بررسی تراکم جمعیت و توانایی حلالیت فسفر گونه های فلورسنت کننده سودوموناس جدا سازی شده از ریزوسفر برنج درا ستانهای شمالی ایران

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 ارمنستان

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

۳- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب

مقدمه:

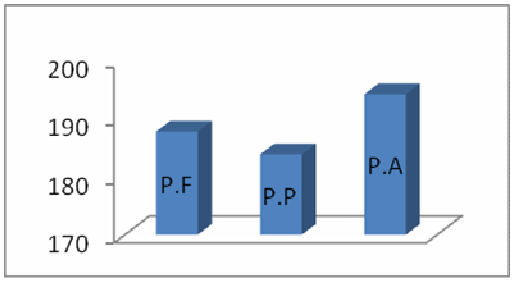
ریزوسفر حجمی از خاک است که تحت تاثیر ترشحات ریشه قرار می گیرد.جوامع میکروبی ریزوسفر بطور قابل ملاحظه ای رشد و نمو پاتوژن گیاهی ، جذب عناصر غذایی، پایداری فلزات و سلامت اکولوژیکی گیاهان را تحت تاثیر قرار میدهند(۲). بطور کلی باکتری هایی که با شرایط زندگی ریزوسفری سازگار تر هستند و در ریزوسفر جمعیت بیشتری نسبت به خاک غیر ریزوسفری دارند، باکتری های ریزوسفری نامیده می شوند. این یاکتری ها به سه گروه تفکیک شده اند که از مهم تزین آنها باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه، که اثرات مثبت روی رشد و نمو گیاهان دارند. این باکتری ها از طریق مکانیسم های مستقیم و غیر مستقیم باعث بهبود گیاه می شوند از جمله این مکانیسم ها توانایی حلالیت فسفر توسط این باکتری ها است. باکتری های جنس سودو موناس و باسیلوس از انواع مهم باکتری های حل کننده فسفاتمی باشند(۱). در این تحقیق ضمن جداسازی گونه های فلورسنت کننده سودوموناس ، جمعیت آنها را در مناطق مختلف شالیکاری شمال ایران بررسی و توانایی حلالیت
فسفر توسط آنها مورد ارزیابی قرار می گیرد.

مواد و روشها:

به منظور جداسازی باکترهای ریزوسفری فلورسنت کننده سودو موناس تعدا ۵۰ نمونه خاک ریزوسفری از مزارع برنج در استانهای مازندران، گلستان و گیلان 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 کانی های ایجاد شده در زیر لامپ ماورا بنفش جدا سازی گردید(۳). جمعیت باکتری ها را بر اساس تعداد کلنی های ایجاد شده بر روی پلیت های کشت شده و بر اساس رقت مورد استفاده محاسبه شد . در این میان تعداد ۱۱۱ جدایه برا ساس رنگ کلنی در زیر نور ماورا بنفش ، قطر کلنی از مناطق مختلف جهت شناسایی با آزمایشات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی انتخاب شد(۳). به منظور بررسی توانایی جدایه ها در انحلال فسفات های نا محلول از محیط کشت اسپربر(۴) استفاده گردید. ابتدا باکتری ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت تی – اس- بی رشد داده ، سپس ۵۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی لیتر محیط اسپربر مایع منتقل گردید. متعاقبا نمونه ها را به مدت ۱۲۰ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۲۵ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه ساتیگراد تکان داده شدند. سپس سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ و یک میلی لیتر از محلول بالایی با ۳ میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر معرف آمونیم – مولیدات – وانادات مخلوط و پس از گذشت ۲۰ دقیقه انکوباسیون نمونه ها در دمای آزمایشگاه ، میزان جذب نور با استفاده از اسپکترو فتومتر در ۴۷۰ نانومتر قرایت شد. مقدار فسفر آزاد شده توسط جدایه ها با استفاده از منحنی استاندارد تهییه شده از غلظت مختلف فسفات دی
هیدروژن پتاسیم محاسبه شد(۴) .

نتایج و بحث :

نتایج مربوط به بررسی تراکم جمعیت باکتری ها نشان داد که جمعیت این باکتری ها از $۳/۱*۱۰^{۵}$ تا $۹/۱*۱۰^{۷}$ سلول در هر گرم خاک متغیر بود بیشترین تراکم جمعیت مربوط به منطقه ۱۲ در استان مازندران وکمترین تراکم جمعیت مربوط به منطقه۶ مربوط به استان گیلان بود . چنانچه ملاحظه میشود تراکم جمعیت در مناطق مختلف متغیر بوده و از رنج مناسبی برخوردار است .نتایج حاصل از ارزیابی حلالیت فسفات توسط جدایه ها نشان داد که همه جدایه ها توانایی حلالیت فسفات را داشته اند. متوسط میزان حلالیت فسفات توسط جدایه ها ۱۸۸/۵۴ میکرو گرم در میلی لیتر و دامنه آن از ۵۳/۵۶ تا ۲۷۲/۰۳ میکرو گرم در میلی لیتر بود که گونه سودوموناس ایروژنوزا با میانگین ۱۱/ ۱۹۴ میکرو گرم در میلی لیتر بیشترین و گونه سودوموناس پوتیدا با میانگین ۱۸۳/۳ میکرو گرم در میلی لیتر کمترین میزان حلالیت فسفات را نشان دادند . توانایی حلالیت فسفات توسط ۵۳ جدایه بیشتر از متوسط توانایی حلالیت فسفات بود که این جدایه ها را میتوان به طور نسبی به عنوان سویه های برتر شناخت. البته باید توجه داشت که میزان حلالیت فسفر توسط باکتری های حل کننده فسفات به پی - اچ محیط بستگی دارد و بایستی پی – اچ محیط تحت کنترل باشد و این دو با همدیگر همبستگی منفی دارد. توانایی حلالیت فسفات توسط سودوموناسها توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است(۱).



نمودار ۱- میانگین توانایی حلالیت فسفات توط گونه های مختلف سودو موناس

منابع :

1- Illmer, P., Barbato, A. and Schinner, F. 1995. Solubilization of hardly soluble AIP04 with P- Solubilizing Microorganism. Soil. Biol. Biochem. 27:260-270.

2- Parker, M. A. 1995. Plant fitness variation caused by different mutualist genotypes. Ecology. 76: 1525-1535.

3- Schaad N. W.2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd Ed. APS Press.

4- Sperber J. I. 1985. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizosphere. Aust. J. Agr. Res. 9:778-781.