پانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

۶ تا ۸ شهریور ۱۳۹۶ محور مقاله: بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک

بررسی خواص محرک رشدی باکتری‌های بومی فراریشه و درون‌رست گیاه گندم

حسینعلی علیخانی، سمیه امامی*، احمدعلی پورابایی، حسن اعتصامی، بابک متشرع‌زاده و فریدون سرمدیان

گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

*Email: emamisomaye@ut.ac.ir

چکیده

مطالعه حاضر جداسازی و شناسایی باکتری‌های بومی فراریشه و درون‌رست گیاه گندم را نشان می‌دهد. ابتدا توانایی ۱۰۰ جدایه فراریشه‌ای و درون‌رست جداشده از مزارع زیر کشت گندم واقع در مزرعه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران جهت تولید هورمون اکسین مورد آزمون قرار گرفت. سپس غربالگری برای شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات‌های نامحلول معدنی انجام شده و سویه‌های دارای بیشترین فعالیت حل‌کننده فسفات‌های نامحلول و مولد هورمون از طریق توالی‌یابی ژن ۱۶S rRNA شناسایی شدند. نتایج حاصل از تعیین برخی خصوصیات مهم محرک رشد نشان داد که فراوانی جدایه‌های فراریشه و درون‌رست در تولید ایندول استیک اسید به ترتیب ۸۸ و ۷۲ درصد می‌باشد. همچنین جدایه‌های فراریشه نسبت به جدایه‌های درون‌رست توانایی بالاتری در انحلال تری کلسیم فسفات نشان دادند. با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که ترشحات ریشه‌ای، می‌تواند بر توانایی باکتری‌ها در تولید خواص محرک رشد تأثیرگذار باشد.

واژه های کلیدی: فراریشه، درون‌رست، اکسین، فسفات‌های نامحلول

مقدمه

در دهه‌های اخیر، استفاده از باکتری‌های فراریشه‌ای (ریزوسفری) محرک رشد گیاه (PGPR)[1] به منظور بهبود و افزایش رشد گیاهان در سطح وسیعی افزایش یافته است. باکتری‌های فراریشه‌ای محرک رشد گیاه گروهی از باکتری‌های مفید می‌باشند که می‌توانند به طور مستقیم (تثبیت نیتروژن، حل کردن فسفات‌های نامحلول، تأمین آهن از طریق تولید سیدروفورها، تولید هورمون‌های گیاهی و کاهش اتیلن تنشی) و یا غیرمستقیم (کاهش یا ممانعت از اثرات مضر عوامل بیمارگر گیاهی) موجب افزایش رشد گیاه شوند (Glick, 1995). علاوه بر باکتری‌های فراریشه‌ای محرک رشد گیاه، باکتری‌هایی از این نوع وجود دارند که قادرند به طور اختصاصی به بخش درونی گیاه از جمله بذر، تخمک، میوه، ساقه و ریشه نفوذ کنند و در این مکان‌ها مستقر شوند. این باکتری‌ها به طور معمول دارای آنزیم‌های حل‌کننده دیواره سلولی برای نفوذ در این اندام‌ها هستند. (Germida et al., 1998). این باکتری‌ها در داخل گیاه ممکن است در ناحیه ورودشان و یا در سراسر گیاه پخش شوند (Hallmann et al., 1997). جمعیت باکتری‌های درون‌رست داخل ریشه، بالاتر از جمعیت آنها در سایر اندام‌های گیاه می‌باشد. به طور میانگین، جمعیت این باکتری‌ها را در ریشه گیاهان مختلف در حدود 10^5، در ساقه‌ها حدود 10^4 و در برگ‌ها، حدود 10^3 برآورد کرده‌اند (Hallmann and Berg, 2006). این باکتری‌های درون‌رست می‌توانند موجب افزایش مقاومت سیستمیک در مقابل بیماری‌های گیاهی یا افزایش رشد گیاه شوند (Chanway, 1996). یکی از مهمترین مکانیسم‌هایی که باکتری‌ها از طریق آن باعث افزایش رشد و نمو گیاه می‌شوند، تولید و ترشح تنظیم کننده‌های رشد گیاه (به خصوص اکسین‌ها) می‌باشد (Zahir et al., 2004). اکسین‌ها گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که معمولترین و شناخته شده‌ترین آنها ایندول - ۳-استیک اسید (IAA)[2] است. IAA یک محصول حاصل از متابولیسم ال- تریپتوفان[3] می‌باشد که به وسیله قارچ‌ها و باکتری‌هایی که قادر به تحریک رشد گیاه هستند تولید می‌شود (Lynch, 1985). ثابت شده است که IAA هم باعث افزایش طول سلول‌های گیاهی و هم باعث تحریک تقسیم سلولی و تمایز در گیاه می‌شود (Cleland, 1990). یکی دیگر از اثرات مستقیم ریزسازواره‌های

[1]. Plant Growth Promoting Rhizobacteria
[2]. Indole-3 Acetic Acid
[3]. L-Tryptophan

میکروبی، انحلال فسفات معدنی و معدنی کردن فسفات آلی به شکل قابل استفاده برای گیاهان می‌باشد. این دسته از ریزسازواره‌ها گر چه فسفر را در ساختار سلولی خود به خدمت می‌گیرند، ولی بخشی از آن که در محیط آزاد شده است در اختیار گیاه قرار می‌گیرد. گزارش‌های مختلفی توانایی گونه‌های مختلف باکتری در انحلال فسفات معدنی نامحلول از قبیل تری کلسیم فسفات، دی کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت و خاک فسفات را عنوان کرده‌اند. میزان فراهم سازی فسفات توسط باکتری‌های حل کننده فسفات از منابع معدنی و آلی فسفات به ترتیب در محدوده ۲۵-۴۲ میکرو گرم بر میلی‌لیتر و ۱۸-۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بوده است (Tao et al., 2008). قادری و همکاران (2008) در بررسی اثر حل کنندگی و رهاسازی فسفات در سه باکتری *سودوموناس پوتید*[1]، *سودوموناس فلورسنس* چائو[2] و *سودوموناس فلورسنس* تبریز[3] مقادیر آزاد شده فسفر را از هیدروکسید آهن ۵۱، ۲۹ و ۶۲ درصد گزارش کرده‌اند و بیشترین میزان فسفر آزاد شده ۱۴/۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود (Ghaderi et al., 2008).

نظر به پتانسیل باکتری‌های مفید فاریشه‌ای در بهبود و افزایش رشد گیاه و نیز عدم وجود اطلاعات کافی از خصوصیات باکتری‌های درون‌رست محرک رشد گیاه این پژوهش طراحی گردید. نتایج این پژوهش می‌تواند میزان تأثیر ترشحات ریشه در جلب باکتری‌های فاریشه‌ای و درون‌رست محرک رشد گیاه را مشخص کند و ما را در شناخت هر چه بهتر خصوصیات محرک رشدی باکتری‌های موجود در منطقه ریشه‌ی گیاه گندم یاری نماید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق به منظور جداسازی باکتری‌های فاریشه‌ای و درون‌رست محرک رشد گیاه گندم، نمونه برداری از خاک فاریشه‌ای گندم ارقام چمران۲، سیروان، بهار۲ و پیشتاز (مزرعه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در محمد شهر کرج) انجام شد. تعداد ۸ نمونه از گیاهان سالم گندم در مرحله رشد رویشی بطور تصادفی از موقعیت‌های مختلف در مزارع جمع‌آوری و در کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه انتقال یافتند تا جهت جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌ها از آنها استفاده شود. نمونه‌ها تا قبل از فرایند جداسازی باکتری در دمای ^{o}C ۴ نگهداری شدند و در کوتاه‌ترین زمان بعد از نمونه‌برداری مراحل جداسازی انجام گرفت. جهت جداسازی باکتری‌های درون‌رست ریشه، در ابتدا ریشه‌ها کاملا با آب معمولی شستشو داده شدند و سپس با آب مقطر چندین بار عمل شستشو تکرار گردید تا تمام ذرات خاک باقیمانده از سطح ریشه‌ها زدوده شود. سپس ریشه ها به منظور حذف رطوبت آنها، بر روی دستمال کاغذی استریل گذاشته شدند. آنگاه ریشه ها به قطعات ۲ تا ۳ سانتی متری با تیغ استریل بریده شدند. ریشه ها با استفاده از هیپوکلریت سدیم (۱/۴ درصد کلر فعال) به مدت ۱۴ دقیقه و الکل ۹۶ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی سطحی شدند. سپس به منظور حذف هیپوکلریت سدیم، ریشه‌ها با استفاده از آب مقطر استریل ۱۰ بار شستشو داده شدند. در تمام مراحل، شرط استریل بودن رعایت شد. قطعاتی از ریشه استریل شده بر روی سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت NA[4] گذاشته شد همچنین حدود ^{ml} ۲ از آب شستشوی نهایی نیز بر روی این پلیت‌ها پخش شد و این پلیت‌ها انکوبه شدند. هیچ آلودگی بر روی پلیت‌ها مشخص نگردید و بنابراین فرایند استریل سطحی اثر بخش بود. قطعات ریشه با استفاده از یک هاون استریل در محلول استریل یک چهارم رینگر (شامل ۲/۲۵۰ گرم در لیتر NaCl، 105/0 گرم در لیتر KCl، 120/0 گرم در لیتر $CaCl_2$ و ۰/۰۵۰ گرم در لیتر $NaHCO_3$) به مدت ۱۰ دقیقه خرد شدند. سپس همه محتویات مواد خرد شده را به ارلن حاوی ۹۰ میلی لیتر محلول رینگر استریل منتقل و به مدت ۴۵ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شدند. پس از تهیه رقت‌های ده دهی (Ten fold) از نمونه، ۰/۱ میلی لیتر از هر یک از رقت های 10^{-4} تا 10^{-8} بر روی پلیت های حاوی محیط کشت NA پخش گردیدند. به منظور جداسازی باکتری‌های فاریشه ۱۰ گرم خاک ریزوسفری به ارلن های حاوی ۹۰ میلی لیتر بافر فسفات استریل منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر قرار

[1] *P. putida*
[2] *P. fluorescens* Chao
[3] *P. fluorescens Tabriz*
[4] Nutrient Agar

داده شد. سری‌های رقت (Ten fold)برای خاک فاریشه‌ای هم مشابه به سری‌های رقت ریشه‌ها انجام گرفت. پلیت‌های تلقیح شده به صورت واژگون به مدت ۳ الی ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور گرماگذاری[1] شدند و کلنی‌های ظاهر شده بر روی پلیت ها جدا سازی شدند. مراحل خالص‌سازی این جدایه‌ها پس از کشت مجدد روی همان محیط از طریق بازکشت انجام گرفت.

اندازه‌گیری کمی تولید IAA نیز به روش بریک در محیط کشت مایع رنگی در نتیجه استفاده از محلول سالکوفسکی با دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گرفت (Brick et al., 1991). برای انجام این آزمون درون هر ظرف ارلن مقدار ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع حاوی یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ال تریپتوفان ریخته شد و پس از استریل، محتوی هر ارلن با یکی از جدایه‌های مورد نظر تلقیح گردید. ارلن‌های مذکور با ورقه آلومینیومی پوشانده شدند و به مدت ۷۲ ساعت برای باکتری‌های تند رشد و تا ۱۲۰ ساعت (برای انواع کند رشد) در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر روی بهم زدن دورانی با سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه هوادهی شدند. پس از گذشت این مدت سوسپانسیون‌های مذکور سانتریفیوژ گردیدند. سپس محلول رویی با معرف سالکوسکی به نسبت ۱:۱ با هم مخلوط گردید محلول حاضر به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. مقدار تولید اکسین توسط هر جدایه از مقایسه‌ی جذب نور آن با منحنی استاندارد تهیه شده با غلظت های ۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه گردید.

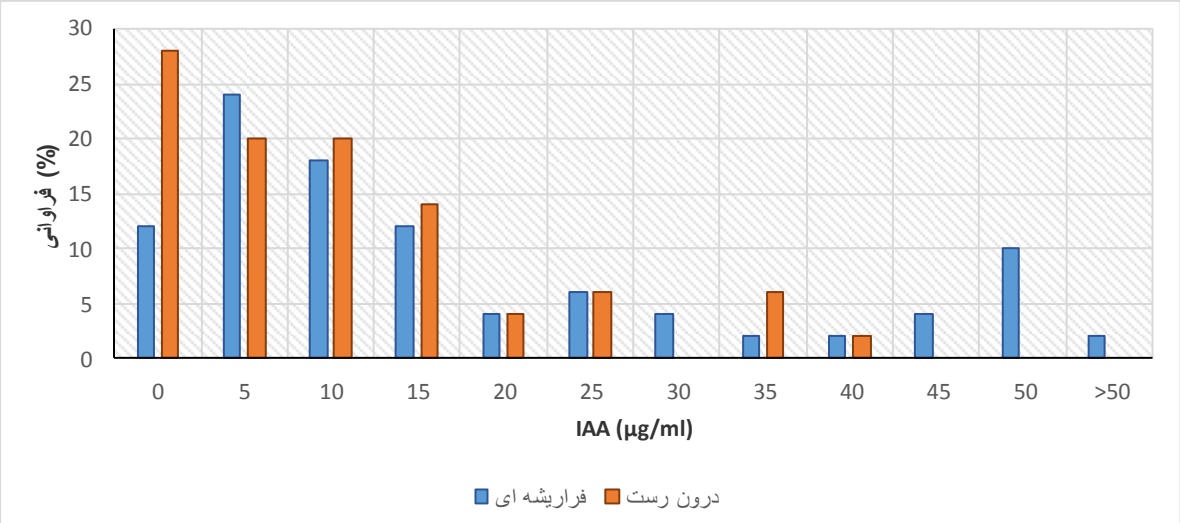
به منظور بررسی توان جدایه‌های فاریشه‌ای و درون‌رست در انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول، از محیط کشت اسپربر استفاده گردید (Sperber, 1995). ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط NB[2] کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه کمی توان حل فسفات، ۷ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری با روش قطره گذاری برروی پلیت‌های حاوی محیط جامد اسپربر (شامل ۱۰ گرم در لیتر گلوکز، ۰/۵ گرم در لیتر عصاره مخمر، ۰/۳۲ گرم در لیتر $MgSO_4.7H_2O$ ، ۰/۱۴ گرم در لیتر $CaCl_2$ ، ۲/۵ گرم در لیتر $Ca_3(PO_4)_2$ ، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر و pH ۷/۲) کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند. ظهور هاله شفاف در پیرامون کلونی باکتری به عنوان نشانه حل فسفات در نظر گرفته شد. قطر کلونی رشد یافته (CD)[3] و نیز قطر هاله شفاف حاصل از انحلال فسفات (HD)[4] که در اطراف هر کلنی تشکیل شده بود به دقت اندازه گیری شدند. برای ارزیابی انحلال فسفات نسبت متوسط قطر هاله به قطر کلونی (HD/CD) بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت محاسبه گردید. برای شناسایی مولکولی سویه های برتر ابتدا DNA آنها استخراج شد. سپس با استفاده از آغازگرهای طراحی شده برای ابتدا و انتهای 16S rRNA واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. محصول PCR تعیین ترادف شده و ترادف تعیین شده با استفاده از اطلاعات موجود در بانک ژنومی مقایسه گردید.

نتایج و بحث

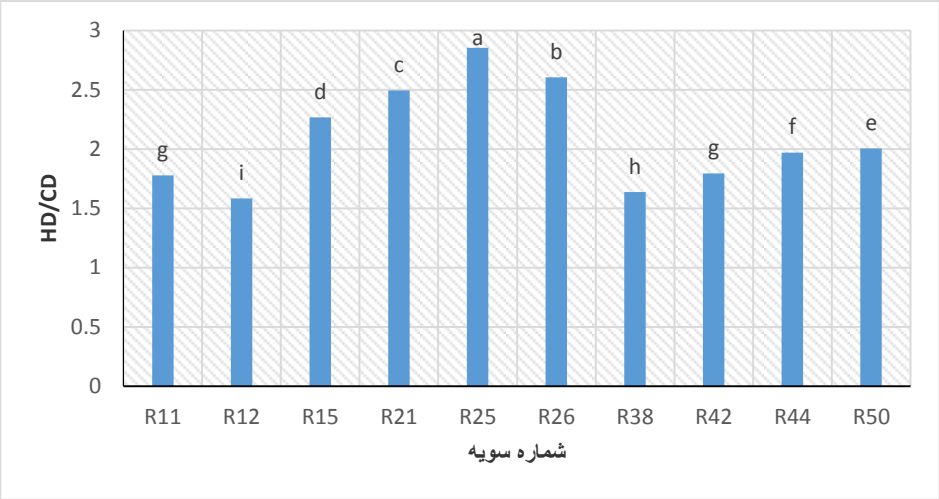
تعداد ۲۵۰ جدایه از خاک فاریشه و ۱۵۰ جدایه از ریشه گندم جداسازی و خالص‌سازی شدند. جدایه‌های کشت شده در محیط NA از لحاظ خصوصیات ظاهری کلنی (اندازه، شکل و رنگ) مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت تعداد ۱۰۰ جدایه فاریشه‌ای و درون‌رست با خصوصیات ظاهری متفاوت در محیط NA و از نمونه خاک‌های متفاوت، به منظور نگهداری و انجام سایر مراحل پژوهش انتخاب شدند. نتایج حاصل از آزمون تولید IAA در محیط رشدی حاوی یک میلی‌گرم بر میلی لیتر ال تریپتوفان نشان داد که ۸۸ درصد باکتری های فاریشه‌ای و ۷۲ درصد باکتری های درون‌رست دارای توان تولید اکسین هستند که بیشترین توان تولید اکسین در سویه‌های فاریشه‌ای به میزان ۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در سویه‌های درون‌رست ۳۵/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (شکل ۱). باکتری‌ها برای تولید اکسین نیاز به ال- ترپتوفان دارند و این ماده در ترشحات ریشه‌ای ناحیه اطراف ریشه نسبت به توده خاک و بافت داخلی گیاه به مقدار خیلی بیشتری وجود دارد. گزارش شده است که

[1] Incubation
[2] Nutrient Broth
[3] Colony Diameter (CD)
[4] Halo Diameter (HD)

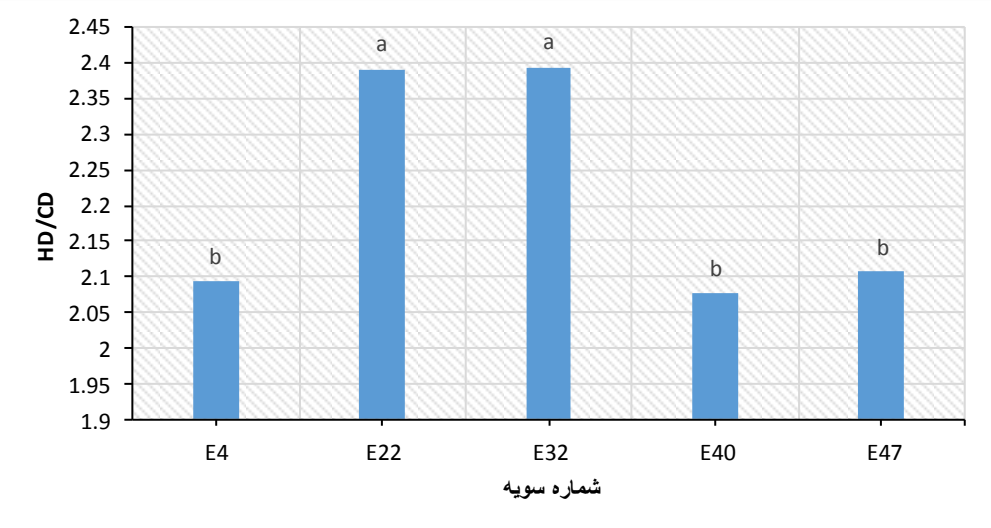
۸۰ درصد از باکتری‌های فریشه‌ای، توانایی تولید اکسین را دارند که برای تولید آن از ال- تریپتوفان به عنوان پیش ماده استفاده می‌کنند (Asghar et al., 2004). غلظت‌های بالای اکسین توسط *سودوموناس‌های فلورسنس* یک خصوصیت بارز برای اکثر این باکتری‌ها است (Ahmad, et al., 2005). مودمانی و همکاران (Modmony et al., 2005) توانایی انتروباکتر (درون‌رست) جداسازی شده از دانه‌های گرده درخت کاج در تولید IAA را مورد بررسی قرار داد و نتیجه گرفت که این باکتری قادر است در حضور غلظت‌های متفاوت ال- تریپتوفان(۰، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی مول بر لیتر) به مقدار ۹/۲، ۹/۲، ۱۲۰ و ۴/۵۷ میکروگرم بر میلی لیتر IAA تولید کند. پتن و گلیک (۲۰۰۲) با انجام یک آزمایش، مقایسه‌ای بین بذرهای کلزا تلقیح شده با باکتری *سودوموناس پوتیدا* GR12 قادر به تولید اکسین و بذرهای تلقیح شده با موتانتی که فاقد توانایی تولید اکسین بود مشاهده کردند که ریشه‌های اولیه حاصل از بذرهای تیمارشده با سویه‌ی مولد هورمون اکسین به طور متوسط ۵۰-۳۵ درصد بلندتر از بذرهای تیمارشده با باکتری موتانت و تیمار تلقیح نشده (شاهد) بودند و طول ریشه‌های حاصل از بذرهای تلقیح شده با موتانت با طول ریشه‌های حاصل از بذرهای شاهد تفاوتی نداشت. از نظر انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی، سویه‌های فراریشه‌ای توانایی بیشتری در انحلال فسفات نامحلول از خود نشان دادند (شکل ۲و ۳) به طوری که بالاترین انحلال فسفر معدنی مربوط به سویه R25 بود (واحد ۲/۸۵). بر اساس توانایی جدایه ها در تولید IAA و توان انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی آزمون توالی‌یابی صورت گرفت که جدایه فراریشه ای R25 و جدایه درون‌رست E32 که دارای بیشترین توانایی بودند متعلق به جنس *سودوموناس* بودند. موچانگ و همکاران (Meunchang et al., 2006) ۱۶۸ جدایه محرک رشدی را جداسازی کردند و از نظر حل فسفات‌های معدنی نامحلول مورد ارزیابی قرار دادند. آنها نشان دادند که ۶۲ جدایه (۳۷ درصد) قادر به حل فسفر هستند. رشید و همکاران توانایی ۱۰ سویه باکتریایی در حل نمودن تری‌کلسیم فسفات را در محیط مایع بررسی کردند و نتیجه گرفتند که افزایش غلظت فسفر با کاهش pH همراه بود. آنها همچنین نشان دادند که تلقیح سویه‌های باکتری به محیط اسپربر حاوی تری کلسیم فسفات باعث کاهش pH سوسپانسیون از ۵/۸۸ به ۳/۰۲ شد. با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که ترشحات ریشه‌ای موجود در ناحیه فراریشه و بافت درونی گیاه، می‌تواند بر توانایی باکتری‌ها در تولید برخی خواص محرک رشد که در پژوهش حاضر مورد مطالعه قرار گرفتند، تأثیرگذار باشد.



شکل ۱ – فراوانی مقدار تولید IAA توسط جدایه‌های فراریشه‌ای و درون‌رست گیاه گندم



شکل ۲- توانایی انحلال فسفات نامحلول معدنی توسط جدایه‌های فراریشه‌ای گیاه گندم



شکل ۳- توانایی انحلال فسفات نامحلول معدنی توسط جدایه‌های درون‌رست گیاه گندم

منابع

Ahmad F. Ahmad I. Sahir Khan M. 2005. Indole acetic acid production by indigenous isolates of azotobacter and fluorescent Pseudomonas in the presence and absence of tryptophan. Turk. J. Boil. 29:29-34.

Asghar HN. Zahir ZA. Arshd M. 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yeild and oil content of canola(Brassica nappus L.). Aust J Agr Res. 55:187-194.

Brick JM. Bostock RM. Silverstone S.E. 1991. Rapid in-situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane. Appl. Environ. Microbiol. 57, 535–538.

Chanway CP. 1996. Endophytes: They're not just fungi. Can J Biol. 74:321-322.

Cleland RE. 1990. Auxin and cell elongation. Pp:132-148. In: Davies, PJ (eds.). Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

Germida JJ. Siciliano SD. De Freitas R. Seib AM. 1998. Diversity of root- associated bacteria associated with fieldgrown canola (Brassica nupus L.) and wheat (Triticum aestivum L.). FEMS Microbiol Ecol. 26:43-50.

Ghaderi A. Aliasgharzad N. Oustan S. Olsson PA. 2008. Efficiency of three Pseudomonas isolates in releasing phosphate from an artificial variable-charge mineral (iron III hydroxide). Soil Environment. 27: 71-76.

Glick BR. 1995. The enhancement of plant growth by free-Living bacteria.Can. J. Microbiol. 41:109-117.

Hallmann J. Berg G. 2006. Spectrum andpopulation dynamics of bacterial root endophytes. Soil Biol. 9:5-3.
Hallmann J. Quadt- Hallmann A. Mahafee WF. Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytesin agricultural crops J Microbial. 43:895-914.
Lynch JM. 1985. Origin, nature and biological activity of aliphatic substances and growth hormones found in soil. In: Vaughan and R. E. Malcom (eds.). Soil Organic Matter and Biological Activity. D. Martinus Nijhoff. Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht, Boston, Lancaster.
Meunchang S. Thongra P. Sanoh S. Kaewsuralikhit S. and Ando S. 2006. Development of rhizobacteria as a biofertilizer for rice production. Pp. 6- 20. International workshop on Sustained Management of the Soi-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use. Bangkok, Thailand.
Modmony A. Chernin L. Pleban S. Peleg Riov J. 2005. Enterobacter cloacae, an obligatory endophyte of pollen grains of Mediterranean pines. Folia Microbiol. 50(3): 209-216.
Rashid M. Khalil S. Ayub N. Alam S. Latif F. 2004. Organic acids productions by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. Pak J Biol Sci. 7(2):187-196.
Sperber JI. 1995. The incidence of apatite –solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Aust J Agric Res. 9:778
Tao G. Tian S. Cai M. Xie G. 2008. Phosphate solubilizing and mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. Pedosphere. 18: 515-523.
Zahir Z.A. Arshad M. Frankenberger WT. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspectives in agriculture. Adv. Agron. 81:97-167.

Evaluation of plant growth promoting properties of rhizospheric and endophytic bacteria in Wheat plant

H.A. Alikhani, S. Emami*, A.A. Pourbabaei, H. Etesami, B. Motashare zadeh, F. Sarmadian
Department of Soil Science, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
*Email: emamisomaye@ut.ac.ir

Abstract
In the present study, indigenous rhizospheric and endophytic bacteria were isolated from wheat rhizosphere. The ability of 100 rhizospheric and endophytic strains were tested to produce auxin. Then all the isolates were investigated for solubilize inorganic phosphorous, and isolates with high inorganic phosphorous solubilizing ability and IAA producing were iqsdentified based on 16S rRNA. The frequencies of rhizospheric and endophytic bacteria producing IAA were 88 and 72 %. Also Rhizosphere isolates compared with endophytic isolates showed higher ability to dissolve tri-calcium phosphate. According to the results, it seems that the root exudates can affect the ability of bacteria to produce plant growth promoting properties.

Keywords: Rhizosphere, endophytic, auxin, insoluble phosphates