

آماده انتشار

ارزیابی ویژگی های محرک رشدی استرپتومایسس های خاک و کاربرد بالقوه آنها در بهبود رشد اولیه ذرت و جذب فسفر

چکیده

توانمندی اکتینومایسس ها در انحلال فسفات اخیراً مورد توجه قرار گرفته است ولی مکانیسم و اثر ترکیبات موجود در محیط بر این فرایند مشخص نیست. در این پژوهش هفت جدایه اکتینومایسس شناسایی و فعالیت انحلال فسفات، تجزیه فیتات، تولید سیدروفور، ایندول استیک اسید (IAA) و هیدروژن سیانید آنها بررسی گردید. بعلاوه آزمایشی گلدانی به منظور ارزیابی قابلیت محرک رشدی جدایه های مذکور بر گیاه ذرت نیز انجام پذیرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که جدایه های منتخب فقط زمانی قادر به انحلال تری کلسیم فسفات بودند که محیط سنتتیک مورد استفاده (SMM جامد) حاوی نیتрат آمونیوم بودند. همچنین فعالیت انحلال تری کلسیم فسفات در محیط مایع نیز از ۱۱-۲۱۶ میکرو گرم در میلی لیتر در محیط حاوی نیترات آمونیوم بود و انحلال فسفات به شدت با کاهش pH محیط همبستگی داشت. توانمندی تجزیه فیتات (۱/۷-۹۵ درصد) و تولید ایندول استیک اسید (۶/۲۶-۲۷/۸۱ میکرو گرم در میلی لیتر) و سیدروفور (نسبت هاله به کلونی ۱/۲۴-۲/۴۵) در همه جدایه ها وجود داشت اما هیچ یک از جدایه ها توان تولید هیدروژن سیانید را نداشتند. تفاوت معنی داری در ارتفاع اندام هوایی، وزن خشک، و جذب فسفر ($P < 0.05$) در گیاهان تلقیح شده با جدایه های استرپتومایسس نسبت به گیاهان شاهد تلقیح نشده وجود داشت. جدایه استرپتومایسس سویه ۴۷ بیشترین توان را در بهبود رشد گیاه داشت درحالیکه گیاهان تلقیح شده با جدایه استرپتومایسس سویه ۵۰ مقدار جذب فسفر بیشتری را از خود نشان دادند. هر دو جدایه را می توان به عنوان مایه تلقیح های بالقوه برای افزایش رشد و جذب فسفر در مراحل اولیه رشد ذرت در نظر گرفت.

کلمات کلیدی: اکتینومایسس، انحلال فسفات، سیدروفور، محرک رشد گیاه، ایندول استیک اسید

مقدمه

میکروارگانسیم ها بخش جدایی ناپذیر از اکوسیستم ها بوده و فعالیت های محرک رشدی گیاه در آنها به مکانسیم های مختلفی از قبیل انحلال فسفات آلی و معدنی (اولیویرا و همکاران، ۲۰۰۹؛ احمد و همکاران، ۲۰۰۸)، تثبیت نیتروژن (احمد و خان، ۲۰۱۱)، سیدروفور (خامنه و همکاران، ۲۰۰۹) و سنتز ایندول استیک اسید (صادقی و همکاران، ۲۰۱۲) نسبت داده می شود. بهبود قابلیت دسترسی عناصر غذایی، کیفیت و عملکرد محصول به وسیله گروههای مختلف میکروبی به طور گسترده گزارش شده است (فیگویردو و همکاران، ۲۰۰۸؛ آروجو و همکاران، ۲۰۰۸). برای حصول به کشاورزی پایدار، توجه روزافزونی به استفاده از مایه تلقیح میکروارگانسیم های محرک رشد گیاه جهت افزایش عملکرد محصول و کاهش استفاده از آفت کش ها و کودهای شیمیایی شده است (آدسموی و کلوپر، ۲۰۰۹).

رایزوباکتری های محرک رشد گیاه (PGPR)، میکروارگانسیم های مفید خاکزی هستند که می توانند به طور مستقیم و غیر مستقیم منجر به بهبود رشد گیاه شوند. تحریک مستقیم رشد گیاه از طریق تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات های نامحلول، کی لیت کردن آهن و ترشح هورمون های گیاهی صورت می پذیرد در حالیکه مکانسیم های غیر مستقیم بهبود رشد گیاه از طریق ممانعت از رشد پاتوژن های گیاهی است (احمد و همکاران، ۲۰۰۸).

جداسازی و تعیین ویژگی های اکتینومایست ها از زیستگاه های متنوع نه تنها به درک نقش این میکروارگانسیم ها در اکوسیستم ها کمک می کند بلکه برای دست یافتن به سویه هایی با کاربرد های صنعتی، دارویی و کشاورزی دارای اهمیت است. اکتینو مایست ها سازگاری های فیزیولوژیک و مورفولوژیک پیچیده ای را در خاک ایجاد می نمایند بنابراین ممکن است نسبت به سایر گروههای میکروبی کمتر تحت تاثیر عوامل نامساعد محیطی قرار بگیرند. این گروه از میکروارگانسیم ها نه تنها یک گروه غالب از میکروفلور خاک را تشکیل می دهند، بلکه قادرند تحت شرایط تنشی اسپور تشکیل داده و زنده بمانند. از سوی دیگر آنها می توانند به طور مؤثری ریشه گیاهان را اشغال نموده و منجر به بهبود رشد گیاه گردند (صادقی و همکاران، ۲۰۱۲). علیرغم پتانسیل های بالقوه بسیار زیاد

استرپتومایسس ها، پژوهش های بسیار کمی، در مقایسه با سایر گروه های میکروبی، در مورد آنها در بخش کشاورزی ایران صورت گرفته است.

در بسیاری از اکوسیستم های خاک، فسفر اغلب از مهمترین عناصر غذایی برای رشد گیاه است گرچه مقادیر کافی فسفر در خاک ها وجود دارد تا بتواند رشد گیاه را تأمین نماید. توانمندی انحلال فسفر به وسیله اکتینومایسس ها در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته است (بارتو و همکاران، ۲۰۰۹). گرچه قابلیت آنها در انحلال منابع فسفر نامحلول مورد ارزیابی قرار گرفته است (اولیویرا و همکاران، ۲۰۰۹) ولی مکانیسم و اثرات ترکیبات موجود در محیط پیرامونی اکتینومایسس ها بر این فرایند مورد توجه چندانی قرار نگرفته است. هرچند که برخی آزمایشات در مورد بهبود رشد گیاه به وسیله استرپتومایسس ها انجام شده (د واسکونسولوس و کاردوسو، ۲۰۰۹) ولی در هیچ یک از آنها توانمندی تولید فیتاز در استرپتومایسس ها گزارش نشده است.

هدف از این پژوهش ارزیابی ویژگی های محرک رشد گیاه (انحلال فسفات معدنی، تجزیه فیتات، تولید ایندول استیک اسید، هیدروژن سیانید و سیدروفور) هفت جدایه منتخب از جدایه های استرپتومایسس و ارزیابی پتانسیل آنها در افزایش رشد اولیه ذرت و جذب فسفر آن می باشد.

مواد و روش ها:

جدایه های مورد استفاده در این تحقیق

در این پژوهش ویژگی های محرک رشدی هفت جدایه اکتینومایسس جداسازی شده از خاکهایی با کاربری های مختلف ارزیابی گردیدند. جدایه های ۵۰،۳۹ و ۶۳ از خاک های اراضی زراعی و جدایه های ۴۳، ۴۵،۴۶ و ۴۷ از خاک های جنگلی-استان گلستان جداسازی شده بودند.

ارزیابی نیمه کمی انحلال فسفات های معدنی و آلی

به منظور ارزیابی انحلال فسفاتهای نامحلول، جدایه ها در محیط (SMM) synthetic minimum medium (گلوکز، ۵؛ نیتрат سدیم یا نیترات آمونیوم، ۲؛ سولفات منیزوم، ۵/۰؛ کلرید پتاسیم، ۵/۰ و سولفات آهن، ۱/۰ گرم در لیتر) حاوی منابع فسفره نامحلول تری کلسیم فسفات (TCP)، آلومینیوم فسفات (Al-P) یا کلسیم فیتات (Ca-Phy) به میزان ۵ گرم در لیتر به عنوان تنها منبع فسفر تلقیح گردید. پس از ۵ روز انکوباسیون در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، قطر هاله به قطر هاله+کلنی اندازه گیری شد.

بررسی انحلال سوبستراهای معدنی فسفات در محیط مایع

برای انجام این آزمایش جدایه ها در ارلن های دارای ۵۰ میلی لیتر محیط SMM حاوی ۱/۵ گرم تری کلسیم فسفات یا یک گرم در لیتر آلومینیوم فسفات، تلقیح و به مدت ۵ روز بر روی شیکر با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد همراه با یک نمونه شاهد تلقیح نشده، تکان داده شدند سپس محیط های کشت سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه) شده و مقدار فسفر محلول در محلول رویی بر اساس روش سلسری و همکاران (۱۹۹۸) سنجش گردید..

اندازه گیری فعالیت فیتاز با استفاده از HPLC

بدین منظور از اساس روش Association of Official Analytical Chemists 1990 Method No. 986.11 (AOAC) استفاده شد. در این تحقیق برای کمی کردن مقادیر مشتقات مختلف تجزیه اینوزیتول هگزا فسفات، کروماتوگرافی زوج یون با استفاده از Ultrasep ES 100 RP18 (۲×۲۵۰ میلی متر) انجام (سندبرگ و آدرین، ۱۹۸۶) و به منظور اسیدی نمودن محیط از اسید کلریدریک استفاده شد. دو میلی لیتر از محیط رقیق شده (به نسبت ۱:۲۵) به ستون (۷/۱۵× سانتی متر) حاوی رزین AG1-X8, 100-200 mesh اضافه شد. ستون با ۲۵ میلی لیتر آب و ۲۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲۵ میلی مولار شسته شد. سپس میو اینوزیتول فسفات با ۲۰ میلی لیتر اسید کلریدریک دو مولار رقیق گردید. به منظور تغلیظ محلول به دست آمده، از تبخیر کننده خلاء جهت خشک کردن آن استفاده شد. یک میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر برای حل کردن بقایا اضافه و ۲۰ میکرولیتر از نمونه حاصل با استفاده از Ultrasep ES 100 RP18 (۲×۲۵۰ میلی متر) کروماتوگرافی شد. ستون در دمای ۴۵ درجه سلسیوس و با استفاده از ۰/۲ میلی لیتر در دقیقه شوینده حاوی فورمیک اسید: متانول: آب: تترابوتیل آمونیوم هیدروکسید (۵:۵۶:۴۴ حجمی/حجمی)، pH 4.25 (سندبرگ و آدرین، ۱۹۸۶) راه اندازی گردید. مخلوطی از استرهای میو اینوزیتول هگزا، پنتا، تترا و تری فسفات (IP3-IP6) به عنوان استاندارد استفاده شد.

اثر منابع نیتروژنه بر آزادسازی فسفر و pH

نیترات سدیم موجود در محیط SMM به وسیله نیترات آمونیوم جایگزین گردید. pH محیط ها قبل از اتوکلاو بر روی ۷ تنظیم و در ابتدا و انتهای آزمایش اندازه گیری گردیدند. هر یک از جدایه ها در محیط رشد داده شده و پس از گذشت ۵ روز مقدار فسفر آزاد شده و نیز تغییر pH اندازه گیری شدند.

سنجش تولید ایندول استیک اسید

توانمندی بیوسنتز ایندول استیک اسید جدایه ها در محیط یست اکسترکت-مالت اکسترکت حاوی ال-تریپتوفان (۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) بررسی گردید. بدین منظور محیط های کشت تلقیح شده با جدایه های مورد مطالعه به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد انکوباسیون گردید. در مرحله بعد سوسپانسیون باکتری را سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه) نموده و مقدار IAA در محلول رویی به روش روبیو و همکاران (۲۰۰۰) تعیین گردید.

ارزیابی تولید سیدروفور و هیدروژن سیانید

سنجش توان تولید سیدروفور بر اساس روش الکساندر و زوبر (۱۹۹۱) انجام شد. پس از تهیه محیط جامد کروم آزرول اس، جدایه ها بر روی محیط کشت شده و در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۵ روز انکوباسیون گردیدند. وجود هاله نارنجی در اطراف کلنی ها به عنوان شاخصی از توانمندی جدایه در جذب آهن از طریق ترشح سیدروفور در نظر گرفته شد. در پایان آزمایش، نسبت قطر هاله به قطر کلنی+قطر هاله اندازه گیری شد. روش رنگ سنجی سولفوسیانات (گاستریک، ۱۹۷۵) برای تعیین توان تولید هیدروژن سیانید مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۴ روز انکوباسیون در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، تغییر رنگ کاغذهای صافی بررسی شد.

آزمایش گلدانی

به منظور بررسی تأثیر باکتری های استریتومایسس بر رشد و نمو گیاه ذرت آزمایشی در گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تلقیح هفت جدایه استریتومایسس و نیز یک تیمار شاهد بود. بذور ذرت رقم سینگل کراس با استفاده از اتانول ۹۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی و جهت حذف هیپوکلریت سدیم باقیمانده در سطح بذور، چندین بار شستشو با آب مقطر استریل صورت گرفت. تعداد ۶ عدد بذر استریل سطحی شده به گلدان های ۱/۵ کیلوگرمی حاوی خاک غربال شده منتقل و با یک میلی لیتر از سوسپانسیون جدایه های استریتومایسس مورد مطالعه (با جمعیت 10^6 در هر میلی لیتر) مایه زنی شد. پس از سبز شدن بذرها، تعداد آنها به ۴ عدد در هر گلدان کاهش یافت. خاک مورد آزمایش دارای بافت لوم رسی شنی (شن، ۲۳ درصد، سیلت ۳۷ درصد و رس ۴۰ درصد)، pH ۷/۸؛ هدایت الکتریکی، ۱/۱ دسی زیمنس بر متر؛ کربن آلی، ۱/۴۸ درصد؛ پتاسیم، ۲۸۹ میلی گرم بر کیلوگرم؛ فسفر قابل دسترس، ۲۴ میلی گرم بر کیلوگرم؛ فسفر کل، ۱۲۷ میلی گرم بر کیلوگرم، فسفر آلی ۳۷ میلی گرم بر کیلوگرم، نیتروژن، ۰/۱۴ درصد بود. آبیاری تیمارهای آزمایشی به منظور حفظ رطوبت گلدان ها تا ۷۰ درصد ظرفیت زراعی صورت می گرفت. آزمایش گلدانی مذکور در طی فصل زراعی ذرت و تحت شرایط نور و دمای طبیعی (بیرون از گلخانه) انجام و عملیات داشت شامل آبیاری (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) و مبارزه با علف های هرز بر روی آنها صورت گرفت. پس از گذشت ۳۰ روز،

گیاهان برداشت و شاخص های رشدی گیاه شامل (وزن اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و ارتفاع اندام هوایی) اندازه گیری شدند. خشک کردن نمونه ها در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد و تا زمان رسیدن به وزن ثابت در آون انجام شد و نمونه های خشک شده برای اندازه گیری فسفر پودر گردید.

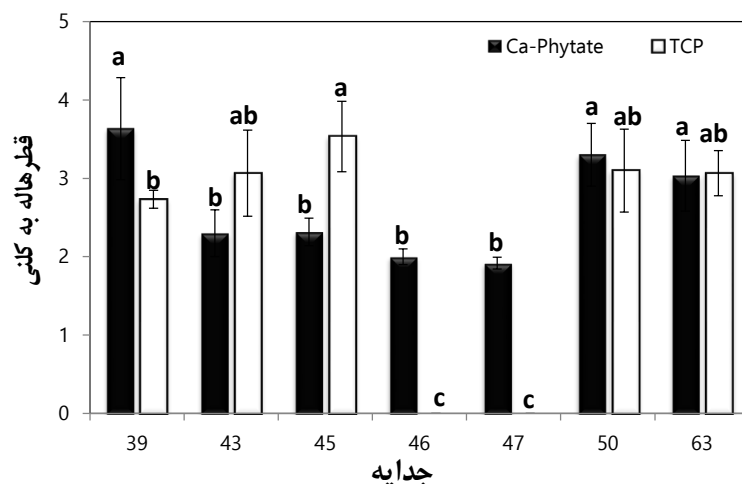
تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین ها بر مبنای آزمون دانکن ($P < 0.05$) محاسبه شد.

نتایج

انحلال فسفات در محیط جامد

ارزیابی نیمه کمی انحلال منابع فسفات مختلف شامل تری کلسیم فسفات، آلومینیوم فسفات و کلسیم فیتات با استفاده از جدایه های استرپتومایسس در محیط های جامد حاوی دو منبع نیتروژنه مختلف (نیترات سدیم یا نیترات آمونیوم) انجام شد. در محیط های حاوی نیترات آمونیوم، هاله شفاف در اطراف کلنی اغلب جدایه هایی مشاهده شد که منبع فسفات آنها حاوی کلسیم بود (تری کلسیم فسفات و کلسیم فیتات) (شکل ۱). در حالیکه در محیط های حاوی آلومینیوم فسفات، هیچ یک از جدایه ها در اطراف کلنی خود هاله تولید نکردند. تفاوت قابل توجهی در الگوی انحلال نمک های کلسیم فسفات در جدایه ها وجود داشت (شکل ۱). شاخص انحلال کلسیم فیتات (نسبت قطر هاله به قطر هاله + کلنی) در سه جدایه ۵۰، ۳۹ و ۶۳ به طور معنی داری ($P < 0.001$) بیشتر از سایر جدایه ها بود. شاخص انحلال در مورد تری کلسیم فسفات روندی متفاوت با آنچه که در مورد کلسیم فیتات مشاهده شده بود را از خود نشان داد. انحلال نیمه کمی تری کلسیم فسفات (۲/۷۳-۳/۵۳) در همه جدایه ها، به جز جدایه های ۴۶ و ۴۷، مشاهده شد. بیشترین مقدار شاخص حل کنندگی در مورد تری کلسیم فسفات با استفاده از جدایه ۴۵ به دست آمد. در حالیکه در محیط حاوی کلسیم فیتات، جدایه ۳۹ بیشترین میزان این شاخص را از خود نشان داد. در محیط های حاوی نیترات سدیم هیچ یک از جدایه های استرپتومایسس توانمندی تولید هاله را از خود نشان ندادند، به جز جدایه ۴۶، که در محیط حاوی فیتات کلسیم و نیترات سدیم در اطراف کلنی خود هاله ایجاد نمود.



شکل ۱- انحلال

نیمه کمی کلسیم فیتات و تری کلسیم فسفات به وسیله جدایه های استرپتومایسس در محیط حاوی نیترات آمونیوم پس از ۵ روز انکوباسیون.

انحلال فسفات در محیط مایع

برای اثبات نتایج حاصل از آزمایش نیمه کمی فسفات، آزاد سازی فسفر در محیط مایع نیز اندازه گیری شد. اثر منابع مختلف فسفر (فسفات آلومینیوم و تری کلسیم فسفات) و نیتروژن (نیترات سدیم و نیترات آمونیوم) بر قابلیت انحلال فسفات در محیط SMM مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که علیرغم عدم ایجاد هاله در اطراف کلنی جدایه های ۴۶ و ۴۷ در محیط جامد، تمامی جدایه ها توانمندی انحلال تری کلسیم فسفات در محیط مایع را دارا بوده و تفاوت معنی داری ($P < 0.001$) در بین آنها وجود داشت (جدول ۱). فعالیت انحلال فسفر جدایه ها در محیط مایع از ۱۱ تا ۲۱۶ میکرو گرم در میلی لیتر در محیط حاوی تری کلسیم فسفات و نیترات آمونیوم متفاوت بود. در حالیکه انحلال بسیار کمتری ($2/90 - 13/92$ میکرو گرم در میلی لیتر) در محیط حاوی نیترات سدیم رخ داد (جدول ۱). هر چند که همبستگی بالایی ($r = 0.814$, $P < 0.001$) بین انحلال تری کلسیم فسفات و دو منبع نیتروژن وجود داشت. همانند آنچه در محیط جامد مشاهده گردید، جدایه های ۴۶ و ۴۷ حداقل انحلال فسفر را با هر دو منبع نیتروژن نشان دادند. همبستگی بالایی بین انحلال تری کلسیم فسفات در محیط جامد و مایع به خصوص در محیط های حاوی نیترات آمونیوم مشاهده شد ($r = 0.822$, $P < 0.001$). گرچه الگوی کلی انحلال فسفات در بین جدایه ها مشابهت داشت ولی بهترین کارایی انحلال در محیط های جامد و مایع

در جدایه های متفاوتی مشاهده شد. جدایه ۳۹ بیشترین آزادسازی فسفر را در محیط های جامد حاوی $\text{TCP} + \text{NH}_4\text{NO}_3$ و AlPO_4 $+\text{NaNO}_3$ از خود نشان داد. در حالیکه در محیط مایع، جدایه ۵۰ در محیط حاوی TCP و نیترات سدیم بیشترین میزان آزاد سازی فسفر را داشت (جدول ۱). وقتی که از نیترات سدیم به عنوان منبع نیتروژن استفاده شد، تفاوت چندانی بین میزان آزادسازی فسفر از منابع تری کلسیم فسفات و آلومینیوم فسفات وجود نداشت. همچنین در محیط حاوی آلومینیوم فسفات و نیترات آمونیوم، آزادسازی فسفر در محلول رویی مشاهده نشد.

در همه محیط ها تغییرات pH مشاهده شد که می تواند تا اندازه ای مسئول الگوی انحلال فسفات باشد. در محیط های حاوی نیترات آمونیوم تمامی جدایه ها به طور معنی داری ($P < 0.001$) مقدار pH را در سطوح مختلفی کاهش دادند. تلقیح جدایه های مختلف منجر به کاهش ۱/۶۵-۲/۲ واحدی pH در محیط حاوی آلومینیوم فسفات گردید. این امر مانع انحلال آن شده و آزاد سازی فسفر مشاهده نشد. در محیط های حاوی نیترات سدیم، تلقیح منجر به افزایش معنی دار pH شد. به طور کلی، افزایش pH در محیط های حاوی $\text{TCP} + \text{NaNO}_3$ بیشتر از $\text{AlPO}_4 + \text{NaNO}_3$ بود.

در جدایه های مختلف، همبستگی منفی معنی داری ($r = -0.816$, $P < 0.001$) بین مقدار فسفر آزاد شده از تری کلسیم فسفات، در حضور نیترات آمونیوم، و pH وجود داشت، در حالیکه انحلال فسفات در محیط های حاوی نیترات سدیم را نمی توان با تغییر pH توجیه نمود.

در مورد جدایه های ۴۶ و ۴۷ تفاوت قابل توجهی در آزاد سازی فسفر از تری کلسیم فسفات وجود نداشت. هر دو جدایه توانمندی کمی در تغییر pH محیط در پاسخ به منبع نیتروژنه مورد استفاده داشتند.

جدول ۱- انحلال فسفات های نامحلول و تغییرات pH در محیط مایع به وسیله جدایه های استرپتومایسس در حضور دو منبع نیتروژن.

جدایه ها	$\text{TCP}(\text{NH}_4\text{NO}_3)$		$\text{TCP}(\text{NaNO}_3)$		$\text{AlPO}_4(\text{NaNO}_3)$	
	P(mg l ⁻¹)	pH	P(mg l ⁻¹)	pH	P(mg l ⁻¹)	pH
۳۹	۲۱۶/۶۷ a	۳/۵۱ b	۷/۶۵ c	۷/۶۹ c	۸/۹۱ a	۷/۳۱ b

۴۳	۱۴۶/۶۷ d	۳۳/۳b	۵/۷۳ d	۷/۶۵ c	۰/۵۵ cd	۷/۰۳ d	فعالیت فیتاز و تجزیه فیتات الگوی
۴۵	۱۰۹/ ۳۳e	۴/۵۸ a	۳/۹۹e	۷/۵۵ cd	۰/۴۸ cd	۶/۹۹ d	
۴۶	۱۱/۳۳ f	۴/۹۶ a	۳/۲۷e	۷/۳۶ e	۰/۸۴ cd	۷/۳۳ b	
۴۷	۱۳/۳۳ f	۴/۹۴ a	۲/۹۰e	۷/۴۱ de	۰/۱۵ d	۷/۲۴ bc	
۵۰	۲۱۲/۶۷ b	۳/۶۲ b	۱۳/۹۲a	۸/۳۵ b	۳/۲۳ b	۷/۵۸ a	
۶۳	۱۹۷/ ۳۳C	۳/۵۴ b	۱۱/۸۳b	۸/۷۸ a	۱/۵۳ c	۷/۴۶ ab	

تجزیه میو اینوزیتول هگزاکس فسفات (IP₆) در بین جدایه های مختلف تفاوت معنی داری (P<0.01) داشت (جدول ۲). چهار جدایه ۴۵، ۴۳، ۳۹ و ۶۳ بیش از ۵۰ درصد از مقدار اولیه میواینوزیتول هگزافسفات را تجزیه نمودند در حالیکه سه جدایه دیگر (۴۶، ۴۷ و ۵۰) پس از ۱۰ روز تخمیر تنها توان تجزیه ۱/۷ تا ۴۷/۵ درصد IP₆ اولیه را داشتند. همه جدایه ها بجز جدایه ۵۰ و ۴۶ الگوی مشابهی را در تجزیه از خود نشان دادند و اینوزیتول پنتا فسفات (IP₅) محصول اصلی فرآیند تجزیه بود (جدول ۲). در حالیکه در جدایه های ۴۶ و ۵۰ مقدار تولید میواینوزیتول های حاصل از تجزیه به ترتیب IP₅>IP₃>IP₄ و IP₄>IP₃>IP₅ بود. مقدار نسبی مشتقات اینوزیتول فسفات های تولید شده به وسیله جدایه های مورد بررسی نیز تفاوت معنی داری داشت (جدول ۲).

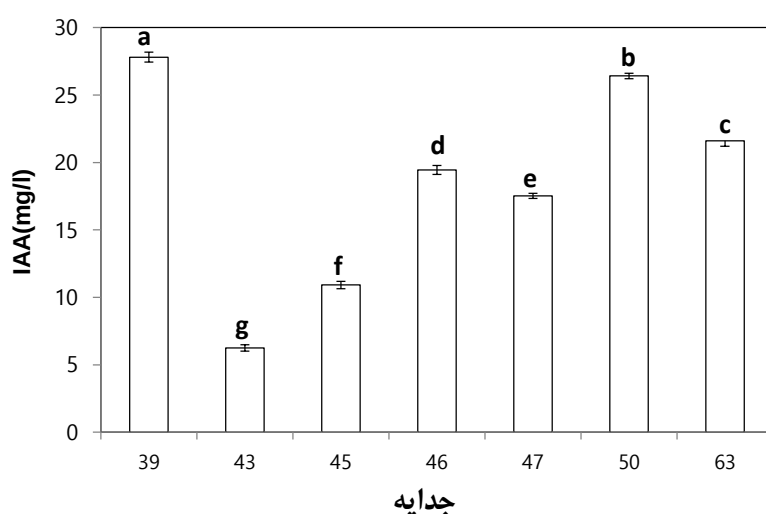
جدول ۲- تجزیه IP₆ و تولید مشتقات اینوزیتول فسفات حاصل از آن به وسیله جدایه های مختلف استرپتومایسس

Isolates	InsP6	InsP5 (% of initial total IP6)	InsP4	InsP3
۳۹	۲۴/۹ d	۶۸/۲a	۳/۹d	۲/۹b
۴۳	۳۴/۴ c	۴۰/۸C	۲۱/۲b	۴/۱ b
۴۵	۳۵/۲ c	۴۱/۹C	۱۸/۸bc	۴/۰b
۴۶	۹۸/۳ a	۰/۶ f	۰/۳e	۰/۸C
۴۷	۵۲/۵b	۲۹/۷d	۱۵/۸C	۱/۵C
۵۰	۵۳/۳b	۱۱/۳e	۱۹/۸b	۱۵/۵a
۶۳	۵ e	۴۸/۵b	۳۰/۸a	۱۶/۵a

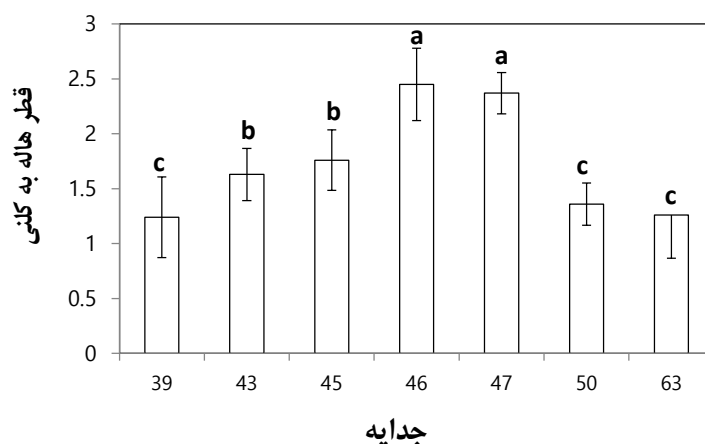
حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

بیوسنتز IAA، سیدروفور و سیانید هیدروژن

توانمندی تولید IAA در همه جدایه های استرپتومایسس وجود داشت و تفاوت معنی داری ($P<0.01$) در میزان ترشح این متابولیت به وسیله جدایه های مختلف وجود داشت (شکل ۲). جدایه ۳۹ بیشترین مقدار (۲۷/۸ میکروگرم در میلی لیتر) ایندول استیک اسید را در محیط مایع تولید نمود که بیش از چهار برابر میزان تولید آن در جدایه ۴۳ بود. ترشح سیدروفور در همه جدایه ها مثبت بود و از طریق ایجاد هاله نارنجی در اطراف کلنی های آنها در محیط CAS آگار اثبات گردید. تفاوت معنی داری ($P<0.01$) در قابلیت رشد جدایه ها در محیط CAS آگار و نسبت قطر هاله به کلنی آنها وجود داشت. بیشترین مقدار سیدروفور به وسیله جدایه ۴۶ تولید شد که قطر هاله به کلنی آن ۲/۴۵ بود (شکل ۳). همچنین هیچ یک از جدایه ها قادر به تولید سیانید هیدروژن نبودند.



شکل ۲- تولید IAA به وسیله جدایه های مختلف استرپتومایسس در محیط یست اکسترکت- مالت اکسترکت



شکل ۳- تولید سیدروفور به وسیله جدایه های مختلف استرپتومیسیس در محیط CAS آگار

آزمایش گلدانی

تمامی جدایه ها از نظر توانمندی تحریک رشد ذرت در آزمایشی گلدانی مورد ارزیابی قرار گرفتند. گلدان های تیمار شده با استرپتومیسیس ها ارتفاع گیاه افزایش یافت بطوریکه حداقل مقدار آن در تیمار شاهد (۳۱/۷ سانتی متر) و حداکثر آن به ۴۰/۳ سانتی متر در گیاهان تلقیح شده با جدایه ۴۷ رسید. در بین جدایه های مختلف تفاوت معنی داری ($P < 0.05$) از نظر افزایش ارتفاع اندام هوایی وجود داشت. جدایه های ۳۹، ۴۳ و ۴۷ به طور معنی داری ($P < 0.05$) موجب بهبود ارتفاع گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد شدند (جدول ۳). زیست توده خشک ریشه گیاهان ذرت از حداقل ۴۲۳/۳ میلی گرم در گیاهان شاهد تا حداکثر ۸۲۳/۳ میلی گرم در گیاهان تیمار شده با جدایه ۴۶ تفاوت داشت. تمامی جدایه های مورد بررسی، به جز جدایه ۵۰، وزن خشک ریشه را در مقایسه با شاهد به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش دادند. مقدار وزن خشک اندام هوایی از ۷۲۰ میلی گرم در گیاهان شاهد تا ۱۰۱۰ میلی گرم در گیاهان ذرت تلقیح شده با جدایه ۴۷ متفاوت بود. گرچه تمامی جدایه ها وزن خشک اندام هوایی را افزایش دادند (۲/۸-۴۰/۳ درصد) ولی تنها جدایه ۴۷ به طور معنی داری ای ن پارامتر را افزایش داد. تمامی جدایه های مورد بررسی منجر به افزایش سطح برگ شدند و مقدار این شاخص از حداقل ۲۳۰ (تیمار

شاهد) به ۲۷۵ سانتی متر مربع در گیاهان تیمار شده با جدایه ۴۷ رسید. علیرغم افزایش ۱۹/۷ درصدی سطح برگ در اثر تلقیح با جدایه های استرپتومایسس، تفاوت معنی داری در این افزایش مشاهده نشد ($P>0.05$). بیشترین میزان جذب فسفر (۷/۱۸ میلی گرم در گیاه) با استفاده از جدایه ۵۰ به دست آمد، درحالیکه مقدار فسفر جذب شده در گیاهان تلقیح نشده حداقل (۴/۱۶ میلی گرم در گیاه) بود. تمامی جدایه های مورد بررسی، بجز جدایه ۴۶، منجر به بهبود معنی دار ($P<0.05$) جذب فسفر گیاه شدند (جدول ۳) که این امر مؤید آن است که استرپتومایسس ها، فسفو باکتری های محرک رشد گیاه می باشند.

نتایج نشان داد که گیاهان ذرت تلقیح نشده، توانمندی ضعیفی در استفاده از منابع فسفر طبیعی موجود در خاک مورد بررسی داشتند. مقدار فسفر جذب شده در حضور جدایه های استرپتومایسس بیشتر از گیاهان تیمار نشده بود که این امر مؤید فعالیت محرک رشدی بیشتر جدایه های تلقیح شده در مقایسه با جمعیت های بومی میکروبی موجود در ریزوسفر است. بیشترین میزان جذب فسفر با استفاده از جدایه ۵۰ به دست آمد، که این جدایه مؤثرترین جدایه در تولید فسفاتاز قلیایی (داده ها نشان داده نشده است) و آزادسازی فسفر در محیط SMM حاوی نترات سدیم به عنوان منبع نیتروژن بود.

جدول ۳- اثر تلقیح جدایه های استرپتومایسس بر پارامترهای رشد گیاه ذرت

جدایه ها	TCP(NH ₄ NO ₃)		TCP(NaNO ₃)		AlPO ₄ (NaNO ₃)	
	P(mg l ⁻¹)	pH	P(mg l ⁻¹)	pH	P(mg l ⁻¹)	pH
۳۹	۲۱۶/۶۷ a	۳/۵۱ b	۷/۶۵ c	۷/۶۹ c	۸/۹۱ a	۷/۳۱ b
۴۳	۱۴۶/۶۷ d	۳۳/۳b	۵/۷۳ d	۷/۶۵ c	۰/۵۵ cd	۷/۰۳ d
۴۵	۱۰۹/ ۳۳e	۴/۵۸ a	۳/۹۹e	۷/۵۵ cd	۰/۴۸ cd	۶/۹۹ d
۴۶	۱۱/۳۳ f	۴/۹۶ a	۳/۲۷e	۷/۳۶ e	۰/۸۴ cd	۷/۳۳ b
۴۷	۱۳/۳۳ f	۴/۹۴ a	۲/۹۰e	۷/۴۱ de	۰/۱۵ d	۷/۲۴ bc
۵۰	۲۱۲/۶۷ b	۳/۶۲ b	۱۳/۹۲a	۸/۳۵ b	۳/۲۳ b	۷/۵۸ a
۶۳	۱۹۷/ ۳۳c	۳/۵۴ b	۱۱/۸۳b	۸/۷۸ a	۱/۵۳ c	۷/۴۶ ab

بحث

انحلال میکروبی شکل های مختلف فسفر معدنی در پژوهش های قبلی به اثبات رسیده است (ریچاردسون و همکاران، ۲۰۰۹؛ وایت لو و همکاران، ۱۹۹۹). از سوی دیگر نقش منبع نیتروژن در انحلال فسفات نیز مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شده است (رلوانی و همکاران، ۲۰۰۸). همدالی و همکاران (۲۰۰۸) بیان داشتند که ۲۰ درصد از جمعیت اکتینومایست های قابل کشت خاکزی قادر به انحلال فسفات معدنی نامحلول بوده و جدایه های مذکور متعلق به جنس های استرپتومایسس و میکرومونوسپورا بودند. بایستی به این نکته توجه نمود که انتظار می رود تفاوت بسیار زیادی در میزان و مکانیسم آزادسازی فسفر در این گروه از میکروارگانیسم ها وجود داشته باشد. میکروارگانیسم های خاک استراتژیهای مختلفی را در آزادسازی منابع فسفر بکار می گیرند که از آن جمله می توان به آزادسازی آنیون های آلی، سیدروفورها، پروتون ها، دی اکسید کربن و آنزیم های برون سلولی اشاره نمود (مک گیل و کول، ۱۹۸۱).

انحلال آلومینیوم فسفات وابسته به کاهش pH محیط نیست (مرباخ و همکاران، ۲۰۱۰). به نظر می رسد کی لیت شدن مکانیسم اصلی در انحلال این گروه از ترکیبات فسفات باشد (پوئته و همکاران، ۲۰۰۹). همدالی و همکاران (۲۰۰۸) بیان داشتند که توانمندی اغلب اکتینومایست ها در انحلال فسفر به کاهش pH محیط بیرونی مرتبط نیست. هر چند که نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که قلیایی شدن و اسیدی شدن شدید محیط به منبع نیتروژن محیط بستگی داشته و اسیدی شدن محیط ناشی از منبع نیترات آمونیوم تا اندازه ای انحلال تری کلسیم فسفات را توجیه می نماید. اغلب جدایه های مورد استفاده در این تحقیق، بر خلاف آنچه که توسط همدالی و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده، هاله شفاف در محیط های جامدی که حاوی تری کلسیم فسفات و فیتات کلسیم به عنوان منبع فسفر و نیترات آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن بودند، تولید نمودند.

بایستی توجه داشت که واکنش آنزیمی تنها مکانیسم برای معدنی شدن فیتات است و فیتاز آزادسازی یک یا چند گروه فسفات از میو اینوزیتول هگزاکیس فسفات را آغاز می نماید (شیرر و ترنر، ۲۰۰۷). بنابراین آزادسازی فسفر از کلسیم فیتات به طور جداگانه با استفاده از HPLC اندازه گیری و سپس محصولات حاصل از تجزیه به صورت کمی محاسبه گردید.

فسفر آلی معمولاً ۶۵-۲۹ درصد از فسفر کل خاک را تشکیل می دهد اما در برخی خاک ها فسفر آلی می تواند تا ۹۰ درصد از فسفر کل را شامل گردد (هریسون، ۱۹۸۷). توانمندی بالقوه میکروارگانیسم های خاک در انحلال منابع فسفر نامحلول معدنی بیشتر از قابلیت آنها در تجزیه فیتات است. همبستگی معنی داری بین انحلال فیتات کلسیم در محیط جامد و تجزیه فیتات در محیط مایع حاوی اینوزیتول هگزا فسفات وجود نداشت. تولید هاله در اطراف کلنی ها بر روی محیط جامد حاوی کلسیم فیتات نشان دهنده ظرفیت انحلال فیتات

کلسیم از طریق ترشح آنیون های آلی یا تولید منابع کی لیت کننده است (موکش و همکاران، ۲۰۰۴). ترشح آنزیم برون سلولی فیتاز به وسیله جدایه های مورد بررسی گزارش شده است (قربانی نصرآبادی و همکاران، ۲۰۱۲). گرچه این جدایه ها توانمندی تجزیه فیتات را از خود نشان دادند ولی تحت شرایط آزمایشگاهی در مقایسه با سایر میکروارگانیسم ها مانند آسپرژیلوس نایجر و ای. کلائی، تولید کنندگان فیتاز ضعیف تری محسوب می گردند. البته بایستی توجه داشت که انحلال فیتات کلسیم، مقدار و ماهیت بیوشیمیایی فیتاز های مترشحه، تغییرات pH محیط و وجود بازدارنده های فیتاز را می توان به عنوان عواملی در نظر گرفت که در الگوی تجزیه فیتات توسطه باکتری های مذکور نقش دارند

کومار و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نمودند که فعالیت فیتاز با مقدار فسفر موجود در خاک مرتبط می باشد و فیتاز باکتریایی مورد استفاده در پژوهش آنها، کارایی خوبی در شرایط pH خنثی تا قلیایی از خود نشان داد. تجزیه میو اینوزیتول هگزافسفات در شرایط آزمایشگاهی با جذب فسفر به وسیله گیاهان ذرت همبستگی نداشت. فقدان همبستگی بین فعالیت فیتاز در شرایط آزمایشگاهی و جذب فسفر در این پژوهش ممکن است به دلایل ذیل باشد:

۱- عدم پایداری آنزیم در شرایط خاک ۲- جذب سطحی آنزیم مترشحه از جدایه های مختلف به سطح ذرات خاک ۳- توانمندی کم آنزیم های تولیدی در هیدرولیز شکل های فسفر آلی بومی خاک ۴- قابلیت دسترسی کم به شکل های فسفر آلی که به وسیله فیتاز قابل تجزیه هستند

اولیویرا و همکاران (۲۰۰۹) قارچ ها و باکتری های مختلف از جمله اکتینومایست هایی را جداسازی نمودند که توانمندی انحلال تری کلسیم فسفات و آلومینیوم فسفات را در محیط جامد دارا بودند اما هیچ یک از جدایه های اکتینومایست مورد بررسی آنها فعالیت تجزیه فیتات در محیط مایع را از خود نشان نداد. نتایج حاصل از این پژوهش به خوبی نشان داد که استرپتومایسس ها توانمندی تولید آنزیم فیتاز برون سلولی را دارا می باشند.

سیدروفورها از منابع کی لیت کننده آهن هستند که به وسیله میکروارگانیسم های مختلفی در پاسخ به کمبود آهن ترشح می شوند (شارما و یوری، ۲۰۰۳). گرچه ترشح سیدروفور یکی از مکانیسم های انحلال فسفات در نظر گرفته می شود (مک گیل و کول، ۱۹۸۱) اما در این پژوهش ترشح سیدروفور با انحلال فسفات در شرایط آزمایشگاهی و با جذب فسفر گیاه در آزمایش گلدانی همبستگی نداشت.

بهبود رشد گیاه و جذب فسفر از مهمترین اولویت های تحقیق در زمینه میکروارگانیسم های محرک رشد گیاه و به خصوص حل کننده های فسفات می باشد. با این وجود، مکانیسم اصلی در بهبود رشد گیاه لزوما توانمندی انحلال فسفات آنها نیست (بارت و

همکاران، ۲۰۱۱). تمامی جدایه های استرپتومایسس جذب فسفر ذرت را افزایش دادند. گرچه پایداری مایه تلقیح در این تحقیق مورد ارزیابی قرار نگرفت اما اثر معنی دار تلقیح استرپتومایسس ها نشان می دهد که این جدایه ها قادر به رقابت با جوامع میکروبی بومی خاک بوده و توانمندی اشغال ریشه های ذرت را دارا بوده است.

همبستگی مستقیمی بین انحراف فسفات در شرایط آزمایشگاهی و جذب فسفر گیاه وجود نداشت. رتبه بندی باکتری های حل کننده فسفات بر اساس پتانسیل انحلال فسفات در شرایط آزمایشگاهی ممکن است نشان دهنده کارایی جدایه ها در بهبود جذب فسفر در شرایط مزرعه ای نباشد (رنگل، ۲۰۰۸). میزان بیان و اهمیت نسبی ویژگی های محرک رشدی اندازه گیری شده ممکن است تفاوت چشمگیری در شرایط آزمایشگاهی و ریزوسفر داشته باشد که می تواند همبستگی ضعیف بین آنها را توجیه نماید.

اکسین ها یکی از فیتو هورمون هایی هستند که به وسیله بسیاری از گروه های میکروبی محرک رشد گیاه ترشح می شوند و ایندول استیک اسید (IAA) یکی از متداول ترین انواع آنها می باشد (تساوکلوا و همکاران، ۲۰۰۶). مقدار IAA تولیدی در جدایه های مورد بررسی مشابه با مقادیری بود که در پژوهش های قبلی گزارش شده بود (خامنه و همکاران، ۲۰۰۹).

باکتری های محرک رشد گیاه توانمند در تولید IAA می توانند رشد ریشه را تحریک نموده، زیست توده آنرا افزایش داده و شکل سیستم ریشه ای را تغییر دهند (مارتینز و همکاران، ۲۰۱۰). محققین متعددی گزارش نمودند که استرپتومایسس ها توانمندی تولید IAA را دارا می باشند (صادقی و همکاران، ۲۰۱۲؛ گوپالکریشنان و همکاران، ۲۰۱۱). تفاوت معنی داری بین توانمندی جدایه های مورد استفاده در این پژوهش از نظر افزایش زیست توده ریشه وجود داشت. بر خلاف اغلب جدایه ها، تلقیح سویه ۵۰ موجب ایجاد ریشه های موئین تری در مقایسه با شاهد گردید بدون آنکه افزایشی در وزن خشک ریشه مشاهده شود. به دلیل وجود ویژگی های محرک رشد چندگانه، تعیین مکانیسم (های) دقیق و اهمیت نسبی آنها در بهبود جذب فسفر کاملاً مشخص نیست. طیف گسترده فعالیت محرک رشدی استرپتومایسس ها نشان می دهد که این جدایه ها را می توان به عنوان جدایه های بالقوه در کودهای زیستی مدنظر قرار داد.

نتیجه گیری:

تمامی جدایه های مورد بررسی بیش از یک مکانیسم را برای استفاده از منابع فسفره موجود در خاک از خود نشان دادند. تلقیح با این محرک های رشد گیاه، منجر به بهبود شاخص های رشد مثل ارتفاع اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی و جذب فسفر گردید. جدایه شماره ۴۷ بهترین عملکرد را از نظر بهبود شاخص های رشدی گیاه مثل ارتفاع اندام هوایی، وزن خشک ریشه و سطح برگ داشت

در حالیکه گیاهان تلقیح شده با جدایه ۵۰ جذب فسفر بالاتری را نشان دادند. بنابراین هر دو جدایه را می توان به عنوان جدایه های بالقوه برای بررسی بیشتر جهت استفاده در شرایط مزرعه ای و در صورت رضایت بخش بودن نتایج کاربرد آنها، در تولید کودهای زیستی مد نظر قرار داد. در این پژوهش ارزیابی توانمندی جدایه های منتخب استرپتومایسس برای بهبود رشد گیاه در حضور منابع فسفره بومی خاک صورت گرفت. آزمایشات بیشتری با استفاده از کاربرد همزمان منابع فسفره معدنی نامحلول و تلقیح جدایه های برتر در این پژوهش، بایستی صورت پذیرد.

فهرست منابع

1. Adesemoye, A.O., and Kloepper, J.W. 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl Microbiol Biotechnol* 85:1–12.
2. Ahmad, F., Ahmad, I., and Khan, M.S. 2005. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and *Pseudomonas* fluorescent in the presence and absence of tryptophan. *Turk J Biol* 29: 29-34.
3. Ahmad, F., Ahmad, I., and Khan, M.S. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol Res* 163:173–81.
4. Ahmad, M., Khan, M.S. 2011. Toxicological effects of selective herbicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Klebsiella* sp. strain PS19. *Curr Microbiol*. 62:532–538.
5. 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.
6. Araújo, A.P., Plassard, C., and Drevon, J.J. 2008. Phosphatase and phytase activities in nodules of common bean genotypes at different levels of phosphorus supply. *Plant Soil* 312:129–138.

7. Association of Official Analytical Chemists 1990. Phytate in foods, anion-exchange method, No. 986.11. In Official Methods of Analysis, 15th ed., pp. 800-801, Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
8. Barret, M., Morrissey, J.P., and Gara, F.O. 2011. Functional genomics analysis of plant growth-promoting rhizobacterial traits involved in rhizosphere competence. *Biol Fertil Soils* 47:729–743.
9. Barreto, T.R., Silva, A.C.M., Soares, A.C.F., and de Souza, J.T. 2008. Population densities and genetic diversity of actinomycetes associated to the rhizosphere of *Theobroma cacao*. *Braz J Microbiol* 39:464–470.
10. Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., and Eaton, A.D. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed., Washington, DC.
11. de Vasconcellos, R.L.F., and Cardoso, E.J.B.N. 2009. Rhizospheric Streptomyces as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda*. *Biocontrol*. 54: 807–816.
13. Figueiredo, M.V.B., Burity, H. A., Martínez, C.R., and Chanway, C.P. 2008. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. *Appl Soil Ecol* 40:182–188.
14. Gastric, P.A. 1975. Hydrogen cyanide, a secondary metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*. *Canadian J Microbiol*. 21: 613-618.
15. Ghorbani-Nasrabadi, R., Greiner, R., Alikhani, H.A., Hamed, J., and Yakhchali, B. 2013. Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. *Soil Sci Plant Nutr*. 13(1) 223-236.

16. Ghorbani-Nasrabadi, R., Greiner, R., Alikhani, H.A., and Hamed, J. 2012. Identification and determination of extracellular phytate-degrading activity in actinomycetes. *World J Microbiol Biotechnol* 28:2601–2608.
17. Gopalakrishnan, S., and Humayun, P. 2012. Biocontrol Science and Technology Plant growth-promoting traits of *Streptomyces* with biocontrol potential isolated from herbal vermicompost. *Biocontrol sci Technol* 22: 1199-1210.
18. Gopalakrishnan, S., Pande, S., Sharma, M., Humayun, P., Kiran, B.K., Sandeep, D., Sree Vidya, M., Deepthi, K., and Rupelaet, O. 2011. Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of Fusarium wilt of chickpea. *Crop Prot* 30:1070–1078.
19. Hamdali, H., Bouizgarne, B., Hafidi, M., Lebrihi, A., Virolle, M.J., and Ouhdouch, Y. 2008. Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. *Appl Soil Ecol* 38:12–19.
20. Harrison, A.F. 1987. Soil organic phosphorus. A review of world literature. Oxford CAB international.
21. Khamna, S., Yokota, A., and Lumyong, S, 2009. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soil: diversity and screening of antifungal compound, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World J Microbiol Biotech.* 25: 649–655.
22. Kim, B., Zucchi, T.D., Fiedler, H., and Goodfellow, M. 2012. *Streptomyces cocklensis* sp . nov ., a dioxamycin- producing actinomycete. *Int J Syst Evol Microbiol* 62: 279–283.
23. Kumar, V., Singh, P., Jorquera, M. A., Punesh Sangwan, P., Piyush Kumar, P., A. K. Verma, A.K., and Agrawal, S. 2013. Isolation of phytase-producing bacteria from Himalayan soils and their effect on growth and phosphorus uptake of Indian mustard (*Brassica juncea*). *World J Microbiol Biotechnol* 29:1361–9.

24. Martínez-Viveros, O., Jorquera, M., Crowley, D., Gajardo, G., and Mora, M. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J Soil Sci Plant Nutr.* 10:293–319.
25. McGill, W.B., and Cole, C.V. 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma* 26:267–268.
26. Merbach, W., Deubel, A., Gransee, A., and Klamroth, A. 2010. Phosphorus solubilization in the rhizosphere and its possible importance to determine phosphate plant availability in soil . A review with main emphasis on German results. *Arch Agron Soil Sci* 56: 118–138.
27. Mukesh, P., Suma, S., Singaracharya, M.A., and Lakshmipathi, V. 2004. Isolation of phytate-hydrolysing microbial strains from traditional waste water of rice fermentation and liquid cattle feeds. *World J Microbiol Biotechnol.* 20: 531–534.
28. Oliveira, C. A., Alves, V.M.C., Marriel, I.E., Gomes, E.A., Scotti ,M.R. Carneiro,N.P., Guimara~es, C.T., Schaffert, R.E., Sa, N.M.H. 2009. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biol Biochem* 41:1782–1787.
29. Puente, M.E., Li, C.Y., Bashan, Y. 2009. Rock-degrading endophytic bacteria in cacti. *Environ Exp Bot* 66:389–401.
30. Relwani, L., Krishna, P., and Sudhakara, R.M. 2008. Effect of carbon and nitrogen sources on phosphate solubilization by a wild-type strain and UV-induced mutants of *Aspergillus tubingensis*. *Curr Microbiol* 57:401–406.
31. Rengel, Z. 2008. Bioavailability of Phosphorus and Micronutrients in the Soil-Plant-Microbe Continuum. *J Soil Sci Plant Nutr.* 8:84-91
32. Richardson, A.E., Barea, J.M., McNeill, A.M., and Prigent-Combaret, C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321:305–339.

33. Rubio, B., Nombela, M.A., and Vilas, F. 2000. Geochemistry of major and trace elements in sediments of the Ria de Vigo (NW Spain): An assesment of metal pollution. *Mar Pollut Bull* 40:968-980
34. Sadeghi, A., Karimi, E., Dahaji, P.A., Ghorbani Javid, M., Dalvand, Y., and Askari, H. 2012. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World J Microbiol Biotechnol* 28:1503–9.
35. Sandberg, A. 1986. HPLC Method for Determination of Inositol Tri- , Tetra- , Penta- , and Hexaphosphates in Foods and Intestinal Contents. *J Food Sci* 57:547–550.
36. Sharma, A., and Johri, B.N. 2003. Combat of iron-deprivation through a plant growth promoting fluorescent *Pseudomonas* strain GRP3A in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). *Microbiol Res* 158:77-81
37. Shears, S.B., and Turner, B.L. 2007. Nomenclature and terminology of inositol phosphates: clarification and a glossary of terms. In: Turner BL, Richardson AL, Mullaney EJ (eds) *Inositol phosphates linking agriculture and the environment*. CAB International, pp 1-6.
38. Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., Klimova, S.Y., Shestakov, A.I., Botina, S.G., and Netrusov, A.I. 2006. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. *Appl Biochem Micro* 42:117-126
39. Whitelaw, M.A., Harden, T.J., and Helyar, K.R. 1999. Phosphate solubilisation in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Biol. Biochem.* 31:655–665.

Evaluation of soil *Streptomyces* sp. plant growth promotion traits and potential application in enhancing early maize growth and P uptake

Ghorbani-Nasrabadi, Reza^{*1}, Aghaz Nashtifani, Parvaneh¹, Zebarjadi, Maryam¹,

1 - Department of Soil Science, College of Soil and Water, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resource University, Gorgan, Iran.

Abstract:

The phosphate solubilization capability of actinomycetes has recently attracted interest but the mechanism and medium composition effect involved in this process was not clarified. Seven actinomycetes isolates were characterized and Their phosphate solubilizing activity, phytate degradation, siderophores, indole acetic acid (IAA) and hydrogen cyanide (HCN) production were investigated. Additionally, all isolates were evaluated as plant growth promoters to maize in pot experiment. Our results showed that the selected isolates were able of solubilizing tri-calcium phosphate (TCP) only when synthetic minimum medium (SMM-agar) was supplemented with ammonium nitrate. Similarly, TCP solubilizing activity in liquid cultures was also observed (from 11 to 216 μgml^{-1}) when medium was supplemented with ammonium nitrate and this behavior was strongly associated with a pH reduction. Phytate degradation (1.7-95%), indole acetic acid production (6.26 to 27.81 $\mu\text{g ml}^{-1}$) and siderophore production (1.24 to 2.45 Halo to colony ratio) was observed to all strains, but no isolates produced HCN. Significant increase in maize shoot height, fresh weight, dry weight and P uptake ($P<0.05$) was observed to inoculated plants with respect to uninoculated control. *Streptomyces* sp. 47 showed the best plant growth promotion performance while plants inoculated with *Streptomyces* sp. 50 showed a remarkably higher P uptake; both strains were considered good potential inoculants for increasing early maize growth and P uptake.

Keywords: Actinomycetes, Phosphate solubilization, Siderophore, IAA, Plant growth promotion

