التحري عن انتاج بعض عوامل السايدروفورات واذابة الفوسفات اللاعضوية من قبل عزلات محلية لبكتريا *Pseudomonas* المتألقة

خلود عبد الاله محمد ، صفاء عبد الرحيم محمود ، عمار محمد جواد ، محمد عبد الرحيم عبد الله

قسم الاحياء المجهرية التطبيقية/ مركز التقانات الغذائية والاحيائية/ دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا

الخلاصة:

تهدف الدراسة الحالية الى التحري عن انتاج صبغات البايروفدين وتشخيص السايدروفورات المنتجة من قبل عزلات محلية لبكتريا *Pseudomonas* المتألقة والمعزولة من جذور الذرة البيضاء وقابلية هذه العزلات على اذابة الفوسفات اللاعضوية وتحديد العزلة الاكفأ في الاذابة وتكوين الاغشية الحيوية من قبلها. اشارت النتائج ان العزلات البكتيرية تقوم بانتاج البايروفدين وانواع مختلفة اخرى من السايدروفورات على وسط KingB السائل مقارنة مع كميات ضئيلة على اوساط السيدوموناس والمرق المغذي المدعم ببياض البيض ووسط السكسنيت. شخصت انواع السايدروفورات باستخدام المطياف الضوئي لتكون العزلات الاربع منتجة لنوع الهيدروكسميت سايدروفور بينما انتجت العزلتين 4nf و6nf نوعا اخر من السايدروفورات شخص بانه كاتيكول سايدروفور. استطاعت العزلات جميعها من اذابة الفوسفات اللاعضوي وبكفاءة متفاوتة لتعطي العزلة 2nf تركيز 1795 جزء بالمليون فسفور ذائب مقارنة مع العزلة 6nf اذ اعطت 89 جزء بالمليون فوسفات ذائب. عملت تلك العزلات البكتيرية في تكوين الاغشية الحيوية والتحول من الشكل المتحرك الطافي في الوسط السائل الى الشكل الملتصق على جدار انبوب التنمية، كما ادى استخدام صبغة الكونغو الاحمر الى ظهور راسب اسود على اجزاء من النمو البكتيري في الوسط الصلب وظهور راسب اسود في قعر انبوب التنمية للوسط السائل.

الكلمات المفتاحية: السيدوموناس المتألقة، تشخيص السايدروفور، وسط كنك ب السائل

Detection of Siderophores Production and Inorganic Phosphate Solubilization by Local Isolates of Fluorescent *Pseudomonas*

Khlood. A. A. Al-Khafaji, Saffa, A. Raheem, Amar. M. Jwaad, Mohamed A.A Raheem

Industrial Microbiology Department, Food and Biotechnology Center, Agricultural Research Directorate, Science and Technology Ministry

Abstract:

The aim of this study was to detect pyrovidene production and siderophore characterization from local isolates of fluorescent *Pseudomonas* which were isolated from rhizospheric region of sorghum. The isolates were tested for inorganic phosphate solubilization and biofilm formation. All isolates produced pyrovidene and other siderophores on King B broth comparing with pseudomonas broth, nutrient broth enriched with 10% egg white and succinate broth. Characterization of siderophores indicated the presence of hydroxymate siderophores from all isolates while only two isolates produced catechole siderophore. All isolates showed an ability of solubilized inorganic phosphate with release of 1795 ppm by 2nf isolate as comparing with minimum release 89 ppm by 6nf isolate. Biofilm could be detected on broth when bacterial biofilm adhering to the glass tube, black color formed at top of bacterial growth with Congo red stain on solid medium and on the bottom of liquid medium.

Key words: fluorescent Pseudomonas, siderophore characterization, king B broth.

المقدمة:

يعتبر التفاعل الواسع بين الاحياء المجهرية المختلفة والنبات في المنطقة الجذرية للنبات احد المقومات الاساسية في تغذية ونشاط النبات حيث اشير الى مثل تلك الاحياء المجهرية ذات القدرة في زيادة النمو النباتي بصورة مباشرة او غير مباشرة بالبكتريا الجذرية المنشطة لنمو النبات Plant growth promoting rhizobacteria اذ كان تأثيرها ايجابي في نمو وحاصل النبات من خلال انتاجها للهرمونات النباتية المختلفة مثل الاندول اسيتك اسيد والاندول بيوتريك اسيد والجبرلين، وزيادة جاهزية الحديد الذائب من خلال انتاجها لمركبات مخلبية تسمى السايدروفورات، زيادة جاهزية الفسفور والزنك من خلال اذابة املاح الفوسفات والزنك غير الذائب، توفير النتروجين من خلال تثبيت النتروجين الجوي (1). الفسفور له اهمية من حيث كونه من المغذيات الرئيسية والتي تؤثر على نمو وتطور النبات اذ يدخل في تركيب مركبات الطاقة وتكون التربة غنية بمواد الفوسفات العضوية والفوسفاتية غير الذائبة ولكنها وبصورة عامة تفتقر الى الفسفور الذائب والجاهز للنبات (Pi) ويتم تزويد التربة بالمخصبات الفوسفاتية حيث توجد في التربة العديد من الاحياء المجهرية ذات القدرة على اذابة الفوسفات العضوية او المعدنية وتحويلها الى فوسفات ذائبة وجاهزة للنبات (2و3 و4).

كما يكون عنصر الحديد من رابع المعادن وفرة في الارض ولكنه يكون مقيدا بشكل اوكسيدات الحديد او متصل مع ببتيدات مختلفة الطول خصوصا في الترب ذات التهوية الجيدة والارقام الهيدروجينية المعتدلة او القاعدية ليصبح غير جاهزللنبات ولاحياء التربة المجهرية لذلك تقوم معظم تلك الاحياء المجهرية بانتاج السايدروفورات والذي يقوم باذابته وادخاله الى داخل الخلايا البكتيرية والوصول الى تراكيز مناسبة منه حيث انه يدخل كعامل مساعد في العديد من انزيمات البكتريا والبروتينات (5 و6). ان البكتريا المكونة للصبغات المتألقة لها القدرة في انتاجها للهرمونات النباتية وقدرتها على اذابة الفوسفات وانتاجها الكبير لعوامل السايدروفورات (7)، والتي تعرف بانها جزيئات ذات اوزان جزيئية صغيرة 500- 1000 دالتون والتي تساهم بخلب الحديد وتحويله الى معقدات حديدية جاهزة اذ تدخل الى خلايا البكتريا او خلايا النبات من خلال اليات النقل الفعال المعتمد على مركبات الطاقة (8)، وقد اتسعت اهمية السايدروفورات لتأخذ اهمية في تطبيقات التقنية الحيوية والمجال الطبي وقد استعملت بكفاءة في مجال السيطرة الحيوية ضد الممرضات النباتية ذات منشأ التربة وتصنف السايدروفورات الى انواع متعددة منها هيدروكسميت سايدروفور والكاتيكول سايدروفور والكربوكسيلية وتعطي العديد من السايدروفورات الوان مختلفة ومن اهمها هو البايوفردين pyoverdin والذي ينتج بصورة رئيسية من قبل بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والذي يعطيها اللون الاصفر المخضر المتألق وينتج البايروفدين من انواع اخرى منها *P. fluorescens* وانواع من الجنس *Legionella* وبكتريا *Marinobacter* و*Rhizobium* (9).

تقوم البكتريا بانتاجها لمركبات السايدروفور عند قلة وجود الحديد بصورة رئيسية كما ان لمكونات الوسط الزرعي من املاح ومواد مغذية ورقم هيدروجيني تأثيراً على انتاجها (10 و11) وتميل العديد من احياء التربة المجهرية الى تكوين اغشية حيوية تكون ملاذا امنا لها من الظروف البيئية المختلفة وان هذه الاغشية الحيوية لها تطبيقات واسعة في مجال المعالجات البيئية لمشاكل التلوث والتطبقات الزراعية (12) . لذا هدفت هذه الدراسة الى تحديد قابلية عزلات بكتيرية محلية *Pseudomonas* المتألقة والمعزولة من جذور الذرة البيضاء على انتاجها لمركبات السايدروفورات بأستعمال اوساط زرعية مختلفة فضلا عن التحري عن قابلية تلك العزلات البكتيرية في اذابة الفوسفات اللاعضوية وقابليتها لتكوين الاغشية الحيوية.

المواد وطرائق العمل:

تنمية البكتريا المستخدمة:

استخدمت اربع عزلات بكتيرية شخصت بانها *Pseudomonas* المتألقة والمعزولة من جذور الذرة البيضاء وفقا للخفاجي (13) وتمت زراعتها على وسط السيدوموناس لفحص تكوينها للصبغات المتألقة كما نميت العزلات بدرجة 4 مْ و41 مْ للتأكد من التشخيص ونميت على وسط المرق المغذي السائل بدرجة حرارة 30 مْ ولمدة 18 ساعة واستعمل كلقاح بكتيري ابتدائي.

التحري عن انتاج البايوفردين:

تم استخدام 1% من اللقاح البكتيري الابتدائي في تلقيح عدد من الاوساط الزرعية السائلة لغرض انتاج البايوفردين حيث استعمل وسط King B ووسط Pseudomonas ووسط المرق المغذي المدعم بتركيز 10% بياض البيض (14) ووسط السكسنيت (وزن كل من 6غم من K_2HPO_4 و 3 غم من KH_2PO_4 و 0.2 غم من $MgSO_4$ و1غم من $(NH_4)SO_4$ و4 غم من حامض السكسنيك في لترمن الماء المقطر وضبط الرقم الهيدروجيني الى 7) (15) وحضنت المزارع السائلة في الحاضنة الهزازة بسرعة 120 دورة /دقيقة وبدرجة حرارة 30 مْ ولمدة 72 ساعة. قيست الكثافة

الضوئية للمزارع السائلة عند الطول الموجي 560 نانومتر ونبذت المزارع البكتيرية مركزيا بسرعة 5000 دورة/ دقيقة ولمدة 15 دقيقة وقيست الامتصاصية الضوئية لراشح المزارع البكتيرية عند الطول الموجي 400 نانومتر وتم حساب النسبة بين الامتصاص الضوئي 400 وبين الامتصاص الضوئي 560 نانومتر لتحديد العزلة الاكفأ في انتاج البايوفردين وتقييم كفاءة الاوساط المستعملة في الانتاج (16).

تشخيص السايدروفورات الناتجة:

تم تشخيص بعض انواع السايدروفورات للعزلات البكتيرية المتألقة في الاوساط المختلفة باضافة كلوريد الحديديك المائي بتركيز 2% الى راشح المزارع البكتيرية ثم تم قياس الامتصاص الضوئي عند الاطوال الموجية 400 -500 نانوميتر حيث يعد ظهور قمة عند الطول الموجي 420-450 دليلا على وجود السايدروفور نوع الهيدروكسميت اعتمادا على neiland spectrophotometric assay بينما يعد ظهور القمة peak عند الطول الموجي 495 نانومتر دليلا على وجود السايدروفور نوع الكاتيكول وكما جاء في (15).

اذابة الفوسفات اللاعضوية:

تمت زراعة العزلات البكتيرية قيد العمل على وسط AYG السائل ذي الرقم الهيدروجيني 6.8 (وزن 20 غم من الكلوكوز و1 غم من $(NH_4)_2SO_4$ و0.5 غم من $MgSO_4$. $7H_2O$ و0.2 من مستخلص الخميرة والقليل من $FeCl_3$ و$MnSO_4$. $7H_2O$ و5 غم من $Ca_3(PO_4)_2$

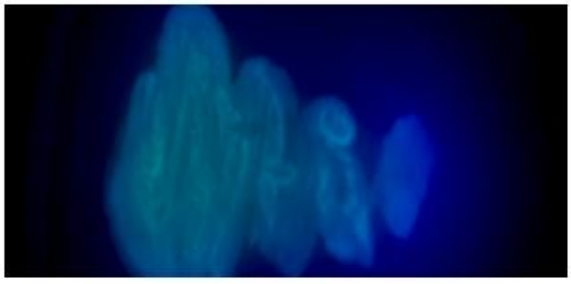
في لتر من الماء المقطر) وكما جاء في (17) وحضنت الدوارق في الحاضنة الهزازة بسرعة 120 دورة/ دقيقة وبدرجة حرارة 30 مْ ولمدة 72 ساعة، تم استخدام الراشح في تقدير الفسفور الذائب لونيا باستعمال مولبيدات الامونيوم وحامض الاسكوربيك وعند طول موجي 660 نانومتر باستعمال المطياف الضوئي ويتم تحديد تركيز الفسفور بالجزء بالمليون واعتمادا على المنحنى القياسي المحضر مسبقا باستخدام تراكيز متسلسلة من K_2HPO_4 وفقا (18).

تكوين الاغشية الحيوية:

تم التحري عن تكوين الاغشية الحيوية نوعيا بطريقتين اعتمدت الاولى على التصاق البكتريا على سطح انبوب التنمية الحاوي على وسط نقيع القلب والدماغ ذي تركيز 1% سكروز، حيث نميت العزلات البكتيرية على الوسط السائل ولمدة 72 ساعة وبدرجة حرارة 30 مْ وباستخدام الحاضنة، سكب المزروع البكتيري بهدوء وتم التحري عن تكون والتصاق غشاء البكتريا على اسطح انبوب الزرع لتقيم النتيجة بغشاء كثيف ومتوسط وقليل او معدوم اما الطريقة الثانية فقد اعتمدت على استخدام صبغة الكونغو الاحمر في وسط نقيع القلب والدماغ المدعم بتركيز1% سكروز وباستخدام اوساط سائلة وصلبة وتم التحري عن تكون راسب اسود على سطح النمو البكتيري او ظهور النمو بلون احمر غامق في حالة استعمال الوسط الصلب وتكون راسب اسود في قعر انبوب التنمية للوسط السائل (19).

النتائج والمناقشة:

اظهرت النتائج ان العزلات البكتيرية عصوية الشكل سالبة لصبغة كرام موجبة لفحص الاوكسيديز والكاتاليز لها القدرة على النمو في درجة 4 مْ ولا تنمو بدرجة حرارة 41 مْ منتجة للبروتيز واللاييز وغير منتجة لانزيم الاميليز وقد تعود لانواع متألقة للجنس *Pseudomonas* وقد تبين انتاج العزلات لصبغات متألقة على وسط السيدوموناس وعند فحصها بالاشعة فوق البنفسجية واعطت صبغات ذات لون اخضر عند زراعتها على وسط المرق المغذي والذي قد يعد دليلا على انتاج البايوفردين (شكل 1).



شكل(1): انتاج صبغات متألقة في وسط السيدوموناس من قبل العزلة 1nf *Pseudomonas* المتالقة والمعزولة من جذور الذرة البيضاء

اعطت نتائج دراسة تأثير الاوساط الزرعية المختلفة في نمو العزلات البكتيرية على وجود اختلافات واضحة بين الاوساط الزرعية في نمو تلك العزلات حيث تبين ان الوسط KingB هو الاكثر فعالية وكفاءة مقارنة بالاوساط الاخرى بدليل ارتفاع الامتصاص الضوئي ليصل الى 2.4 للعزلة البكتيرية 1nf تبعه الوسط الزرعي سيدوموناس حيث تصل الامتصاصية الى 1.436 للعزلة 2nf بينما لوحظ ان هناك اختلافا في قابلية وسط السكسنيت الادنى على دعم نمو العزلات حيث لوحظ دعمه لنمو العزلتين 2nf و6nf بينما اثر سلبا على نمو العزلتين الاخرتين. وقد تبين التأثير السلبي لوسط المرق المغذي المدعم ببياض البيض على نمو العزلات الاربع حيث وصلت الامتصاصية الى 0.259 للعزلة 6nf وقد يكون سبب ذلك الى احتواء بياض البيض على العديد من المواد المضادة لنمو البكتريا ومنها اللايسوزايم lysozyme الذي يعمل على تحليل الجدران الخلوية للبكتريا. وقد تبين من قراءات الامتصاص الضوئي عند الطول الموجي 400 نانومتر دعم وسط KingB انتاج البايوفردين وان العزلة 4nf تنتج كمية اكبر من البايوفردين مقارنة مع العزلات الاخرى بينما وجدت تراكيز ضئيلة او شبه معدومة من البايوفردين في الاوساط الاخرى ولجميع العزلات وكما هو واضح في جدول (1).

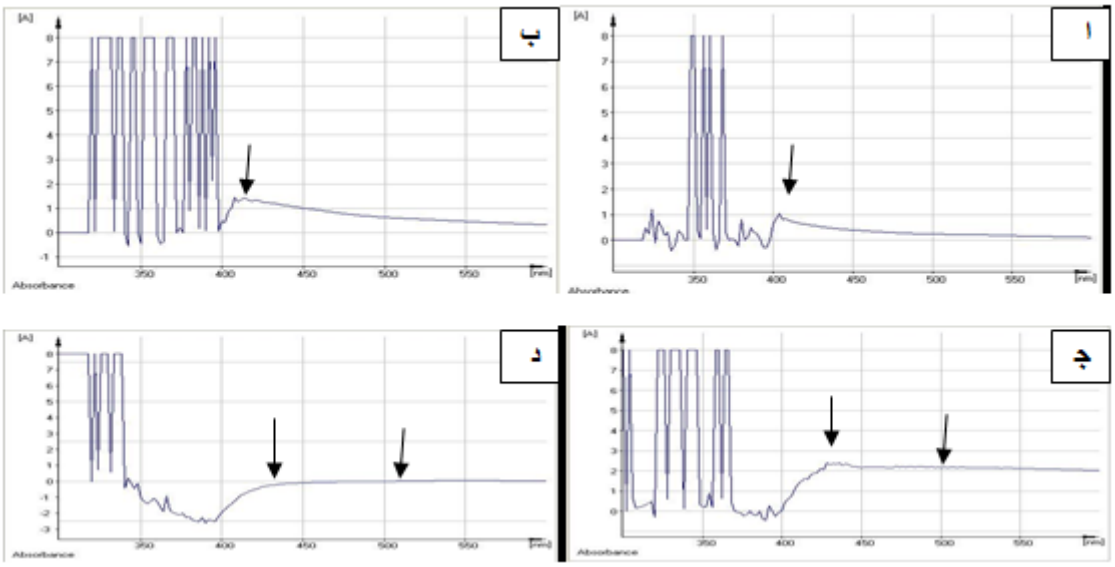
قد تعزى اختلافات قابلية الاوساط المختلفة في نمو العزلات البكتيرية الى اختلاف تركيبها الكيميائي ومصادر الطاقة فيها وهذه المكونات كافية لدعم نمو انواع الجنس *Pseudomonas* وقد تكون لخصوصية العزلات المحلية والبيئة التي عزلت منها تأثيرا على نمو هذه العزلات في تلك الاوساط الزرعية، كما ان انتاج تلك البكتريا للسايدروفورات يعتمد وبشكل كبير على عدم وجود الحديد في الوسط الزرعي وذلك يتوافق مع ما اشار اليه العديد من ان استخدام اوساطا غير محتوية على ذلك العنصر ينشط البكتريا المتألقة على انتاجها للصبغات المختلفة وانواع السايدروفورات (20) وبين Sreedevi (11) ان لمصادر الكربون بالاضافة الى الحديد يلعب دورا كبيرا في انتاج السايدروفور كما يتوافق ايضا مع Silva (21) التي اشارت الى وجود اختلافات بين الاوساط المستخدمة في انتاج الصبغات الصفراء المخضرة من قبل بكتريا *P. fluorescens* حيث وجدت ان لوسط KingB تأثيرا ايجابيا في انتاج الصبغات مقارنة مع اوساط اخرى كما اشارت الى تأثير كبريتات المغنيسيوم وفوسفات البوتاسيوم في انتاج تلك الصبغات.

جدول(1) التحري عن انتاج البايروفدين من عزلات محلية لبكتريا*Pseudomonas* المتألقة وباستخدام اوساط مختلفة

الوسط المستخدم	العزلات البكتيرية	الامتصاص الضوئي عند طول موجي 560 نانومتر	الامتصاص الضوئي عند طول موجي 400 نانومتر	النسبة بين قيمة الامتصاصية 560/ 400
وسط السيدوموناس	*Pseudomonas* 1nf	1.252	0	-
	Pseudomonas 2nf	1.436	0	-
	Pseudomonas 4nf	1.346	0	-
	Pseudomonas 6nf	1.412	0	-
وسط كنك ب	*Pseudomonas* 1nf	2.46	0.556	0.226
	Pseudomonas 2nf	2.095	0.406	0.193
	Pseudomonas 4nf	2.115	1.187	0.561
	Pseudomonas 6nf	2.157	0.121	0.056
وسط المرق المغذي+10% بياض البيض	*Pseudomonas* 1nf	0.489	0	-
	Pseudomonas 2nf	0.685	0	-
	Pseudomonas 4nf	0.573	0	-
	Pseudomonas 6nf	0.259	0	-
وسط السكسنيت	*Pseudomonas* 1nf	0.354	0	-
	Pseudomonas 2nf	1.89	0	-
	Pseudomonas 4nf	0.591	0.013	
	Pseudomonas 6nf	1.336	0	-

وقد اوضح تشخيص السايدروفورات المنتجة من خلال تحديد مواقع القمم الناتجة لمستخلص العزلات البكتيرية في وسط KingB ظهور قمة واضحة عند الطول الموجي 400-450 للعزلات الاربعة جميعها دلالة على تكون املاح حديد- الهيدروكسميت بينما انفصلت قمة اخرى عند الطول الموجي 495 لمستخلص العزلات 4nf و6nf لتكون املاح الحديد- كاتيكول وكما هو واضح في شكل (2)، تعد زيادة الامتصاص الضوئي عند الطول الموجي بين 400- 450 نانومتر بعد اضافة ملح كلوريد الحديديك الى تفاعل حاصل بين مجموعة الهيدروكسميت الموجودة في السايدروفورات وبين الحديد بينما يؤدي تفاعل مجموعة الكاتيكول في السايدروفورات مع الحديد الى ارتفاع قيمة الامتصاص الضوئي عند الطول الموجي 495 نانومتر وهذا يتفق مع ما حصل عليه (16) نتيجة استعماله للامتصاص الضوئي في

تشخيص انواع السايدروفورات المنتجة من قبل بكتريا *Pseudomonas* كما اوضحت Silva (21) الى تأثير املاح الحديد المستخدمة على نتائج الامتصاص الضوئي لاختلاف قابلية السايدروفورات في خلب الحديد من املاحه المختلفة.



شكل(2): تحليل الامتصاص الضوئي لمستخلصات العزلات البكتيرية لبكتريا *Pseudomonas* المتألقة المعزولة من جذور الذرة البيضاء

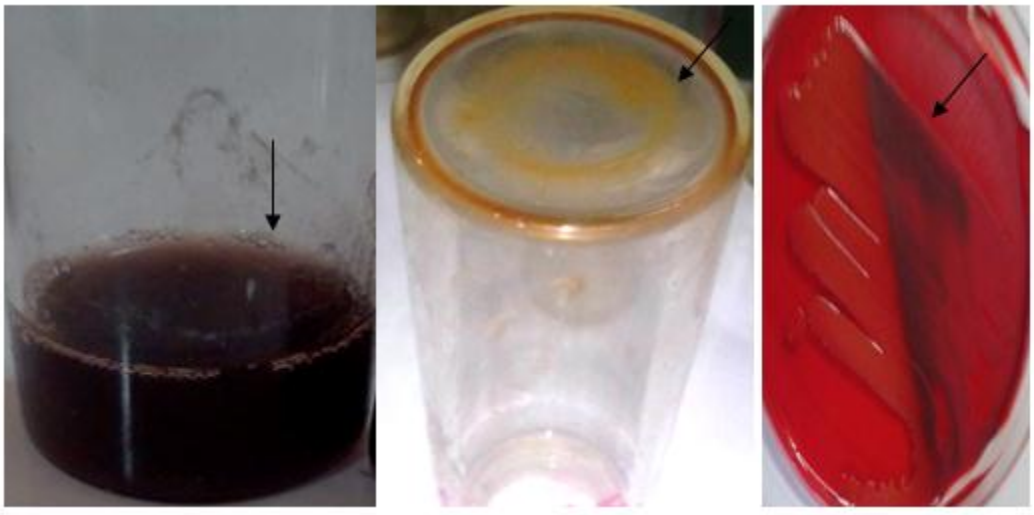
ا= العزلة *Pseudomonas* 1nf ، ب= العزلة *Pseudomonas* 2n*f*، ج= العزلة *Pseudomonas* 4nf ، د= العزلة *Pseudomonas* 6n*f*

أظهرت العزلات البكتيرية الاربعة قيد الدراسة قابلية متفاوتة في اذابة الفوسفات اللاعضوية وباستخدام وسط AYG السائل حيث ادى نمو العزلات الى انخفاض في الارقام الهيدروجينية مع زيادة تحرر الفسفور، وقد وجد ان افضل العزلات البكتيرية اذابة للفوسفات اللاعضوية هي العزلة 2nf تأتي بعدها العزلة 4nf مع تحرر 1795 جزء بالمليون و1451 جزء بالمليون على التوالي بينما لوحظ انخفاض في قابلية العزلة 6nf على اذابة الفوسفات ليصل الفسفور المتحرر الى 89 جزء بالمليون فقط (جدول2). قد يؤثر انتاج السايدروفورات اضافة لانخفاض الارقام الهيدروجينية من قبل العزلات البكتيرية على عملية اذابة الفوسفات اللاعضوية من قبل العزلات حيث لوحظ ان العزلتين 2nf و4nf المنتجة للبايروفدين والسايدروفورات الاخرى هي مذيبة للفوسفور اللاعضوي بصورة اكبر من العزلتين 1nf و6nf وقد تتأثر قابلية اذابة الفوسفات اللاعضوي على العديد من العوامل منها النوع البكتيري وانتاج للعديد من الحوامض العضوية من خلال استهلاكها للسكريات المختلفة وقد اشار Nahas(22) الى ان انتاج الاحماض العضوية احد الاليات المهمة المتبعة من قبل البكتريا في اذابة الفوسفات كما اشار Sadaf(23) الى انتاج بعض المركبات المخلبية مثل السايدروفورات او انتاج بعض مواد الايض الاخرى والتي قد تساهم في اذابة الفوسفور اللاعضوي كما درس Vyas و Gulati (24) انتاج وتشخيص الاحماض العضوية من قبل عزلات لانواع متألقة لبكتريا *Pseudomonas* وتأثيرها في اذابة الفوسفور اللاعضوي واشار كذلك الى انتاج تلك العزلات لبعض الهرمونات نباتية مما تزيد من نمو وحاصل النبات واستطاع Farshad (26) من عزل بكتريا *P. fluorescens* من ترب مختلفة وتقييم كفاءتها في اذابة الفوسفات اللاعضوي وانتاجها لانواع من السايدروفورات ومنظمات النمو وان نسبة عالية تصل الى 70% من العزلات المذيبة للفوسفات تكون منتجة للسايدروفور كما بين Parani (27) الى امكانية استخدام عزلات البكتريا المتألقة ذات الانتاجية المتعددة من منظمات النمو وذات القدرة على اذابة الفوسفات والمنتجة للسايدروفور في تصنيع واستعمال سماد حيوي قليل الكلفة وذي كفاءة جيدة.

المتألقة والمعزولة من جذور الذرة البيضاء*Pseudomonas*جدول(2): تركيز الفسفور الذائب المتحرر بفعل العزلات البكتيرية

العزلة البكتيرية	pHالرقم الهيدروجيني	محتوى الفسفور الذائب (جزء بالمليون)
Pseudomonas 1nf	4.2	1065
*Pseudomonas*2nf	3.9	1795
Pseudomonas 4nf	3.9	1451
Pseudomonas 6nf	3.8	89

ابرزت نتائج تكوين الاغشية الحيوية من قبل العزلات البكتيرية المتألقة قيد العمل قابلية تلك العزلات في تكوين اغشية حيوية والتحول من الشكل المتحرك الطافي في الوسط السائل الى الشكل الملتصق على جدران الانبوب الزرعي، كما ادى استخدام صبغة الكونغو الاحمر الى ظهور راسب اسود على اجزاء من النمو البكتيري في الوسط الصلب وظهور راسب اسود في قعر الانبوب الزرعي (شكل 3) ويعد ذلك دلالة على تحول البكتريا من شكلها العادي ذي الاسواط المتحركة الى شكل اكثر كثافة محتوي على الاهداب التي تميل في ترسيب صبغة الكونغو الاحمر بعد تجميعها على اسطح الاهداب مؤدية الى ظهور الراسب الاسود.



شكل(3): تكوين الاغشية الحيوية من قبل عزلات *Pseudomonas* المتألقة

تلجأ البكتريا في بيئاتها المختلفة الى الالتصاق بالسطوح الصلبة من خلال انتاجها لمتعدد السكريد وبروتينات سطحية وتكون تجمعات شبيهة بالكائنات متعددة الخلايا والتي تتداخل مع انسجة النبات لتكوين اغشية حيوية تختلف من حيث التجمعات والطبقات والكبر، وتتأثر الاغشية الحيوية بعدد من العوامل منها انسجة النبات التي تلتصق عليها وتوفر المواد المغذية والماء وطبيعة تلك البكتريا. توفر تلك الطبقات المتعددة الثابتة للبكتريا القدرة على التغلب على ظروفها البيئية المختلفة من حرارة او نقص مغذيات او وجود مضادات حيوية وقد اشار كل من Ramey واخرون (28) وDanhorn و Fuqua (29) الى تلك العلاقات التعايشية بين النبات واحياء التربة المجهرية. يتضح مما تقدم تمكن العزلات البكتيرية المتألقة للجنس *Pseudomonas* والمعزولة من جذور الذرة البيضاء على انتاج مواد تنظم نمو النبات حيث انها تنتج البايوفردين والعديد من السايدروفورات الاخرى واذابتها للفوسفات اللاعضوي وبكفاءة عالية وتكوينها للاغشية الحيوية مما يزيد من فرصة بقائها في بيئة النبات واظهار فعالياتها الحيوية المفيدة للنبات.

المصادر

1- **Kumar**, A., Kumar, A., Devi, S., Patil, S., Payal, C., and Negi, S. (2012). Isolation, screening and characterization of bacteria from rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an in vitro study. Recent Research in Science and Technology, 14(1): 1-5.

2- **Harris**, J. N. New, P. B. and Martin, PM. (2006). Laboratory tests can predicts of beneficial effects of phosphate- solubilizing bacteria on plants. Soil Bio. Biochem. 38: 1521- 1526.

3- **Illmer**, P. and Schinner, F.(1992). Solubilization of hardly- soluble AIPO4 with P- solubilizing microorganisms. Soil Biol. Biochem. 24: 389- 395.

4- **Kennedy**, A. C.(2005). Rhizsphere, In: Principles and Application of Soil Microbiology, D. A. Zuberer, eds., 2nd ed. Pearson, Prentice Hall, New Jersey, pp.242- 262.

5- **Lindsay**, WL. and Schwab, P.(1982). The chemistry of iron in soils and its availability to plants. J. Plant Nutr. 5: 821- 826.

6- **Sayyed**, R. Z., Badgujar, H. M., Sonawane, H. M., Mahaske, M. M. and Chincholkar, S. B. (2005). Production of microbial irion chelators (siderophores) by fluorescent Pseudomonads. Indian J. Biotechnol. 4: 484- 490.

7- **Budzikkiewiccz**, H. (1993). Secondary metabolites from fluorescent Pseudomonas. FEMS Microbiol. Rev. 104: 209- 228.

8- **Volkmar**, B. and Machael, B. (2002). Active transport of iron and siderophore antibiotics. Current Opinion in Microbiology, 5(2): 194- 201.

9- **Roy**, N. Bhattachryya, P. and Chakrabartty, P. K.(1994). Iron acquisition during growth in an iron deficient medium by Rhizobium sp. Isolated from Cicer arietium. Microbiology, 140: 2811- 2820.

10- **Ambrosy**, C., Leoni, L. and Visca, P.(2002). Different responses of pyoverdine genes to autoinduction in Pseudomonas aeruginosa and the group Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas putida. Appl. Env. Microbiol. 68(8): 4122- 4126.

11- **Sreedevi**, B., Preethi, S. and Kumari, J. P.(2014). Production and optimization of siderophore producing Pseudomonas from paddy soils. Int. J. Pharm. Res. Sci. 2(1): 71- 88.

12- **Mathew**, L. W., Wang, S., Ceri, H. and Turner, R. J. (2013). Spatial distributions of Pseudomonas fluorescens colony variants in mixed-culture biofilms. BMC Microbiology, 13:175.

13- **الخفاجي**، خلود، عبد الاله و مها مولى طعين وعمار محمد جواد وفاطمة محمد امين ومحمد جعفر وصفاء عبد الرحيم محمود (2014). عزل وتشخيص البكتريا المنتجة للهرمونات النباتية من محيط جذور الذرة البيضاء.مجلة الزراعة العراقية البحثية (عدد خاص)، 19(5):191-200.

14- **Garibaldi**, J. A. (1967). Media for the enhancement of fluorescent pigment production by Pseudomonas species. J. Bacteriology, 94(5): 1296- 1299.

15- **Bholay**, A.D., Jadhav, P.U., Borkhataria, B. V. and Mayuri, V. D. (2012). Fluorescent Pseudomonads as plant growth promoting rhizobacteria and their siderophores. J. pharmacy and Biological Science, 3(1): 27- 32.

16- **Rachid**, D. and Ahmed, B.(2005). Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by Pseudomonas fluorescens. African J of Biotechnology, 4(7): 697- 702.

17- **Sagervanshi**, A,. Kumari, P., Nagee, A. and Kumar, A. (2012). Media optimization for inorganic phosphate solubilizing bacteria isolated from an agriculture soil. International J. life Science and Pharma Research, 2(3): L245- L-255.

18- **Nahapetain**, A. and Bassiri, A.(1975). Changes in concentration of phytate phosphorous, Magnesium, calcium, and zinc in wheat during maturation. J. Agricultural and Food Chemistry, 23(6):1179-1184.

19- **Bose**, S. Khodke, M. Basak, S. and Mallick, SK.(2009). Detection of biofilm producing Staphylococci: need of the hour. J. of Clinical and Diagnostic Research, 3(6): 1915- 1920.

20- **Jankiewics**, U. and Kuzawinska, O. (2009). Purification and partial characterization of pyoverdine synthesized by Pseudomonas putida. Electronic J. of Polish Agricultural Universities, 12(1):11.

21- **Silva**, G. A. and Almeida, E. A.(2006). Production of yellow green fluorescent pigment by *Pseudomonas fluoresecence*. Brazilian Archeives of Biology and Technology, 49(3) :411- 419.
22- **Nahas**, E.(1996). Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. World J. Microbiol. Biotech. 12:567- 572.
23- **Sadaf**, S. and Nuzhat, A. (2008). Effect of various parameters on the efficiency of zinc phosphate solubilization by indigenous bacterial isolates. African J. Biotechnol. 7(10):1543-1549.
24- **Vyas**, P. and Gulati, A.(2009). Organic acid production in vitro and plant growth promoting in maize under controlled environment by phosphate- solubilizing fluorescent Pseudomonas. BMC Microbiology, 9:174- 175.
25- **Trivedi**, P. and Sa, T. (2008). Pseudomonas corrugate (NRL B- 30409) mutants increased phosphate solubilization, organic acid production, and plant growth at lower temperatures. Current Microbiol. 56(2):140- 144.
26- **Farshad**, A., Ali khan, H. A., Heidari, A. and Mohammadi, L.(2013). The study of inorganic phosphate solubilization and other plant growth promoting characteristic of indigenous Pseudomonas fluorescens bacteria of kordan and gonbads regions. International J. Agronomy and Agricultural Research, 3(12): 53- 60.
27- **Parani**, K. and Saha, B. K.(2012). Prospects of using phosphate solubilizing Pseudomonas as bio fertilizer. Eur. J. Biol. Sci.4(2): 40-44.
28- **Ramey**, B. Koutsoudis, M. von Bodman, S. B and Fuqua, C.(2004). Biofilm formation by plant- microbe association. Current Opinion in Microbiology, 7(6):602- 609.
29- **Danhorn**, T. and Fuqua, C. (2007). Biofilm formation by plant associated bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 61: 401-422