نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دوازدهم، شماره ۴۶، تابستان ۱۳۹۶ / صفحات: ۷۸-۶۷

بررسی میزان تولید اکسین و برخی رنگیزه‌های فتوسنتزی در سویه‌های سیانوباکتری هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای شرق استان مازندران

علی شمس[1*]، قربانعلی نعمت‌زاده[2]، ندا سلطانی[3]، شادمان شکروی[4]

[1]گروه فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده ژنتیک و زیست فن آوری طبرستان، ساری، ایران

[2]گروه اصلاح نباتات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران

[3]گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم کاربردی جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

[4]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۰ تاریخ پذیرش:۹۵/۹/۱٤

چکیده

سیانوباکتری‌ها از جمله میکروارگانیسم‌های فتوسنتز کننده گرم منفی می‌باشند. به‌دلیل تنوع بالای ترکیبات شیمیایی از جمله رنگیزه‌ها، ویتامین‌ها و آنزیم‌ها، در این گروه از ریز موجودات، در صنعت دارای کاربرد زیادی می باشند. مطالعات مختلف نشان داده است که سیانوباکتری‌ها می‌توانند سبب بهبود رشد گیاه از طریق اصلاح ساختار خاک، با آزادسازی پلی ساکاریدهای برون سلولی انسجام خاکدانه و نگهداشت آب گردند. تعداد بیشماری از باکتری‌های همزیست گیاهی، اکسین و ترکیبات وابسته به ایندولیک اسید را تولید می‌نمایند. نقش میکروارگانیسم‌های خاکزی به‌عنوان تحریک کننده رشد گیاهی به‌ویژه از طریق تولید هورمون‌های گیاهی ارتقاء دهنده رشد گیاهی در طبیعت بسیار گسترده است. گروه فیتوهورمون اکسینی از جمله گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که در تنظیم پروسه‌های متنوع بیولوژیکی نقش مهمی ایفا می نمایند. هدف از این تحقیق بررسی توان تولید اکسین و برخی رنگیزه‌های فتوسنتزی در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای شرق استان مازندران می‌باشد. بعد از جمع آوری نمونه خاک و کشت سویه در محیط کشت $BG11_0$، به‌منظور انجام پروسه خالص سازی کشت مجدد در محیط کشت جامد و مایع انجام گرفت سپس سویه‌ها از لحاظ مورفولوژی شناسایی شدند. نتایج نشان داد که طیف وسیعی از باکتری‌های جدا شده دارای توانایی تولید اکسین به‌عنوان یک فاکتور موثر در بهبود رشد گیاه را دارا می‌باشند و غلظت رنگیزه کلروفیل و کاروتنوئید در اکثر سویه‌های جداسازی شده، با میزان متفاوت مشاهده گردید. هر چند پتانسیل هر سویه با توجه به نوع جنس و تنوع اکولوژیکی آن متفاوت می‌باشد. بالاترین میزان تولید کلروفیل، کاروتنوئید و اکسین به‌ترتیب در سویه‌های MGCY277 (*Lyngbya diguetii*)، MGCY497 (*Nostoc ellipsosporum*) و MGCY358 *Anabaena (variabilis)* مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: اکسین، سیانوباکتری، فیتوهورمون، کاروتنوئید، کلروفیل

مقدمه

سیانوباکتری‌ها یا جلبک‌های سبز آبی گروهی از باکتری‌های فتوسنتز کننده پروکاریوتی با قابلیت همزیستی با سایر موجودات از جمله خزه، گلسنگ و سرخس آزولا می‌باشند. از جمله رنگیزه‌های موجود در این باکتری‌ها می‌توان به کلروفیل a، کاروتنوئید و فیکوبیلی پروتین‌ها اشاره نمود (Gallon., 1992; Bergman et al., 1997; Berman et al., 2004).

*نویسنده مسئول: ali.shams11@gmail.com

سیانوباکتری‌ها همچنین به‌عنوان یک کود زیستی با ارزش در کشت گیاه برنج به کار گرفته می‌شوند. از آنجایی که تثبیت نیتروژن در حضور اکسیژن متوقف می‌شود این عمل در سلول‌های ویژه‌ای از سیانوباکتری‌ها به نام هتروسیست انجام می‌پذیرد که محیطی غیر هوازی برای فعالیت آنزیم نیتروژناز را فراهم می‌نماید (Min and Sherman., 2010). همچنین توانایی تولید بسیاری از آنزیم‌های زیستی توسط سیانوباکتری‌ها سبب شده تا از این باکتری‌های مفید در جهت تولید آنزیم‌هایی مثل بتالاکتاز، پروتئاز و لیپاز در مقیاس وسیع استفاده گردد. به‌دلیل فعالیت آلکالین فسفاتازها در سیانوباکتری‌ها این میکروارگانیسم توانایی حل کنندگی فسفر اورگانیک را دارا هستند و آنزیم‌هایی مثل کیتیناز، آمیلاز، پروتئاز، سلولاز، لیپاز، ال-گلوتامیناز وال-آسپاراجیناز توسط این باکتری‌ها گزارش شده است (Wikstrom et al., 1982).

بسیاری از باکتری‌های تقویت کننده رشد گیاهی مثل سیانوباکتری‌ها و غیره توانایی بهبود و تقویت رشد گیاه را در پاسخ به فاکتورهای تنش زای محیطی مثل خشکی و تنش‌های اسمزی دارا هستند. این باکتری‌ها از طریق ترشح فیتوهورمونهایی مثل اکسین و با دارا بودن قابلیت‌هایی چون حل کنندگی فسفات و تثبیت ازت شرایط بهینه برای رشد گیاه را در محیط فراهم می‌نماید (Dell-Amico et al., 2008; Zhuang et al., 2007; Rau et al., 2009). به‌دلیل افزایش تقاضا به منظور تولید غذا و مصرف بی رویه کودهای شیمیایی اثرات مخربی بر روی خاک و محیط زیست ایجاد گردیده است در این میان تمایل به استفاده از کودهای بیولوژیک در بهبود و کاهش آلودگی محیط زیست به عنوان راهکاری مطلوب در جایگزینی با کودهای شیمیایی و حصول عملکرد بالا توسط بسیاری از محققین پیشنهاد گردیده است (Vaishampayan et al., 2001; Sinha et al., 2002; Rai, 2006).

اکسین به گروهی از هورمون‌های گیاهی تعلق دارد که می‌تواند توسط گیاهان (Arshad and frankenbetger., 1991; Okamoto et al., 1976) میکرواورگانیسم‌های متعددی مثل باکتری‌ها (Barea et al., 1976) و قارچ‌ها (Dvornikova et al., 1970) تولید گردند. بسیاری از باکتری‌های حقیقی می‌توانند در حضور ال-تریپتوفان پیش ماده اکسین به‌عنوان تولید کننده بالقوه اکسین تلقی گردند (Loper and Schroth., 1986). بر طبق نظر De Vay و همکاران (۱۹٦۸) و همچنین Loper و Schroth (۱۹۸٦) اندازه‌گیری میزان اکسین تولید شده توسط گیاه و باکتری می‌تواند با استفاده از روش‌های Colorimetric انجام پذیرد. تعیین توانایی تولید اکسین توسط میکروارگانیسم به‌عنوان یک شاخص با ارزش و کارکرد فیزیولوژیکی مهم در محیط بسیار با اهمیت می‌باشد (Surico et al., 1984). از این رو انتخاب باکتری‌های تولید کننده اکسین می تواند در جهت تقویت رشد گیاهان زراعی (Arshad and Frankenberger., 1991) و یا غلبه این گیاهان در رقابت با علف هرز به کار گرفته شود (Kremer and Kennedy., 1995). بسیاری از محققین توانایی تولید اکسین توسط سایر میکروارگانیسم مثل قارچ‌ها، باکتریها، جلبک‌های سبز و سیانوباکتری‌ها را گزارش نموده اند، به عنوان مثال وجود ماده محرک رشد اکسین در ریز جلبک سبز *Chlorellavulgaris* (Tang et al., 1947)، *Lminaria agardhii* (Williams, 1949) و *Aectabulari* sp. (Tandler, 1962). به‌طورکلی بسیاری از باکتری‌های همزیست و همیار با گیاه توانایی تولید اکسین و ترکیبات ایندولیک را دارا هستند. ارزیابی توان تولید اکسین مورد علاقه بسیاری از پاتولوژیست‌های گیاهی و میکروبیولوژی

مـی باشـد. روش‌هـای بسـیاری بـر پایـه تـاثیرات بیولوژیکی اکسین بر گیاه مانند تغییرات ریشـه مـویین (avena curature test) یـا طویـل شـدن کولئوپتیـل غـلات و ذرت (Libbert et al., 1968) و یـا بررسـی فیزیکوشیمیایی این ترکیبات بعد از اسـتخراج و جـدا سـازی از سـوپرنات باکتریـایی و اسـتفاده از HPLC (High performance liquid chromatography) و Gas Chromatography-mass spectrometry به کـار گرفته مـی‌شـود (Morris, 1986 ; Fett et al., 1987). به‌دلیل صرف زمان زیاد در استفاده از HPLC و GC و مشـکلات آن در تحقیقـات روزمـره از روش‌هـای مختلف دیگری بر مبنای تکنیک‌های Colorimetric با استفاده از معرف‌های ویژه مثـل Salkowski در تعـین میـزان اکسـین در میکروارگانیسـم اسـتفاده مـی‌شـود (Salkowski, 1885; Tang et al., 1947; Gordon et al., 1951). سیانوباکتری‌ها در دامنه وسیعی از شرایط محیطی سـازگاری پیـدا نمـوده و گسـترش یافتـه‌انـد (Karthikeyan et al., 2007; Kirlwood et al., 2008; Paerl et al., 2000). این باکتری‌ها تقویت کننده رشد گیاه به شکل مستقیم و غیر مسـتقیم مـی باشـند. اثـر مستقیم آنها از طریق تولید دامنه وسـیعی از ترکیبـات فعال زیستی محرک رشد مانند فیتوهورمون‌ها از جمله اکسـین (Prasanna et al.,2010; Sergeeva et al., 2002) جیبـــرلین (Rodriguez et al., 2006) و سـیتوکینین (Stirk et al., 2002; Hussain and Hasnain, 2009) مـی‌باشـد. اثـر غیـر مسـتقیم ایـن ریزموجودات از طریـق اثرگـذاری مثبـت بـر رشـد و توسـعه گیاهـان و کنتـرل دامنـه سـرعت و تکثیـر میکروارگانیسم‌های بیمـاری زای گیـاهی اشـاره کـرد (Moussa and Shanab, 2001; Kim and Kim, 2008; Rizk., 2006; Tassara et al., 2008). همچنین گزارش‌های متعددی نشان می دهد که سیانوباکتری‌ها توانایی بهبود رشد گیاه از طریق بهبود سـاختار خـاک دانـه و نگهـداری آب را از طریـق ترشـحات پلـی سـاکاریدی را نیـز دارا هسـتند (Hill et al., 1994; Maqubela et al., 2009; Mazor et al., 1996).

مواد و روش‌ها

ابتدا نمونه‌برداری خاک بـا اسـتفاده از روش‌هـای متداول از منـاطق مختلـف شـالیزارهای شـرق اسـتان مازندران انجام گردیـد. سـپس بـا اسـتفاده از محـیط کشـت اختصاصـی $BG11_0$ رشـد سـیانوباکتری‌هـای هتروسیست دار از سطح خاک صورت گرفتـه و پـس از کشت‌های متوالی در محیط جامد، ۱۸ سویه خالص از سیانوباکتری‌ها انتخاب گردیدند. بعد از اطمینـان از خلوص، انتقال سویه‌ها به محیط کشـت مـایع جهـت افزایش تولید بیوماس صورت پذیرفت. شـرایط بهینـه برای رشد هر سویه با در نظر گرفتن نیازهای دمـایی، نوری و شرایط هوادهی مناسب فراهم گردید. هوادهی با شدت جریان ۲۰۰ میلی لیتر در دقیقه در ارلن‌هـای ۵۰۰ میلی لیتری و در شرایط نـوری ۸۰ میکرومـول فوتون در متر مربع بر ثانیه بـا ٤ لامـپ فلورسـانس و ایجاد دمـای بهینـه رشـد در دامنـه ۲۵ تـا ۲۸ درجـه سانتی‌گراد فراهم گردیـد. بـه منظـور بررسـی میـزان اکسین موجود در هر سویه، بعد از رسیدن به حداکثر رشد از هر استوک ۱ میلی‌لیتر بیوماس تهیه و با اضافه نمـودن معـرف سالکوسـکی و بـا اسـتفاده از روش Glickman و Dessaux (۱۹۹۵) بـــدون اســـتفاده از تریپتفان میزان قرائت جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام پذیرفت .به منظور برآورد کمی میزان اکسین تولید شده توسط هر سویه با استفاده از منحنی کالیبراسیون اکسین میـزان اکسـین تولیـد شـده توسـط هـر سـویه برحسـب میکروگرم بر میلی لیتـر تعیـین گردیـد. تعیـین میـزان کلروفیـل بـا اسـتفاده ازمتـانول و از روش Marker (۱۹۷۲) انجام پذیرفت و میزان قرائت جذب در طول

٦٦٥ نـانومتر بـا اسـتفاده از دسـتگاه اسـپکتروفوتومتر محاسبه گردید .جهت اندازه گیری میـزان کاروتنوئیـد با استفاده از استون و طبق روش Jensen (١٩٧٨) ابتدا قرائت جذب در دو طـول مـوج ٤٦١ و ٦٦٥ نـانومتر صـورت پـذیرفت و بـه‌منظـور بـرآورد کمـی میـزان کلروفیل و کاروتنوئید بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر از معادلات زیر استفاده گردید:

1- Chlorophyll = 3.14 *OD_{665}

2- Carotenoid = (OD_{461}-(0.046*OD_{665}))*4/1

جهت شناسایی مورفولوژی سویه‌ها از کلیـدهـای معتبـر شناسایی بر مبنای (Desikachary, 1959) استفاده گردید.

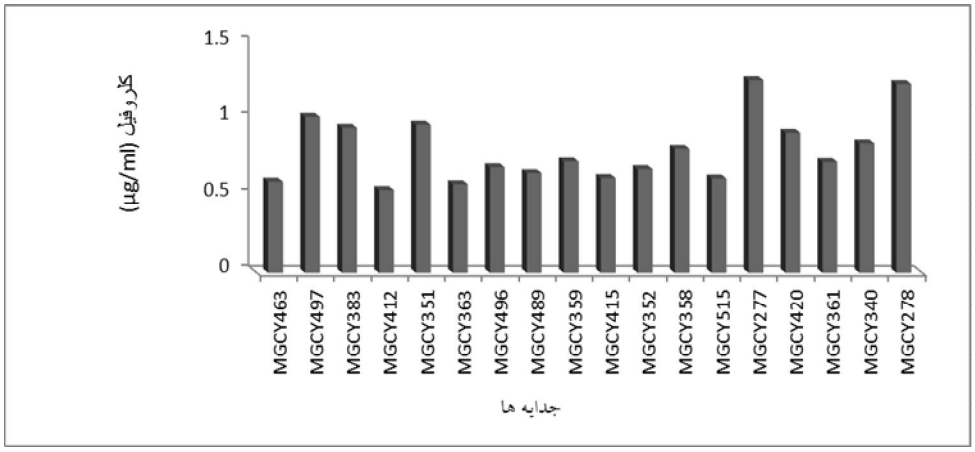
جدول ١: نام سویه‌های مورد بررسی

نام سویه	کد سویه
Hapalosiphon flexuosus	MGCY463
Nostoc ellipsosporum	MGCY497
Stigonema ocellatum	MGCY383
Microchaete geoppretiana	MGCY412
Stigonema turfaceum	MGCY351
Chroococcus sp.	MGCY363
Chroococcus minor	MGCY496
Phormidium tenue	MGCY489
Phormidium tenue	MGCY359
Nostoc muscorum	MGCY415
Microchaete geoppertiana	MGCY352
Anabaena variabilis	MGCY358
Unknown	MGCY515
Lyngbya diguetii	MGCY277
Phormidium tenue	MGCY420
Phormidium minnesotense	MGCY361
Anabaena cylindrica	MGCY340
Unknown	MGCY278

نتایج

بررسی میزان کلروفیل در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شـالیزارهای شـرق اسـتان مازنـدران:

بررسی میزان کلروفیل در ١٨ سویه مـورد بررسـی در شکل (١) موید آن است که بالاترین میـزان کلروفیـل در سویه MGCY277 (*Lyngbya diguetii*) از منطقـه بهشهر با مقدار ١/٢٦١ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد و سه جدایه (Unknown) MGCY278، (*Nostoc ellipsosporum*) MGCY497 و MGCY351 (*Stigonema turfaceum*) به‌ترتیب از مناطق بهشـهر، میانکاله ومیـانرود بـا میـزان ١/٢٣٦، ١/٠١٩ و ٠/٩٦٨ میکروگرم بر میلـی لیتـر از میـزان کلروفیـل بـالاتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند. کمترین میزان کلروفیـــل در ســـویه MGCY412 (*Microchaete geopretiana*) از منطقـــه بهشـــهر بـــا میـــزان ٠/٥٤٣ میکروگرم بـر میلـی‌لیتـر مشـاهده گردیـد و دوسـویه MGCY363 (*Chrococcus* sp.) و MGCY515 از مناطق میانکاله و بابـل بـه‌ترتیـب بـا میـزان ٠/٥٨٠ و ٠/٦١٧ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان کلروفیل کمتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار می‌باشند.



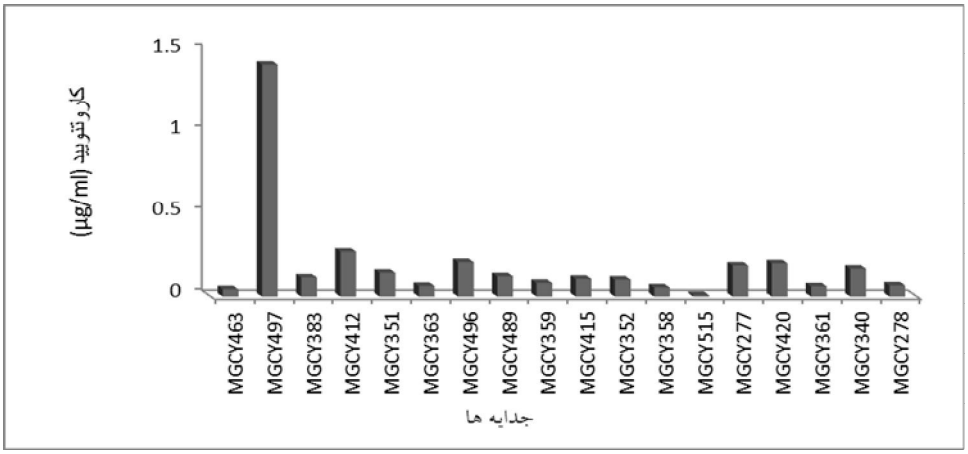
شکل ۱: میزان کلروفیل در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر).

با توجه به شکل (۲) بررسی میزان کلروفیل در ۱۸ سویه نشان داد که تنها در ۲۸ درصد از سویه‌ها میزان کلروفیل در دامنه ۰/٤ تا ۰/٦ میکروگرم بر میلی لیتر قرار گرفت. همچنین میزان کلروفیل در ۳۳ درصد از سویه‌ها در دامنه ۰/٦ تا ۰/۸، ۲۸ درصد در دامنه ۰/۸ تا ۱ و ۱۱ درصد در دامنه ۱/۲ تا ۱/٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد.

شکل ۲: تنوع میزان کلروفیل در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (برحسب درصد)

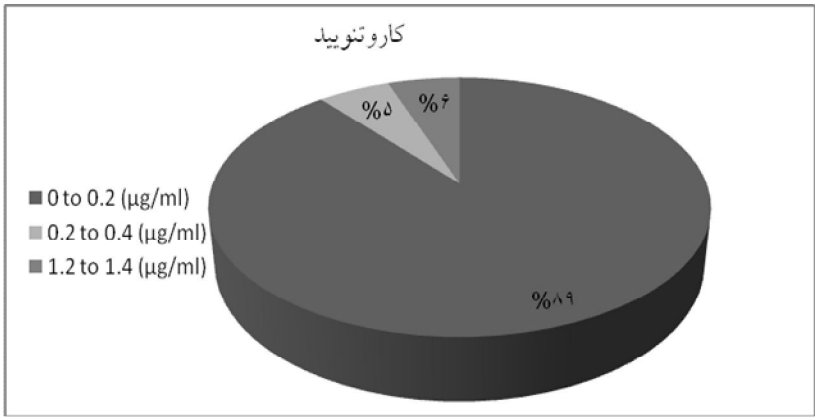
بررسی میزان کاروتنویید در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای شرق استان مازندران: با توجه به شکل (۳) در بررسی میزان کاروتنوئید در ۱۸ سویه، بالاترین میزان کاروتنوئید با میزان ۱/٤۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر در سویه MGCY497 (*Nostoc ellipsosporum*) از منطقه میانکاله مشاهده شد. همچنین سه سویه MGCY412 (*Microchaete geopretiana*)، MGCY496 (*Chrococcus minor*) و MGCY420 (*Phormidium tenue*) از مناطق بهشهر، میانکاله و نکا با میزان ۰/۲۷٦، ۰/۲۰٦ و ۰/۱۹۹ میکروگرم بر لیتر از میزان کاروتنوئید بالاتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردارند. با توجه به بررسی صورت گرفته بر روی ۱۸ سویه کمترین میزان کاروتنوئید در سویه MGCY515 از منطقه بابل با

میزان ۰/۰۰۹۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. دو سویه MGCY463 (*Hapalosiphon flexuosus*) و MGCY361 (*Phormidium minnesotense*) نیز از مناطق نکا و گلوگاه با میزان ۰/۰۴۳۸ و ۰/۰۶۱ میکروگرم بر میلی لیتر از میزان کاروتنوئید کمتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند.



شکل ۳: میزان کاروتنوئید در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

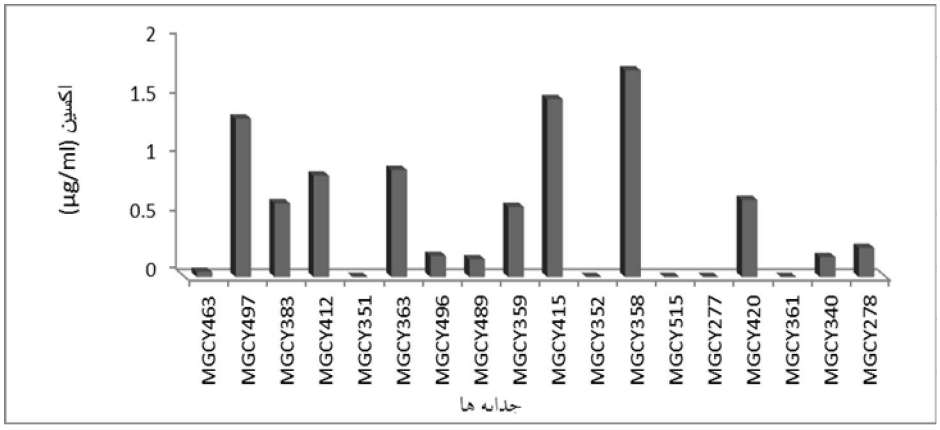
با توجه به شکل (٤) در ۸۹ درصد از سویه‌های مورد بررسی میزان کاروتنوئید در دامنه ۰ تا ۰/۲ میکروگرم بر میلی لیتر قرار گرفت . میزان کاروتنوئید در ۵ درصد از سویه‌ها در دامنه ۰/۲ تا ۰/٤ و تنها در ٦ درصد در دامنه ۱/۲ تا ۱/٤ میکروگرم بر میلی لیتر قرار گرفت.



شکل ٤: تنوع میزان کاروتنوئید در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (برحسب درصد)

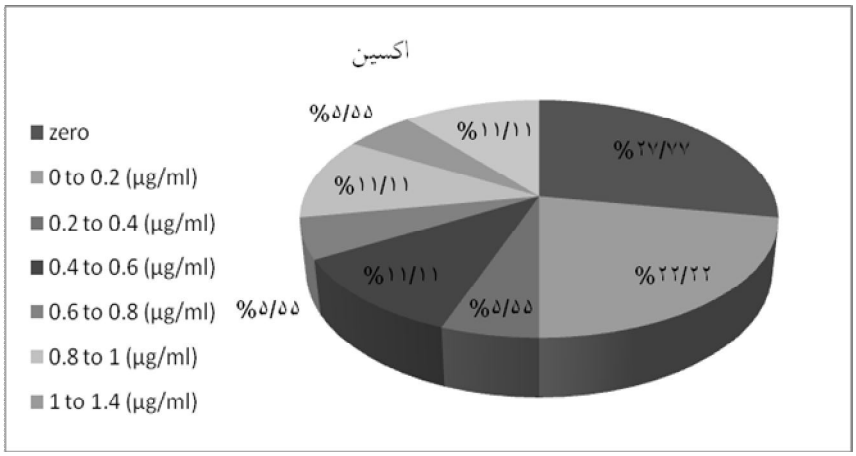
بررسی میزان اکسین در سویه‌های هتروسیست دار جدا شده از شالیزارهای شرق استان مازندران: بررسی میزان اکسین در ۱۸ سویه مورد بررسی شکل (۵) نشان داد که بالاترین میزان اکسین با میزان ۱/۷٤۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر در سویه MGCY358 (*Anabaena variabilis*) از منطقه رستم کلا مشاهده گردید. همچنین دو سویه MGCY415 (*Nostoc muscorum*)، MGCY497 (*Nostoc ellipsosporum*) از مناطق رستم کلا و میانکاله به میزان ۱/۵۱۱ و ۱/۳٤۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از میزان اکسین بالاتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ۵ سویه MGCY351

MGCY352 ،*(Stigonema turfaceum)*
،MGCY515 ،*(Microchaete geoppertiana)*
MGCY277 (*Lyngbya diguetii*) و MGCY361
(Phormidium minnesotense) به‌ترتیب از مناطق میاندرود، میاندرود، بابل، بهشهر و گلوگاه قادر به تولید اکسین در میزان بالا نبوده و میزان تولید اکسین در آنها نزدیک به صفر مشاهده شد. همچنین دو سویه MGCY463 (*Hapalosiphon flexuosus*) و MGCY489 (*Phormidium tenue*) از منطقه نکا با میزان اکسین ۰/۰۴۱ و ۰/۱۵۵ میکروگرم بر میلی لیتراز میزان اکسین کمتری نسبت به سایر سویه‌ها برخوردار بودند



شکل ۵: میزان اکسین در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

با توجه به شکل (٦) بررسی صورت گرفته بر روی ۱۸ سویه جدا شده موید آن است که در ۲۷/۷۷ درصد از سویه‌های مورد بررسی میزان اکسین صفر، ۲۲/۲۲ درصد میزان تولید اکسین در دامنه ۰ تا ۰/۲ میکروگرم بر میلی لیتر، در ۵/۵۵ درصد میزان تولید اکسین در دامنه ۰/۲ تا ۰/٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در ۱۱/۱۱ درصد میزان تولید اکسین در دامنه ۰/٤ تا ۰/٦، در ۵/۵۵ درصد میزان تولید اکسین در دامنه ۰/٦ تا ۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در ۱۱/۱۱ درصد میزان تولید اکسین در دامنه ۰/۸ تا ۱ میکروگرم بر میلی لیتر، در ۵/۵۵ درصد میزان تولید اکسین در دامنه ۱ تا ۱/٤ میکروگرم بر میلی لیتر و در ۱۱/۱۱ درصد از سویه‌ها میزان اکسین در دامنه ۱/٤ تا ۱/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید.



شکل ٦: تنوع میزان اکسین در ۱۸ سویه مورد بررسی از شالیزارهای شرق استان مازندران (بر حسب درصد)

بحث

با توجه به نتایج این تحقیق استنباط می گردد که هر سویه از سیانوباکتری‌های جدا شده از هر منطقه به تنهایی پتانسیل قابل توجه‌ای نسبت به نوع رنگدانه‌های موجود خود، دارا می‌باشد که متناسب با اهداف تجاری در جهت مصارف دارویی، صنعتی و خوراکی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد (Priyadarshani and Biswajit., 2012). اگرچه قابلیت تولید فیتوهورمون‌های محرک رشد مثل اکسین در اکثر سویه‌ها مشاهده گردید اما این توان بالقوه با توجه به جنس و پراکنش اکولوژیکی در هر سویه متفاوت است و می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مهم در انتخاب سویه‌هایی با قابلیت و توان تولید اکسین بالا در جهت تولید کودهای بیولوژیکی موثر نقش مهمی را ایفا نماید. میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی متناسب با شرایط محیطی و نوع سویه متغییر می‌باشد. بررسی میزان قابلیت تقویت کنندگی رشد در برخی از میکروارگانیسم‌های خاکزی توسط Buggeln و Craigie (۱۹۷۱) نشان دادند، توان تولید اکسین در باکتری‌های مختلف و حتی در سطح گونه‌های یک جنس نیز متفاوت می‌باشد و در حضور دامنه‌های مختلف پیش ماده (تریپتوفان)، میزان تولید اکسین به شکل معنی داری تغییر می‌نماید. به‌دلیل مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و اثرات مخرب آن بر روی خاک و محیطزیست، استفاده از کودهای بیولوژیک به شکل ویژه‌ای در بهبود این آلودگی می تواند به‌عنوان راهکاری مطلوب مد نظر قرار گیرد. با توجه به گستردگی تاثیرات مثبت باکتری‌های تقویت کننده رشد گیاهی مانند سیانوباکتری‌ها، این گروه از باکتری‌ها می توانند بصورتی مطلوب در قالب کودهای بیولوژیک مورد استفاده قرار گیرند. ترکیبات فعال زیستی محرک رشد مانند فیتوهورمون‌ها از جمله اکسین که توسط این باکتری‌ها تولید می‌گردند توسط بسیاری از محققین مانند، (Sergeeva et al., 2002; Prasanna et al., 2010) مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته‌اند. بنابراین این ریزموجودات سبب ارتقاء رشد گیاه می شوند و غالبا در محیط اطراف ریشه مستقر می‌گردند و در جذب عناصر ضروری از خاک برای بقاء گیاه کمک می‌کنند، البته در برخی مواقع مانع از جذب عناصر سنگین و سمی توسط گیاه نیز می گردند. مهمترین مکانیسمی که می‌تواند اثر تحریک کنندگی رشد گیاه توسط ریزجلبک‌ها و برخی باکتری‌ها را تفسیر نماید، تولید فیتوهورمون ایندولی IAA است که نتیجه ان بهبود شاخص جوانه زنی و رشد بهتر ریشه و به دنبال آن افزایش عناصر غذایی و افزایش رشد گیاه است (Sharma et al., 2005; Zhuang et al., 2007). نیز گزارش شده است. با توجه به نتایج این تحقیق این گونه استنباط می‌گردد که هر سویه از سیانوباکتری‌های جداشده از هر منطقه به تنهایی پتانسیل قابل توجه‌ای نسبت به نوع رنگیزه‌های موجود خود را دارا می‌باشد که متناسب با اهداف تجاری در جهت مصارف دارویی، صنعتی و خوراکی می تواند مورد توجه قرار گیرد. اگر چه قابلیت تولید فیتوهورمون‌های محرک رشد مثل اکسین در اکثر سویه‌ها مشاهده گردید اما این توان بالقوه باتوجه به جنس و پراکنش اکولوژیکی هر سویه متفاوت است و می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مهم در انتخاب سویه‌هایی با قابلیت و توان تولید اکسین بالا در جهت تولید کودهای بیولوژیکی موثر نقش مهمی را ایفا نماید. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی متناسب با شرایط محیطی و نوع سویه متغییر می‌باشد بررسی میزان قابلیت تقویت کنندگی رشد گیاهان توسط برخی از میکروارگانیسم‌های خاکزی توسط Shanab (۲۰۰۱) نشان داد که توان تولید اکسین در باکتری‌های مختلف و حتی در سطح گونه‌ای متفاوت می‌باشد و با تغییر غلظت‌های مختلف پیش ماده، تریپتوفان میزان

تولید اکسین به شکل معنی‌داری تغییر می‌نماید. طبق تحقیقاتی که بر فرکشن محلول آلکالین هیدرولیستاز، ۱۰ گونه از ریزجلبک‌های آبزی صورت گرفت، موید این نکته است که میزان غلظت IAA ترشح شده به‌صورت ترکیب برون زا در محیط کشت برخی از جدایه‌ها تا حدود ۰/۱µg از وزن تر بیوماس را تشکیل می‌دهد. این نکته بیانگر این مطلب است که سطح ایندول استیک اسید در جدایه‌ها و گونه‌های مختلف ریزجلبک‌های آبزی برحسب شرایط محیطی و نوع گونه‌ها متغییر است (Buggeln et al., 1971). نتایجی دیگر نشان داد وقتی در غلظت ۰ ترپتوفان اکسین تولید می‌شود، می‌توان چنین نتیجه گرفت که سنتز اکسین از مسیرهای مستقل از تریپتوفان نیز وجود دارد و یا تغییر مسیر بیوسنتز اکسین می‌تواند امکان پذیر باشد (Varalakshmi and Malliga, 2012). با توجه به موارد فوق با شناسایی نوع سویه و ارزیابی پتانسیل آن در ابعاد مختلف جهت استفاده در مصارف مختلف کشاورزی و صنعتی می‌توان با فراهم آوردن شرایط بهینه از این باکتری‌های ارزشمند به شکل موثر استفاده نمود. بر اساس بررسی‌های انجام شده چنین متصور است که اجتماعات سیانوباکتری بررسی شده در شرق استان مازندران از تنوع و تراکم بالایی برخوردار هستند و حتی برخی از آنها دارای اجتماعات غالب می‌باشند و دلیل عمده‌ای بر این نکته است که در خوگیری نسبت به تغییرات شرایط محیطی مشکلی نداشته‌اند. با توجه به این نکته می‌بایست احتمال داد که یا شرایط محیطی شرق استان مازندران جهت رشد و توسعه این جدایه‌ها، شرایطی خاص و متفاوت است و یا اینکه شرایط آزمایشگاهی و از جمله شدت نور و محتوای گازی برای تولید رنگیزه‌های اصلی و فرعی فتوسنتزی کافی نبوده است. به عبارت دیگر آنچه در مورد همه نمونه‌ها صدق می‌کند آن است که شرایط آزمایشگاهی اعمال شده احتمالاً به‌صورت یکسان محتوای رنگیزه‌ای را کاهش می‌دهد. در این تحقیق، فتوسنتز مستقیم اندازه‌گیری نشده اما می‌توان از غلظت ترکیبات اولیه و ثانویه رنگیزه‌ای حدس زد که کارایی فتوسنتزی در شرایط آزمایشگاهی تا حد قابل توجهی کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور بدیهی نوع سویه و ارزیابی پتانسیل آن در ابعاد مختلف جهت استفاده در مصارف مختلف کشاورزی و صنعتی می‌تواند شرایط بهینه را برای استفاده از سیانوباکتری‌های هتروسیستوس و هموسیستوس ارزشمند تعیین نماید. بررسی و غربالگری اولیه منطقه شرق استان مازندران نشان می‌دهد که برون ریزش ترکیبات اکسینی با غلظت‌های متفاوت در سیانوباکتری‌های این منطقه وجود دارد. همین امر در مورد میزان کلروفیل و کاروتنویید به‌عنوان نمادهایی از فتوسنتز و آنتن‌های جمع‌آوری کننده نور، نیز صدق می‌کند. بررسی سیانوباکتری‌های این منطقه، نشان می‌دهد که محتوای رنگیزه‌ای آنها به مراتب از استان گلستان پایین‌تر می‌باشد. در مورد اکسین چون بررسی مشابه انجام نشده است، نمی‌توان اظهار نظر نمود.

References

Arshad, M. and Frankenberger, W.T. (1991). Microbial production of plant hormones. Plant and Soil. 133: 1-8.

Badeli, Z., Derakhshanpour, J. and Shokravi, Sh. (2012). Studying the effect of salinity and limited irradiance in survival and growth of soil cyanobacterium *Anabaena* sp. FS 76 and *Nostoc* sp. FS 77. M.Sc Thesis On plant

Physiology, Islamic Azad University of Tonekabon.

Barea, J.M., Navarro, E. and Montoya, E. (1976). Production of plant growth regulators by rhizosphere phosphate-solubilizing bacteria. Journal of Applied Bacteriology. 40**:** 129-134.

Bergman, B., Gallon, J.R., Rai, A. N. and Stal, L.J. (1997). Nitrogen fixation by non-heterocystous cyanobacteria. FEMS Microbiology Reviews. 19: 139–185.

Berman-Frank, I., Bidle, K.L., Haramaty, L. and Falkowski, P.G. (2004). The demise of the marine cyanobacterium, *Trichodesmium* sp., via an autocatalyzed cell death pathway. Limnology and Oceanography. 49: 997–1005.

Buggeln, R.G. and Craigie, J.S. (1971). Evaluation of evidence for the presence of Indole-3-acetic acid in marine algae. Planta. 97: 173-178.

Chakigar, Sh., Shokravi, Sh. and Sateii, A. (2012). Study aclimation of the soil cyanobacteria *Microchaete* sp. FS13 to salt stress and salinity ammelioration potentiality at the laboratory condition. MS.c Thesis On plant Physiology, Islamic Azad University of Gorgan.

Dell'Amico, H., Cavalca, L. and Andreoni, V. (2008). Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium resistant *rhizobacteria*. Soil Biology and Biochemistry. 40 (1): 74–84.

Desikachary, T.V.(1959). Cyanophyta. New Delhi, Indian council of agricultural research, New Delhi. pp.686.

DeVay, J.E., Lukezic, F.L., English, H. and Coplin, D.L. (1968). A biocide produced by pathogenic isolates of *Pseudomonas syringae* and its possible role in bacterial canker disease of peach trees. Phytopatology. 58: 95-101.

Dvornikova, T.P., Skryabin, G.K. and Suvorov, N.N. (1970). Enzymatic transformation of tryptamine by fungi. Microbiology. 39**:** 32-35.

Fett, W.F., Osman, S.F. and Dunn, M.F. (1987). Auxin production by plant-pathogenic *pseudomonads* and *xanthomonads*. Applied and Environmental Microbiology. 53:1839–1845.

Gallon, J.R. (1992). Reconciling the incompatible: Nitrogen fixation and oxygen. New Phytologist. 122: 571–609.

Glickman, E. and Dessaux, Y. (1995). A critical examination of the specificity of the salkowski's reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 61: 793-796.

Gordon, S.A. and Weber, R.P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic Acid. Plant Physiology. 26**:** 192–195.

Hill, DR., Peat, A. and Potts, M. (1994). Biochemistry and structure of the glycan secreted by desiccation-tolerant Nostoc commune (Cyanobacteria). Protoplasma. 182: 126-148.

Hussain, A. and Hasnain, S. (2009). Cytokinin production by some bacteria: Its impact on cell division in cucumber cotyledons. African Journal of Microbiology Research. 3(11): 704-712.

Jensen, A. (1978). Chlorophylls and carotenoids. In: Hellebust JA, Craige IS. (ed). Hand book of Phycological Methods. Physiological and Biochemical Methods. Cambridge: Cambridge University Press. p. 59-70.

Karthikeyan, N., Prasanna, R., Nain, L. and Kaushik, BD. (2007). Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat. European Journal of Soil Biology. 43: 23-30.

Kim, J. and Kim, J. (2008). Inhibitory Effect of Algal Extracts on Mycelial Growth of the Tomato-Wilt Pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. Microbiology. 36(4): 242-248.

Kirlwood, A.E., Buchheim, JA. , Buchheim, MA. and Henley, W.J. (2008). Cyanobacterial diversity and halotolerance in a variable hypersaline environment. Microbial Ecology. 55: 453-465.

Kremer, R.J. and Kennedy, A.C. (1995). Rhizobacteria in weed management. Weed Technology 9. (In press).

Libbert, E., Wichner, E., Duerst, W., Kunert, A., Manicki, R., Manteuffel, E., Riecke, H. and Schro¨der, R. (1968). Auxin content and auxin synthesis in sterile and nonsterile plants, with special

regard to the influence of epiphytic bacteria, p. 213–230. *In* F. Wightma and G. Setterfield (ed.), Proceedings of the 6th International Conference on Plant Growth Substances, Carleton University, Ottawa: biochemistry and physiology of plant growth substances. The Runge Press Ltd., Ottawa, Ontario, Canada.

Loper, J.E. and Schroth, M.N. (1986). Influence of bacterial source of indole-3acetic acid on root elongation of sugar beet. Phytopathology. 76**:** 386-389.

Maqubela, MP. , Mnkeni, P.N.S., Issa, M.O., Pardo, M.T., and D'Acqui, L.P. (2009). *Nostoc* cyanobacterial inoculation in South African agricultural soils enhances soil structure, fertility and maize growth. Plant Soil. 315: 79-92.

Marker, A.F.H. (1972). The use of acetone and methanol in the estimation of chlorophyll in the presence of phaeophytin. Freshwater Biology. 2: 361-385.

Mazor, G., Kidron G.J., Vonshak, A. and Abeliovich, A. (1996). The role of cyanobacterial exopolysaccharides in structuring desert microbial crusts. FEMS Microbiology Ecology. 21: 121-130.

Min, H. and Sherman, L.A. (2010). Hydrogen production by the unicellular, diazotrophic cyanobacterium *Cyanothece* sp. strain ATCC 51142 under conditions of continuous light. Applied Environmental Microbiology. 76**:** 4293–4301.

Morris, R.O. (1986). Genes specifying auxin and cytokinin biosynthesis in phytopathogens. Annual review. Plant Physiology. 37: 509–538.

Moussa, T.A.A. and Shanab, SM.M. (2001). Impact of cyanobacterial toxicity stress on the growth activities of some phytopathogenic *Fusarium* sp. Arizona Journal Microbiology. 53: 267-281.

Okamoto, T., Isogai, Y. and Koizumi, T. (1976). Studies on plant growth regulators. Isolation of indole-3-acetic acid, phenylacetic acid and several plant growth inhibitors from etiolated seedling of Phaseolus. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 15**:** 159-163.

Paerl, H.W., Pinckney, J.L. and Steppe, T.F. (2000). Cyanobacterial-bacterial mat consortia: examining the functional unit of microbial survival and growth in extreme environments.Environmental Microbiology. 2(1): 11-26.

Prasanna, R., Joshi, M., Rana, A. and Nain, L. (2010). Modulation of IAA production in cyanobacteria by tryptophan and light. Polish Journal of Microbiology. 59(2): 99-105.

Priyadarshani, I. and Biswajit, R. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae. Journal of Algal Biomass Utilization. 3 (4): 89–100.

Rai, M.K. (2006). Handbook of Microbial Biofertilizers. Haworth Press, New York.

Rau, N., Mishra, V., Sharma, M., Das, M., Ahaluwalia, K. and Sharma, R.S. (2009). Evaluation of functional diversity in rhizobacterial taxa of a wild grass (*Saccharum ravennae*) colonizing abandoned fly ash dumps in Delhi urban ecosystem. Soil Biology and Biochemistry. 41(4): 813-821.

Rizk, M.A. (2006). Growth activities of the Sugarbeet Pathogen *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Rhizoctonia solani* Khun and *Fusarium verticilloides* Sacc under cyanobacterial filtrate stress. Plant Patology Journal. 5(2): 212-215.

Rodriguez, A.A., Stella, A.A., Storni, M.M., Zulpa, G. and Zaccaro, M.C. (2006). Effects of cyanobacterial extracellular products and gibberellic acid on salinity tolerance in *Oryza sativa* L. Saline System. *2*: 7.

Salkowski, E. (1885). Ueber das Verhalten der Skatolcarbonsa¨ure im Organismus. Zeitschr . Physiology and Chemistry. 9**:** 23–33.

Sergeeva, E., Liaimer, A. and Bergman, B. (2002). Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria. Planta. 215: 229-238.

Shanab, S. (2001). Effect of fresh water cyanobacterial extracts on alkaloid production of the in vitro Solanum elaeagnifolium tissue culture. Arabic Journal of Biotechnology. 4 (1): 129-140.

Sharma, M., Rau, N., Mishra, V. and Sharma, R. S., (2005). Unexplored ecological significance of *Saccharum munja*. Species. 43: 22.

Shokravi, Sh., Soltani, N. and Baftehchi, L. (2008). Cyanobacteriology. Islamic Azad University. First express.p. 87.

Sinha, S.K., Verma, D.C. and Dwivedi, C.P. (2002). Role of green manure (*Sesbania rostrata*) and biofertilizers (Blue-green algae and Azotobacter) in rice-wheat cropping system in state of Uttar Pradesh. Indian Physiology and Molecular Biology of Plant. 8: 105-110.

Soltani, N., Siahbalaie, R. and Shokravi, Sh. (2010). Taxonomical characterization of Cyanobacterium *Fischerella* sp. FS 18- Amultidisciplinary. Approach International Journal on Algae 1(9): 48-55.

Stirk, W.A., Ordog, V., Staden, J.V. and Jager, K. (2002). Cytokinin- and auxinlike activity in Cyanophyta and microalgae. Journal of Applied Phycology. 14: 215-221.

Surico, G., Comai, L. and Kosuge, T. (1984). Pathogenicity of strains of Pseudomonas syringae pv. Savastanoi and their indole acetic acid-deficient mutant on olive and oleander. Physiological Plant Pathology. 74**:** 490-493.

Tandler, C.J. (1962). A naturally occurring crystalline indolyl derivative in *Acetabularia.* Naturwissenschafter. 40: 213-214.

Tang, Y.W. and Bonner, J. (1947). The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. I. Some charasteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Archives of Physiology and Biochemistry. 13**:** 11–25.

Tarko, T., Duda-Chodak, A. and Tuszyński, T. (2009). Simulation of phenolic compounds transformations and interactions in an *in vitro* model of the human alimentary tract. Food Science and Technology International. 15: 235–241.

Tassara, C., Zaccaro, M.C., Storni, M.M., Palma, M. and Zulpa, G. (2008). Biological control of lettuce white mold with cyanobacteria. International Journal of Agriculture and Biology. 10: 487-492.

Vaishampayan, A., Sinha, R.P., Hader, D.P., Dey, T., Gupta, A.K., Bhan, U. and Rao, A.L. (2001). Cyanobacterial biofertilizers in rice agriculture. Botany Review. 67: 453-516.

Varalakshmi, P. and Malliga, P. (2012). . Evidence for production of indole-3-acetic acid from a fresh water cyanobacteria (*Oscillatoria annae*) on the growth of *H. annus*. International Journal of Scientific and Research Publications. 3:1-15.

Wikstrom, P., Szwajcer, E., Brodelius, P., Nilsson, K. and Mosbach, K. (1982). Formation of keto acids from amino acids using immobilized bacteria and algae. Biotechnology Letters. 4: 153-158.

Williams, L.G. (1949). Growth regulating substances in Laminaria agardhii. Science. 110:169.

Zhuang, X., Chen, J., Shim, H. and Bai, Z. (2007). New advances in plant growth promoting rhizobacteria for bioremediation. Environment International. 33(3): 406–413.