# تأثیر سودوموناس‌های فلورسنت بر افزایش انحلال ترکیبات روی و بهبود جذب آن توسط لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

پیمان عباس زاده دهجی، غلامرضا ثواقبی، هادی اسدی رحمانی[1]*، فرهاد رجالی، محسن فرحبخش، بابک متشرع زاده و مهتاب امیدواری

دانشجوی دکتری گروه مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران؛ **dahaji@ut.ac.ir**

انشیار گروه مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران؛ **savagheb@ut.ac.ir**

استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب؛ **asadi_1999@yahoo.com**

استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب؛ **frejali@yahoo.com**

استادیار گروه مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران؛ **mfbakhsh@ut.ac.ir**

استادیار گروه مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران؛ **moteshare@ut.ac.ir**

: فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی از دانشگاه تهران؛ **vania_vandad@yahoo.com**

## چکیده

**باکتری‌های سودوموناس فلورسنت از مهمترین باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌باشند که از طریق سازوکارهای متعدد می‌توانند سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان شوند. در این تحقیق ۴۰ سویه از سودوموناس-های فلورسنت از نظر توان انحلال نمک‌های مختلف روی شامل ZnO، ZnS و $ZnCO_3$ مورد ارزیابی قرار گرفتند. سویه‌های حل‌کننده روی از نظر صفات محرک رشدی نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ۲۰ درصد سویه‌های مورد آزمایش توان انحلال نمک‌های $ZnCO_3$ و ZnO را دارا بودند و هیچ یک از سویه‌های باکتریایی نتوانستند ZnS را به صورت محلول درآورند. تمامی سویه‌های حل‌کننده روی توانایی تولید اکسین، سیدروفور و انحلال ترکیبات نامحلول فسفر را در محیط جامد و مایع دارا بودند. در بین سویه‌های مورد آزمایش تنها سویه P۱ توان تولید آنزیم ACC-دآمیناز داشت. آزمایش تولید سیانید هیدروژن نشان داد که در بین ۸ سویه تنها GRP3 توانایی تولید سیانید هیدروژن را دارد. تأثیر سویه‌های منتخب در بهبود جذب روی در یک آزمون گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله، سویه‌ی P۱۹ به عنوان کارآترین سویه توانست در غلظت ۵۰۰ میلی-گرم در گیلوکرم نمک $ZnCO_3$، غلظت روی را تا ۵۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم اندام هوایی افزایش دهد. با توجه به آهکی بودن اکثر خاک‌ها در ایران، بخش عمده کودهای محلول روی به صورت غیرقابل استفاده در می‌آید. استفاده از این باکتری‌ها می‌تواند در افزایش کارایی کودهای شیمیایی روی در خاک موثر باشد.**

**واژه های کلیدی:** باکتری‌های حل‌کننده روی، سیدروفور، اکسین

## مقدمه

تعامل گیاه- میکروب[2] سلامت و توان حاصلخیزی خاک را مشخص می‌کند. باکتری‌های محرک رشد گیاه[3]، باکتری‌های ریزوسفری هستند که می‌توانند رشد گیاه را با سازه‌کارهای مختلفی افزایش دهند (عباس‌زاده،[4] و

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: کرج، میدان استاندارد، بعد از رزکان نو، بلوار امام خمینی، موسسه تحقیقات خاک و آب کد پستی ۳۱۱-۳۱۷۸۵

* دریافت: آبان ۱۳۹۰ و پذیرش: تیر ۱۳۹۱

2. Plant-microbe
3. PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria
4. Abbas-Zadeh

Archive of SID

www.SID.ir

همکاران، ۲۰۱۰). این سازوکارها شامل تولید هورمون گیاهی اکسین (دوبلره[1] و همکاران، ۲۰۰۳)، آنزیم ACC[2]-دآمیناز (سالم[3] و همکاران، ۲۰۰۷)، افزایش حلالیت فسفر (زیدی[4] و همکاران، ۲۰۰۶)، افزایش حلالیت آهن با تولید سیدروفور (گلیک[5]، ۱۹۹۵)، تثبیت نیتروژن اتمسفری (پیگ و بلند[6]، ۲۰۰۴)، کنترل پاتوژن‌های گیاهی (بلومر و هس[7]، ۲۰۰۰) و انحلال ترکیبات نامحلول روی (ساروانان[8] و همکاران، ۲۰۰۳) می‌باشد. سودوموناس‌ها از جمله باکتری-هایی هستند که در همه خاک‌های زراعی وجود دارند و دارای خصوصیات محرک رشدی مختلفی می‌باشند. موثرترین دسته سودوموناس‌ها، سودوموناس‌های فلورسنت[9] هستند (سحران و نحرا[10]، ۲۰۱۱).

اکسین فراوان‌ترین هورمون گیاهی است که توسط باکتری‌های ریزوسفری به عنوان متابولیت ثانویه ترشح می‌شود. این هورمون نقش مهمی در توسعه سیستم ریشه-ای و افزایش سطح جذبی ریشه‌ها دارد (علی[11] و همکاران، ۲۰۰۹). تعدادی از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد دارای توان تولید آنزیمی به نام ACC ـ دآمیناز هستند. این آنزیم از ایجاد اتیلن تنشی در گیاهان ممانعت نموده و لذا تلقیح گیاهان با باکتری‌های واجد این آنزیم باعث می‌شود که میزان تولید اتیلن در شرایط تنش کاهش یابد و به‌تبع آن رشد و نمو گیاه متعادل شود (سالم، ۲۰۰۷). تعدادی از باکتری‌های محرک رشد گیاه مواد کلات‌کننده‌ای با وزن مولکولی کم به نام سیدروفور ترشح می‌کنند که تمایل زیاد به جذب آهن دارند. سیدروفور ترشح شده توسط باکتری با بخش اعظم آهن فریک موجود در خاک کمپلکس‌های پایدار تشکیل می‌دهد (آگارا و اسیلوان[12]، ۱۹۹۲). این امر می‌تواند به تغذیه آهن گیاه کمک نموده و از طرف دیگر آهن را از دسترس قارچ‌های بیماریزا خارج نماید (گلیک، ۱۹۹۵). باکتری‌های حل کننده فسفات که در ریزوسفر به وفور یافت می‌شوند با ترشح اسیدهای آلی و فسفاتازها قادرند ترکیبات فسفاتی غیرمحلول را به شکل قابل استفاده برای گیاه درآورند. تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات باعث افزایش جذب فسفر شده و به تبع آن رشد گیاهان افزایش می‌یابد (ساندرا[13] و همکاران، ۲۰۰۲).

روی یکی از عناصر غذایی کم‌مصرف مورد نیاز گیاه و فاکتورهای محدودکننده در تولید محصول بویژه در خاک-های آهکی مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد. کاربرد کودهای محلول روی مهمترین راه برای تأمین روی مورد نیاز گیاهان می‌باشد. بعد از استفاده از کودهای محلول روی ۹۶ تا ۹۹ درصد از روی محلول و قابل استفاده به شکل‌های مختلف غیر قابل استفاده تبدیل می‌شود (ساروانان و همکاران، ۲۰۰۳ ). روی محلول که به صورت سولفات روی استفاده می‌شود، به شکل‌های مختلفی مانند ZnOH و $Zn(OH)_2$ در pH بین ۷/۷ تا ۹؛ کربنات روی در خاک‌های قلیایی غنی از کلسیم؛ فسفات روی در خاک‌های خنثی تا قلیایی با کاربرد زیاد فسفر و سولفید روی در شرایط احیا تبدیل می‌شود (ساراهامبال[14] و همکاران، ۲۰۱۰). روی غیر قابل استفاده را می‌توان با استفاده از حضور باکتری‌های حل‌کننده روی به شکل قابل استفاده درآورد (ساروانان و همکاران، ۲۰۰۳). تعدادی از سویه‌های سودوموناس و باسیلوس می‌توانند ترکیبات نامحلول روی را به صورت محلول درآورند. این باکتری‌ها را باکتری‌های حل‌کننده روی (ZSB[15]) می‌نامند (ساروانان و همکاران، ۲۰۰۳). نقش اصلی باکتری‌ها در انحلال روی کاهش pH به ۵ یا کمتر، انحلال روی و به دنبال آن افزایش فراهمی این عنصر می‌باشد (ساراهامبال و همکاران، ۲۰۱۰). توانایی باکتری‌های *Bacillus* spp.، *Pseudomonas fluorescens*، *Thiobacillus feroxidans* و *T.thiooidans* در انحلال ترکیبات نامحلول روی گزارش شده است (دیسیمین[16] و همکاران، ۱۹۹۸). باکتری‌ها می‌توانند ترکیبات نامحلول روی را توسط مکانیسم‌های مختلفی از جمله تولید اسیدهای آلی، افزایش میزان پروتون ($H^+$) و تولید ترکیبات کلات کننده به صورت محلول درآورند (شباب و احمد[17]، ۲۰۰۸). همچنین مکانیسم‌های دیگری مانند تولید اسیدهای معدنی مانند اسید سولفوریک، نیتریک و کربنیک هم گزارش شده است (سشادرا[18] و همکاران، ۲۰۰۲).

با توجه به نتایج مختلف پژوهشگران مختلفی نشان دادند که بعد از استفاده از کودهای محلول روی بخش عمده روی محلول و قابل استفاده به شکل‌های مختلف غیر قابل استفاده تبدیل می‌شود. هدف از انجام این تحقیق

1. Dobelaere
2. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate
3. Saleem
4. Zaidi
5. Glick
6. Ping and Boland
7. Blumer and Hass
8. Saravanan
9. Fluorescent pseudomonads
10. Saharan and Nehra
11. Ali
12. O'Gara and O'sullivan
13. Sundara
14. Sarathambal
15. Zinc Solubilizing Bacteria
16. DiSimine
17. Shahab and Ahmed
18. Seshadre

Archive of SID

www.SID.ir

انتخاب باکتری‌های حل‌کننده روی و بررسی نقش این باکتری‌ها بر افزایش انحلال ترکیبات کم محلول روی در شرایط درون پلیتی و در نهایت تأثیر سویه‌های برتر در افزایش حلالیت ترکیبات روی در شرایط گلخانه و جذب این عنصر توسط گیاه لوبیا می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

به منظور شناسایی سویه‌های برتر سودوموناس‌های فلورسنت در حل‌کنندگی ترکیبات کم محلول روی تعداد ۴۰ سویه سودوموناس فلورسنت از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب انتخاب شد که ۳۸ سویه که طی تحقیقات قبل از ریزوسفر گیاهان مختلف جدا شده بود (عباس‌زاده و همکاران، ۲۰۰۹) و ۲ سویه خارجی *Pseudomonas aeruginosa* GRP3 و *Pseudomonas aeruginosa* MPFM از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات خاک و آب نیز به عنوان شاهد[1] (باکتری‌های تیپ سودوموناس فلورسنت) مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد سویه‌هایی که توانایی انحلال ترکیبات کم محلول روی را داشتند انتخاب و صفات محرک رشدی آنها شامل توان حل فسفات‌های معدنی نامحلول در محیط جامد و مایع، تولید سیدروفور، اکسین، آنزیم ACC-دآمیناز و سیانید هیدروژن مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت چهار سویه برتر انتخاب و تأثیر آنها را بر انحلال ترکیبات کم محلول روی در ماسه و بهبود جذب روی در گیاه لوبیا در یک آزمایش گلخانه‌ای بررسی گردید .

**اندازه‌گیری توان حل‌کنندگی ترکیبات کم محلول روی در محیط جامد**

در این روش ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط N.B[2] کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه کمی توان حلالیت نمک‌های کم محلول روی، ۱۵ میکرولیتر تعلیق تازه باکتری با جمعیت $10^8$ به روش لکه‌گذاری در سه تکرار روی پلیت‌های حاوی محیط جامد PKV (پیکوسکایا[3]، ۱۹۴۸: ۰/۵ گرم $(NH_4)_2SO_4$، ۰/۵ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۳ گرم NaCl ، ۰/۳ گرم KCl، ۰/۰۳ گرم $FeSO_4.7H_2O$، ۰/۰۲ گرم $MnSO_4.H_2O$ و ۱۰ گرم گلوکز) که حاوی ۰/۱ درصد نمک‌های ZnO، ZnS و $ZnCO_3$ (به ترتیب دارای Ksp معادل $1/0\times10^{-16/66}$، $1/1\times10^{-21}$ و $1/0\times10^{-7/46}$ هستند (www.google.com))، کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه داری شدند. قطر هاله شفاف اطراف کلونی و نسبت قطر هاله بر قطر کلنی پس از گذشت ۵ روز اندازه‌گیری شد (ساروانان و همکاران، ۲۰۰۳).

**اندازه‌گیری توان حل‌کنندگی ترکیبات کم محلول روی در محیط مایع**

برای اندازه‌گیری توانایی سویه‌ها در حل نمک‌های کم محلول روی در محیط مایع از محیط PKV که حاوی ۱ گرم در لیتر نمک‌های ZnO، ZnS و $ZnCO_3$ استفاده شد. در این روش ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط N.B کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از تعلیق باکتری با جمعیت $10^8$ به ۲۵ میلی‌لیتر محیط PKV منتقل گردید. سپس نمونه‌ها برای مدت ۱۲۰ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۲۵ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سلسیوس تکان داده شدند. پس از آن pH نمونه‌ها قرائت شد. همزمان با این عملیات تعلیق باکتری سانتریفیوژ (با دور ۱۰۰۰۰g، ۱۵ دقیقه) و یک‌میلی‌لیتر از محلول رویی با محیطPKV به نسبت ۱:۵۰۰ رقیق شده و مقدار روی قابل دسترس را در نمونه‌های تلقیح شده با باکتری و همچنین شاهد (محیط مایع PKV حاوی ۱ گرم در لیتر نمک‌های ذکر شده بدون تلقیح باکتری) با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Shimadzu AA-670 ) اندازه‌گیری شد ( ساروانان و همکاران، ۲۰۰۳ ).

**اندازه‌گیری توان حل فسفات‌های معدنی در محیط جامد**

در این روش ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط TSB[4] کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه کمی توان حلالیت فسفر، ۱۵ میکرولیتر تعلیق تازه باکتری با جمعیت $10^8$ با روش لکه‌گذاری روی پلیت‌های حاوی محیط جامد PKV که حاوی ۵ گرم در لیتر نمک نامحلول تری‌کلسیم‌فسفات بود، کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. هاله شفاف اطراف کلونی به عنوان حلالیت تری‌کلسیم‌فسفات در نظر گرفته شد. نسبت قطر هاله بر قطر کلنی پس از گذشت ۵ روز اندازه‌گیری شد (راشید[5] و همکاران، ۲۰۰۴).

**اندازه‌گیری میزان حلالیت فسفر در محیط مایع**

برای اندازه‌گیری توانایی سویه‌ها در حل فسفات‌های معدنی در محیط مایع از محیط PKV که حاوی نمک نامحلول تری کلسیم فسفات استفاده شد. در این روش ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط TSB کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از تعلیق باکتری با جمعیت $10^8$ به ۲۵ میلی‌لیتر محیط PKV حاوی ۵ گرم در لیتر

1. Type strain
2. Nutrient Broth
3. Pikovskaya
4. Tryptic Soy Broth
5. Rashid

Archive of SID

www.SID.ir

تری‌کلسیم‌فسفات منتقل گردید. سپس ارلن‌های تلقیح شده همراه با یک شاهد تلقیح نشده برای مدت ۱۲۰ ساعت بر روی تکان دهنده با سرعت ۱۲۵ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سلسیوس تکان داده شدند. پس از آن pH نمونه‌ها قرائت شد. همزمان با این عملیات تعلیق باکتری سانتریفیوژ (با دور ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه) و یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات ـ وانادات مخلوط گردید. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه از زمان خواباندن[1] نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه، میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. میزان حلالیت فسفر با مقایسه این جذب با منحنی استاندارد تهیه شده با استفاده از $KH_2PO_4$ محاسبه گردید (جیون[2] و همکاران، ۲۰۰۳).

**اندازه‌گیری سیدروفور به روش عمومی آگار آبی CAS[3]**

به منظور بررسی توان تولید سیدروفور توسط جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شدند. در این روش برای تشخیص نیمه کمی توان تولید سیدروفور، ۱۵ میکرولیتر تعلیق تازه باکتری با جمعیت $10^8$ به روش لکه‌گذاری روی پلیت‌های حاوی محیط جامد CAS (الکساندر و زوبرر[4]، ۱۹۹۱) کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. توانایی تولید سیدروفور از روی تغییر رنگ از آبی به نارنجی و با اندازه‌گیری هاله نارنجی رنگ تشکیل شده در اطراف کلنی باکتری‌ها، بعد از ۷۲ ساعت ارزیابی گردید.

**توان تولید سیانیدهیدروژن**

برای اندازه‌گیری سیانید هیدروژن ابتدا جدایه‌ها در پلیت‌های حاوی محیط TSA[5] غنی شده با گلایسین (۴/۴ گرم در لیتر) کشت داده شدند. سپس کاغذ صافی‌های خیسانده شده در پیکرات سدیم (پیکریک اسید ۰/۵٪ و کربنات سدیم ۲٪) در قسمت داخلی درب پلیت گذاشته شد. پلیت‌ها به مدت ۱۲۰ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه داری شدند. توانایی تولید سیانید هیدروژن از روی تغییر رنگ کاغذ صافی از زرد به رنگ‌های نارنجی، قرمز یا آجری مشخص می‌شود. (دونیت‌کوریا[6] و همکاران، ۲۰۰۴).

**اندازه‌گیری آنزیم ACC[7]-دآمیناز**

اندازه‌گیری آنزیم ACC-دآمیناز به روش آمیکو[8] و همکاران (۲۰۰۵) با کمی تغییرات انجام گرفت. به منظور بررسی باکتری‌های مورد مطالعه در استفاده از ACC به عنوان منبع نیتروژن، باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از تعلیق تازه باکتری با جمعیت $10^8$ به ۲۰ میلی‌لیترازمحیط‌های حاوی۳ میلی‌مولار ACC، محیط DF[9] (شامل۴ گرم در لیتر $KH_2PO_4$، ۶ گرم در لیتر $Na_2HPO_4$، ۰/۲ گرم در لیتر $MgSO_4.7H_2O$، ۲ گرم در لیتر گلوکز، ۲ گرم در لیتر گلوکونیک اسید، ۲ گرم در لیتر سیتریک اسید و همچنین عناصر میکرو شامل: ۱میلی‌گرم در لیتر $FeSO_4.7H_2O$، ۱۰میکروگرم در لیتر $H_3BO_3$، ۱۰ میکروگرم در لیتر $7H_2O$. $MnSO_4$، ۱۲۴/۶ میکروگرم در لیتر $ZnSO_4.7H_2O$، ۷۸/۲۲ میکروگرم در لیتر $CuSO_4.7H_2O$ و ۱۰ میکروگرم در لیتر $MoO_3$ و پ‌هاش ۷/۲)حاوی ۲ گرم در لیتر سولفات آمونیوم و محیط DF فاقد ACC و سولفات آمونیوم تلقیح گردید. بعد از ۴۸ ساعت با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۴۰۵ نانومتر برای هر سه محیط قرائت شد. باکتری‌هایی که توانایی تولید این آنزیم را دارا باشند محیط حاوی ACC را کدر خواهند کرد.

**اندازه‌گیری میزان تولید اکسین در محیط DF**

به منظور بررسی توان تولید اکسین جدایه‌ها، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از تعلیق باکتری با جمعیت $10^8$ به ۲۵ میلی‌لیتر محیط DF حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال- تریپتوفان منتقل گردید. بعد از ۴۸ ساعت تعلیق باکتری سانتریفیوژو یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با ۴ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی[10] (۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر $FeCl_36H_2O$ ۰/۵ مولار) مخلوط گردید. محلول یاد شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و بلافاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید (پتن و گلیک[11]، ۲۰۰۲). مقدار تولید اکسین با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

1. Incubation
2. Jeon
3. Chrome Azurol S
4. Alexander and Zuberer
5. Tryptic Soy Agar
6. Donate-Correa
7. Aminocyclopropane 1 Carboxylic Acid
8. Amico
9. Dworkin and Foster
10. *Salkowski*
11. Patten and Glick

Archive of SID

www.SID.ir

**بررسی تأثیر سویه‌های حل‌کننده ترکیبات کم محلول بر رشد و جذب روی توسط گیاه در شرایط گلخانه**

آزمایش گلخانه‌ای در گلدان‌های یک کیلوگرمی پلاستیکی پر شده از ماسه اسید شویی شده سترون انجام شد. در این آزمایش رقم لوبیا اختر؛ ۴ سویه برتر *P.putida* P1، *P.putida* P19، *P.putida* R69 و *P.fluorescens* R187 و چهار سطح ۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم دو نمک کم محلول ZnO و $ZnCO_3$ استفاده شد (با توجه به هدف تحقیق بر نقش باکتری‌های حل‌کننده منابع نامحلول روی در این آزمایش سطح ۰ به عنوان شاهد در نظر گرفته شد). سویه‌ها در محیط N.B کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت روی تکان دهنده قرار گرفتند. به منظور سترون‌سازی سطحی بذرها به مدّت ۱ دقیقه در الکل ۹۶ درصد و ۲ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۴ درصد قرارداده شدند و به دنبال آن با مقادیر زیادی آب مقطر سترون حدود ۱۰ بار شستشو گردیدند (اچوریا[1] و همکاران، ۲۰۰۳). سپس در شرایط سترون بذرها به تعداد ۶ عدد در هرگلدان کاشته شدند و در هنگام کاشت، هر بذر با مقدار ۱ میلی‌لیتر باکتری موردنظر (با جمعیت $10^8$ سلول در هر میلی‌لیتر تعلیق باکتری) تلقیح گردید (زنگ[2] و همکاران، ۲۰۰۲). این آزمایش در قالب یک طرح آزمایشی کاملا تصادفی در ۴ تکرار انجام شد و مجموعاً ۶۴ گلدان تهیه گردید. تعداد گیاهان در گلدان‌ها پس از ۱۰ روز به ۳ گیاه کاهش یافت و هر هفته با محلول غذایی (ترکیب محلول غذایی مورد استفاده عبارت بود از : ۰/۲۵ میلی مولار $KH_2PO_4$، ۲ میلی مولار $Ca(NO_3)_2$، ۱ میلی مولار $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۸۸ میلی مولار $K_2SO_4$، ۰/۱ میلی مولار KCl، ۰/۵ میکرومولار $MnSO_4$، ۱ میکرومولار $H_3BO_3$، ۰/۲ میکرومولار $CuSO_4$، ۰/۲ میکرومولار $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$، ۱۰۰میکرو مولار Fe-EDTA و pH ۶/۸) عاری از روی (تیلی[3] و همکاران، ۲۰۰۱) آبیاری شدند. گیاهان پس از ۲ ماه برداشت شدند و وزن‌تر و خشک اندام هوایی، غلظت روی اندازه‌گیری شد و مقدار جذب روی محاسبه گردید (در این آزمایش گیاهان با باکتری ریزوبیوم تلقیح نشدند و محلول غذایی استفاده شده حاوی مقدار کافی نیتروژن بود).

کلیه نتایج این مرحله با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین‌ها به روش دانکن گروه‌بندی شدند.

## نتایج

نتایج نشان داد که ۲۰ درصد سویه‌های مورد آزمایش در پلیت حاوی $ZnCO_3$ و ZnO هاله تشکیل دادند. هیچ یک از سویه‌های باکتریایی توانایی تشکیل هاله در محیط حاوی ZnS را نداشتند. در محیط حاوی ZnO قطر هاله بین ۰/۶–۱/۳۲ سانتی‌متر و نسبت قطر هاله به کلونی بین ۱/۲۰–۲/۴۰ متغییر بود. در این محیط حداکثر قطر هاله مربوط به سویه R۶۹ و حداکثر نسبت قطر هاله به کلونی مربوط به سویه R۱۸۷ بود. همچنین سویه P۲ کمترین میزان قطر هاله و نسبت قطر هاله به کلونی را به خود اختصاص داد. در محیط حاوی $ZnCO_3$ سویه MPFM بیشترین و سویه P۲ کمترین میزان قطر هاله و نسبت هاله به کلونی را داشتند. در این محیط قطر هاله ۰/۱۳–۱/۷۰ و نسبت قطر هاله به کلونی بین ۰/۲۷–۲/۹۹ متغییر بود (جدول ۱). نتایج حاصل از ارزیابی توانایی انحلال روی از منبع اکسید روی و کربنات روی در محیط مایع PKV نشان داد که تنها سویه‌های که توانایی تولید هاله در محیط جامد را داشتند، توان انحلال در محیط مایع را نیز دارا بودند. در محیط حاوی اکسید روی در همه سویه‌ها pH محیط در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در سویه MPFM با بیشترین توان حل‌کنندگی (۷۰۱ میلی‌گرم در لیتر) pH محیط به ۴/۳ و در سویه R۱۸۷ با کمترین توان حل‌کنندگی pH به ۶/۶ کاهش یافته بود (pH شاهد ۶/۷). در محیط حاوی کربنات کلسیم سویه GRP3 بیشترین و سویه MPFM کمترین حلالیت را داشتند و PH در این محیط حاوی این دو سویه به ترتیب به ۳/۳ و ۶/۳ کاهش یافت (pH شاهد ۶/۷) (جدول ۱). همچنین R۶۹ و R۱۸۷ هر چند توانستند در محیط جامد حاوی ZnO هاله قابل توجه‌ای ایجاد کنند اما توانایی آنها در انحلال این نمک در محیط مایع اندک بود و بالعکس P۲ نتوانست در محیط جامد حاوی $ZnCO_3$ هاله قابل توجه‌ای ایجاد کند اما توان حل‌کنندگی این سویه در محیط مایع بسیار بالا بود (جدول ۱). همچنین هیچ همبستگی معنی‌داری بین قطر هاله و قطر هاله به کلونی با میزان انحلال روی در محیط مایع حاوی نمک‌های $ZnCO_3$ و ZnO مشاهده نشد.

نتایج صفات محرک رشدی در ۸ سویه حل‌کننده روی نشان داد که تمامی سویه‌ها دارای توان تولید اکسین بودند و سویه‌های P۲ و GRP3 به ترتیب با تولید ۶/۲۳ و ۱/۰۲ میلی‌گرم در لیتر اکسین به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار اکسین را تولید کردند. در بین این سویه‌ها تنها سویه GRP3 توانست سیانید هیدروژن تولید کند. سویه P۱ توانست در محیط حاوی ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن رشد نموده و محیط را کدر کند و بقیه سویه‌ها این توانایی

1. Echeverria
2. Zhang
3. Tolay

Archive of SID

www.SID.ir

را نداشتند. نتایج حاصل از ارزیابی توانایی آزاد شدن فسفر از تری‌کلسیم‌فسفات در محیط PKV نشان داد که همه جدایه‌های مورد مطالعه از توانایی حل کنندگی فسفات معدنی نا محلول در محیط جامد و مایع برخوردار بودند. بیشترین مقدار حل شدن فسفر مربوط به جدایه R۱۸۷ (۴۵۲/۴۰ میلی‌گرم در لیتر) و کمترین مربوط به سویه ۶۹ R (۱۶۱/۴۳ میلی‌گرم در لیتر) بود. مقایسه pH تعلیق سویه‌های مختلف با pH محیط شاهد (بدون باکتری) نشان داد که در همه سویه‌ها محیط pH کاهش یافته بود. در سویه R۱۸۷ که بیشترین توان حل کنندگی را داشت pH از ۵/۶ (pH شاهد) به ۳/۴۰ و در R۶۹ با کمترین توان حل کنندگی، pH از ۵/۶ به ۴/۶۰ کاهش یافته بود. در محیط جامد سویه‌های R۱۸۷ و P۱۹ به ترتیب بیشترین و کمترین نسبت هاله به کلونی را ایجاد کردند (به ترتیب ۳/۳۲ و ۱/۵۵). همبستگی معنی‌داری در سطح ۵ درصد (*۰/۴۵۸) بین نسبت قطر هاله به کلونی با میزان انحلال فسفر در محیط مایع مشاهده شد. تمامی سویه‌ها توانستند در محیط سیدروفور هاله نارنجی ایجاد کنند و بیشترین نسبت هاله به کلونی مربوط به سویه R۶۹ (۱/۷۵) بود (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سویه، غلظت نمک‌های نامحلول روی و همچنین اثر متقابل سویه‌ها با غلظت نمک در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (نتایج نشان داده نشده). در هر دو محیط حاوی ZnO و $ZnCO_3$ با افزایش غلظت نمک در محیط ماسه جذب، غلظت روی در اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام هوایی افزایش یافت (جدول ۳، ۴، ۵ و ۶). در محیط حاوی ZnO دو سویه R۶۹ و R۱۸۷ در مقایسه با دو سویه P۱ و P۱۹ نتوانستند مقدار جذب، غلظت روی در اندام هوایی، وزن‌تر و خشک اندام هوایی را با افزایش غلظت نمک در محیط افزایش دهند (جدول ۳ و ۴). این نتایج با نتایج آزمایشگاهی هم هم‌خوانی دارد زیرا این دو سویه نتوانستند در محیط مایع حل‌کنندگی قابل توجهی داشته باشند (جدول ۱). در محیط حاوی ZnO سویه P۱ به طور متوسط در چهار غلظت نمک (۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) توانست بیشینه وزن‌تر و خشک اندام هوایی به ترتیب ۱۹/۱ و ۱/۲۷ گرم و بیشینه غلظت و جذب به ترتیب ۲۱/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۰/۰۳۰ میلی‌گرم در گلدان را ایجاد کند (جدول ۳ و ۴).

در محیط حاوی نمک $ZnCO_3$ هر چهار سویه توانستند جذب، غلظت روی در اندام هوایی، وزن‌تر و خشک اندام هوایی را با افزایش غلظت نمک در محیط افزایش دهند. سویه P۱۹ مؤثرترین سویه در محیط حاوی نمک $ZnCO_3$ بود. این سویه توانست به طور متوسط در چهار غلظت نمک (۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) توانست بیشینه وزن تر و خشک اندام هوایی به ترتیب ۲۱/۲ و ۱/۴۱ گرم و بیشینه غلظت و جذب به ترتیب ۳۱/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم و ۰/۰۴۸ میلی‌گرم در گلدان را ایجاد کند (جدول ۵ و ۶).

## بحث

نتایج ارزیابی توان انحلال نمک‌های نامحلول روی نشان داد که ۸ سویه توانستند در محیط جامد حاوی ZnO و $ZnCO_3$ هاله ایجاد کنند و همچنین در محیط مایع نیز این سویه‌ها توانایی انحلال را دارا بودند. هیچ یک از سویه‌های باکتریایی توانایی تشکیل هاله در محیط حاوی ZnS را نداشتند که ممکن ناشی از حلالیت بسیار پایین این نمک باشد ($Ksp = ۱/۰\times۱۰^{-۱۶/۶۶}$). سودوموناس‌های فلورسنت از جمله مهمترین باکتری‌های حل‌کننده روی هستند. توانایی باکتری‌های *Bacillus* spp.، *Pseudomonas fluorescens*، *Thiobacillus feroxidans* و *T.thiooidans* در انحلال ترکیبات نامحلول روی گزارش شده است (دیسیمین و همکاران، ۱۹۹۸). در اکثر سویه‌های حل‌کننده روی در این تحقیق با افزایش حلالیت pH محیط کاهش یافته است که احتمالاً بیان‌گر تولید اسیدهای آلی توسط این سویه‌ها می‌باشد. پژوهشگران دریافتند که تولید گلوکنیک اسید و دوکتوگلوکنیک در محیط کشت به انحلال نمک‌های روی کمک کرده است. همچنین در تمامی محیط‌ها کاهش pH مشاهده شد و این می‌تواند نشانه‌ای بر نقش اسیدهای آلی در انحلال این نمک‌ها باشد (دیسیمین و همکاران، ۱۹۹۸). باکتری‌ها می‌توانند ترکیبات نامحلول روی را توسط سازه‌کارهای مختلفی از جمله تولید اسیدهای آلی، افزایش میزان پروتون ($H^+$) و تولید ترکیبات کلات کننده به صورت محلول درآورند (شباب و احمد[1]، ۲۰۰۸). در تعدادی از سویه‌ها مانند P۳ در محیط حاوی نمک ZnO و سویه R۶۹ در محیط حاوی $ZnCO_3$ هر چند که pH محیط در مقایسه با شاهد بدون باکتری تغییر چندانی نکرده ولی حلالیت نسبتاً بالایی را نشان دادند که می‌تواند ناشی از نقش سیدروفور تولیدی توسط این باکتری‌ها باشد. چن[2] و همکاران (۱۹۹۴) طی تحقیقی نشان دادند که سیدروفور سودوباکتین که توسط سودوموناس پوتیدا[3] ترشح می‌شود باعث افزایش حلالیت Fe، Zn، Cu و Mn می‌گردد.

1. Shahab and Ahmed
2. Chen
3. Pseudomonas putida

Archive of SID

www.SID.ir

تمامی سویه‌های مورد آزمایش (۸ سویه) قادر به تولید اکسین بودند. همچنین تعدادی از سویه‌ها مانند P۲ و P۳ مقادیر بالایی از اکسین را تولید کردند. تولید غلظت‌های بالای اکسین توسط سودوموناس‌های فلورسنت یک خصوصیت بارز برای اکثر این باکتری‌ها است (احمد[1] و همکاران، ۲۰۰۵). پژوهشگران طی مطالعه تولید اکسین توسط ۵۳ جدایه که مربوط به جنس‌های مختلف بودند دریافتند که این جدایه‌ها قادرند به میزان ۱/۳ تا ۷ میلی‌گرم درلیتر اکسین تولید کنند که کارآمدترین آنها جدایه‌ای از سودوموناس پوتیدا بود (اصغر[2] و همکاران، ۲۰۰۴). پژوهشگران مختلفی توانایی سودوموناس‌های فلورسنت را در تولید آنزیم ACC- دامیناز گزارش کرده‌اند (هوانگ[3]، ۲۰۰۴؛ چنگ[4] و همکاران ۲۰۰۷). در بین سویه‌های مورد آزمایش تنها سویه P۱ توانایی تولید آنزیم ACC-دآمیناز را دارا بود. تمامی سویه‌های مورد آزمایش توانستند سیدروفور تولید کنند و بیشترین نسبت هاله به کلونی (۱/۷۵) مربوط به سویه R۶۹ بود. در تحقیقی نشان داده شد که ۴۰ سویه سودوموناس فلورسنت توانایی تولید سیدروفور را دارا بودند و نسبت هاله به کلونی در این سویه‌ها بین ۰/۳۷ تا ۲/۷۳ متغییر بود. توانایی بسیار بالای تولید سیدروفور توسط سویه‌های مختلفی از سودوموناس‌ها گزارش شده است (میر[5]، ۲۰۰۰). تمامی سویه‌ها توان انحلال تری‌کلسیم فسفات را دارا بودند و بیشترین انحلال در محیط مایع مربوط به سویه R۱۸۷ بود (غلظت ۴۵۲/۴۰ میلی‌گرم فسفر در لیتر و pH ۳/۴۰). تحقیقات جیون و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که سه سویه سودوموناس فلورسنس MCO۷، M۴۵ و B۱۶ کشت شده در محیط PKV توانستند در مدت ۵ روز به ترتیب ۴۵۸/۳، ۴۴۷/۶ و ۴۲۷/۷ میلی گرم در لیتر فسفر محلول تولید کنند. pH تعلیق باکتری‌ها در مورد این سه سویه پس از ۵ روز به ترتیب از ۷ به ۴/۱، ۴ و ۴/۴ کاهش یافته بود.

نتایج آزمون گلخانه‌ای نشان داد که این باکتری‌ها توانایی انحلال نمک‌های روی در تعامل با گیاه را نیز دارا می‌باشند. سویه‌ی P۱۹ به عنوان کاراترین سویه توانست در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در گیلوکرم نمک $ZnCO_3$، جذب روی را تا ۵۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم اندام هوایی افزایش دهد. روی یکی از هشت عنصر کم مصرف غذایی مورد نیاز گیاهان می‌باشد و مقدار روی در بافت گیاهان مختلف بین ۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاهان متغیر است (اقبال[6] و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به معنی‌دار شدن اثر متقابل سویه‌ها با غلظت نمک در سطح ۱ درصد و همچنین افزایش جذب با افزایش مقدار نمک در گلدان در اکثر تیمارها می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از این باکتری‌ها در شرایطی که مقدار کل روی در محیط زیاد است ولی مقدار روی قابل دسترس کم می‌باشد، می‌تواند مؤثر باشد. علت اصلی مشکل کمبود روی در گیاهان مقدار کم این عنصر در خاک نمی‌باشد بلکه حلالیت پایین این عنصر در خاک می‌باشد (چاک‌ماک[7]، ۲۰۰۸). همچنین مشخص شده که حرکت کودهای روی به لایه‌های زیرین خاک در خاک‌های کشت شده ناچیز است (سینگ[8]، ۲۰۰۱). این نتایج نشان می‌دهد که روی مانند فسفر بعد از استفاده به شکل‌های غیرمحلول تبدیل و باعث ظهور کمبود روی می‌شود (ساراهامبال و همکاران، ۲۰۱۰). به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که توانایی سویه‌های مورد نظر در انحلال $ZnCO_3$ بیشتر از ZnO می‌باشد و این سویه‌ها توانستند در محیط حاوی $ZnCO_3$ مقدار جذب، غلظت روی در اندام هوایی، وزن‌تر و خشک اندام هوایی را بیشتر افزایش دهند. اکثر خاک‌های ایران آهکی می‌باشند و مقدار $ZnCO_3$ در این خاک‌ها بالاست زیرا کربنات روی در خاک‌های قلیایی غنی از کلسیم تشکیل می‌شود (کلباسی[9] و همکاران، ۱۹۷۸). همچنین روی محلول کودی هم سریع به صورت غیرقابل استفاده در می‌آید، استفاده از این سویه‌ها می‌تواند در کاهش علائم کمبود روی در گیاهان و همچنین افزایش جذب روی توسط گیاهان مؤثر باشند. هاتز[10] و برون (۲۰۰۴) گزارش کرد که ۳۳ درصد جمعیت جهان دچار کمبود روی می‌باشند بین ۴ تا ۷۳ درصد در کشورهای مختلف متغیر است. استفاده از باکتری‌ها به عنوان یک راه‌حل برای برطرف کردن کمبود عناصر کم مصرف غذایی در گیاهان (راج[11]، ۲۰۰۲) و به‌تبع آن برطرف کردن سوتغذیه عناصر کم مصرف غذایی مانند روی در انسان‌ها می‌باشد.

## نتیجه‌گیری

با افزایش غلظت نمک $ZnCO_3$ در گلدان سویه‌ی P۱۹ توانست جذب روی را تا ۵۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم اندام هوایی افزایش دهد. این نتایج بیانگر نقش این باکتری‌ها در افزایش فراهمی روی و انحلال روی از منابع کم محلول روی در ریزوسفر می‌باشد. عدم کارایی کودهای محلول

1. Ahmad
2. Asghar
3. Huang
4. Cheng
5. Meyer
6. Igbal
7. Cakmak
8. Singh
9. Kalbasi
10. Hotz and Brown
11. Raj

Archive of SID

www.SID.ir

روی مانند سولفات روی در خاک‌های آهکی به دلیل تبدیل از شکل محلول به فرم غیر محلول در خاک می‌باشد و استفاده مداوم از این کودها باعث تجمع روی در خاک به صورت نامحلول یا با حلالیت بسیار کم می‌شود. نتایج نشان داد که در تعدادی از سویه‌ها (مانند P۱۹) با افزایش غلظت نمک نامحلول روی در گلدان جذب توسط گیاه نیز افزایش یافت. با توجه به این نتایج می‌توان نتیجه گرفت که این باکتری‌ها می‌توانند در افزایش کارایی کودهای محلول روی مؤثر باشند. همچنین در شرایطی که خاک دارای منبع قابل توجهی از شکل‌های نامحلول یا کم محلول روی در خاک باشد، احتمالاً این باکتری‌ها نقش مؤثری را در فراهم نمودن روی مورد نیاز گیاه از این منابع دارند. به منظور اثبات قطعی این نتایج انجام آزمایش مزرعه‌ای الزامی می‌باشد.

**جدول ۱- مقایسه توان انحلال نمک‌های نامحلول روی توسط سویه‌های مختلف سودوموناس فلورسنت در محیط جامد و مایع**

| باکتری | قطر هاله (cm) | قطر هاله به کلونی | مقدار روی ($mg.L^{-1}$) | pH | قطر هاله (cm) | قطر هاله به کلونی | مقدار روی ($mg.L^{-1}$) | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **ZnO** | | | | **$ZnCO_3$** | | | |
| *P.putida* P1 | ۰/۸۹ c | ۱/۸۲ b | ۶۶۶ a | ۴/۲ b | ۱/۴۳ b | ۲/۷۹ a | ۷۱۰ bc | ۳/۳ c |
| *P.putida* P2 | ۰/۶۰ d | ۱/۲۰ c | ۴۹ e | ۶/۶ a | ۰/۱۳ e | ۰/۲۷ e | ۸۰۰ b | ۳/۹ c |
| *P.putida* P3 | ۱/۰۰ ab | ۲/۰۰ b | ۳۶۱ d | ۶/۲ a | ۰/۵۸ de | ۱/۱۷ d | ۶۷۰ c | ۳/۱ c |
| *P.putida* P19 | ۱/۰۰ ab | ۱/۸۹ b | ۴۸۷ c | ۴/۱ b | ۱/۰۰ c | ۲/۰۰ b | ۸۳۰ b | ۳/۴ c |
| *P.putida* R69 | ۱/۳۲ a | ۲/۲۰ ab | ۴۲ e | ۶/۵ a | ۰/۷۵ d | ۱/۳۸ c | ۵۹۰ d | ۵/۷ b |
| *P.fluorescens* R187 | ۱/۲۰ a | ۲/۴۰ a | ۳۹ e | ۶/۶ a | ۰/۷۰ d | ۱/۵۸ c | ۶۴۰ c | ۵/۱ b |
| *P.aeroginosa* GRP3 | ۱/۱۸ a | ۱/۹۷ b | ۵۷۵ b | ۴/۰ b | ۱/۱۷ c | ۲/۱۴ ab | ۹۷۰ a | ۳/۳ c |
| *P.aeroginosa* MPFM | ۱/۲۰ a | ۲/۰۰ b | ۷۰۱ a | ۴/۳ b | ۱/۷۰ a | ۲/۹۹ a | ۵۳۰ d | ۶/۳ a |
| شاهد | – | – | ۲۴ e | ۶/۷ a | – | – | ۱۵ e | ۶/۶ a |

*pH- محیط کشت در زمان تلقیح ۷/۲ بوده است

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

**جدول ۲- نتایج حاصل از ارزیابی صفات محرک رشدی جدایه‌های حل‌کننده نمک‌های نامحلول روی**

| سویه | حل کنندگی فسفات | حل کنندگی فسفات | pH | توان تولید آنزیم ACC-deaminase | سیدروفور | اکسین | سیانید هیدروژن |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | قطر هاله به کلونی | ($mg.L^{-1}$) | | | قطر هاله به کلونی | ($mg.L^{-1}$) | |
| *P.putida* P1 | ۱/۶۹ c | ۲۶۹/۱۵ cd | ۴/۰۸ | + | ۱/۶۵ a | ۳/۹۹ c | – |
| *P.putida* P2 | ۲/۳۷ b | ۳۶۵/۷۳ b | ۳/۵۵ | - | ۱/۴۸ b | ۶/۲۳ a | – |
| *P.putida* P3 | ۱/۸۲ **c** | ۳۱۹/۱۱ c | ۴/۳۲ | - | ۱/۶۷ a | ۵/۰۲ b | – |
| *P.putida* P19 | ۱/۵۵ **c** | ۳۲۶/۸۳ c | ۴/۱۲ | - | ۱/۵۷ ab | ۴/۹۹ b | – |
| *P.putida* R69 | ۲/۴۰ b | ۱۶۱/۴۳ e | ۴/۶۰ | - | ۱/۷۵ a | ۱/۸۱ e | – |
| *P.fluorescens* R187 | ۳/۳۲ a | ۴۵۲/۴۰ a | ۳/۴۰ | - | ۱/۴۳ b | ۲/۴۵ d | – |
| *P.aeroginosa* GRP3 | ۲/۶۴ b | ۳۲۲/۲۸ c | ۴/۱۹ | - | ۱/۲۲ b | ۱/۰۲ f | + |
| *P.aeroginosa* MPFM | ۱/۹۹ bc | ۲۴۶/۳۹ d | ۴/۳۱ | - | ۰/۵۲ c | ۱/۱۲ f | – |

+: نشان دهنده اینست که سویه مورد نظر توانایی تولید آن فاکتور را دارا می‌باشد.

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

Archive of SID

www.SID.ir

**جدول ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف ZnO بر افزایش غلظت و جذب روی توسط لوبیا در حضور سویه‌های مختلف سودوموناس فلورسنت**

| سویه | *P.putida* P1 | *P.putida* P19 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 | *P.putida* P1 | *P.putida* P19 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| غلظت ($mg.Kg^{-1}$) | جذب ($\mu g.Pot^{-1}$) | | | | غلظت ($mg.Kg^{-1}$) | | | |
| ۰ | ۸ d | ۸ d | ۸ d | ۹ c | ۱۰/۰ d | ۹/۵ d | ۹/۸ d | ۹/۹ c |
| ۱۲۵ | ۲۹ c | ۲۷ c | ۹ c | ۱۱ b | ۲۰/۸ c | ۲۰/۱ c | ۱۱/۱ c | ۱۲/۴ b |
| ۲۵۰ | ۳۶ b | ۳۵ b | ۱۱ a | ۱۲ ab | ۲۵/۱ b | ۲۴/۸ b | ۱۲/۲ a | ۱۲/۸ ab |
| ۵۰۰ | ۴۶ a | ۴۷ a | ۱۲ a | ۱۳ a | ۳۰/۹ a | ۳۲/۳ a | ۱۲/۸ a | ۱۳/۴ a |
| میانگین* | ۳۰ a | ۲۹ a | ۱۰ b | ۱۱ b | ۲۱/۷ a | ۲۱/۶ a | ۱۱/۵ c | ۱۲/۱ b |

در ستون مربوط به غلظت نمک میانگین‌های دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

میانگین*: میانگین‌های جذب و غلظت که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

**جدول ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف ZnO بر افزایش وزن‌تر و خشک اندام هوایی لوبیا در حضور سویه‌های مختلف سودوموناس فلورسنت**

| سویه | *P.putida* P1 | *P.putida* P19 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 | *P.putida* P1 | *P.putida* P19 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| غلظت ($mg.Kg^{-1}$) | وزن تر ($gr.Pot^{-1}$) | | | | وزن خشک ($gr.Pot^{-1}$) | | | |
| ۰ | ۱۱/۶ b | ۱۲/۹ b | ۱۱/۹ b | ۱۳/۱ b | ۰/۷۷ b | ۰/۸۶ b | ۰/۷۹ b | ۰/۸۷ b |
| ۱۲۵ | ۲۰/۸ a | ۲۰/۲ a | ۱۲/۸ a | ۱۴/۱ a | ۱/۳۸ a | ۱/۳۵ a | ۰/۸۶ ab | ۰/۹۴ ab |
| ۲۵۰ | ۲۱/۵ a | ۲۱/۱ a | ۱۳/۷ a | ۱۴/۴ a | ۱/۴۳ a | ۱/۴۱ a | ۰/۹۱ a | ۰/۹۶ a |
| ۵۰۰ | ۲۲/۵ a | ۲۱/۷ a | ۱۳/۷ a | ۱۴/۴ a | ۱/۵۰ a | ۱/۴۵ a | ۰/۹۲ a | ۰/۹۶ a |
| میانگین* | ۱۹/۱ a | ۱۹/۰ a | ۱۳/۰ c | ۱۴/۰ b | ۱/۲۷ a | ۱/۲۶ a | ۰/۸۷ c | ۰/۹۳ b |

**جدول ۵- تأثیر غلظت‌های مختلف $ZnCO_3$ بر افزایش غلظت و جذب روی توسط لوبیا در حضور سویه‌های مختلف سودوموناس فلورسنت**

| سویه | *P.putida* P1 | *P.putida* R69 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 | *P.putida* P1 | *P.putida* P19 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| غلظت ($mg.Kg^{-1}$) | جذب ($\mu g.Pot^{-1}$) | | | | غلظت ($mg.Kg^{-1}$) | | | |
| ۰ | ۱۵ d | ۸ d | ۸ d | ۸ d | ۱۰/۰ d | ۹/۵ d | ۹/۸ d | ۹/۹ d |
| ۱۲۵ | ۲۷ c | ۴۴ c | ۲۶ c | ۲۵ c | ۲۰/۲ c | ۲۸/۵ c | ۱۹/۲ c | ۲۰/۰ c |
| ۲۵۰ | ۴۱ b | ۵۸ b | ۳۹ b | ۴۴ b | ۲۸/۴ b | ۳۶/۵ b | ۲۷/۸ b | ۳۰/۴ b |
| ۵۰۰ | ۵۷ a | ۸۱ a | ۵۳ a | ۵۵ a | ۳۸/۲ a | ۵۰/۱ a | ۳۶/۵ a | ۳۷/۹ a |
| میانگین* | ۳۵ b | ۴۸ a | ۳۱ b | ۳۳ c | ۲۴/۲ b | ۳۱/۱ a | ۲۳/۳ b | ۲۴/۶ b |

در ستون مربوط به غلظت نمک میانگین‌های دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

میانگین*: میانگین‌های جذب و غلظت که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

Archive of SID

www.SID.ir

**جدول ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف $ZnCO_3$ بر افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی لوبیا در حضور سویه‌های مختلف سودوموناس فلورسنت**

| سویه | *P.putida* P1 | *P.putida* P19 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 | *P.putida* P1 | *P.putida* P19 | *P.putida* R69 | *P.fluorescens* R187 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| غلظت ($mg.Kg^{-1}$) | وزن تر ($gr.Pot^{-1}$) | | | | وزن خشک ($gr.Pot^{-1}$) | | | |
| ۰ | ۱۲/۲ c | ۱۳/۴ c | ۱۲/۱ b | ۱۲/۴ c | ۰/۸۱ c | ۰/۹۰ c | ۰/۸۰ b | ۰/۸۲ c |
| ۱۲۵ | ۲۰/۷ b | ۲۲/۹ b | ۲۱/۲ a | ۲۰/۲ b | ۱/۳۸ b | ۱/۵۳ b | ۱/۴۲ a | ۱/۳۵ b |
| ۲۵۰ | ۲۱/۹ a | ۲۴/۰ a | ۲۱/۷ a | ۲۱/۵ a | ۱/۴۶ a | ۱/۶۰ a | ۱/۴۵ a | ۱/۴۳ a |
| ۵۰۰ | ۲۲/۳ a | ۲۴/۵ a | ۲۱/۸ a | ۲۱/۷ a | ۱/۴۸ a | ۱/۶۳ a | ۱/۴۵ a | ۱/۴۴ a |
| میانگین* | ۱۹/۳ b | ۲۱/۲ a | ۱۹/۲ bc | ۱۸/۹ c | ۱/۲۸ b | ۱/۴۱ a | ۱/۲۷ bc | ۱/۲۶ c |

در ستون مربوط به غلظت نمک میانگین‌های دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

میانگین*: میانگین‌های وزن‌تر و خشک اندام هوایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند

## فهرست منابع:


1. Abbas-Zadeh, P., H. Asadi-Rhmani, N. Saleh-Rastin, K. Khvazi, and A.A. Soltani. 2009. Evaluation of auxin production from fluorescent pseudomonads and their effects on canola (*Brassica napus* L.). Iran. J. Soil Water Sci. 22(2): 203-215
2. Abbas-Zadeh, P., N. Saleh-Rastin, H. Asadi-Rahmani, K. Khavazi, A. Soltani, R. Shoary-Nejati, and M. Miransari. 2010. Plant growth-promoting activities of fluorescent pseudomonads, isolated from the Iranian soils. Acta. Physiol. Plant 32:281–288
3. Ahmad, F., I. Ahmad, and M. Sahir khan. 2005. Indoleacetic acid production by indigenous isolates of *azotobacter* and *fluorescent pseudomonads* in the presence and absence of tryptophan. Turk. J. Biol. 29: 29-34.
4. Alexander, D.B., and D. A. Zuberer. 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol. Fertil. Soils. 12: 39-45.
5. Ali, B., A.N. Sabri, K. Ljung, and S. Hasnain. 2009a. Quantification of indole-3-acetic acid from plant associated *Bacillus* spp.and their phytostimulatory effect on *Vigna radiata* (L.).World J. Microbiol. Biotechnol. 25:519–526
6. Amico, E.D., L. Cavalca, and V. Andreoni. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Graminaceae from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. FEMS Microbiol. Ecol. 52: 153-162.
7. Asghar, H.N., Z.A. Zaeir., and M. Arshad. 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth ,yield,and oil cotent of canola (*Brassica napus* L.).Aust. J.Agric. Res.55:187-194.
8. Blumer, C., and D. Hass. 2000. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosenthesis. Arch. Microbiol. 173(3): 170-177.
9. Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification. Plant Soil 302:1–17.
10. Chen, Y., E. Jurkevitch, E. Bar-Ness, and Y. Hadar. 1994. Stability constants of pseudobactin complexes with transition metals. Soil Sci. Soc. Am. J. 58:390-396.
11. Cheng, Z., E. Park, and B.R. Glick. 2007. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. Can. J. Microbiol. 53(7):912-8.
12. DiSimine, C.D., J.A. Sayer, and G.M. Gadd. 1998. Solubilization of zinc phosphate by a strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated form a forest soil. Biol. Fertil. Soils 28: 87-94.


Archive of SID

www.SID.ir

13. Dobbelaere, S., J. Vanderleyden, and Y. Okon. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences. 22(2): 107-149.
14. Donate-Correa, J., M. Leon-Barrios, and R. Perez-Galdona. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Island. Plant Soil. 266: 261-272.
15. Echeverria, S.R., M.A.P. Fernandez, S. Vlaar, and T. Finnan. 2003. Analysis of the legume–rhizobia symbiosis in shrubs from central western Spain. J. Appl. Microbiol. 95: 1367–1374.
16. Glick, B.R. 1995. The enhacement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109-117.
17. Hotz, C., and KH. Brown. 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. Food Nutr. Bull. 25:94–204.
18. Huang, X.D. 2004. A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils.Environ. Pollut. 130: 465–476.
19. Iqbal, U., N. Jamil, I. Ali, and H. Hasnain. 2010. Effect of zinc-phosphate-solubilizing bacterial isolates on growth of *Vigna radiata*. Ann. Microbiol. 60:243–248.
20. Jeon, J.S., S.S. Lee, H.Y. Kim, T.S. Ahn, and H.G. Song. 2003. Plant growth promoting in soil by some inoculated microorganism. J. Microbiol.271-276.
21. Kalbasi, M., G.J. Racz, and L.A. Lewen-Rudgers. 1978. Reaction products and solubility of applied zinc compounds in some Manitoba soils. Soil Sci. 125:55–64.
22. Meyer, J.M. 2000. Pyoverdins: pigments, siderophores and potential taxonomic markers of *fluorescent Pseudomonas* species. Arch. Microbiol. 174: 135-142
23. O,Sullivan, D.J., and F. O,Gara. 1992. Traits of *Pseudomonas fluorescens* spp. Involved in suppression of plant root pathogens. Microbial. Rev. 56: 662-676.
24. Ping, L., and W. Boland. 2004.Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*.Trends. plant. Sci.9: 263-266.
25. Raj, S.A. 2002. Biofertilizers for Micronutrients. Biofert. News Lett. 10:8–10.
26. Rashid, M.S., N. Khalil, S. Ayub, S. Alam, and F. Latif. 2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions.Pak.J. Biol. Sci.7(2) 187-196.
27. Saharan, B.S,. and V. Nehra. 2011. plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. Life Sci. Med. Res. 21:1-30
28. Saleem, M., M. Arshad, S. Hussain, and A. Bhatti. S.2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 34:635–648.
29. Sarathambalm C., M. Thangaraju, C. Paulraj, and M. Gomathy. 2010. Assessing the Zinc solubilization ability of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in maize rhizosphere using labelled $^{65}$Zn compounds. Indian J. Microbiol.50 (1):103-109.
30. Saravanan, V.S., S.R. Subramoniam, and S.A. Ra. 2003. Assessing *in vitro* solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (zsb) isolates. Braz. J. Microbiol. 34:121-125.
31. Seshadre, S., Muthukumarasamy, R., Lakshminarasimhan, C. And Ignaacimuthu, S. 2002. Solubilization of inmorganic phosphates by *azospirillum halopraeferans*. Curr. Sci. 79(5): 565-567.
32. Shahab, S., and N. Ahmed. 2008. Effect of various parameters on the efficiency of zinc phosphate solubilization by indigenous bacterial isolates. Afr. J. Biotechnol. 7(10): 1543-1549.
33. Singh, M.V. 2001. Evaluation of current micronutrient stocks in different agro ecological zones of India for sustainable crop production. Fert. News 46:25–28.

Archive of SID

www.SID.ir

34. Sundara, B., V. Natarajan, and K. Hari. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. Field Crop Res.77:43-49.
35. Tolay, I., B. Erenoglu, and I. Cakmak. 2001. Phytosiderophore release in A*egilopsis* and *Triticum* species under zinc and iron deficiencies. J. Exper. Bot. 52:1093-1099.
36. Zaidi, S., S. Usmani, B.R. Singh, and J. Musarrat. 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. Chemosphere 64: 991–997.
37. Zhang, S., M.S. Reddy, and J.W. Kloepper. 2002. Development of Assays for Assessing Induced Systemic Resistance by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria against Blue Mold of Tobacco. Biol. Control 23: 79–86.

Archive of SID

www.SID.ir