مقایسه توان حل کنندگی فسفات معدنی نامحلول سودوموناس‌های فلورسنت و باکتری جنس *Flavobacterium*

علی اشرف سلطانی طولارود، کاظم خاوازی، ناهید صالح‌راستین، هادی اسدی‌رحمانی، پیمان عباس‌زاده دهجی و علی‌رضا شعرای نجاتی

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، 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 بیولوژی موسسه تحقیقات خاک و آب.

abp_1114 @yahoo.com

مقدمه

فسفر یکی از عناصر غذایی‌پر مصرف مهم می‌باشد که کمبود آن رشد گیاه را به شدت محدود می‌کند. قسمت اعظم فسفر در خاک به فرم ترکیبات نامحلول می‌باشد [Abd-Alla، ۱۹۹۴]. بنابراین آزادسازی فسفر از شکل‌های نامحلول و تثبیت شده موجود در خاک از نظر افزایش قابلیت فراهمی فسفر برای گیاهان زراعی اهمیت فوق العاده‌ای دارد.. در این میان میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات (PSM_s) نقش بسیار مهمی در حلالیت ترکیبات نامحلول فسفر در خاک ایفا می‌کنند. این میکروارگانیسم‌ها شامل انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌های خاکزی هستند که ترکیبات نامحلول فسفر را به فرم محلول تبدیل می‌کنند. سودوموناس‌های فلورسنت یکی از مهم‌ترین انواع باکتری‌های حل‌کننده فسفر (PSB) می‌باشند [Rashid *et al*.,2004]. اما درخصوص باکتری‌های*Flavobacterium* که از جمله باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌باشند اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد. در این تحقیق توان حل‌کنندگی فسفات معدنی نامحلول این دو جنس با هم مقایسه شد.

مواد و روشها

اندازه‌گیری میزان حلالیت فسفر در محیط مایع:

در این تحقیق میزان حل‌کنندگی فسفات نامحلول ۲۵ جدایه سودوموناس فلورسنت و ۴۴ جدایه *Flavobacterium* اندازه‌گیری شد. بدین منظور ابتدا ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط اسپربر 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 ، 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 [Sperber, 1985].

نتایج و بحث

میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفاتهای معدنی نامحلول شامل انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌ها هستند که ترکیبات معدنی نامحلول فسفر را به ترکیبات معدنی محلول تبدیل می‌کنند [Raju and Reddy, 1999]. برخی گونه‌های جنس*Bacillus* و *Pseudomonas* از مهم‌ترین انواع حل‌کننده فسفات‌های نامحلول می‌باشند [Rashid *et al.*, 2004; Bar-Yosef *et al;* 1999]. رشید و همکاران [2004] نشان دادند که ۱۰ سویه از باکتریهای مختلف جدا شده از ریزوسفر برنج توانایی حل نمودن تری کلسیم فسفات در محیط Pikovskaya را

داشتند. نتایج حاصل از این تحقیق در مورد ارزیابی توانایی انحلال تری کلسیم فسفات توسط جدایه‌های مورد مطالعه نشان داد که تعداد ده جدایه *Flavobacterium* توانایی حل نمودن تری کلسیم فسفات را نداشتند. کاتلن و همکاران [۱۹۹۹] نیز نشان دادند که جدایه‌های GW2103 و LC1118 ازگونه *Flavobacterium indologenes* فاقد چنین توانایی بودند. سایر جدایه‌های *Flavobacterium* نیز توانایی بسیار کمی در حل نمودن تری کلسیم فسفات داشتند. بیشترین میزان فسفر آزاد شده، 37/48 میکروگرم بر میلی‌لیتر مربوط به جدایه F11 بود. همچنین در این تحقیق مشاهده گردید که گرچه همه جدایه‌های *Pseudomonas fluorescent* مورد مطالعه دارای توانایی انحلال تری کلسیم فسفات بودند ولی پتانسیل آنها برای آزادسازی فسفر از این منبع فسفاتی بسیار تفاوت داشت بطوریکه بیشترین مقدار آن که مربوط به جدایه PA20 بود به16 /386 mg/mlرسید در حالیکه،کمترین مقدارآن 129/94 mg/ml و متعلق به جدایه PA9 بود. با این حال، همین مقدار حداقل فسفر آزاد شده از تری کلسیم فسفات توسط برخی جدایه-های *Pseudomonas fluorescent* بیش از ۳ بار زیادتر از حداکثر فسفر حل شده توسط جدایه‌های فلاوباکتریوم بود. در این تحقیق نیز کاهش معنی‌دار pH محیط‌های کشت مایع جدایه‌های *Pseudomonas fluorescent* تا سطح pH برابر ۳/۰۲ تا ۳/۸۸ بر حسب نوع جدایه، در مقایسه با شاهد بدون باکتری (pH=۵/۵) مشاهده گردید، اما در مورد جنس *Flavobacterium*،pH محیط رشد جدایه‌ها کاهش بسیار کمتری نشان داد بطوریکه کمترین مقدار pH محیط بسته به نوع جدایه نوسانی بین ۶/ ۵تا۰۴ /۵ داشت و حتی در تعدادی از جدایه‌ها افزایش pH تا سطح ۵/۸ در مقایسه با شاهد بدون باکتری (pH=5/62) مشاهده گردید. در این تحقیق همبستگی منفی معنی‌داری بین حلالیت تری‌کلسیم فسفات و pH مشاهده گردید (۰/۷۱۶- =r^{**}). ونکاتس‌وارلو و همکاران [۱۹۸۴] نیز همبستگی منفی معنی‌داری (۰/۹۳- =r) بین میزان حل شدن فسفات و pH محیط مشاهده نمودند. در تحقیق دیگری رشید و همکاران [۲۰۰۴] نیز بین دو شاخص مذکور همبستگی منفی (۰/۴- =r) گزارش کردند.

منابع

[1] Abd-Alla, M.H.1994. Phosphates and the utilization of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae*. Lett. Appl. Microbiol. 18: 294-296.

[2] Bar-Yosef, B., Rogers, R. D., Wolfram, J. H.and Richman, E. 1999. *Pseudomonas cepecia*- mediated rock phosphate solubilization in kaolinite and montmorillonite suspensions. Soil Sci. Soc. Am. J. 63: 1703-1708.

[3] Cattelan, A. J., Hartel, P. G. and Fuhrmunn, J. J. 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. Soil. Sci. Soc. Am. J. 63: 1670-1680.

[4] 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.

[5] Raju, R. A. and Reddy, M. N. 1999. Effect of rock phosphate amended with phosphate solubilizing bacteria and farmyard manure in wetland (*Oryza sativa*). Ind.J. Agri. Sci. 69: 451-453.

[6] 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: 187-196.

[7] Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere. Aust. J. Agr. Res. 9: 778-781.

[8] Venkateswarlu, B., Rao, A. V., Raina, P., Ahmad, N. 1084. Evaluation of Phosphate solubilization by microorganisms isolated from aridisols. J. Indian. Soc. SoilSci. 32: 273-277.