

## تکثیر باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم (*Bradyrhizobium japonicum*) در چند محیط ارزان قیمت محمدحسین ارزانش<sup>۱</sup>، ناهید صالح راستین<sup>۱</sup>، کاظم خاوری<sup>۱</sup>

سویا گیاه روغنی است که بیش از صد هزار هکتار از اراضی زراعی کشور را به خود اختصاص می‌دهد. این گیاه برای حداکثر تولید به یک سری از عناصر غذایی خصوصاً ازت نیاز دارد که بخش عمده‌ای از آن را از طریق همزیستی با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم تأمین می‌نماید. باکتری فوق در بسته‌های تجاری و به تعداد صد هزار بسته در سال از خارج خریداری و در اختیار کشاورزان قرار می‌گیرد. تولید مایه تلقیح تجاری شامل دو مرحله اساسی می‌باشد: (۱) تکثیر باکتری و تولید توده سلولی زیاد، (۲) تهیه حامل مناسب.

تکثیر و تولید توده سلولی زیاد، یکی از پرهزینه‌ترین قسمت‌های تولید اینگونه فرآورده‌های میکروبی می‌باشد بطوریکه در بسیاری از کشورهای تولید کننده، از مواد زائد و فرآورده‌های فرعی کارخانجات صنایع غذایی به عنوان محیط کشت و تکثیر باکتری استفاده می‌شود. بنابراین به منظور قطع واردات و تولید مایه تلقیح سویا در ایران، مواد ارزان قیمتی چون آب پنیر (Whey)، کورن استیپ (Cron steep) و عصاره جو (Malt extract) جهت بررسی توان تکثیر باکتری انتخاب شدند. در اولین آزمایش مواد فوق از نظر عناصر غذایی مورد بررسی قرار گرفته و با محیط کشت استاندارد باکتری مذکور (Yeast Extract Mannitol Broth) مقایسه شدند. با توجه به آن، رقت‌های ۲۰٪، ۳۰٪، ۴۰٪ و ۵۰٪ از مواد فوق تهیه و پس از استریل‌سازی، تنظیم pH و تلقیح آنها با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم، میزان تکثیر باکتری، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رقت ۳۰٪ آب پنیر و ۲۰٪ عصاره جو توانستند جمعیت باکتری را از  $10^5 \times 2$  سلول در هر میلی‌لیتر به ترتیب به  $10^8 \times 1/5$  و  $10^8 \times 3/8$  سلول در هر میلی‌لیتر برساند و این در حالی است که جمعیت باکتری در محیط استاندارد YEM  $10^9 \times 1$  سلول در هر میلی‌لیتر رسید ولی کورن استیپ قادر به تکثیر باکتری فوق نبود.

همچنین به منظور تأثیر pH و انواع قندهای تجاری و ارزان قیمت در بهبود کیفیت محیط‌های مذکور، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل شامل قندهای گلوکز، گلیسرول، شکر و ملاس چغندر قند، دو سطح مقدار قند، سه تکرار و دو pH (۶/۶ و ۶/۸) مختلف طراحی گردید.

<sup>۱</sup> به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه تربیت مدرس، دانشیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشگاه تربیت مدرس

نتایج نشان داد که اضافه نمودن قند به محیط‌های عصاره جو و آب پنبیر در  $pH = 6/8$  نه تنها باعث افزایش جمعیت باکتری نشد بلکه کاهش جمعیت را نیز به دنبال داشت. البته تیمار عصاره جو که به آن گلیسرول اضافه شده بود، از نظر جمعیت باکتری اختلاف معنی‌داری (در سطح ۱٪) با تیمار استاندارد نداشت. همچنین نتایج نشان داد که  $pH$  تأثیر بسزایی در رشد و تکثیر باکتری فوق دارد بطوریکه با کاهش ۰/۲ واحد، بطور متوسط جمعیت باکتری به اندازه دو واحد لگاریتمی کاهش یافت. در نهایت با توجه به عدم تأثیر نوع و مقدار قند در افزایش جمعیت تیمارهای مذکور، تأثیر سازگاری قبلی باکتری به محیط، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور باکتری مورد آزمایش قبل از ورود به محیط اصلی، به مدت یک هفته در محیط‌هایی از همان جنس و همان رقت نگهداری و پس از آن به محیط‌های اصلی آزمایش اضافه شدند. نتایج نشان داد که از نظر جمعیت، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای عصاره جو و محیط استاندارد (در سطح ۱٪) وجود نداشت. جمعیت در تیمارهای آب پنبیر نسبت به محیط استاندارد کمتر و در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. نتایج کلی آزمایش نشان داد که عصاره جو، با رقت ۲۰٪ در صورت اضافه نمودن قند گلیسرول و همچنین سازش قبلی باکتری با این محیط، قادر به تکثیر و رشد باکتری در حد محیط استاندارد است. بنابراین در صورت تولید مایه تلقیح سویا در ایران، موضوع تکثیر باکتری، اقتصادی و مقرون به صرفه خواهد بود.