 261-272.
21. Elmer, W.H. 2009. Influence of earthworm activity on soil microbes and soilborne diseases of vegetables. Plant Disease 93: 175–179 .
22. Esakkiammal, B., Esaivani, C., Vasanthi, K., LakshmiBai, L. and Shanthi Preya, N. 2015. Microbial diversity of Vermicompost and Veriwash prepared from *Eudrilus euginae* International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 4(9): 873-883.
23. Garg, V.K., Yadav, Y.K., Sheoran, A., Chand, S. and Kaushik, P. 2006. Live stocks excreta management through vermicomposting using an epigeic earthworm *Eisenia foetida*. Environmentalist 26: 269-276.
24. Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology 41: 109–117.
25. Glick, B.R. 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiology Letters 251: 1-7.
26. Gopal, M., Gupta, A., Sunil, E. and Thomas, V.G. 2009. Amplification of plant beneficial microbial communities during conversion of coconut leaf substrate to vermicompost by Eudrilus spp. Current Microbiology 59: 15–20.

27. Gopinathan, R. and Prakash, M. 2014. Isolation of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) from Vermicompost and effect on growth of Green Gram (*Vigna radiata* L.). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 3(7): 1072-1081.
28. Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S. and Patra, P.J., 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological Research 206: 131–140.
29. Kalitkiewicz, A. and Kepczynska, E. 2008. The use of rhizobacteria to stimulate plants growth. Biotechnology 81: 102–114.
30. Katiyar, D.; Hemantaranjan, A. and Dwivedi, P. 2018. Plant growth promoting rhizobacteria and their roles as fungal biocontrol agents: An overview. Journal of Plant Science and Research 34: 127–136.
31. Khakipour, N., Khavazi, K., Mojallali, H., Pazira, E. and Asadirahmani, H. 2008. Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 4: 687-692.
32. Klama, J., Wolna-Maruwka, A. and Niewiadomska, A. 2010. Influence of endophytic bacteria coinoculation on seedlings of common wheat development. NaukaPrzyr Technology 6: 1–7.
33. Kremer, R., and Souissi, T. 2001. Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth. Microbiol. 43: 182-186.
34. Kucey, R.M.N. 1983. Phosphate solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. Canadian Journal of Soil Science 63: 671-678.
35. Kumara, P., Thakura, S., Dhingrac, G.K., Singhd, A., Kumar Pale, M., Harshvardhanf, K., Dubeyg, R.C. and Maheshwarig, D.K. 2018. Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 15: 264-269.
36. Majidi, S., Roayaei, M., and Ghezelbash, G. 2011. Carboxymethyl cellulase and filter paperase activity of new strains isolated from Persian Gulf. Microbiol. J. 1: 8-16.
37. Maurhofer, M., Keel, C., Haas, D., and Defago, G. 1995. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* Strain CHA0 with enhanced antibiotic production. Plant Pathol. 44: 40-50.
38. Nabti, E.A., Bensidhoum, L.A., Tabli, N.A., Dahel, D.A., Weiss, B., Rothballer, M.R., Schmid, M.B. and Hartmann, A. 2014. Growth stimulation of barley and biocontrol effecton plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium* sp. strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern algeria. European Journal of Soil Biology 61: 20-26.
39. Nagarajkumar, M., Bhaskaran, R. and Velazhahan, R. 2004. Involvement of secondary metaboloties and extracellular lytic enzymes produced *by Pseudomonas flu*orescens in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice, sheath blight pathogen. Microbiology Research 159: 73-81.
40. Noori, M. S. Sh. and Saud, H. M. 2012. Potential Plant Growth-Promoting Activity of *Pseudomonas* sp Isolated from Paddy Soil in Malaysia as Biocontrol Agent. Plant Pathology and Microbiology 3:1-4.
41. Patten, C.L. and Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology 68: 3795–3801.
42. Raja, D., Sivasankari, B. and Daniel, T. 2008. Bioefficacy of *Methylobacterium* spp. Isolated from various leaf samples on the growth performance of black gram, (L.) Walp. Journal of Current Sciences, 12: 735-740.
43. Saharan, B.S. 2011. plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. Life Sciences and Medicine Research.

44. Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria (No. Ed. 3). American Phytopathological Society (APS Press).
45. Schippers, B., Bakker, A.W. and Bakker, A. H. M. 1987. Interactions of deleterious and and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. Annual Review of Phytopathology 25: 339-59.
46. Sharma, S., Kumar, V. and Tripathi, R. B. 2017. Isolation of phosphate solubilizing microorganism (PSMs) from soil. Journal of Microbiology and Biotechnology Research 1(2): 90-95.
47. Sivasankari, B. Anandharaj, M. and Daniel, T. 2014. Effect of PGR producing bacterial strains isolated from vermisources on germination and growth of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Journal of Biochemical Technology 5(4): 808-813.
48. Sivasankari, B. and Anandharaj, M. 2014. Isolation and Molecular Characterization of Potential Plant Growth Promoting *Bacillus cereus* GGBSTD1 and *Pseudomonas* spp. GGBSTD3 from Vermisources. Advances in Agriculture 1-13.
49. Sivasankari, B. and Daniel, T. 2010. A study on isolation and characterization of PGR producing microorganisms from vermicompost. Journal of Environmental Ecology 28(44): 2509-2510.
50. Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. FEMS Microbiology Reviews 31: 425–448.
51. Sperber, J. I. 1958. the incidence of apatite soulbilizing organisms in the rhizospher. Aust. J. Agr. Res. 9: 778-781.
52. Vyas, P. and Gulati, A. 2009. Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent pseudomonas. BMC microbiology 9: 1-8.
53. Walkly, A.J., and Black, H.A. 1934. An examination of degtijaref method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid in soil analysis. I. experimental. Soil Science Society of America Journal, 79: 459- 465.
54. Whitelaw, M.A. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. Advances in Agronomy 69: 99-151.
55. Wollum, A.G. 1982. Cultural methods for soil microorganisms, P 781-801. In: A.L. Page (ed.), Methods of soil Analysis, Part 2. Am. Soc. Agron. and Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI.
56. Yasir, M., Aslam, Z., Kim, S.W., Lee, S.W., Jeon, C.O. and Chung, Y.R. 2009a. Bacterial community composition and chitinase gene diversity of vermicompost with antifungal activity. bioresource Technology 100: 4396–4403.
57. Yu, X., Ai, C., Xin, L. and Zhou, G. 2011. The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on *Fusarium* wilt and promotes the growth of pepper. European Journal of Soil Biology 47: 138–145.

Evaluation of plant-growth promotion and biocontrol characteristics in *fluorescent pseudomonads* isolated from vermicompost

T. Dadashpour Dianloo, A. A. Soltani Toolarood[1], A. Ghavidel, and P. Abbaszadeh-Dahaji

Former M. Sc Student, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili; E-mail: taghy23@gmail.com
Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili; E-mail: ali_soltani_t@yahoo.com
Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili; E-mail: ghavidel@uma.ac.ir
Assistant Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Vali-E-Asr University of Rafsanjan; E-mail: p.abbaszadeh@vru.ac.ir

Received: July, 2019 & Accepted: May, 2020

Abstrac

Fluorescent pseudomonads are one of the most effective microorganisms among the plant growth-promoting bacteria. They have attracted many researchers attention due to their unique properties such as motility in the rhizosphere, high growth rate, and potential for the root colonization of various plants. In most studies, rhizospheric soils were used for isolation but *Pseudomonas* bacteria also have been isolated from various organic fertilizers. Therefore, the present study was conducted to evaluate plant-growth promotion and biocontrol characteristics of *fluorescent pseudomonads* isolated from vermicompost. Then, the ability of isolates was evaluated for auxin and siderophore production, tricalcium phosphate dissolution, and secretion of growth inhibitor metabolites. Total of 43 *fluorescent pseudomonads* isolates were isolated and purified based on irradiation under a UV lamp and fluorescence properties. Results of the PGP characteristics revealed that all the isolates were able to produce auxin and solubilize inorganic phosphorous. The average of auxin production was 2.51 mg/l. The highest (708 mg/l) and lowest (203 mg/l) amount of soluble phosphate belonged to P15 and P43 isolates, respectively. P35 isolate showed the most efficient in terms of siderophore production in which the ratio of halo zone diameter: colony diameter was 2.04 mm (after 48 hours) and 2.12 mm (after 72 hours). The results of the hydrogen cyanide production test showed that 88.35% of isolates could secrete this metabolite. In this research, all isolates were not able to produce protease enzymes. In terms of production of this enzyme, the P17 isolate showed the highest ratio of halo zone diameter: colony diameter (2.7 mm), was the most efficient one. None of the isolates were able to produce cellulase enzymes.

Keywords: Organic fertilizer, Growth promoting bacteria, Isolation, Fluorescence property, Plant growth promotion, Plant pathogen

[1]. Corresponding author: Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil.