بررسی ماندگاری باکتری باسیلوس گرم مثبت و قارچ تریکودرما در فرمولاسیون مایع

نسیم اشخاصی*[۱]، احمد اصغر زاده[۲]، حامد هادی[۳]و[۴] هادی اسدی رحمانی

[۱]کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج،[۲و۴] استادیارپژوهش و عضو هیات علمی موسسه تحقیقات خاک وآب تهران،[۳]کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین

مقدمه

فرمولاسیون یک جنبه کلیدی و مهم برای تولید مایه تلقیح هایی است که حاوی یک یا چند جنس و گونه موثر باکتریایی یا قارچی هستند و می تواند کارایی یا عدم کارایی یک عامل بیولوژیکی را تعیین نماید[۱]. فرمولاسیونهای مایع معمولا محصولاتی براساس آب، روغن و پلیمر هستند[۴]. در این فرمولاسیونها ارگانیسم در یک مایع که معمولا آب یا روغن است حمل می شود[۲]. براساس تحقیقات انجام شده نشان داده شده است که واکنش ماندگاری دو گونه از یک جنس باکتری ، فرموله شده با یک روش، در فرمولاسیون بسیار متفاوت است[۶]. یک مایه تلقیح زنده باید قادر به مقابله با فرایندهای تکنولوژیکی مختلف در طی مدت تولید باشد، دوام کافی در دوره های نگهداری را داشته باشد و خصوصیات عملکردی خود را نیز حفظ نماید[۳]. فرمولاسیون یک مرحله رقابتی و اغلب محدودکننده در تجارت موفق مایه تلقیح های میکروبی است[۵]. تلاش اصلی فرموله کننده ها، بهبود طول عمر(**shelf life**) یک مایه تلقیح با حفظ مداوم ویژگیهای بیولوژیکی مطلوب آن است[۳].

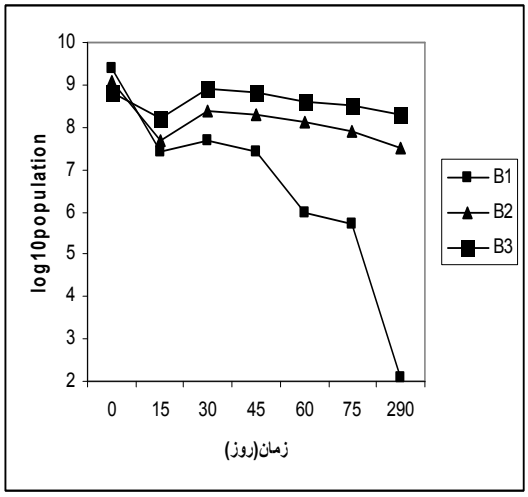
مواد و روشها

برای اجرای مرحله فرمولاسیون ابتدا ایزوله های قارچ و باکتری در محیط کشت های مایع هر یک(محیط نوترینت براث برای باکتری ومحیط پوتیتودکستروز براث برای قار چ)تهیه شدند.سپس ۶ تیمار (**B_1** شاهد باکتری ، **B_2** باکتری فرموله شده ، **B_3** ترکیب باکتری با قارچ فرموله شده ، **T_1**شاهد تریکودرما، **T_2**تریکودرمای فرموله شده و **T_3**ترکیب قارچ با باکتری فرموله شده) در ۳ تکرارتهیه شدند که در مورد شاهد ها فرمولاسیون اعمال نشد.تیمارها و شاهدهای تهیه شده در انکوباتور در دمای**$27^{\circ}C$** به مدت ۹ ماه نگهداری شدند و روند تغییرات جمعیت میکرو ارگانیسم ها در تیمارها وشاهدها به روش **Plate count** در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۷۵ و ۲۹۰ روز مورد بررسی ومطالعه قرار گرفت [۶].

نتایج وبحث

بر اساس نتایج بدست آمده تیمارهای باکتری باسیلوس(**B_2,B_3**) و قارچ تریکودرما(**T_2,T_3**) در فرمولاسیون مایع تفاوت معنی داری را در سطح یک درصد نسبت به شاهد آنها(**T_1,B_1**) نشان دادند (α=۰/۰۱).همچنین مطالعه روند تغییرات جمعیت تیمار های **B_2**و **B_3** در طی ۲۹۰ روز نشان داد که جمعیت باکتری در هر دو تیمار پس از یک کاهش نسبت به جمعیت اولیه تلقیح ، از روز ۷۵ تا ۲۹۰روند کاهشی تقریبا ثابتی را در پیش گرفته است بطوری که در تیمار **B2** جمعیت از$۵/۹\times۱۰^{۷}$به$۲/۹\times۱۰^{۷}$ **cell/ml** رسیده است. در تیمار **B_3**نیز جمعیت باکتری از روز ۷۵ تا ۲۹۰ از$۳/۴\times۱۰^{۸}$ به$۲/۲\times۱۰^{۸}$ **cell/ml** کاهش یافته است که درواقع در هر دو تیمار باکتری در این محدوده زمانی، فقط ضریب توان جمعیت تغییر کرده است (نمودار۱). مقایسه میانگین جمعیت تیمارهای باکتری در فرمولاسیون نیز نشان داد که جمعیت باکتری در تیمار **B_3**بالاتر از تیمار **B_2** بود (**LSD =0.05**).

در تیمارهای T_2و T_3 مطالعه روند تغییرات جمعیت تریکودرما در طی ۲۹۰ روز نشان داد که جمعیت تریکودرما در هر دو تیمارپس از یک کاهش نسبت به جمعیت اولیه تلقیح، از روز۴۵ تا ۷۵روند کاهشی تقریبا ثابتی داشته و در محدوده زمانی ۷۵ تا۲۹۰ روز این روند کاهشی ادامه داشته است. بطوریکه در تیمارT_2 جمعیت از $۱/۴\times۱۰^{۶}$ به $۷/۳\times۱۰^{۵}$ **CFU/ml** تغییریافته که نشان دهنده کاهشی به اندازه یک واحد لگاریتمی در این تیمار است. در مورد تیمار T_3 نیز در این محدوده زمانی جمعیت از$۲/۳\times۱۰^{۶}$ به $۱/۳\times۱۰^{۶}$ **CFU/ml** تغییر کرده است که نشان دهنده ثابت بودن سطح واحد لگاریتمی در این تیمارمی باشد(نمودار۲). این روند کاهشی تقریباً ثابت، نشان می‌دهد که فرمولاسیون توانسته است جمعیت مورد قبولی را در تیمارها حفظ نماید.همچنین مقایسه میانگین جمعیت تیمارهای تریکودرما در فرمولاسیون نشان داد که جمعیت تریکودرما در تیمار T_3بالاتر از تیمار T_2بود (**LSD =0.05**). جمعیت بالای تیمارهای ترکیبی T_3و B_3 نسبت به تیمارهای تکی آنهادر واقع نشان دهنده نوعی رابطه سینرژیستی ما بین این دو میکروارگانیسم است.به عبارتی، با توجه به کاراتر بودن فرمولاسیونهای ترکیبی، این نتایج نشان می دهد که نه تنها می توان از ترکیب قارچ و باکتری در یک فرمولاسیون بهره مند شد، بلکه این ترکیب سبب افزایش جمعیت هر یک از اعضاء این فرمولاسیون شده و سبب افزایش کیفیت محصول تولیدی در صنعت خواهد شد.

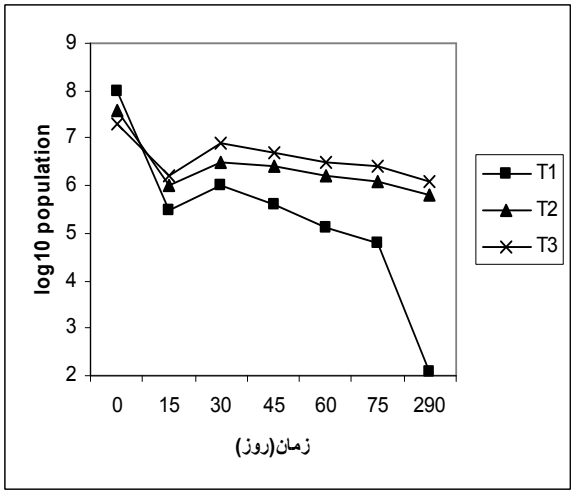


B_1: شاهد باکتری

B_2: باکتری فرموله شده

B_3: باکتری فرموله شده با تریکودرما

نمودار ۱- روند تغییرات جمعیت تیمارهای باسیلوس در فرمولاسیون مایع



T_1: شاهد تریکودرما

T_2: تریکودرمای فرموله شده

T_3: تریکودرمای فرموله شده با باکتری

نمودار ۲- روند تغییرات جمعیت تیمارهای تریکودرما در فرمولاسیون مایع

منابع

[1] Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotech. Adv. 16: 729-770.

[2] Burges, H. D. 1998. Formulation of microbial biopesticides. Published by Kluwer Academic Publishers.

[3] Olsen, P. E., Rice, W. A., Bordeleau, L. M., and Biederbeck.V. O. 1994. Analysis and regulation of legume inoculants in Canada: The need for an increase in standards. Plant Soil 161:127-134.

[4] Paau, A. S. 1988. Formulation useful in applying beneficial microorganisms to seeds. TIB TEC 6: 276-278.

[5] Paau, A. S. 1991. Improvement or *Rhizobium* inoculants by mutation, genetic engineering and formulation. Biotech. Adv.9:173-184.

[6] Zidack, N. K. and Quimby, P. C. 2002. Formulation of Bateria for biological weed control using the stabilize method. Biocontrol Science and Technology. 12: 67-74.