معرفی سودوموناس‌های فلورسنت به عنوان باکتری‌های حل‌کننده فسفات‌های معدنی نامحلول

پیمان عباس‌زاده دهجی، ناهید صالح راستین، هادی اسدی رحمانی، کاظم خاوازی، علی اشرف سلطانی طولارود و ویدا همتی

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، دانشیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران و کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب.

abp_1114 @yahoo.com

مقدمه

باکتری‌های محرک رشد گیاه(PGPR) به گروه نامتجانسی از باکتری های ریزوسفری مفید اطلاق می شود که قادرند با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص رشد گیاه را افزایش دهند [۲]. در حالت مستقیم انواع PGPR با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی مستقیما" در افزایش رشد و عملکرد گیاه ایفای نقش می‌کنند. افزایش انحلال عناصر غذایی کم محلول مانند فسفر، تولید ACC د-آمیناز، تولید هورمون‌های رشد گیاهی مانند اکسین، تثبیت نیتروژن و افزایش فراهمی آهن از طریق تولید سیدروفور از اهم مکانیسم‌های مورد استفاده در این روش می‌باشند [۳]. باکتری‌های حل کننده فسفات که در ریزوسفر به وفور یافت می‌شوند با ترشح اسیدهای آلی و فسفاتازها قادرند ترکیبات فسفاتی غیرمحلول را به فرم قابل استفاده برای گیاه درآورند. تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات باعث افزایش جذب فسفر شده و به تبع آن رشد گیاهان افزایش می‌یابد [۵].

مواد و روشها

اندازه‌گیری توان حل فسفات‌های معدنی در محیط جامد: در این روش ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط TSB کشت داده شدند. برای تشخیص نیمه کمی توان حلالیت فسفر، ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون تازه باکتری با روش لکه‌گذاری روی پلیت‌های حاوی محیط جامد PKV (Pikovskaya ، ۱۹۴۸) که حاوی نمک فسفات نامحلول تری کلسیم فسفات $Ca_3(PO_4)_2$ بود، کشت داده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. نسبت قطر کل (هاله + کلونی) بر قطر کلنی در چهار نوبت به فواصل ۲، ۴، ۶ و ۸ روز اندازه‌گیری شد [۴].

اندازه‌گیری میزان حلالیت فسفر در محیط مایع: در این روش ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط PKV منتقل گردید. متعاقبا نمونه ها برای مدت ۱۲۰ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۲۵ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند. پس از آن pH نمونه‌ها قرائت شد. همزمان با این عملیات سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ (با دور ۱۰۰۰۰g به مدت **۱۵** دقیقه) و یک میلی‌لیتر از محلول رویی با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات ـ وانادات مخلوط گردید. بعد از گذشت ۲۰ دقیقه از زمان انکوباسیون نمونه ها در دمای آزمایشگاه، میزان جذب نور با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. میزان حلالیت فسفر با مقایسه این جذب با منحنی استاندارد تهیه شده با استفاده از KH_2PO_4 محاسبه گردید [۱].

نتایج و بحث

شاخص حلالیت (نسبت قطر کل به کلونی) در روز دوم از ۱/۱۸ تا ۳/۳۲، در روز چهارم از ۱/۲۱ تا ۳/۵۳، در روز ششم از ۱/۲۷ تا ۳/۷۲، در روز هشتم از ۱/۳۱ تا ۴/۴۳ و بطور متوسط از ۱/۲۵ تا ۳/۵۸ متغییر بود. بیشترین شاخص حلایت بطور متوسط مربوط به سویه R93 (۳/۵۸) بود. این سویه در تمامی روزها به غیر از روز هشتم بالاترین شاخص حلالیت را داشت. تحقیقات Rashid و همکاران [۲۰۰۴] نشان داد که ده باکتری و سه قارچ جدا شده از ریزوسفر برنج

توانایی بالایی در حل فسفات‌های معدنی داشتند و شاخص حلالیت (نسبت هاله + کلونی به کلونی) در این سیزده ایزوله بین ۲/۱۶ و ۶/۲۳ متغییر بود. بیشترین مقدار حلالیت فسفر مربوط به جدایه R187 (۴۳۸/۳۸ µg/ml) و کمترین مقدار متعلق به جدایه R69 (۱۵۸/۳۴µg/ml) بود. مقایسه pH سوسپانسیون سویه‌های مختلف با pH محیط شاهد (بدون باکتری) نشان داد که در همه سویه‌ها pH کاهش یافته بود. در سویه R۱۸۷ که بیشترین حلالیت را داشت pH از ۵/۶ (pH شاهد) به ۳/۴۵ و در R۶۹ که کمترین حلالیت را داشت pH از ۵/۶ به ۴/۵۷ کاهش یافته بود(جدول ۱). تحقیقات Jeon و همکاران [۲۰۰۳] نشان دادند که سه سویه سودوموناس فلورسنس MCO۷، M۴۵ و B۱۶ کشت شده در محیط PKV توانستند در مدت ۵ روز به ترتیب ۴۵۸/۳، ۴۴۷/۶ و ۴۲۷/۷ میلی‌گرم در لیتر فسفر محلول تولید کنند. pH سوسپانسیون باکتری‌ها در مورد این سه سویه پس از ۵ روز به ترتیب از ۷ به ۴/۱، ۴ و ۴/۴ کاهش یافته بود

شماره سویه	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
متوسط قطرکل به کلنی	1/80	2/58	1/72	1/27	2/58	3/05	1/67	2/54	1/63	1/25
حل کنندگی فسفات (µg/mL)	53/8	69/6	60/9	52/8	79/7	72/7	68/4	65/9	57/2	51/6
pH	4/2	3/7	4/2	4/3	3/8	3/6	3/8	3/6	4/4	4/1
شماره سویه	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
متوسط قطرکل به کلنی	2/14	2/09	1/80	1/75	1/91	2/73	1/60	1/92	1/66	2/44
حل کنندگی فسفات (µg/mL)	67/5	81/1	53/4	49/1	54/3	80/0	54/1	71/1	60/0	80/8
pH	3/8	3/7	4/3	4/2	4/3	3/6	4/2	3/8	4/3	3/8
شماره سویه	P21	P22	P23	R1	R26	R30	R36	R41	R69	R93
متوسط قطرکل به کلنی	2/56	1/79	1/52	1/95	3/06	1/19	3/44	1/28	2/20	3/58
حل کنندگی فسفات (µg/mL)	81/1	37/9	65/0	81/7	67/0	43/9	60/7	42/5	28/6	62/9
pH	3/8	4/6	4/0	3/7	3/9	4/4	3/9	4/2	4/6	3/9
شماره سویه	R99	R112	R143	R150	R159	R168	R173	R187	GRP	MPF
متوسط قطرکل به کلنی	2/13	1/29	1/92	2/07	3/11	3/13	1/92	3/42	2/24	1/89
حل کنندگی فسفات (µg/mL)	77/4	46/8	54/6	72/0	71/9	76/9	80/5	84/6	63/5	48/2
pH	3/5	4/4	3/9	3/7	3/9	3/6	3/5	3/4	4/1	4/3

منابع

[1] Jeon, J.S.,Lee, S.S., Kim, H.Y.,Ahn,T.S. and Song,H.G.2003.Plant growth promoting in soil by some inoculated microorganism. J. Microbiol.41: 271-276.

[2] Kloepper, J. W., Lifshitz, R. and Zablotwicz, R. M.1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. Trends Biotechnol. 7: 39-43.

[3] Ping ,L.and Boland, W.2004.Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*.Trends. plant. Sci.9(6).

[4] Rashid,M., S., Khalil, N., Ayub, S.,Alam, and Latif ,F.2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions.Pak.J. Biol. Sci.7(2) 187-196.

[5] Sundara,B. , V. , Natarajan,and ,Hari ,K.2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields.Field Crop. Res.77:43-49.