جدا سازی وشناسایی گونه های فلورسنت کننده سودوموناس از ریزوسفر برنج درا ستان مازندران و توانایی تولید اکسین توسط آن باکتری ها

محمود رضا رمضان پور[۱]، یوری پوپوف[۲]، کاظم خاوازی[۳] و هادی اسدی رحمانی[۳]

۱- عضو هیات علمی و دانشجوی دکتری بیو لوژی و بیو تکنولوژی خاک دانشگاه دولتی رمنستان

۲- استاد گروه میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی دنشکده بیولوژی دانشگاه دولتی ارمنستان

۳- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب

مقدمه:

ریزوسفر محل زندگی طیف متنوعی از میکرو ارگانیسم ها و بالاخص باکتری ها است که ممکن است برای رشد گیاه مضر، مفید و یا بی تاثیر باشند . باکتری های مفید این منطقه که به باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه موسوم می باشند(۲) توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است . این باکتر ها به جنس های مختلفی تعلق دارد که در میان این باکتری ها ، جنس سودوموناس و بالاخص گونه های فلورسنت کننده از توجه و اهمیت ویژهای برخوردار هستند. این باکتر ها از طریق مکانیسم های مستقیم یا غیر مستقیم موجب بهبود رشد گیاه می شوند.(۱). یکی از خصوصیات مهم این باکتری ها توانایی تولید اکسین است که از طریق مستقیم باعث بهبود رشد گیاه می شود. هدف از این مطالعه جداسازی گونهای فلورسنت کننده جنس سودوموناس از ریزوسفر برنج در استان مازندران و تعیین توانایی تولید اکسین در آنها می باشد.

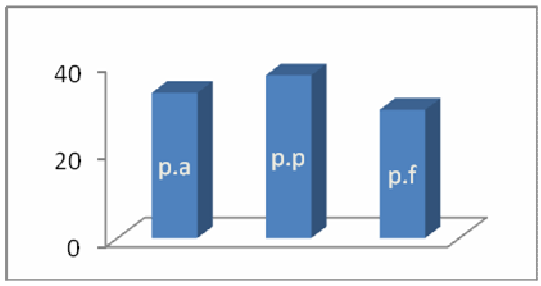
مواد و روشها:

به منظور جداسازی باکترهای ریزوسفری فلورسنت کننده سودو موناس تعدا ۲۵ نمونه خاک ریزوسفری از مزارع برنج استان مازندران انتخاب شد. این باکتری ها از طریق تهیه سری رقت و کشت بر روی پلیت های حاوی محیط سیترامید آگار و قرار دادن در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و سپس مشاهده کلنی های ایجاد شده در زیر لامپ ماورائ بنفش جدا سازی گردید(۵). برای خالص سازی این باکتری ها از محیط اسفاده شد. در این میان تعداد ۵۱ جدایه بر ساس رنگ کلنی در زیر نور ماورائ بنفش، قطر کلنی و مناطق مختلف جهت شناسایی با آزمایشات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی انتخاب شد. آزمایشات بیوشیمیایی مورد استفاده شامل آزمون گرام، کاتالاز، اکسیداز، تحرک، ذوب ژلاتین، هیدرولیز آرژنین و تخمر قندهای گلوکز، مزو اینوزیتول و ترهالوز بود (۵) . به منظور بررسی توانایی تولید اکسین ، باکتری ها را بمدت ۴۸ ساعت در محیط کشت ت- اس- بی رشد داده ، سپس ۵۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی لیتر محیط ت- اس- بی حاوی ۵۰ میکرو گرم در میلی لیتر ال- تریپتوفان منتقل و پس از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای آزمایشگاه سوسپانسیون باکتری با ۱۰۰۰۰دور در دقیقه ساتریفوژ شد و یک میلی لیتر از محلول بالایی با ۴ میلی لیتر معرف سالکووسکی مخلوط شد و ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۵۳۵ نانومتر قرایت گردید و مقدار تولید اکسین هر جدایه با مقایسه مقدار جذب نور آن با منحنی استاندار تهییه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد(۴).

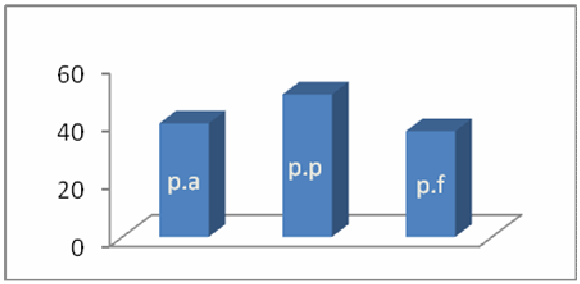
نتایج و بحث :

براساس آزمایشات میکروسکوپی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جدایه ها را در ۳ گونه .سودوموناس فلورسنت، سودوموناس پوتیدا و سودوموناس ایروژنوزا شناسایی نمودیم که فراوانی هر گونه به ترتیب ۴۴/۲٪، ۳۳/۳٪ و ۲۲/۵٪ بود (نمودار۱). نتایج حاصل از ارزیابی میزان اکسین تولید شده توسط این جدایه ها نشان داد که همه جدایه ها قادر

به تولید اکسین بودند . متوسط میزان تولید اکسین ۴۱/۸۹ و دامنه آن از۲۱/۵۲ تا ۹۵/۸۹ میکرو گرم در میلی لیتر بود که گونه سودوموناس پوتیدا با میانگین ۴۹/۵۰ بیشترین و گونه سودو موناس فلورسنت با میانگین ۳۶/۷۰ کمترین مقدار تولید اکسین را نشان دادند(نمودار۲). میزان اکسین تولید شده توسط۲۵ جدایه بیشتر از متوسط تولید اکسین بود که این جدایه ها را میتوان به طور نسبی به عنوان سویه های برتر شناخت. گزارشات حاکی از آن است که بسیاری از باکتری های ریزوسفری قادر به سنتز ایندول استیک اسید می باشند. تخمین زده شده است که ۸۵٪ از باکتر های ریزوسفری قادر به تولید ایندول استیک اسید می باشند(۳).



نمودار۱:فراوانی گونه های های مختلف سودوموناس



نمودار ۲: **میزان اکسین تولید شده توسط گونه های مختلف سودوموناس**

منابع:

1-Ajit, N. S., Verma, R.and Shanmugan, V. 2006. Extracellular chitinase of *fluorescent pseudomonase* antifungal to Fusarium Oxyporum f.sp.dianti causing carnation wilt. Curr. Microbiol. 52:310-316.
2-Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., and Schorth, M.N. 1980. Enhanced plaant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. Nature286. 885-886.
3-Loper, J.E., Henkles, M. D. 1999. Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available of Pseudomonas Putida in the rhizosphere. Appl. Environ. Microbiol. 65:5357-5363.
4-Patten, C. L. and Glick, B. R. 2002. Regulation of indole acetic asid production in Pseudomonas Putida GR12-2 by tryptophan and stationary- phase sigma factor Rpos. Can. J. Microbial. 48:635-642.
5-Schaad N. W.2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd Ed. APS Press.