

## بررسی های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی *Azospirillum* شالیزارهای استان گلستان

فاطمه رجبزاده، محمد حسین ارزانش، محسن علمائی

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات خاک و آب استان گلستان، استادیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

### مقدمه

باکتری *Azospirillum* یکی از معروفترین ریزموجودات است که می توان از ریزوسفر بسیاری از گیاهان خانواده گرامینه در مناطق معتدل و گرمسیری جداسازی و شناسایی کرد. جنس *Azospirillum* متعلق به زیر خانواده *α-Proteobacteria* و از خانواده *Spirillaceae* می باشد. گونه های جنس آروسپیریلوم، گرم منفی، هوازی و شیموآرگانوتروف غیر تخمیر کننده می باشند. باکتریهای جنس آروسپیریلوم به عنوان عامل محرک رشد گیاه *PGPR* شناخته شده اند. این باکتریها تاکنون ۱۰ گونه از این باکتری به نام های *A. brasilense* (تارند و همکاران، ۱۹۷۸)، *A. lipoferum* (تارند و همکاران، ۱۹۷۸)، *A. amazonense* (ماگالهائس و همکاران، ۱۹۸۳)، *A. halopraeferens* (رینهولد و همکاران، ۱۹۸۷)، *A. irakense* (خاماس و همکاران، ۱۹۸۹)، *A. largimobile* (اسلی و استاکبرندت، ۱۹۹۹)، *A. doebereineriae* (اکرت و همکاران، ۲۰۰۱)؛ هولگوئین و همکاران، ۱۹۹۹)، *A. oryzae* (یوکوتا و ایکسی، ۲۰۰۵)، *A. melinis* (پنگ و همکاران، ۲۰۰۶) و *A. canadense* (مهناز و همکاران، ۲۰۰۷) شناسایی شده است. اکثر باکتریهای خاکزی جنس آروسپیریلوم موادی را ترشح می کنند که رشد گیاه را تحریک کرده (سولر و همکاران، ۲۰۰۳) و از گسترش عوامل بیماریزا جلوگیری به عمل می آورند (گلیک، ۱۹۹۵)، افزایش جذب فسفر (تورو و همکاران، ۱۹۹۸)، تثبیت مولکولی ازت (کاپولینک و همکاران، ۱۹۸۱)؛ مورانر و همکاران، ۲۰۰۳) و این جنس با همکاری دیگر باکتریها می تواند کمک به چرخه عناصر غذایی در خاک (راجندران و همکاران، ۲۰۰۴)، تغییر در مورفولوژی سیستم ریشه ای ایجاد و طول ریشه های فرعی و تعداد انشعابات آنها و نیز تعداد و طول تارهای کشنده که در نتیجه سطح جذب ریشه ها و جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه افزایش می یابد (اوکان و کاپرلینیک، ۱۹۸۶).

### مواد و روش ها

تعداد ۱۵۶ نمونه بوته های شاداب و سالم گیاه برنج و ریشه همراه با خاک اطراف آن از خاک خارج و به آزمایشگاه انتقال یافت. این نمونه ها از گیاه برنج از سطح شالیزارهای استان گلستان در تابستان ۸۶ از عمق صفر تا ۳۰ سانتیمتری از سطح خاک بصورت تصادفی برداشته شدند. محل جغرافیایی نقاط نمونه برداری شده توسط دستگاه GPS ثبت شد. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، سری رقت های  $10^{-1}$  تا  $10^{-5}$  تهیه و به محیط کشت نیمه جامد *NFB* تلقیح و پس از تشکیل هاله به محیط جامد *RC* منتقل شدند. جدایه ها با توان تشکیل هاله در محیط نیمه جامد *NFB*، کلنی های قرمز و چروکیده در محیط *RC*، تولید کلنی های کوچک و سفید رنگ در محیط جامد *NFB*، ایجاد کلنی های صورتی و سفید روی محیط *PDA*، و واکنش منفی گرم برای مرحله بعد انتخاب شدند (هولت و همکاران، ۱۹۹۴). آزمون های کاتالاز و اکسیداز و تست احیای نیترات نیز برای جدایه های انتخابی انجام شد. به منظور تفکیک جدایه های مزبور تا حد گونه رشد در محیط ۳ درصد کلرور سدیم (*Eckert* و همکاران، ۲۰۰۱)، نیازمندی به بیوتین، توان استفاده از گلوکز، توان استفاده از ساکارز، توان استفاده از فروکتوز، توان استفاده از گلیسرول، توان استفاده از مانیتول گلوکز، رشد در دمای  $41^{\circ}\text{C}$  صورت گرفت. در تمام این تستها هاله در محیط نیمه جامد *NFB* ایجاد شد (تارند و همکاران، ۱۹۷۸)؛ هولت و همکاران، ۱۹۹۴). در نهایت بر اساس آزمون های انجام شده و براساس گروه بندی گونه ها *Bergey* (۱۹۹۴) این جدایه ها گروه بندی شدند.

## نتیجه و بحث

صدها بیست جدایه قادر به تشکیل هاله در محیط کشت *NFB* نیمه جامد فاقد نیترژن و حاوی برموتیمول بلو بودند. شصت و شش جدایه که قادر به ایجاد کلنی سرخ رنگ و خشک در محیط کشت *RC* بودند، برای آزمون‌های مقدماتی شناسایی تا حد جنس انتخاب گردیدند. به منظور تفکیک جدایه‌های مزبور تا حد گونه رشد در محیط ۳ درصد کلرور سدیم، نیازمندی به بیوتین، توان استفاده از گلوکز، توان استفاده از ساکارز، توان استفاده از فروکتوز، توان استفاده از گلیسرول، توان استفاده از مانیتول، رشد در دمای  $41^{\circ}\text{C}$  به هفت دسته تفکیک شدند. بیشترین تعداد جدایه‌ها مربوط به گونه *A.largimobile* بود.

## فهرست منابع

1. Dobereiner, J. (1992). The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum* In The Prokaryotes. Eds. A. Balows, H G Truper, M Dworkin, W Harger and K-H Schleifer. pp. 2236–2253. Springer Verlag, New York.
2. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sheath, P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. William and Wilkins. Baltimore, U.S.A. pp 40-50.
3. Tarrand JJ, Kreig NR, Döbereiner J. (1978). A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with a descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov., and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can J Microbiol 24:967-980