ارزیابی توان تولید اکسین و سیانیدهیدروژن در برخی از جدایه‌های *Flavobacterium*

کاظم خاوازی، علی اشرف سلطانی طولارود، ناهید صالح‌راستین، هادی اسدی‌رحمانی، پیمان عباس‌زاده دهجی و کبری ثقفی

به ترتیب استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران، دانشیار دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران و کارشناس آمار موسسه تحقیقات خاک و آب.
abp_1114 @yahoo.com

مقدمه

ریزوسفر به لایه نازکی از خاک اطراف ریشه اطلاق می شود که جامعه موجودات زنده آن ناحیه، از نظر کمی و کیفی تحت تاثیر فعالیت های حیاتی ریشه می باشند [Boven and Rovira,1999].باکتری‌های موجود در این ناحیه به باکتری های ریزوسفری مفید، خنثی و یا مضر گروه بندی می شوند باکتری های ریزوسفری مفید از نظر نوع تماس فیزیکی با گیاه میزبان ممکن است همزیست و یا غیرهمزیست باشند. واژه باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) که به طور مستقیم یا غیر مستقیم موجب بهبود رشد گیاه میزبان خود می شوند، برای باکتری‌های مفید غیرهمزیست عنوان می‌گردد[Kloepper *et al.*,1989]. باکتریهای جنس*Flavobacterium* یکی از انواع باکتریهای PGPR ذکر شده در منابع می‌باشند [Bloemberg and Lugtenberg 2001]. توانایی تولید اکسین و سیانید هیدروژن از صفات مهم باکتری‌های PGPR می‌باشد که در خصوص باکتری‌های *Flavobacterium* اطلاعات بسیار اندکی گزارش شده است.

مواد و روشها

این مطالعه با استفاده از ۴۴ جدایه *Flavobacterium* جداسازی شده از ریزوسفر گندم انجام شد.

اکسین:

به منظور بررسی توان تولید اکسین، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط TSB حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر L-tryptophane در ۳ تکرارمنتقل گردید. بعد از ۴۸ ساعت، سوسپانسیون باکتری با دور ۱۰۰۰۰g در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با ۲ میلی‌لیتر معرف Salkowski مخلوط گردید [Patten and Glick 2002]. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و بلافاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید. مقدار تولید اکسین با مقایسه این جذب با منحنی استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

سیانید هیدروژن:

ابتدا جدایه‌ها در پلیت‌های حاوی محیط TSA غنی شده با گلایسین (۴/۴ gr/L) کشت داده شدند. سپس کاغذ صافی‌های خیسانده شده در پیکرات سدیم در قسمت داخلی درب پلیت گذاشته شد. پلیت‌ها به مدت ۱۲۰ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. توانایی تولید سیانیدهیدروژن از روی تغییر رنگ کاغذ صافی ارزیابی گردید [Donate-correa *et al.* , 2004]. تغییر رنگ کاغذ صافی‌ها به ترتیب از کرم (تولید HCN کم)، قهوه‌ای روشن (تولید HCN متوسط)، قهوه‌ای تیره (تولید HCN زیاد)، تا آجری (تولید HCN خیلی زیاد) متغییر بود.که به ترتیب با درجه‌بندی ۱ تا ۴ مشخص شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی توان تولید اکسین جدایه‌های *Flavobacterium* نشان داد که همه جدایه‌های مورد مطالعه توانایی تولید اکسین را داشتند. متوسط میزان تولید 2/03 µg/ml و دامنه آن از۰/۲۷. تا۱۲/۰۳ µg/ml متغییر بود. بیشترین میزان تولید مربوط به جدایهF9 (µg/ml) و کمترین مقدار نیز مربوط به جدایهF32 (µg/ml) بود (جدول ۱). اصغر و همکاران [Asghar *et al.*, 2004] نیز نشان دادند که جدایه‌های S58 و S89 متعلق به باکتری جنس *Flavobacterium* توانایی تولید ایندول استیک اسید داشتند. در تحقیق دیگر Cattelan و همکاران [۱۹۹۹] گزارش کردند که جدایه‌هایGW2103 و LC1118 باکتری *Flavobacterium indologenes* توانایی تولید اکسین را داشتند. توانایی تولید سیانید توسط انواعی از باکتری‌ها، همچنین قارچ‌ها و جلبک‌ها به اثبات رسیده است. توانایی تولید HCN توسط باکتری‌ها و نقش و اثرات متقابل این متابولیت در ریزوسفر تا حدود زیادی مطالعه شده است [Blumer و Hass، ۲۰۰۰]. نتایج حاصل نشان داد که هیچکدام از جدایه‌های *Flavobacterium* مورد مطالعه توانایی تولید سیانید هیدروژن را نداشتند.

جدول ۱- نتایج حاصل از ارزیابی توان تولید اکسین وسیانید هیدروژن

شماره جدایه	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
تولید سیانید هیدروژن	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
اکسین(µg/mL)	1/10	0/50	0/57	0/53	0/43	1/17	5/17	0/80	12/03	3/10	0/50
شماره جدایه	F12	F13	F14	F15	F16	F17	F18	F19	F20	F21	F22
تولید سیانید هیدروژن	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
اکسین(µg/mL)	1/17	0/83	1/10	3/93	2/47	0/63	2/33	3/13	6/97	8/83	3/20
شماره جدایه	F23	F24	F25	F26	F27	F28	F29	F30	F31	F32	F33
تولید سیانید هیدروژن	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
اکسین(µg/mL)	0/40	1/20	1/87	1/40	0/37	0/47	6/10	0/47	0/67	0/27	0/57
شماره جدایه	F34	F35	F36	F37	F38	F39	F40	F41	F42	F43	F44
تولید سیانید هیدروژن	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
اکسین(µg/mL)	4/33	0/37	0/33	0/60	0/33	0/60	1/27	1/03	0/70	4/00	1/63

منابع

[1] Asghar, H.N., Zaeir, Z.A. and Arshad, M. 2004.Screening rhizobacteria for improving the growth ,yield,and oil cotent of canola (*Brassica napus* L.).Aust. J.Agric. Res.55:187-194.

[2] Bloemberg, GV. and Lugtenberg, BJJ. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria.Curr. Opin. Plant Biol. 4: 343-350.

[3] Blumer, C. and Hass, D. 2000. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosenthesis. Arch. Microbiol. 173: 170-177.

[4] Boven, G. D. and Rovira, A. D. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. Adv. Agron. 66: 1-102.

[5] Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M., Perez-Galdona, R.2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Island. Plant Soil. 266: 261-272

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

[7] Patten, C. and Glick, B. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. Appl. Environ. Microbiol. 3795-3801.