محور مقاله: بیولوژی خاک و کودهای زیستی

جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از ورمی‌کمپوست و بررسی خصوصیات محرک رشدی آن‌ها به‌عنوان بسته کود زیستی

فائزه پرستش [۱*]، حسینعلی علیخانی[۲]، حسن اعتصامی[۳] و محمدرضا حسندخت[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه تهران

[۲]استاد گروه علوم خاک، دانشگاه تهران

[۳]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه تهران

[۴]استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه تهران

چکیده

از مهم‌ترین اهداف کشاورزی پایدار کاهش مصرف کودهای شیمیایی و افزایش کارایی کودهای زیستی است. کاربرد برخی باکتری‌های محرک رشد گیاه سبب افزایش عملکرد گیاه میزبان از طریق فرآیندهایی همچون حل‌کنندگی فسفات، تولید هورمون‌های گیاهی و افزایش مقاومت به تنش‌های غیر زیستی را می‌توان عنوان کرد. مطالعه حاضر جداسازی و شناسایی باکتری‌های بومی ورمی‌کمپوست را نشان می‌دهد. این مطالعه به‌منظور جداسازی و بررسی خصوصیات محرک رشدی باکتری‌های دارای توان حل‌کنندگی فسفات از ورمی‌کمپوست انجام شد و میزان توان حل‌کنندگی فسفات‌های آلی و معدنی، تولید هورمون ایندول استیک اسید و تولید سیدروفور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از توالی 16S rRNA ، نشان دادند که جدایه شماره ۲۲ با شباهت ۹۹ درصد به گونه Serratia marcescens، جدایه شماره ۳۸ با شباهت ۱۰۰ درصد به گونه Serratia marcescens، جدایه شماره ۵۷ با شباهت ۱۰۰ درصد به گونه Bacillus thuringiensis، جدایه شماره ۶۲ با شباهت ۹۹ درصد به گونه Pseudomonas aeruginosa و جدایه شماره ۵۳ با شباهت ۹۸ درصد به گونه Pseudomonas aeruqinosa تعلق دارند.

کلمات کلیدی: باکتری محرک رشد گیاه، Serratia marcescens، Pseudomonas aeruginosa

مقدمه

فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر مورد استفاده گیاهان بوده و علی‌رغم مقدار قابل‌توجه آن در خاک تنها بخش کوچکی از آن قابل‌استفاده برای گیاهان می‌باشد، لذا مقدار فسفر قابل‌جذب خاک به‌تنهایی نمی‌تواند نیاز گیاهان زراعی و باغی را تأمین نماید. در اکثر خاک‌های کشاورزی، بخش عمده کودهای فسفرِ مصرف شده در خاک تثبیت می‌شود و منجر به کاهش کارایی فسفر، آلودگی محیط‌زیست و همچنین عدم تعادل عناصر غذایی در خاک می‌گردد. بنابراین استفاده از منابعی که برای محیط‌زیست زیان کمتری داشته باشد و همچنین نیاز غذایی گیاه را برطرف کند اهمیت ویژه‌ای دارد. ورمی‌کمپوست ، یک کود زیستی محرک رشد گیاه است که محصول نهایی فرآیند تجزیه مواد آلی در حضور کرم‌های خاکی کمپوستر بوده که با عبور مداوم مواد آلی از سیستم گوارش کرم، مواد اولیه تجزیه و به‌صورت نسبتاً پایدار تبدیل می‌گردد و به دلیل کاهش سطح آلاینده‌ها، داشتن سطح بالای جمعیت میکروبی و عناصر غذایی، در حال حاضر به‌عنوان یکی از بهترین کودهای زیستی در دنیا شناخته می‌شود (Rashtbari و همکاران ۲۰۱۴، Ravindran و همکاران،۲۰۰۸). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که افزایش مصرف کودهای فسفرِه در طی سال‌ها، نه‌تنها عملکرد محصولات زراعی را چندان افزایش نداده بلکه در مواردی سبب بر هم زدن تعادل عناصر غذایی و کاهش محصول نیز شده است. مصرف بی‌رویه کودهای فسفاتِه، علاوه بر هزینه‌های بسیار بالا، اثرات زیان‌بار نیز دارد (Gyaneshwar و همکاران، ۲۰۰۲). از جمله این اثرات می‌توان به مسمومیت ناشی از جذب بیش از حد فسفر معدنی و بالا رفتن غلظت آن در بافت‌های گیاهی و به هم خوردن تعادل عناصر غذایی، کاهش محصول، تجمع بور در گیاه در حدسمی، کاهش جذب مس، غیر متحرک شدن آهن در خاک، ممانعت از جذب آهن توسط ریشه، مختل کردن متابولیسم روی درون گیاه، کاهش میکوریزایی شدن ریشه، آلودگی خاک به کادمیوم، تنزل کیفیت محصول، ازدیاد بار منفی خاک و آلودگی آب‌ها به فسفر و بروز پدیده اوتریفیکاسیون را نام برد (Lu و همکاران، ۲۰۱۶). بااین‌حال نیاز به استفاده زیاد ورمی‌کمپوست برای رسیدن به عملکرد مطلوب و دارا بودن فسفات‌های نامحلول آلی (غیرقابل جذب بودن) از محدودیت‌های کاربرد ورمی‌کمپوست می‌باشند.

*مسئول مکاتبه: faeze.parasetsh@ut.ac.ir

یکی از راه‌های تعدیل محدودیت‌های فوق و افزایش اثربخشی ورمی‌کمپوست، غنی‌سازی آن با باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1]به‌ویژه باکتری‌های حل‌کننده فسفات (PSB)[2]می‌باشد(Busato و همکاران، ۲۰۱۲). استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات، از روش‌های مؤثر برای افزایش فسفر قابل‌جذب، جلوگیری از آلودگی آب و خاک و نیل به هدف کشاورزی پایدار است. باکتری‌های حل‌کننده فسفات از طریق اسیدی کردن، کلاته کردن، ترشح پروتون، آزادسازی اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم باعث افزایش فسفر قابل‌جذب می‌شوند. در میان این مکانیسم‌ها، اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم نقش مهمی در سم‌زدایی آلاینده‌ها و فعالیت میکروبی خاک دارند. دیگر متابولیک‌های محرک رشد گیاه که توسط باکتری‌های حل‌کننده فسفات نامحلول تولید و در خاک ترشح می‌شوند شامل فیتوهورمون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و سیدروفورها هستند که علاوه بر انحلال فسفات‌های نامحلول و تأمین فسفر موردنیاز گیاه بر رشد و عملکرد محصول اثر می‌گذارند. لذا این پژوهش با هدف جداسازی و شناسایی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از ورمی‌کمپوست و بررسی خصوصیات محرک رشدی آن‌ها به‌عنوان بسته کود زیستی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری ورمی‌کمپوست

به‌منظور جداسازی باکتری‌های حل‌کننده فسفات آلی و معدنی، از مرکز تحقیقات ورمی‌کمپوست پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در محمد شهر کرج نمونه ورمی‌کمپوست تازه جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها از الک دو میلی‌متری عبور داده شدند و سپس تا آغاز مراحل جداسازی در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جداسازی و تهیه کشت خالص باکتری‌ها از ورمی‌کمپوست

برای جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌ها، ابتدا از ورمی‌کمپوست سری‌های رقت تهیه شد و سپس مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از هر سری رقت به سطح ظروف پتری حاوی آگار مغذی منتقل و توسط میله شیشه‌ای ال-شکل استریل شده، پخش گردید. ظروف پتری با نوار پارافیلم درزگیری و به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از رشد باکتری‌ها، مراحل دستیابی به کلنی تک از جدایه‌ها، به‌صورت تجدید کشت در دو مرحله و در محیط ذکرشده صورت گرفت (Roy و همکاران،۲۰۰۷). سپس جهت نگهداری از جدایه‌های منتخب در طول انجام پروژه، جدایه‌ها در محیط کشت آگار مغذی مورب در داخل لوله‌های آزمایش با درب محکم کشت و با نوار پارافیلم درزگیری و درون یخچال (دمای چهار درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

توانایی کیفی انحلال فسفات آلی و معدنی

برای ارزیابی توان انحلال فسفات معدنی، باکتری‌ها بر روی محیط کشت اسپربر که حاوی ۲/۵ گرم فسفات معدنی تری کلسیم فسفات بود، کشت و به مدت ۹ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. هم‌چنین به‌منظور ارزیابی توان انحلال فسفات آلی باکتری‌ها بر روی محیط کشت اسپربر حاوی ۲/۵ گرم اینوزیتول هگزا فسفات به‌عنوان منبع فسفات آلی کشت و به مدت چهار روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. توانایی انحلال فسفات بر اساس شاخص انحلال فسفات با استفاده از معادله زیر اندازه‌گیری شد (Premono و همکاران،۱۹۹۲):

$$PSI = \frac{\text{کل قطر منطقه هاله}}{\text{قطر کلنی}}$$

توانایی کمی انحلال فسفات معدنی

در این مرحله برای بررسی دقیق‌تر توان حل‌کنندگی فسفات، جدایه‌ها در محیط کشت اسپربر مایع با سه تکرار کشت شدند. ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع تلقیح شده و نمونه شاهد (بدون تلقیح)، بر روی شیکر انکوباتور و در تاریکی با دمای ۲۸ درجه سلسیوس با ۱۲۰ دور در دقیقه به مدت ۱۴۴ ساعت قرار گرفتند. سپس سوسپانسیون‌ها با ۵۰۰۰ دور و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. در این مرحله سلول‌های باکتری، ذرات

[1] Plant growth-promoting rhizobacteria
[2] Phosphate Solubilizing Bacteria

معلق و فسفات نامحلول به کمک سانتریفوژ از سوسپانسیون جمع‌آوری و مقدار فسفر محلول در محلول‌رویی به روش وانادات- مولیبدات اندازه‌گیری شد (Sperber، ۱۹۵۸).

بررسی کیفی تولید سیدروفور

آزمون توان کیفی سیدروفور به روش الکساندر و زوبرر (Alexander and Zuberer، ۱۹۹۳) انجام شد. پس از تهیه محیط کشت جامد کروم آزرول اس، جدایه‌ها بر روی محیط به روش نقطه‌گذاری کشت‌شده و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج روز درون انکوباتور قرار گرفت. وجود هاله نارنجی در اطراف کلنی‌ها به‌عنوان شاخصی از توانمندی جدایه در جذب آهن از طریق ترشح سیدروفور در نظر گرفته شد.

توانایی تولید IAA

برای ارزیابی تولید هورمون ایندول استیک اسید از روش گلیک من و دساکس (Glickmann and Dessaux، ۱۹۹۵) استفاده شد. ابتدا جدایه‌ها در محیط کشت نوترینت براث به مدت ۲۴ ساعت رشد داده و سپس، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر یک از جدایه‌ها به ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت محتوی ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محیط ال -تریپتوفان منتقل شد و برای مدت ۷۲ ساعت در ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تکان داده شد. سوسپانسیون با ۱۱۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و یک میلی‌لیتر از محلول رویی با چهار میلی‌لیتر از معرف سالکوسکی (شامل ۱۵۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن نیم مولار) مخلوط شد .مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر، میزان جذب نور در طول‌موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. مقدار تولید هورمون ایندول استیک اسید توسط جدایه‌ها از طریق مقایسه جذب نور آن با منحنی استاندارد IAA محاسبه شد.

شناسایی باکتری

به‌منظور شناسایی مولکولی جدایه‌های منتخب ، هر یک از جدایه‌های ذکرشده در پنج میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد و تکثیر ژن 16S rRNA با استفاده از روش Edwards و همکاران (۱۹۸۹) و با استفاده از پرایمرهای عمومی 27F با توالی (5′-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′) و 1492R با توالی (5′-GGTTACCTTGTTA CGACTT-3′) انجام شد (Edwards و همکاران ،۱۹۸۹). توالی ژن‌های 16S rRNA بعد از خالص‌سازی محصولات PCR با کیت خالص‌سازی (Promega, Madison, WI, USA) توسط دستگاه توالی یاب شرکت ماکروژن کره جنوبی قرائت شد و تمام توالی‌های حاصل توسط نرم‌افزار (Edit sequence version 5.1) ویرایش شد و نتایج حاصل با توالی‌های ژن 16S rRNA موجود در بانک ژن دیتا بیس NCBI تطبیق داده شد و با دو روش اتصال همسایه و حداکثر احتمال در نرم‌افزار Mega 5 درخت فیلوژنتیکی برای جدایه‌های موجود رسم شد. توالی‌های نوکلئوتیدی که در این تحقیق شناسایی شدند به پایگاه داده‌های GenBank فرستاده و با شماره دسترسی‌های مختلف ثبت شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از جداسازی جدایه‌های باکتری

در این مطالعه، ۶۶ جدایه باکتریایی جداسازی شد. سپس به‌منظور جداسازی باکتری‌های حل‌کننده فسفات از محیط کشت اسپربر جامد استفاده گردید که در نهایت تنها ۱۸ جدایه دارای توان انحلال فسفر معدنی بودند.

نتایج آزمون نیمه کمی توان انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که توانایی جدایه‌های مورد بررسی در انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی در محیط جامد دارای تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که جدایه ۳۸ نسبت به سایر جدایه‌ها توانایی بیشتری در انحلال فسفات نامحلول معدنی در محیط کشت جامد اسپربر و جدایه ۵۲ کمترین توان را در انحلال فسفات داشت. محدوده‌ی شاخص HD/CD در بین باکتری‌های حل‌کننده فسفات از ۱/۲۷ تا ۳/۵۴ متغیر بود و میانگین آن ۲/۳۶ به دست آمد (جدول ۲)

جدول ۱ - تجزیه واریانس آزمون نیمه کمی (HD/CD) انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
جدایه باکتری	۱۷	۰/۵۲**
خطا	۱۸	۰/۰۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۴/۴۴

** معنی‌داری در سطح ۱ درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین آزمون نیمه کمی (HD/CD) انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد

جدایه	HD/CD	جدایه	HD/CD	جدایه	HD/CD
۴۷	۲/۸۱ bc	۶۳	۲/۵۷ def	۱	۲/۵۴ def
۵۲	۱/۲۷ j	۶۴	۱/۸۹ gh	۱۰	۲/۴۵ ef
۵۳	۲/۴۲ f	۶۶	۲/۵۳ def	۱۵	۱/۷۴ h
۵۴	۲/۰۶ g	۳۴	۲/۶۳ cdef	۱۶	۲/۶۳ cde
۵۹	۱/۵ i	۳۸	۳/۵۴ a	۲۲	۲/۹۲ b
۶۲	۱/۹۳ g	۴۰	۲/۴۴ ef	۲۷	۲/۷۰ cd

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند. HD/HC= Halo Diameter/Colony Diameter

نتایج آزمون نیمه کمی توان انحلال فسفات‌های نامحلول آلی

نتایج تجزیه واریانس این آزمون نشان داد که توانایی جدایه‌های مورد بررسی در انحلال فسفات‌های نامحلول آلی در محیط جامد دارای تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بود (جدول ۳). محدوده‌ی شاخص HD/CD در بین باکتری‌های حل‌کننده فسفات آلی از صفر تا ۵/۸۹ متغیر بود و میانگین آن ۲/۷۳ به دست آمد.

جدول۳- تجزیه واریانس آزمون نیمه کمی (HD/CD) انحلال فسفات‌های نامحلول آلی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
جدایه	۱۷	۴/۵۳**
خطا	۱۸	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۲/۹

** معنی‌داری در سطح ۱ درصد

جدول۴- مقایسه میانگین آزمون نیمه کمی (HD/CD) انحلال فسفات‌های نامحلول آلی توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد

جدایه	HD/CD	جدایه	HD/CD	جدایه	HD/CD
۴۷	c۴/۷۱	۱	j۱/۷۴	۶۶	i۱/۹۵
۵۲	hi۲/۰۴	۱۰	e۲/۸۱	۴۰	k۰
۵۳	j۱/۶	۱۵	e۲/۹۱	۶۴	g۲/۲۴
۵۴	i۲/۰۱	۱۶	gh۲/۱۶	۳۸	d۴/۲۷
۵۸	f۲/۳۸	۲۲	a۵/۸۹	۶۳	f۲/۴۱
۶۲	j۱/۶۱	۲۷	b۴/۸	۳۴	fg۲/۳

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند. HD/HC= Halo Diameter/Colony Diameter

نتایج آزمون کمی توان انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی

تجزیه واریانس این آزمون نشان داد که توانایی جدایه‌های مورد بررسی در انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی در محیط مایع دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۵). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها تمامی جدایه‌های مورد بررسی در این آزمون قادر به انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی در محیط مایع بودند (جدول ۴-۶). حداکثر میزان انحلال (۳۶۱/۳۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مربوط به جدایه شماره ۲۲ و حداقل میزان انحلال (۱۵۳/۸۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) متعلق به جدایه شماره ۵۳ بود. Lavania and Nautiyal(۲۰۱۳) با جداسازی باکتری‌های مختلف حل‌کننده فسفات از خاک‌های مناطق جغرافیایی مختلف هند گزارش کردند که بیشترین انحلال فسفر در محیط مایع مربوط به باکتری Serratia marcescens بود که توانست تا ۹۸۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر فسفر در محیط کشت مایع حل نماید.

جدول۵- تجزیه واریانس آزمون کمی انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
جدایه	۴	۵۵۳۲۳/۴**
خطا	۵	۱۵۳۰/۴۷
ضریب تغییرات (٪)	-	۷/۱

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

جدول۶- مقایسه میانگین آزمون کمی انحلال فسفات‌های نامحلول معدنی توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد

جدایه	میزان انحلال تری کلسیم فسفات (µg/ml)	جدایه	میزان انحلال تری کلسیم فسفات (µg/ml)
۲۲	a۳۶۱/۳۷	۵۷	d۱۸۵/۱۲۵
۳۸	b۲۹۲	۶۲	c۲۳۲/۵
۵۳	d۱۵۳/۸۷		

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

نتایج حاصل از برخی آزمون‌های خصوصیات محرک رشد گیاه جدایه برتر

نتایج نشان دادند که این سویه‌ها دارای توان پایین تولیدIAA[3] می‌باشند (جدول ۷). یکی از راه‌های تأثیر باکتری‌ها بر رشد و نمو گیاهان سنتز فیتورهورمون ایندولی (IAA) است. این هورمون باعث توسعه سیستم جذب توسط ریشه گیاه و به دنبال آن افزایش جذب عناصر غذایی به‌وسیله گیاه می‌شود (Sergeeva و همکاران،۲۰۰۲). همچنین تلقیح دانه‌های کلزا با Pseudomonas GR12-2 که IAA را در سطح پایین تولید می‌کرد، طول ریشه گیاهچه ها را دو تا سه برابر افزایش داد (Gupta و همکاران،۲۰۱۲). همچنین تمامی جدایه‌ها دارای توان تولید سیدروفور بودند. توانایی تولید سیدروفور در تعداد زیادی از ریزجانداران ازجمله باکتری‌ها و قارچ‌ها در شرایط کمبود آهن گزارش‌شده است.

جدول۷- نتایج برخی از آزمون‌های خصوصیات محرک رشد گیاه جدایه‌های برتر در آزمون گرماگذاری

جدایه	خصوصیت	
	تولید سیدروفور	تولید IAA(µg ml-1)
۲۲	+	۱۲/۶۴
۳۸	+	۱۲/۳۳

[3] Indole Acetic Acid

۵۳	+	۱۲/۲۹
۵۷	+	۱۳/۸۲
۶۲	+	۱۳/۰۷

شناسایی جدایه‌های حل‌کننده فسفات آلی و معدنی

نتایج حاصل از توالی ژنی 16S rRNA نشان دادند که جدایه شماره ۲۲ با شباهت ۹۹ درصد به گونه Serratia marcescens، جدایه شماره ۳۸ با شباهت ۱۰۰ درصد به گونه Serratia marcescens، جدایه شماره ۵۷ با شباهت ۱۰۰ درصد به گونه Bacillus thuringiensis، جدایه شماره ۶۲ با شباهت ۹۹ درصد به گونه Pseudomonas aeruginos و جدایه شماره ۵۳ با شباهت ۹۸ درصد به گونه Pseudomonas aeruqinosa تعلق دارند.

جدایه‌های مورد آزمایش در پایگاه داده GenBank با شماره ثبت ارائه‌شده در زیر ثبت گردید و درخت فیلوژنتیکی جدایه‌ها در شکل ۱ گزارش‌شده است.

جدایه ۶۲ با شماره ثبت MH177874

جدایه ۵۷ با شماره ثبت MH177875

جدایه ۵۳ با شماره ثبت MH177876

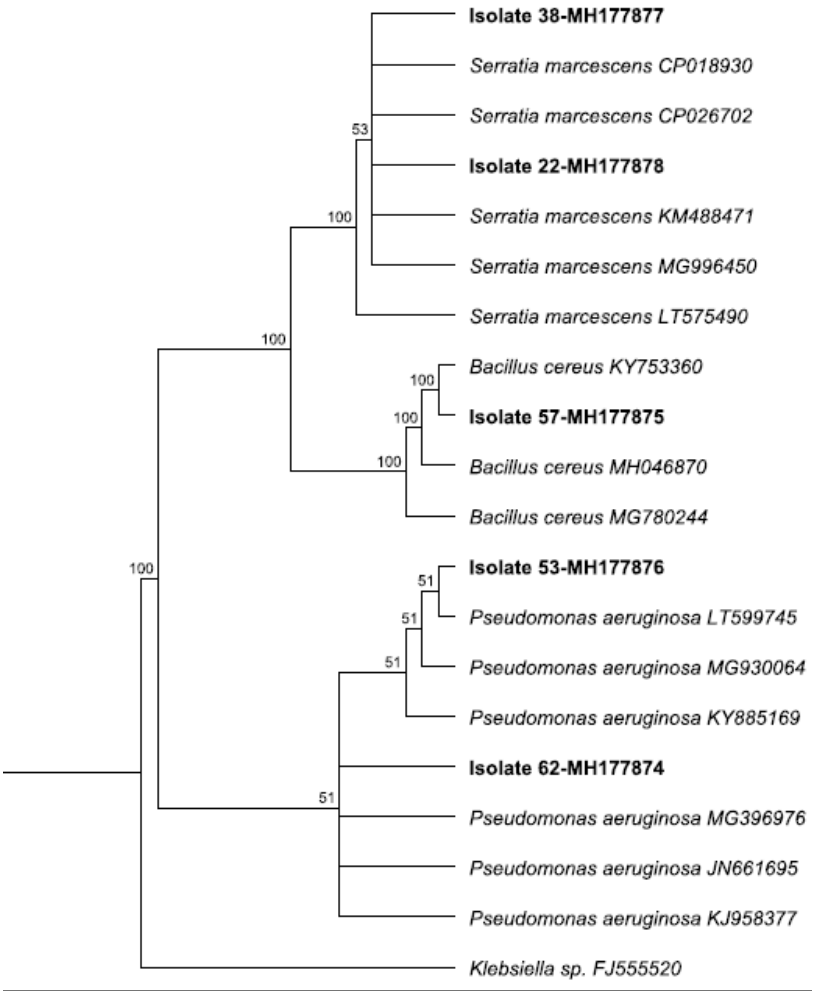
جدایه ۳۸ با شماره ثبت MH177877

جدایه ۲۲ با شماره ثبت MH177878

Gupta و همکاران (۲۰۱۲) با جداسازی Pseudomonas.sp و Serratia marcescens و بررسی توان انحلال فسفات معدنی آن‌ها در محیط حاوی تری کلسیم فسفات (TCP) گزارش کردند که این سویه‌ها توانستند فسفر را از ۲۵ تا ۳۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر حل کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل نشان داد که باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌توانند جایگزین مناسبی جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفاته باشند و در آینده استفاده از آن‌ها به‌عنوان یک استراتژی مناسب در جهت مدیریت بهتر ورمی‌کمپوست در خاک‌ها امکان‌پذیر است.



شکل ۱- درخت فیلوژنتیکی جدایه‌های ۲۲، ۳۸، ۵۳، ۶۲ و ۵۷

منابع

Alexander, D., & Zuberer, D. 1993. Responses by iron-efficient and inefficient oat cultivars to inoculation with siderophore-producing bacteria in a calcareous soil. Biology and Fertility of Soils. 16: 2. 118-124.

Busato, J.G., Lima, L.S., Aguiar, N.O., Canellas, L.P., Olivares, F.L., 2012. Changes in labile phosphorus forms during maturation of vermicompost enriched with phosphorus-solubilizing and diazotrophic bacteria. Bioresour. Technol. 110, 390e395.

Edwards, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M., & Böttger, E. C. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. Nucleic Acids Research. 17: 19. 7843-7853.

Glickmann, E., & Dessaux, Y. 1995. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 61: 2. 793-796.

Gupta, M., Kiran, S., Gulati, A., Singh, B., & Tewari, R. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of Aloe barbadensis Miller. Microbiological Research. 167: 6. 358-363.

Gyaneshwar, P., Kumar, G. N., Parekh, L. J., & Poole, P. S. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Plant and soil, 245(1), 83-93.

Lu, H., Feng, Y., Wu, Y., Yang, L., & Shao, H. 2016. Phototrophic periphyton techniques combine phosphorous removal and recovery for sustainable salt-soil zone. Science of the Total Environment. 568, 838-844.

Premono, M. E., Moawad, A., & Vlek, P. 1996. Effect of phosphate-solubilizing Pseudomonas putida on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. Indonesian Journal of Crop Science. 11: 1. 13-2.

Rashtbari, M., and Alikhani, H.A. 2014. Effects of Different Enrichment Treatments on Chemical Properties of Vermicompost during Maturation .Bull. Env. Pharmacol. Life Sci, 3 (5):119-124.

Ravindran B, Dinesh SL, John Kennedy L and Sekaran G, 2008. Vermicomposting of Solid Waste Generated from Leather Industries Using Epigeic Earthworm Eisenia fetida. Applied Biochemical Biotechnology 151: 480–488.

Roy, S., Suchismita, C., & Mukherjee, S. 2007. Biological control of Phytophthora spp. with a novel indigenous Pseudomonas isolate. Journal of Mycopathological Research. 45: 1. 117-121.

Sergeeva, E., Liaimer, A., & Bergman, B. 2002. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria. Planta. 215: 2. 229-238.

Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Australian Journal of Agricultural Research. 9: 6. 778-781.

Topic for submission: Soli biology and biofertilizer

Isolation and Identification of Phosphate Solubilizing Bacteria from Vermicompost and Study of their Plant Growth-promoting Bacteria as a Biofertilizer Package

F. Parastesh[1*], H. Alikhani[2] and H. Etesami[3] M. Hasandokht [4]

[1] M.Sc. Graduate, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran

[2] Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran

[3] Assistant Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj,
Iran

[4] Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran,Karaj,Iran

Abstract

One of the most important goals of sustainable agriculture is to reduce the use of fertilizers and increase the efficiency of biofertilizers. The use of some plant growth-promoting bacteria increases plant crop performance through processes such as phosphate solubilization, production of hormones (Sidrophor and IAA) and increased resistance to non-biological stress. The present study shows the isolation and identification of native vermicompost bacteria. This study was carried out to determine the growth-promoting properties of phosphate-soluble bacteria from vermicompost. The solubility of organic and inorganic phosphates, the production of indole acetic hormone and the production of sidrophore were investigated. Based on the results of the 16S rRNA sequence, it was shown that isolate 22 with 99% similarity of Serratia marcescens, isolate 38 with 100% a similarity of Serratia marcescens, isolate 57 with 100% similarity of Bacillus thuringiensis, isolate 62 with 99% a similarity of Pseudomonas aeruginosa and isolate 53 with 98% similarity fo Pseudomonas aeruqinosa.

Keywords: Plant growth-promoting bacteria, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens,

* Corresponding Authors; Email: feaze.parasetsh@ut.ac.ir