مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 2017 (10) 22
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

تقدير هرمون اندول حامض الخليك في بعض الطحالب الدقيقة المحلية ودراسة الظروف المثلى لانتاجه منالسيانوبكتريا*Gloeocapsa* sp. PCC7428

مِرا اسامه الكاتب ، يوسف جبار الشاهري ، عبدالله نجم النعيمي
قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق
mirausama@yahoo.com

الملخص

تم بهذه الدراسة عزل وتشخيص بعض العزلات الطحلبية المحلية الدقيقة وذلك بالتشخيص المظهري والوراثي، كما تم تقدير هرمون اندول حامض الخليك Indole Acetic Acid (IAA) في هذه العزلات وفي حالتي وجود الحامض الاميني التربتوفان في الوسط او غيابه،اذ قدرهرمون IAA المفرز خارجيا الى الوسط والهرمون الداخلي وحددت افضل العزلات لانتاج الهرمون واستنتج ان هرمونIAA المفرز خارجيا يمكن اعتماده كمصدر للانتاج افضل من الهرمون الداخلي لسهولة فصله وامكانية الاستفادة من الكائن الطحلبي مرات اخرى للانتاج وانخفاض كلفة الانتاج للاستغناء عن عمليات تدمير الخلايا لاخراج المحتوى الداخلي من الهرمون وكذلك الفعالية المتفوقة للهرمون المفرز خارجيا على الهرمون الداخلي. واظهر السيانوبكتريا*Gloeocapsa*sp. PCC7428 افضل فعالية لانتاج الهرمون 12.682 µg/ml في وسط مجهز بـ 0.5 L/gmتربتوفان وكانت لجنس *Chlorella* sp. IFRPD 1018 8.313 µg/ml واكدت هذه النتيجة عند مقارنة فعالية الهرمون لهذين الجنسين عند تنميتهم في مفاعلات ضوئية بسيطة حيث ظهر تباين كبير وواضح في انتاج هرمون IAA المفرز خارجيا حيث سجل السيانوبكتريا فعالية وصلت الى 109.694 µg/ml في اليوم 12 من التنمية في حين سجل الطحلب الاخضر المجهري خلال نفس الفترة 27.127 µg/ml وكان اعلى فعالية له في اليوم 14 بفعالية 38.005 µg/ml مما يؤكد ان السيانوبكتريا هي افضل واسرع لانتاج الهرمون.كم الوحظ ان انتاج الهرمون من قبل السيانوبكتيريا يتاثر بشكل واضح بتغير الظروف المحيطة خاصة الـ pH وتركيز التربتوفان المضاف للوسط الغذائي وعامل الاضاءة واضافة مواد نتروجينية الى الوسط فضلا عن تداخل عامل التحريك (الاهتزاز) مع هذه الظروف، فقد سجلت اكبر فعالية للهرمون في الوسط ذات الـ pH =7 يليه 8 وكانت اعلى فعالية عند زمن 14 يوم لكلا المزارع الثابتة 24.719 µg/ml والهزازة 23.917 µg/ml مع تقارب الفعالية لكلا النوعين رغم ان تفوق المزارع الهزازة في الـ pH 7 كان في اليوم السابع واضحا على المزارع الثابتة. اما عامل تركيز التربتوفان فقد تبين وجود تناسب طردي بينه وبين فعالية الهرمون ولجميع المعاملات وخلال كل فترات القياس وتفوق المزارع الهزازة 46.119 µg/ml على الثابتة 25.433 µg/ml خلال 7 يوما عند تركيز 4 L/gm و 14 يوما من التنمية. وبالنسبة لعامل الاضاءة فقد اظهرت معاملة الضوء المستمر اعلى انتاج للهرمون في المزارع الهزازة في الاسبوع الاول فقط 19.637 µg/mlوبدات بعدها فعالية الهرمون بالانخفاض مع تسجيل المزارع الثابتة فعالية اكبر في الضوء خلال الاسبوعين الثاني والثالث (35.241 و 25.165 µg/ml) على التوالي،على العكس من نتيجة معاملة الظلام المستمر التي تفوقت فيها المزارع الثابتة خلال الاسبوع الاول فقط 19.28 µg/ml وانخفض الهرمون خلال الاسابيع الاخرى مع تفوق المزارع الهزازة عليه في الاسبوعين الثاني والثالث، وسجلت عينات التواقت الضوئي للمزارع الثابتة تفوق كبير على جميع العينات وخلال كل فترات القياس اذ سجلت 37.113 µg/ml عند 14 يوم. وعند استخدام مصادر نتروجينية مختلفة في الوسط ثبت قابلية السيانوبكتريا على استغلال مادة التربتون الحاوية جزئيا على التربتوفان الذي يعتبر المادة الاولية لانتاج هرمون IAA مما جعله الافضل مقارنة مع بقية المواد المضافة الى الوسط لذلك يمكن اعتبار التربتون بديل ناجح عن التربتوفان مع مراعاة زيادة الكمية المضافة منه الى الوسط.

الكلمات المفتاحية: هرمون اندول حامض الخليك، الطحالب الدقيقة المحلية، السيانوبكتري

المقدمة

ان الطحالب هي كائنات بسيطة ذاتية التغذية ضوئيا اي ان لها قابلية لانتاج الكاربون العضوي خلال عملية البناء الضوئي وافرادها تتباين في حجمها وتركيبها الخلوي وصفاتها البايولوجية ،اذ يبدأ الحجم من قطر 1 مايكروميتر (µm) للخلية المفردة للطحالب المجهرية Microalgae الى 50 متر (m) طولاً للاشكال متعددة الخلايا ضمن الطحالب الكبيرة Macroalgae (1،2،3)، والطحالب المجهرية يعتبرها البعض مؤلفة من الطحالب الخضر المزرقة (السيانوبكتريا Cyanobacteria) بدائية النواة ومعها قسم من الطحالب الخضراء Chlorophyta الصغيرة المجهرية وهي حقيقية النواة (4)، وذلك بحسب العلاقة الحجمية حيث يتراوح حجمها بين 1–50 µmوتوجد في كل من المياه العذبة والمالحة وتشكل قاعدة لاغلب السلاسل الغذائية واغلب الانواع حاوية على الكلوروفيل وتستخدم البناء الضوئي لانتاج الغذاء وتنتج الاوكسجين، والطحالب المجهرية غير مرئية بالعين المجردة لكن قد تظهر بشكل كتل مختلفة الالوان والتحليل الوراثي genetic analysis لايزال مستمراً بالتقدم ولم يكمل لحد الان مع تصنيف ثابت، ويمكنها ان تلعب دور مهم في الاقتصاد المعتمد على الاحياء biobased economy حيث يمكن ان تزرع الطحالب بكفاءة في المناطق غير الملائمة للزراعة وهي مصدر للعديد من

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

المـواد والمنتجـات منهـا الوقـود الحيـوي biodiesel وغيرهـا (5). للطحالب وخصوصاً المجهرية امكانيات هائلة في مجال التقنية الحيوية فهي تعد مهمة بشكل كبير كانظمة او مفاعلات حيوية للانتاج وتعد مصدر للعديد من المواد الكيميائية القيمة ويعتقد بان افضل النجاحات تتم باستعمال الطحالب مع توفير الظروف الملائمة في مفاعلات حيوية ضوئية Photobioreactors (6). تنتج الطحالب منظمات النمو النباتية (Plant Growth RegulatorsPGRs) المسؤولة عن تاثيرات مهمة ومفيدة لتطور واقلمة النباتات (7)، حيث ان اضافة مستخلصات السيانوبكتريا الى سنادين مزروعة بمحاصيل الخيار والطماطة والقرع فضلا عن معاملة نقع بذورها قبل الزراعة يعمل على تعجيل الانبات وزيادة ارتفاع النباتات (8)، ورغم ان الهرمونات النباتية في البداية كانت تعزى الى المملكة النباتية الا انها واسعة الانتشار خلال التربة والميكروبات المرتبطة بالنبات مثل البكتريا (بضمنها السيانوبكتريا –الطحالب الخضر المزرقة)، الطحالب، والفطريات(9). لقد اكد (10) ان الهرمونات النباتية قد شخصت بجميع المراتب الطحلبية وبتراكيز متوافقة مع ماتحتويه النباتات الراقية. اذ درس انتاج هرمون اندول–3–حامض الخليك Indole-3-acetic acid (IAA) من السيانوبكتريا *Arthrospira* وهو من اهم الاوكسينات حيث يعتبر اكثرها شيوعاً كما انه اوكسين طبيعي وله عدة تاثيرات فسيولوجية ضخمة) (11) ويمكن تصنيعه من عدة انواع من نباتات لابذرية وعدة بكتريا وفطريات وطحالب (12)، وهو مركب عضوي يعمل بتراكيز واطئة ومعروف بانه مسؤول عن زيادة نمو الجذر وطوله (13) وكذلك استطالة الخلية النباتية والانقسام الخلوي (14). ان الطحلب المختار لانتاج الهرمون بهذه الدراسة هو *Gloeocapsa* sp. PCC7428 نتيجة لتسجيله افضل انتاج للهرمون مقارنة ببقية العزلات، والسيانوبكتريا كائنات دقيقة بسيطة لكنها مجموعة بدائية ومتنوعة مع ميزات تجمع كل من ميزات البكتريا والطحالب وهي مصدر كامن لمركبات متنوعة مهمة زراعياً وصناعياً ،اذ ان عدد كبير من سيانوبكتريا المياه العذبة والمالحة معروفة بافراز مواد عضوية وغير عضوية في الوسط المحيط بها حيث مكان نموها، وسجل انتاج السيانوبكتريا لهرمونات نباتية طبيعية (15). كما انه من الضروري مواكبة المجالات الحديثة في الدراسات ومن اهمها ما يرتبط بتقنيات علم النانو والمواد النانوية، والمواد النانوية (النانومترية) هي المواد ذات البعد النانومتري المحصور ما بين 1 الى 100 نانومتر(nm) (16)، ان الدراسات الحديثة اكدت بان التعرض للمعادن يمكنه ان يكون طريقة مهمة ومثيرة لتحفيز، في خلايا الطحالب المجهرية عند تصنيع منتجات مستهدفة مثل الصبغات pigments، اللبيدات peptides، البوليمرات الخارجية exopolymers، الهرمونات النباتية phytohormones، مواد الزرنيخ العضوية arsenoorganics والجزيئات النانوية nanoparticles، وان تحفيز انتاج مركب مرغوب في الطحالب المجهرية يعتمد على عدة عوامل منها نوع المعدن metal type وتركيزه concentration او تركيبة معدنية تقود الى تاثيرات متازرة، خصوصية السلالة وضوابط التنمية culture cultivation، وتركيب اوساط النمو والتي جميعها يؤخذ بنظر الاعتبار لتحديد نتيجة استجابة الطحلب المجهري تجاه الاجهاد المعدني metal stress، وقد يكون للاجهاد المعدني تاثيرات سلبية على نمو الطحالب المجهرية (4)، وعليه هدفت الدراسة الحالية الى ما ياتي:

1–عزل وتشخيص مظهري ووراثي لاجناس مختلفة من الطحالب المجهرية (السيانوبكتريا و الطحالب الخضراء) من البيئة المحلية لمدينة الموصل.

2–اجراء تقدير للهرمون اندول–3–حامض الخليك Indole Acetic Acid(IAA) بنوعيه المفرز خارجياً الى الوسط Extracellular والداخلي Endocellular لهذه الاجناس وخلال فترات نمو مختلفة واختيار العزلة الاكثر انتاجاً للهرمون.

3–دراسة تاثير ظروف مختلفة على انتاج الهرمون مثل pH،تركيز التربتوفان،الضوء واضافة مواد نيتروجينية مختلفة اضافة الى دراسة تاثير عامل الاهتزاز(التحريك) على الانتاج بمختلف الظروف.

4–تنمية العزلات الاكثر انتاجا للهرمون (نموذج للسيانوبكتريا ونموذج للطحالب الخضراء) في مفاعلات ضوئية بسيطة لمقارنة انتاج الهرمون الخارجي.

طريقة العمل

1) **جمع عينات الدراسة وفحصها وتنقيتها** تم جمع عينات الطحالب من بيئات مختلفة من مدينة الموصل/ العراق (مياه عذبة – تربة رطبة) وجرى فحصها باستخدام المجهر الضوئي لملاحظة وجود الانواع الطحلبية ومن ثم القيام بعملية التنقية للاجناس باستخدام الاوساط السائلة والصلبة للحصول على المزارع النقية لكل جنس وتتم عملية الزرع تحت ظروف معقمة . رُكزت خلايا الطحالب بعد جمعها باستخدام جهاز الطرد المركزي (3000 دورة/دقيقة) ولمدة (1–2 دقيقة) بعدها يستخلص الراسب من السائل الطافي ويضاف الماء المقطر المعقم على الراسب ويمزجان ثم يعاد الترسيب وتعاد هذه العملية (3–5 مرات)من اجل التخلص من اكبر عدد من الشوائب والملوثات ومن ثم يفحص الراسب باستخدام المجهر الضوئي يتم نقل الراسب الى الوسط الزرعي السائل Chu10 المعقم ويتم تحضينه في الحاضنة عند ظروف حرارة 25 °م±2 واضاءة 2500 لوكس، يؤخذعينة منها وتفحص بعد مرور اسبوع تقريباً (17)، بعد الحصول على عُزلات وحيدة الطحالب نقية، يتم زراعة هذه العُزلات على الوسط الزرعي Chu 10 السائل المعقم تحت ظروف معقمة في كابينة الزراعة وذلك باخذ اللقاح سواء باستخدام لوب loop معقم (بالنسبة للمزارع على الاوساط الصلبة) او باستخدام ماصات دقيقة معقمة micropipette (من المزارع السائلة)، ونقل اللقاح الى الاوساط الجديدة السائلة المعقمة وتحضينها في حاضنة تحت ظروف التنمية من حرارة 25 ±2 °م وأضاءة 2500 لوكس (18). لاكثار الطحالب تم تلقيح الوسط الموجود في الدوارق 100 مل باستخدام 10 مل من

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

اللقاح من المزرعة الاصلية النقية السائلة stock culture وفي الطور اللوغارتمي تقريباً (6 –14 يوم)، للحفاظ على حيوية المزارع ونشاطها يتم تجديد الوسط كل اسبوعين تقريباً لحين اجراء التجارب عليها (19). كما تم استخدام مزارع سائلة ذات سعة كبيرة وتحويرها بشكل مفاعل حيوي بسيط التركيب وذلك بتحضير اوساط سائلة في قناني حجم 1 لتر وتزويد القنينة بفتحة لدخول الهواء المفلتر باستخدام انابيب مطاطية معقمة مزودة بفلتر مرشح دقيق (Mm0.45) ولها حجر فقاعات في نهاية الانبوب المطاطي وكذلك تزويد القنينة بفتحة اخرى يخرج منها الهواء الفائض كفتحة تهوية مزودة بانبوبة مطاطية معقمة ، ويتم ضخ الهواء باستخدام مضخة هواء بسيطة مستخدمة في احواض الاسماك وتوضع هذه المفاعلات البسيطة في غرفة تنمية مسيطر عليها بظروف حرارة 25 ±2 °م وأضاءة 2500 لوكس ولها نظام تعاقب ضوئي 16 ساعة ضوء : 8 ساعات ظلام او باضاءة مستمرة بحسب ظروف التجربة(18).

الشكل (1): مزارع الطحالب الكبيرة السعة (مفاعل حيوي مبسط simple photobioreactor)

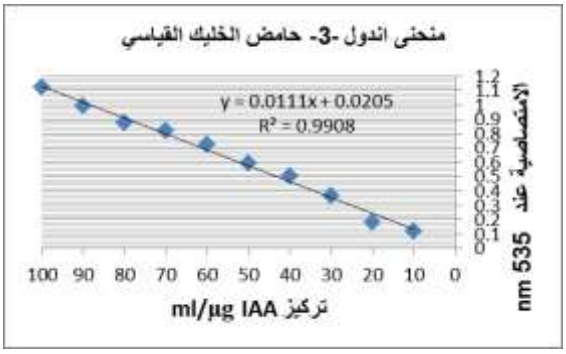
2) تشخيص اجناس السيانوبكتريا والطحالب الخضراء المعزولة

تم استخدام طريقتين للتشخيص تقريباً للاجناس المعزولة وهي التشخيص المظهري Morphological identification و كذلك التشخيص الوراثي genetical identification من اجل تشخيص دقيق ومؤكد للاجناس المعزولة(20،21،22). استخدمت طريقة وراثية للتاكد من بعض الاجناس وراثياً والحصول على النوع والسلالة باستخدام الطرق الوراثية الجزيئية مثل تحديد التسلسل الجيني للوحدة 16S من شريط الدنا الرايبوسومي (16S rDNA) للسيانوبكتريا و (18S rDNA) 18S للطحالب الخضراء المجهرية بعد اجراء تفاعل البلمرة المتسلسل المتخصص (23،24).

3) تقدير فعالية هرمون IAA المفرز خارجيا (Extracellular IAA)و الداخل خلوي

أعتمدت الطريقة اللونية colorimetric method للكشف عن وجود هرمون اندول حامض الخليك(IAA) وتصنيعه من قبل عزلات الطحالب المختلفة وهي الطريقة الاكثر شيوعاً في هذا المجال وتسمى اختبار Salkowski ومتبعة من قبل اغلب الباحثين كونها طريقة سهلة وسريعة (9،25،26)، اخذت قياسات الهرمون خلال 7،21،14 يوما من التنمية.

وتم عمل منحنى قياس للهرمون باستخدام سلسلة محاليل مائية من هرمون اندول حامضالخليك القياسي وبتراكيز معلومة(تتراوح بين 10 – 100 ml/µg) وبنفس الطريقة السابقة حيث لكل امل من هذه المحاليل يضاف 2 مل من كاشف سالكوسكي(27) وكما موضح في الشكل(2):



الشكل (2): المنحنى القياسي لاندول–3–حامض الخليك

4) اختيار افضل عُزلات الطحالب لانتاج هرمون الاندول IAA

تم اعتماد افضل عُزلة من العُزلات المحلية المختبرة والسيانوبكتريا والطحالب الخضراء وذلك لاجراء التجارب المختبرية عليها بعد اجراء تقدير فعالية الهرمون IAA في الوسط وذلك لدراسة الظروف المُثلى لانتاج الهرمون فضلاً عن استخلاص الهرمون منها واجراء الفحوصات التشخيصية له.

5) تحديد بعض الظروف المُثلى لانتاج IAA

لغرض تحديد بعض الظروف المثلى للحصول على انتاج لهرمون IAA من عُزلة السيانوبكتريا *Gloeocapsa* sp.، تم اجراء بعض التجارب لدراسة تاثير التغير في اكثر الظروف اهمية وتاثيرا ومنها قيمة الاس الهيدروجيني pH للوسط الغذائي وكذلك كمية الحامض الاميني التربتوفان L-tryptophan المضاف الى الوسط وعامل الاضاءة وتاثير اضافة مواد نتروجينية مختلفة (28،9)، مع تاثير نمط الزراعة (مزارع ثابتة ومستقرة) فضلاً عن دراسة تاثير اضافة مواد نتروجينية مختلفة الى الوسط الغذائي.

6) تقدير هرمون اندول حامض الخليك IAA لمزارع مفاعلات ضوئية بسيطة للطحلب الاخضر المزرق *Gloeocapsa* sp. والطحلب الاخضر *Chlorella*

من اجل التاكد من تفوق السيانوبكتريا *Gloeocapsa* sp. على الطحالب الخضراء (نموذجيا عنها طحلب *Chlorella*)، تم انشاء مفاعلين حيويين من الطحلبين وتقدير هرمون الاندول لكل منها خلال فترة (7 ، 8، 11 ،12 ،13 ،14 يوم)، أعدت مزارع من السيانوبكتريا النقية للطحلب *Gloeacapsa* sp. باستخدام مفاعلات حيوية بسيطة اذ في قناني زجاجية سعة 1لتر حضر 800 مل من الوسط الغذائي المدعم بالحامض الاميني التربتوفان بمقدار 2 غم/لتر.

النتائج والمناقشة

تم في هذه الدراسة جمع عينات الطحالب الدقيقة من مناطق بيئية مختلفة من البيئة المحلية لمدينة الموصل من المياه العذبة والترب

الرطبة ومن مواقع (الشلالات / منطقة سد الموصل / نهر دجلة / حدائق الجامعة / منطقة القصور / منطقة الغابات)، وبعد فحص العينات بصورة اولية باستخدام المجهر الضوئي تبين ان الاشكال الخيطية هي العزلات السائدة ومنها جنس الاوسيلاتوريا بالنسبة للسيانوبكتريا المنتشرة وكذلك سيادة جنس الكلوريلا بالنسبة للطحالب الدقيقة الخضراء، نميت العزلات النقية المنتخبة من السيانوبكتريا والطحالب الخضراء الدقيقة على الوسط الغذائي (Chu 10) السائل والصلب (29). لقد شخصت العينات مظهريا والبعض منها وراثيا وكانت كما موضحة في الجدول(1) الاتي:

الجدول (1): عزلات الطحالب المشخصة مظهريا

التسلسل	مجموعة الطحالب
	الطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا) **Cyanobacteria** **Kingdom: Monera** **Division: Cyanophycophyta** **Class: Cyanophycophyceae**
1	**Genus: *Oscillatoria***
2	**Genus: *Lyngbya***
3	**Genus: *Spirullina***
4	**Genus: *Nostoc***
5	**Genus: *Anabaena***
6	**Genus: *Haplosiphon***
7	**Genus: *Gloeocapsa***
8	**Genus: *Microcystis***
	الطحالب الخضراء Chlorophyta **Kingdom: Protesta** **Division: Chlorophycophyta** **Class: Chlorophycophyceae**
1	**Genus: *Chlorella***
2	**Genus: *Scendesmus***

عزلت المادة الوراثية DNA لعينات الطحالب المختلفة وذلك من اجل تاكيد تشخيص العزلات الى جانب الفحص المجهري الذي يعتبر تشخيصا اوليا للعزلات بتحديد مظهرها الخارجي ، وتم الحصول على نتائج بعض هذه العزلات بمطابقة تسلسل جينوم 16 S rDNA مع بيانات تسلسل (9)(GenBank) NCBI. تم الحصول على تسلسل جينات 16S rDNA للسيانوبكتريا و 18S rDNA للطحالب الخضراء،وظهر ان الجنس يمتلك نسبة تشابه 100 % للجينوم مع *Gloeocapsa* sp. PCC 7428، اما فيما يخص عينات الطحالب الخضراء المجهرية فقد شخص جنس الكلوريلا وسجلت نسبة تماثل للتسلسل الجزئي والكامل لجيناته مع 18S rDNA وكانت النسبة 96% وذلك مع جنس *Chlorella* sp. IFRPD 1018، والجنس الاخر المشخص هو السندسمس قد سجل نسبة تماثل 90% لجنس *Scenedesmus raciborskii*.

اعتمدت الطريقة اللونية باستخدام كاشف سالكوسكي Salkowsky reagent للكشف عن هرمون اندول حامض الخليك IAA تم تحديد مستوى الهرمون في عزلات الطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا) والطحالب الخضراء وبنوعيه المفرز خارجيا Extracellular (الموجود في الوسط الزرعي المزروع) والهرمون الداخلي Endocellular (الهرمون داخل الخلايا الطحلبية)، اظهرت النتائج بان الهرمون المفرز في الوسط ولجميع العزلات كانت كميته اكبر بكثير من الهرمون الموجود داخل الخلايا وذلك غند قياس الهرمون الداخلي عند الاسبوع الثالث من عمر المزرعة ، وهذا يتفق جزئيا مع دراسة (9) حيث انه يكون داخل الخلايا اكثر من المفرز بالنسبة لجنس السيانوبكتريا *Arthrospira platensis* MMG9 حيث اشار الى ان السلالة تراكم IAA مقارنة بما تحرره الى الوسط وذلك بعد 3 ، 4 و 5 اسابيع من النمو على التوالي بعد ان راكمه الطحلب، في حين انه لم يوجد فرق معنوي خلال الاسبوعين الاوليين للنمو في حين انطبق ذلك على عزلة *Spirulina* الموجودة في البحث.ومن خلال النتائج (الجدول 2) تبين ان فعالية الهرمون المفرز خارجيا (بدون هزاز مع الوسط الحاوي تريتوفان) وذلك خلال (7 ، 14 ، 21 يوم) من التنمية. كما لوحظ ان اغلب او تقريبا جميع العزلات (عدا اربعة منها) سجلت اعلى فعالية للهرمون خلال الاسبوع الاول (7 يوم) وبعدها تنخفض الفعالية كلما زادت فترة التحضين خلال الاسبوعين الثاني والثالث على التوالي. سجل جنس *Gloeocapsa* sp. (العزلة الرابعة G4) اعلى فعالية خلال الاسبوع الاول (12.682 ml/µg) يليه جنسي *Microcystis* (*M.*2) و *Lyngbya* (*L.*3) (10.275 ml/µg) في حين سجل جنس (*O.* 2) *Oscillatoria* اقل فعالية (2.606 ml/µg) . فضلا عن انه من الجدير بالذكر ان جنس *Gloeocapsa* سجل في الاسبوع الثاني اعلى فعالية من بين باقي العزلات (*G.* 3 و *G.* 4) حيث سجلوا فعالية 10.899 و 10.096ml/µgعلى التوالي ، يليهم جنس *Gloeocapsa* (*G.*1) حيث سجل 8.581 ml/µg ومن بعدهم جنس (8.224) *Chlorella* و *Spirulina* (ml/µg 8.046). لقد لوحظ عند دراسة هرمون IAA في السيانوبكتريا *Arthrospira platensis* MMG-9 بان تراكيز الهرمون المفرز خارج خلويا لا تختلف بشكل ملحوظ خلال الاسبوعين الاول والثاني من النمو ، لكن بعد ذلك يبدا بتجميع IAA حيث ترتفع مستويات الهرمون الداخل خلوي intracellular والخلوي cellular بعد 3، 4، 5 اسابيع من النمو (9) .

الجدول (2): قياس هرمون IAA (µg/ ml) الخارجي والداخلي للعزلات المختلفة

التسلسل	الاجناس	IAA المفرز خارجيا			IAA الداخلي
		فترة الحضانة (يوم)			
		7	14	21	21
	الطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا) Cyanophyta				
1	*Oscillatoria1*	5.014	5.46	3.32	3.766
2	*O. 2*	2.606	2.606	2.161	2.874
3	*O. 3*	3.766	3.141	3.141	3.587
4	*Lyngbya 1*	9.205	3.855	3.676	3.32
5	*L. 2*	9.741	3.052	2.696	3.052
6	*L.3*	10.275	6.084	4.836	2.963
7	*Spirulina*	6.708	8.046	3.409	4.122
8	*Nostoc 1*	5.014	1.715	2.428	2.874
9	*N. 2*	4.301	2.963	3.141	3.587
10	*Anabaena 1*	4.568	2.696	2.696	3.676
11	*A.2*	5.816	3.855	2.874	3.676
12	*Hapalosiphon*	3.32	4.033	2.696	3.052
13	*Gloeocapsa*	8.581	8.581	3.944	3.766
14	*G. 2*	9.829	7.154	11.79	3.766
15	*G. 3*	6.262	10.899	3.498	3.409
16	*G.4*	12.682	10.096	9.829	3.32
17	*Microcystis 1*	7.421	7.511	6.708	3.32
18	*M. 2*	10.275	2.161	2.785	2.874
19	*M. 3*	6.619	3.141	2.874	2.785
20	*M. 4*	7.243	4.746	2.963	3.231
21	*M. 5*	9.651	7.6	5.906	2.963
	الطحالب المجهرية الخضراء Chlorophyta				
22	*Chlorella 1*	8.313	8.224	5.014	3.855
23	*C. 2*	7.243	5.281	4.925	3.498
24	*C. 3*	4.836	4.211	3.231	2.874
25	*Scendesmus*	7.511	4.033	3.409	3.676

لقد قدرت فعالية الهرمون الداخلي عند الاسبوع الثالث من النمو لجميع العينات ومن خلال نتائج الجدول (2) تظهر قياسات الهرمون بان اعلى تراكم للهرمون داخليا سجله طحلب *Spirulina* (4.122ml/µg) يليه بذلك طحلب (C. 1) *Chlorella* 3.855 ml/µg ومن ثم طحلبي (*O.* 1) *Oscillatoria* و *Gloeocapsa* (*G.* 1) بنفس التركيز 3.766 µg/ml. كما يتبين من الجدول (2)، بان التراكيز الداخلية للهرمون تقريبا لنصف العينات (13 عينة من 25) هي اكبر قليلا من التراكيز للهرمون المفرز خارجيا لها وذلك عند الاسبوع الثالث من التحضين ، في تفوقت تراكيز الهرمون المفرز خارجيا وبشكل كبيرو واضح ولجميع العزلات عدا عزلة واحدة (*O.* 2) خلال الاسبوع الاول من التحضين. لذلك يمكن القول بان افضل مصدر للحصول على الهرمون هو من عزله من المزارع المفرز فيها خارجيا وخلال الاسبوع الاول والثاني من التنمية ، فضلاً عن ان عملية فصل الهرمون المفرز خارجيا يكون عمليا اسهل واقل كلفة من عملية تحرير وفصل الهرمون الداخل خلوي ، هذا من ناحية، ومن ناحية ثالثة يمكن الاستفادة من الكتلة الحية في انتاج الهرمون واعادة تنميتها واعتبارها مصدرا مستمر ودائم البقاء لانتاج الهرمون وليس كما يحدث عند فصل الهرمون الداخلي وتدمير الخلايا . بناءا على ما سبق ذكره فان افضل طريقة للهرمون هي عزل الهرمون المفرز خارجيا في الوسط ودراسة العوامل المثلى لزيادة انتاجه من الخلايا ،وهذا يتفق جزئيا مع نتائج دراسة (9) بان الهرمون الداخلي والخارجي يزداد مع زيادة مدة التحضين ، وكذلك زيادة الهرمون الداخلي على الخارجي بعد الاسبوع الثالث من النمو.

لقد تم الاشارة في دراسة (33) الى ان الاوكسينات تحفز محتوى الزانثوفيلات الغني بالاوكسجين Oxygen rich xanthophylls ولوحظت هذه الفعالية بين اليوم الخامس والعاشر لحضانة الطحلب *Chlorellapyrenoidosia* وان المستويات الفعالة مع الطحالب تبدا عند $M^{-5}10$ و allantion عند تركيز $M^{-3}10$ والتراكيز العالية لها تاثير سام مسببة موت الطحالب بعد 3–4 يوم من التنمية، مما قد يعزى اليه من انه يتم انتاج الاوكسين خلال الاسبوعين الاوليين ومن ثم يستخدم خلال الاسبوع الثالث من الحضانة من قبل الطحلب من اجل النمو وزيادة الصبغات التركيبية مؤديا ذلك الى انخفاض تركيز الهرمون الخارجي بعد الاسبوع الثاني من الحضانة بشكل ملحوظ ولجميع العينات تقريبا .ان انتاج IAA بوساطة عزلات مايكروبية

يتباين جدا بين الانواع المختلفة والسلالات ويعتمد على توفر المواد الاساس له (34).من المعروف ان عدد كبير من السيانوبكتريا للمياه العذبة والبحرية تفرز مواد عضوية وغير عضوية في الوسط المحيط بها والذي تنمو فيه، وقابليتها لتكوين الهرمونات النباتية اصبحت اكيدة لتكون صفة رئيسية لبكتريا المحيط الجذري rhizospheric bacteria والمتعايشة مع النبات epiphytic والتعايشية symbiotic والتي تحفز وتسهل نمو النبات (لذلك تسمى سلالات PGPR)، وقد سجلت العديد من الدراسات انتاج السيانوبكتريا للهرمونات (15). ان مجموعة متنوعة من الميكروبات معروفة بتصنيع IAA من ضمنها السيانوبكتريا الحرة المعيشة والتعايشية للاجناس:

(Nostoc, Chlorogloeopsis, Calothrix, Plectonema, Gloeothece, Anabaena, *Cylindrospermum, Anabaenopsis)* وذلك بحسب ما ذكره (29) . بذلك فان السيانوبكتريا يمكنها ان تفيد النباتات بانتاجها المنظمات المحفزة للنمو growth – promoting regulators / الهرمونات hormones مركبات شبيه الاوكسين auxin بحسب Ahmad واخرون 1968،وقد اشار Misra و Kaushik انتاج مواد مشجعة للنمو بوساطة السيانوبكتريا والذي رفع انبات ونمو بادرات الرز وسجلوا وجود هذه المواد في كل من *Nostoc* و *Hapalosiphon* وكمياته كانت 3.76 و 4.48 g/µg على التوالي. حيث وجد ان المادة المشجعة للنمو في مستخلص *Hapalosiphon* هي IAA ومن المحتمل وجود كذلك Indole-3-propionic acid او 3-methyl indole، كذلك ان فحص انبات الشوفان *Avena* يشير الى وجود الاوكسينات في وسط النمو لـ *Nostoc* و *Hapalosiphon* . لقد درست الصفات الفسيولوجية لمجموعة من سلالات السيانوبكتريا ، المعزولة من المحيط الجذري للحنطة (var.HD 2687) وشخصت الاجناس: (*Nostoc*, *Hapalosiphon* , *Westiellopsis* , *Calothrix*)35) .ان رواشح مزرعة مركزة لثلاث سلالات سيانوبكتيرية : *Calothrix ghosei* , *Hapalosiphon intricatus* , *Nostoc* sp. لها القدرة على زيادة نسبة الانبات، طول الجذير وغمد الرويشة في دراسات التشرب imbibition studies مع بذور الحنطة. لقد سجل انتاج IAA في المزارع المحضنة في الضوء والظلام (+0.5 % كلوكوز)، ان تحضين المزارع بوجود التربتوفان يرفع معنويا انتاج IAA. ان تحضين المزارع بوجود التربتوفان يرفع معنويا انتاج IAA، ان تكوين IAA بوساطة indole-3-pyruvic و الاكبر indole-3- acetic aldehyde قد وجد في القسم من دراسات الكائنات المجهرية مثل السيانوبكتريا المثبتة للنتروجين التعايشية *Nostoc* sp. ومنها دراسة Sergeeva ومساعدوه في عام 2002 حيث فحصوا 34 سيانوبكتريا تعايشية، التي تمثل اغلب الاشكال المظهرية من وحيد الخلية الى عالية التمايز، وتبين ان مركبات شبيهة الاوكسين تتحرر من قبل حوالي 38% سلالة حرة المعيشة مقارنة مع 83% للعزلات المتعايشة، ومن اجل تسجيل اصالة IAA تم اللجوء الى التشخيص الكيميائي باستخدام سبكترومتري كروماتوكرافيا الكتلة الغازي gas chromatography- mass spectrometry مع جنس *Nostoc* 9229 PCC معزول من نبات بذري جونيرة *Gunnera* وفي 268 *Nostoc* (حر المعيشة). فضلا عن ان باديء IAA المشهور هو التربتوفان والذي يرفع تراكم IAA في المستخلص الخلوي والراشح، فان الجينات المسؤولة عن تصنيع IAA في البكتريا ربما تملك موقع بلازميدي او كروموسومي بحسب ما ذكره Patten واخرون عام 1996، حيث وجد ان جينوم الطحلب المتعايش *Nostoc* PCC73102 الذي وجد انه حاوي مماثل لانزيمات مسار indole -3 pyruvic acid وهي كل من transaminase و indolepyruvate decarboxylase(ipd C)، وان هذا الجين ipd C الشائع من هذه السيانوبكتريا تم كلونته واستخدم في تقنية Southern blot analysis، وقد وجد ان 11 عزلة من السيانوبكتريا استجابت بشكل موجب لفحص سالكوسكي/ اليزا / Salkowski) (ELISA، وان اربعة سلالات منها وجد فيها مماثل ipd C، لذلك تم اقتراح تكوين وانتاج الهرمون المعتمد على التربتوفان بوساطة مسار indole-3-pyruvic acid، حيث ان تحويل التربتوفان الى اندول−3− الديهايد الخليك (indole-3-acetic aldehyde) ربما يتضمن مسار اخر بديل والذي يتكون فيه التربتامين tryptamine ويعتقد انه يعمل في السيانوبكتريا ويعتقد انه يعمل في السيانوبكتريا *Chlorogloeafritschi* بحسب Ahmad واخرون 1968 (15). وتم في الدراسة كذلك اختبار تقدير هرمون IAA في رواشح مزارع الطحالب اي الهرمون المفرز خارجيا في حالة اضافة التربتوفان الى الوسط الغذائي (Chu 10) وحالة الوسط الخالي من التربتوفان وخلال فترة 7 و 14 يوم من النمو وكما هو موضح في الجدول (3):

الجدول (3): تاثير وجود التربتوفان على قياس هرمون IAA (µg/ml) المفرز خارجيا للعزلات المختلفة

التسلسل	الاجناس	تربتوفان+	تربتوفان−	تربتوفان+	تربتوفان−
		فترة الحضانة (يوم)			
		7		14	
الطحالب الخضراء المزرقة(السيانوبكتريا) Cyanophyta					
1	*Oscillatoria1*	5.014	2.071	5.46	2.874
2	*O. 2*	2.606	2.071	2.606	2.517
3	*O. 3*	3.766	1.982	3.141	2.606
4	*Lyngbya 1*	9.205	2.161	3.855	2.874
5	*L. 2*	9.741	2.25	3.052	2.517
6	*L.3*	10.275	2.696	6.084	2.428
7	*Spirulina*	6.708	2.161	8.046	2.785
8	*Nostoc 1*	5.014	2.071	1.715	2.696
9	*N. 2*	4.301	2.161	2.963	2.517
10	*Anabaena 1*	4.568	2.161	2.696	2.517
11	*A.2*	5.816	2.25	3.855	3.231
12	*Hapalosiphon*	3.32	1.982	4.033	3.498
13	*Gloeocapsa*	8.581	2.339	8.581	4.122
14	*G. 2*	9.829	2.071	7.154	2.963
15	*G. 3*	6.262	1.893	10.899	2.696
16	*G.4*	12.682	2.25	10.096	2.785
17	*Microcystis 1*	7.421	2.071	7.511	2.874
18	*M. 2*	10.275	3.676	2.161	4.746
19	*M. 3*	6.619	2.339	3.141	3.587
20	*M. 4*	7.243	2.161	4.746	2.606
21	*M. 5*	9.651	2.428	7.6	2.606
الطحالب المجهرية الخضراء Chlorophyta					
22	*Chlorella 1*	8.313	2.473	8.224	2.874
23	*C. 2*	7.243	2.517	5.281	2.874
24	*C. 3*	4.836	2.606	4.211	2.785
25	*Scenedesmus*	7.511	2.428	4.033	3. 141

يمكن من خلال الجدول السابق ملاحظة ما يلي :

1– في حالة عدم وجود التربتوفان في الوسط نلاحظ مع زيادة فترة التحضين حدوث ارتفاع طفيف لتركيز الهرمون في جميع العزلات فيما عدا عينة واحدة (*L*. 3) وهذا على عكس ما لوحظ عند قياس الهرمون في الوسط المدعم بالتربتوفان (الجدول 4–2) حيث انخفض مستوى الهرمون بشكل كبير في الاسبوع الثالث عما تم قياسه بالاسبوع الاول.

2–ان جميع مستويات الهرمون اعلى وبشكل كبير وواضح وملحوظ في الاسبوع الاول (7 يوم) لكل العزلات المنماة في الوسط المدعم بالتربتوفان عند مقارنتها مع نفس العزلات المنماة في وسط خالي من التربتوفان، مما يشير الى ان وجود التربتوفان الذي يعتبر المادة الاولية للهرمون ضروري من اجل انتاج وزيادة تصنيع الهرمون بوساطة الطحالب لما اظهر اضافته من زيادة محسوسة وواضحة على الانتاج ولجميع العزلات خلال الاسبوع الاول وحتى في الاسبوع الثاني من النمو فيما عدا ثلاث عزلات فقط (*N*.1,*M*.2,*M*.3) وبزيادة قليلة فقط.

3–من الافضل اعتماد نتائج فعالية وتركيز الهرمون للاسبوع الاول لمقارنة مستويات الهرمون بين العزلات، لانها غالبا اكبر مما يظهر خلال الاسابيع اللاحقة، فضلا عن تجنب ما تعانيه العينات خلال فترة التحضين والنمو من عوامل متعددة والتي قد تؤثر على مكونات الوسط الخارجي بما فيها الهرمون المفرز خارجيا وكذلك العوامل الفسلجية للكائن المنتج.

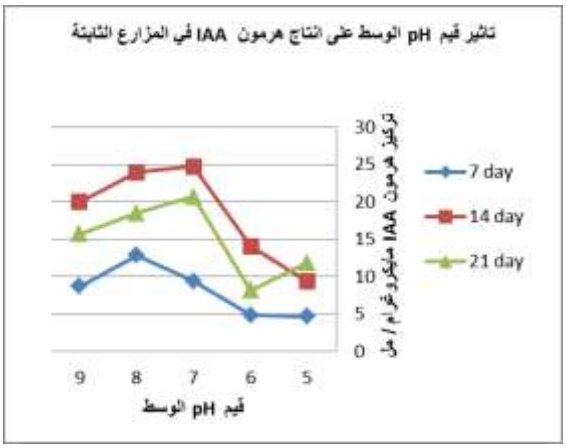
لقد اشارت العديد من الدراسات الى ان انتاج IAA يكون من خلال مسار معتمد على التربتوفان اذ ان التربتوفان قد صنف بانه المادة الاساس والرئيسية لمسارات التصنيع الحيوي في البكتريا، حيث يوجد خمسة مسارات مختلفة تستخدم التربتوفان كمادة اولية للـ IAA(36)، كما انه المادة الاساس لانتاج الهرمون في الطحالب ففي دراسة (9) مع طحلب *Arthrospira platensis* سلالة MMG-9 الذي اظهر المسار المعتمد على التربتوفان لتصنيع الهرمون وان مستويات الهرمون ترتفع بزيادة فترة التحضين مما لايتفق بهذا مع نتائج الدراسة الحالية، الا انه يتفق معها بحالة مقارنة الهرمون الداخلي مع الخارجي لنصف العينات تقريبا (منها عينة *Spirulina* التي هي نفس عينة

دراسته) بزيادة فترة التحضين للاسبوع الثالث(الجدول2). قد يعزى التباين بين العزلات الى الخواص الفسلجية لكل عزلة وهذا ما اشار اليه (34)، كذلك ظهر ان الاوكسينات (IAA) قد اظهرت فروقات نمو لبادرات الشوفان عند استخدام هرمون النمو الداخلي للسيانوبكتريا *Nostoc* و *Hapalosiphon* للمزارع بعمر 4 اسابيع عن تلك التي بعمر اسبوعين وهذا يشابه ما ظهر من نتائج مع نصف اجناس دراستنا الحالية عند قياس الهرمون الداخلي والخارجي خلال الاسبوع الثالث من النمو ويتفق كذلك مع دراستنا الحالية في ان الهرمون الخارجي كان متفوق ولكلا الجنسين خلال الاسبوع الثاني عن ذلك الذي في الاسبوع الرابع من خلال استجابة النمو لرواشح مزارع هذين الجنسين، مما يوكد زيادة الهرمون الخارجي خلال الاسابيع الاولى وانخفاضه مع زيادة فترة التحضين .يتبين من خلال النتائج السابق ذكرها عند قياس هرمون IAA المفرز خارجيا (الجدول 2) بانه يمكن اختيار العزلة الافضل لانتاج الهرمون خارجيا، وقد اختيرت عزلة من السيانوبكتريا هي *Gloeocapsa* sp. PCC 7428 وكذلك عزلة من الطحالب الخضراء المجهرية هي *Chlorella* sp. IFRPD 1018 وذلك لانتاجهم الاوفر للهرمون فضلا عن انهم تم تشخيصهم وراثيا مما يعطي دقة اكبر لنتائج التعامل معهم. لقد تم زراعتهم في مفاعلات حيوية بسيطة من اجل الحصول على كميات مناسبة لاجراء التجارب اللاحقة على الهرمون الفرز خارجيا ومقارنة سلوك العزلتين لانتاج الهرمون بعد استخدام هذه المفاعلات الزرعية البسيطة. حيث سجل جنس *Gloeocapsa* تفوق في مستويات الهرمون المفرز خارجيا وتقريبا لكل عزلاته وخلال فترتي النمو (7 و 14 يوم)، اذ كان تركيز الهرمون الاعلى للعزلة *G.* 4 12.682 ml/µg خلال الاسبوع الاول فضلا عن اعلى قيمة للهرمون لعزلتيه *G.*3 و *G.* 4 خلال الاسبوع الثاني اذ سجلوا 10.899 و 10.096ml/µg على التوالي. اما جنس *Chlorella* فقد سجلت العزلة *C.*1 اعلى انتاج في الاسبوع الاول وكان 8.313 ml/µg مقارنة بجنس *Scendesmus* (7.511 ml/µg) وكذلك تفوقت بحوالي الضعف على الجنس الاخير خلال الاسبوع الثاني حيث كان الهرمون 8.224 ml/µg في حين سجل الاخير 4.033 ml/µg.عند دراسة انتاج مركب معين من قبل كائن ما، فانه من الضروري تحديد الظروف المثلى لانتاج هذا المركب وذلك بحسب ما يتاثر به نمو هذا الكائن داخل الوسط وكذلك مايؤثر على الحالة الفسلجية له وتداخل هذه الظروف مع اضافة وتركيز المواد الاولية لانتاج المركب. ان اهم الظروف التي تؤثر على نمو السيانوبكتريا والطحالب هي قيمة الاس اللهيدروجيني (pH) وعامل الاضاءة، فضلا عن ان اضافة التربتوفان وتحديد التركيز المناسب منه وكذلك اختبار اضافة مواد مختلفة الى الوسط فهي مرتبطة بتاثيرها على مسار انتاج الهرمون من قبل الكائن اضافة الى تاثر انتاج الهرمون بعامل الرج والاهتزاز للمزرعة المنماة متداخلا مع بقية العوامل والظروف الاخرى.وضحت نتائج قياس فعالية هرمون IAA المفرز خارجيا في اوساط مزارع طحلب *Gloeocapsa* المختلفة في قيم الاس الهيدروجيني لها (5، 6، 7، 8، 9) في الجدول (4) والشكل (3):

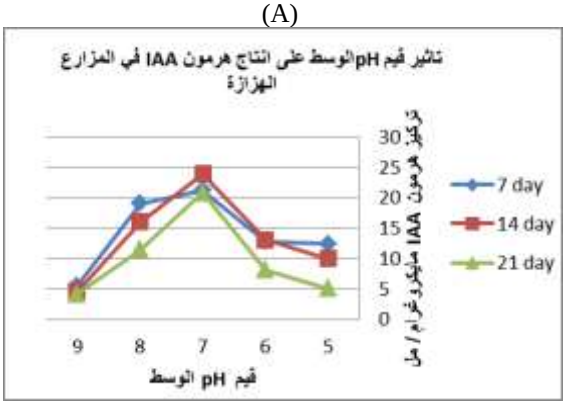
الجدول (4): تاثير قيم الاس الهيدروجيني (pH) للوسط على تركيز IAA (ml/µg)

العمر (يوم) / pH	7	14	21	7	14	21
	المزارع الثابتة (بدون هزاز)			المزارع الهزازة		
5	4.657	9.338	11.835	12.415	10.007	5.103
6	4.836	14.064	8.135	12.86	13.128	8.135
7	9.383	24.719	20.707	21.242	23.917	20.796
8	12.86	23.917	18.478	19.102	16.07	11.523
9	8.67	19.993	15.669	5.549	4.568	4.211

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)



(A)



(B)

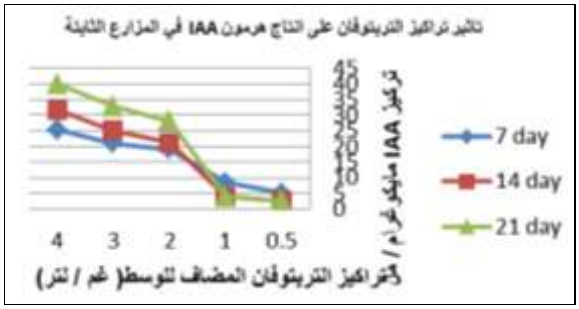
الشكل (3): تاثير قيمة pH الوسط على IAA

يتبين من النتائج في حالة المزارع الثابتة (غير الهزازة) بان اكبر فعالية للهرمون ظهرت عندما تكون قيمة pH للوسط =7 وخلال عمر 14 يوم وارتفعت كمية الهرمون مع زيادة فترة التحضين من عمر اسبوع الى اسبوعين لجميع عينات التجربة ثم عانت انخفاض عند الاسبوع الثالث وسجلت الاوساط (5 و6) اقل فعالية للهرمون في حين تقاربت نتائج الوسط ذو pH =8 مع الوسط 7 مما يدل على ان نمو وانتاج الطحلب يكون افضل ويميل للاوساط المتعادلة والقاعدية اكثر من الاوساط الحامضية ، حيث سجلت في المزارع الثابتة اعلى قيمة للهرمون في الوسط 7 (24.719 ml/µg) خلال 14 يوم من التحضين يليه (23.917 ml/µg) للوسط 8 وان اعلى قيم لفعالية الهرمون لوحظت لجميع الاعمار كانت محصورة في الاوساط ذات pH 7 و 8 يليها الوسط 9. اما بالنسبة للمزارع الهزازة فقد لوحظ كذلك تسجيل اعلى فعالية في الوسط 7 وخلال الاسبوع الثاني من التحضين (23.917 ml/µg) وبنفس الفترة سجل الوسط 8 فعالية (16.07 ml/µg) وبما يشابه المزارع الثابتة فان اعلى قيم فعالية محصورة بين الوسطين 7 و 8 لكن هنا يليها الوسط ذات pH 6 بدلا من الوسط 9 في المزارع الثابتة. كما يمكن ملاحظة ارتفاع الهرمون في الاسبوع الاول لجميع الاوساط تقريبا عدا الوسط 9 في المزارع الهزازة عن تلك الثابتة، قد يعزى ذلك الى زيادة التهوية وفرصة توزيع وانتشار مواد الوسط وبالتالي زيادة الفعاليات الايضية والنمو وزيادة نشاط الكائن وافراز المركبات ومنها الهرمون بشكل اكبر في الوسط وان الطحلب استمر بالانتاج عند الاسبوع الثاني وبعدها في جميع المزارع بدا الهرمون بالانخفاض خلال الاسبوع الثالث (الجدول4) (الشكل3)، ومن الدراسات التي تتفق وتتطابق مع الدراسة الحالية، هي دراسة (9) اذ اشار الى ان السيانوبكتريا *Spirulina* نميت في وسط 9 pH واعطت IAA لكن افضل انتاج كان عند pH 6 وان اقل انتاج كان عند pH 5 وانه قد يعزى هذا الانخفاض الى صعوبة نمو السلالة في pH منخفض وان pH الوسط يؤثر على انتاج الهرمون. ايضا دراسة (37) التي انتج فيها IAA من rhizobacteria اظهرت تطابق مع نتيجة الدراسة الحالية عند تجربة قيم pH بين 5–9 وظهر اكبر انتاج في الوسط 8 (3سلالات) و pH 7 و 9 (سلالة واحدة) وان الـ pH الحامضي تحت 6 وجد انه غير مفضل لانتاج الهرمون، وكذلك دراسة 38) (مع سلالات *Klebsiella pneumoniae* وكان وسط 8 الافضل لـ 5 سلالات ووسط 7 الافضل لسلالة واحدة وانخفض الانتاج عند pH 6 و 9 . وعند دراسة انتاج IAA مع الفطر *Fusarium oxysporum* كان pH الامثل 7–8.5 وينخفض الانتاج بارتفاع وانخفاض الـ pH عن هذا المدى (39). بعد ملاحظة ارتفاع تركيز الهرمون المنتج في الوسط من قبل الطحلب *Gloeocapsa* وبقية عزلات الطحالب الاخرى وذلك عند تدعيم الوسط الغذائي بمادة التربتوفان (L-Tryptophan) والذي يعد المادة الاولية لانتاج الهرمون (الجدول 3)، اضافة الى ذلك تم مع السيانوبكتريا قيد الدراسة تجربة اضافة كميات متباينة من التربتوفان الى الوسط (0.5،1،2،3،4 غم / لتر) وملاحظة اثر تغير التركيز وكذلك عامل التحريك (الاهتزاز) على انتاج الهرمون وتركيزه في الوسط الغذائي حيث يلاحظ من نتائج الجدول (5)، بانه خلال الاسبوع الاول حدث زيادة الهرمون بشكل كبير مع زيادة تركيز التربتوفان المضاف وفي كلا المزارع الثابتة والهزازة مع تسجيل اعلى قيمة للهرمون (25.433 و 46.119 ml/µg) لكل من المزارع الثابتة والهزازة على التوالي عند تركيز 4 غم / لتر من التربتوفان (الجدول 5) و(الشكل 4)، وفي الاسبوع الثاني كذلك لوحظ زيادة فعالية الهرمون مع زيادة تركيز التربتوفان وفي كلا المزارع لكن لوحظ عند مقارنة نتائج المزارع الهزازة لهذا العمر مع (14 يوم) مع الاسبوع الاول (7 يوم) انه يوجد انخفاض ملحوظ في الفعالية ولجميع المعاملات بينما في المزارع الثابتة في التراكيز العالية للتربتوفان (2،3،4 غم/ لتر) حصل زيادة في الهرمون خلال الاسبوع الثاني واستمرت الزيادة في الفعالية لها حتى خلال الاسبوع الثالث (21 يوم) على العكس من المزارع الهزازة التي استمر فيها انخفاض الهرمون بزيادة فترة التحضين ولجميع المعاملات. قد يعزى السبب في ذلك الى ان عملية تحريك المزرعة يؤدي الى زيادة تهوية المزرعة ونشاط الكائن وتسريع عملية الايض واخذ المواد من الوسط الغذائي وانتاج الهرمون من اجل النمو مما يرفع من تركيز الهرمون خلال الاسبوع الاول وصولا الى الاسبوع الثاني الذي يبدا خلاله الكائن باستغلال الهرمون للنمو فيبدا الهرمون تدريجيا بالانخفاض وما يرافقه من انخفاض في تركيز المادة الاولية له

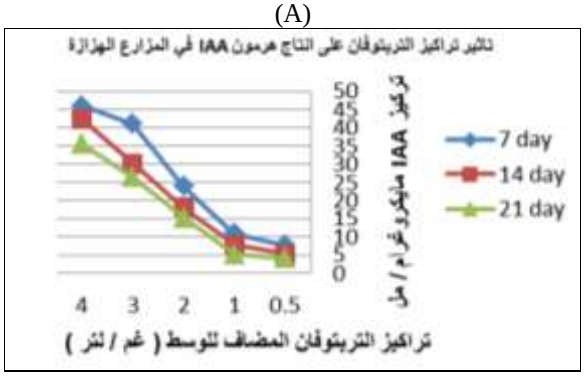
(التربتوفان) والذي استغل من قبل الكائن خلال الاسبوعين الاوليين لذلك نلاحظ اخفاض الهرمون خلال الاسبوع الثالث، اما في حالة المزارع الثابتة فيكون النمو بشكل ابطا مما في المزارع الهزازة وذلك لغياب عامل التحريك ومن ثم فان استغلال كميات التربتوفان المجهز في الوسط يكون ببطء اكبر مما في المزارع الهزازة وبالتالي حدوث انتاج وافراز للهرمون يزداد بزيادة فترة الحضانة والنمو .فقد برهنت نتائج دراسات متعددة منها (9) بان التربتوفان في الوسط يؤخذ باكثر او اقل من معدل ثابت من الوسط ويحول الى IAA واشير بهذه الدراسة الى انه من المعروف جيدا ان الاجناس البكتيرية المختلفة يزداد انتاجها لـ IAA بوجود التربتوفان بطريقة مرتبطة بالتركيز حيث بدراسته مع *Spirulina* ارتفع IAA مع ارتفاع كمية التربتوفان بالوسط، وفي دراسة(40) على انتاج الهرمون من *Pseudomonas aeroginosa* ايضا اشار الى الى انتاج الهرمون المرتبط بتركيز التربتوفان والذي يزداد برفع تركيز التربتوفان من 0.1 الى 0.5 غم / لتر وينخفض قليلا بعد التركيز الاخير .كما ان زيادة التربتوفان الى تركيز 4 غم/ لتر رفعت انتاج IAA لجميع سلالات البكتريا المرضية المنتجة له، وانخفض بشدة انتاج IAA عندما وصل تركيز التربتوفان الى 5 غم / لتر (41)، وهنا بهذه الدراسة الحالية تم تجربة اضافة التربتوفان من 0.5 –4 غم/ لتر فقط ولوحظ تطابق النتيجة مع الدراسة المشار لها. فضلا عن ان (27) قد استخدم تركيز 4 غم / لتر تربتوفان مع وسط السيانوبكتريا لانتاج الهرمون خلال 14 يوم من الحضانة . في حين ذكر (31) ان بزيادة الربتوفان الى 5 غم / لتر استمر ارتفاع انتاج الهرمون من قبل *Azotobacter*، وسجلت دراسة (39) بان التركيز الامثل للتربتوفان كان 3 ملي مولار بدا بعدها انتاج الهرمون المنتج من الفطر بالانخفاض.

الجدول (5):تاثير تركيز التربتوفان المضاف على انتاج هرمون IAA

العمر (يوم) / تركيز T	المزارع الثابتة (بدون هزاز)			المزارع الهزازة		
	7	14	21	7	14	21
0.5	5.103	2.696	2.606	7.689	5.281	4.122
1	8.491	4.033	4.033	11.033	7.956	5.371
2	19.102	21.153	28.108	23.872	18.121	15.268
3	21.064	25.076	32.923	40.992	30.159	26.414
4	25.433	31.674	39.878	46.119	42.374	35.508



(A)



(B)

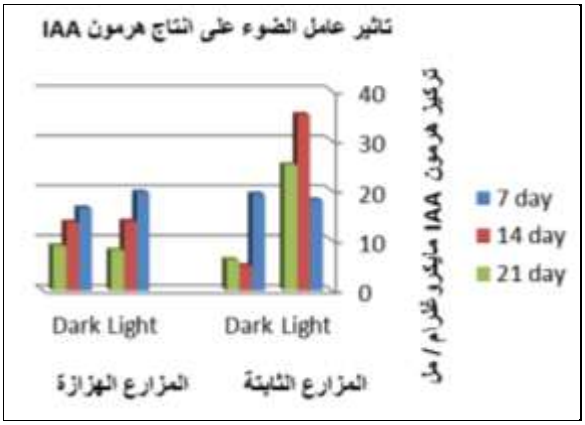
الشكل (4):تاثير تراكيز التربتوفان المضاف للوسط على انتاج هرمون IAA في المزارع الثابتة والهزازة

يتضح من نتائج الجدول (6) والشكل (5) كل مما ياتي:1–ان عامل الضوء مؤثر فعال في نمو وحيوية مزارع السيانوبكتريا حيث يظهر تباين كبير جدا بين فعالية الهرمون IAA في الضوء المستمر عنه في الظلام، اذ سجلت في معاملة الضوء المستمراعلى فعالية خلال (14 يوما) من التحضين في وكانت 35.241 ml/µg في المزارع الثابتة وكذلك 19.637 ml/µg للمزارع الهزازة لكن خلال (7 ايام) من التحضين، اما ما يقابلها في معاملة الظلام فقد كانت النتائج تشير الى ان اعلى قيمة سجلت للهرمون كانت 19.28 ml/µg عند فترة 7 ايام في المزارع الثابتة، اما في المزارع الهزازة فكانت اعلى قيمة للهرمون 16.516 ml/µg وعند نفس فترة التحضين. 2–في معاملة الضوء المستمر تفوقت فعالية الهرمون في المزارع الثابتة عن فعاليتة في المزارع الهزازة خلال الاسبوعين الثاني والثالث فيما عدا الاسبوع الاول (7 يوم)، حيث كانت في المزارع اعلى فعالية خلال الايام الاولى وتناقصت بزيادة فترة التحضين (في المزارع الهزازة)، في حين ان المزارع الثابتة ارتفع فيها الهرمون عند 14 يوم وعاد بعدها للانخفاض في الاسبوع الثالث (21 يوم). 3–اما في معاملة الظلام ، فمن الواضح ان تسجيل اعلى فعالية للهرمون كان خلال الاسبوع الاول لكل من المزارع الثابتة والهزازة ومن ثم انخفاضه بزيادة فترة التحضين.4– وعند استخدام نظام التعاقب الضوئي (16 ساعة ضوء: 8 ساعات ظلام)، يلاحظ في حالة المزارع الثابتة الحصول على اعلى فعالية للهرمون تفوقت على جميع المعاملات الاخرى (معاملتي الضوء والظلام المستمر) اذ بلغت 37.113 ml/µg في مدة 14 يوم ، وكذلك ارتفاع الهرمون بزيادة فترة التحضين الى الاسبوع الثاني وانخفاضه عند الاسبوع الاخير ،فضلا عن تفوق قيم الهرمون لجميع الفترات الاخرى عند مقارنتها بما يقابلها من المعاملات (معاملتي

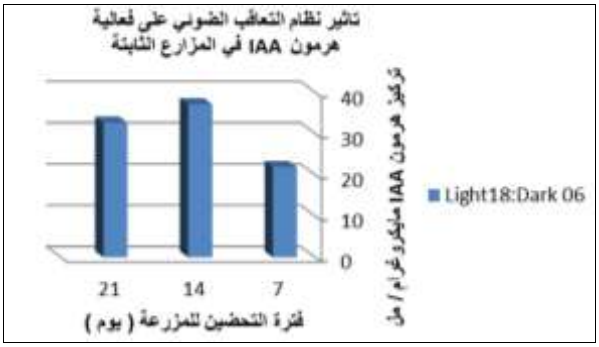
الضوء والظلام المستمر)،ومن خلال ماسبق ذكره يمكن التوصل الى ان افضل معاملة سجلت اعلى فعالية للهرمون هي عند استخدام نظام التعاقب الضوئي خلال تنمية المزارع الثابتة وهذا يتفق مع دراسة (9،15) حيث درسوا انتاج IAA من السيانوبكتريا وتطابقت النتائج بان عامل الضوء مهم ومؤثر على الانتاج وان افضل انتاج له حدث خلال معاملة التعاقب الضوئي واشاروا الى ان السبب قد يعزى الى ان الهرمون حساس للضوء الا انه السيانوبكتريا كائن ذاتي التغذية وتنمى مثاليا عند فترة التعاقب 16 ضوء – 8 ظلام فضلا عن ان سلالة من السيانوبكتريا اظهرت استجابة افضل للانتاج في معاملة الضوء المستمر اما الظلام المستمر فلم يظهر الا انتاج قليل للهرمون (15)، وفي دراسة (35) مع تكوين IAA من السيانوبكتريا فان عامل الضوء كان الافضل ولجميع الاجناس للانتاج الهرمون من معاملة الضوء، اما المزارع الهزازة فلم يتم تحديد الفعالية فيها تحت ظروف التعاقب الضوئي خلال هذه التجربة، لتفوق فعالية الهرمون في المزارع الثابتة نسبيا عن الهزازة في معاملتي الضوء والظلام المستمرين.

الجدول (6): تاثير عامل الضوء على انتاج IAA في المزارع المختلفة

نوع التنمية	المزارع الثابتة الفعالية (ml/µg)			المزارع الهزازة الفعالية (ml/µg)		
التحضين / المعاملة	7	14	21	7	14	21
الضوء المستمر	18.121	35.241	25.165	19.637	13.841	8.046
ضوء:ظلام 8 : 16	21.866	37.113	32.655	----	----	----
الظلام المستمر	19.28	4.925	6.173	16.516	13.663	8.937



A: فعالية الهرمون في المزارع الثابتة والهزازة



B: فعالية الهرمون في المزارع الثابتة

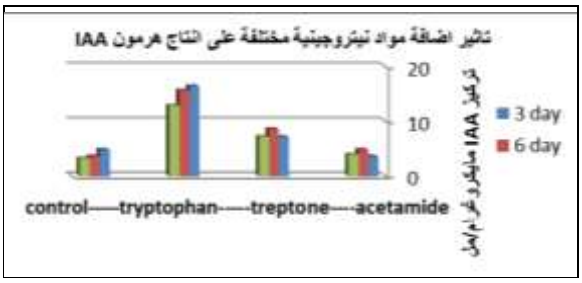
الشكل (5): تاثير عامل الضوء على فعالية IAA

اختبر تاثير اضافة مواد نتروجينية مختلفة الى الوسط الغذائي من اجل معرفة تاثيرها على انتاج هرمون IAA من قبل السيانوبكتريا ، وذلك باضافة (1 غم) من كل مادة نتروجينية – كلاً على حدى – الى مكونات الوسط الغذائي المستخدم Chu 10. يتضح من النتائج في الجدول (7) والشكل (6)، ان الهرمون يبدا بالارتفاع خلال مدة التحضين الى 6 يوم ثم ينخفض عند قياسه في اليوم العاشر ولكل المعاملات ، كما لوحظ عند مقارنة النتائج بين المواد المضافة بان اعلى فعالية للهرمون سجلت خلال جميع الفترات كانت باستخدام مادة التربتوفان Tryptophan في الوسط الغذائي يليها مادة التربتون Treptone وبفارق كبير نسبيا واخيرا مادة الاسيتامايد Acetamide التي سجل فيها الهرمون تركيز قليل جدا يشابه معاملة المقارنة (الوسط الغذائي بدون مواد اضافية)،وهي نتيجة متوقعة وذلك لان انتاج اندول حامض الخليك يرتفع بوجود المادة الاولية له وهي الحامض الاميني التربتوفان الذي يتحول الى الاندول بفعل انزيم tryptophanase يليه التربتون لانه عبارة عن مجموعة من الاحماض الامينية والتي منها التربتوفان فهو جزئيا متوفر في التربتون وربما للحصول على فعالية هرمون اكبر يجب اضافة كميات اكبر منه للوصول الى الفعالية التي اظهرتها اضافة التربتوفان لان الطحلب اظهر قابلية واضحة على انتاج الهرمون بوجوده.

الجدول (7): تاثير اضافة مصادر نايتروجينية مختلفة الى الوسط الغذائي على فعالية IAA

المادة المضافة	تركيز الهرمون IAA (ml/µg)* فترة الحضانة (يوم)		
	3	6	10
Tryptophan	*16.427	15.625	12.86
Treptone	7.154	8.581	7.243
Acetamide	3.587	4.836	3.944
Control	4.836	3.587	3.231

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)



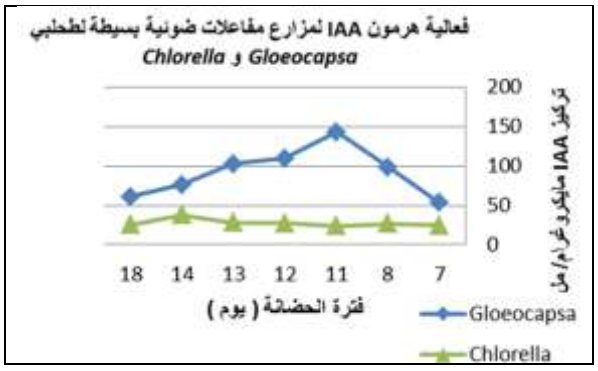
الشكل (6): تاثير اضافة مواد نيتروجينية على انتاج IAA

ان الدراسات المتعلقة بدراسة الهرمون IAA سواء لانتاجه من الطحالب او غيرها من الكائنات المجهرية تعتمد بصورة كلية على تحديد مسار انتاج الهرمون المعتمد من قبل الكائن والتي اغلبها اما مرتبط بالتربتوفان او غير مرتبط به اذ ان التربتوفان هو المادة البادئة لشائعة للهرمون، والتي من خلال ايضها بوساطة النبات والعديد من كائنات التربة مثل البكتريا والفطريات والطحالب يتم انتاج الهرمون مما اشير اليه في دراسة والمسارات المتعددة له (42)، لذلك لم يتم الحصول على مصادر استخدمت مادة اخرى تؤثر على انتاج IAA خاصة من الطحالب، مع وجود بعض البحوث الخاصة بالفطريات والبكتريا المرضية التي اضافت مستخلص الخميرة، خلاصة اللحم،البيتون،التربتون وفول الصويا كمصدر نتروجيني بالوسط يرفع انتاج الهرمون، وكان الافضل البيتون يليه مستخلص الخميرة واللحم ثم التربتون وفول الصويا عند انتاج الهرمون من قبل بكتريا *Pseudomonas* (43).عند زراعة نماذج من افضل الطحالب انتاجية للهرمون IAA (طحلب *Gloeocapsa* نموذج للسيانوبكتريا وطحلب *Chlorella* نموذج من الطحالب الخضراء)، في مفاعلات ضوئية بسيطة ومتابعة انتاج الهرمون فيها وذلك بقياس الهرمون المفرز الى الوسط خلال فترات مختلفة (18،14،13،12،11،8،7 يوم) كما هو موضح في الجدول (8)، يمكن ملاحظة انه يوجد فرق كبير في انتاج هرمون IAA بين الطحلبين المذكورين في اعلاه ، حيث تفوقت السيانوبكتريا وبشكل واضح وكبير وخلال كل فترات القياس، اذ سجلت (143.131ml/µg) خلال فترة 11 يوم من التحضين وهي اعلى فعالية مسجلة خلال الدراسة، في حين سجل الطحلب الاخضر الكلوريلا فعالية (38.005ml/µg)خلال 14 يوم من التحضين. كما لوحظ ايضا تباين سلوك الهرمون حيث انه في السيانوبكتريا ارتفع انتاج الهرمون خلال الايام الاولى الى ان وصل الى اعلى مستوى له عند 11 يوم وبعدها بدا بالانخفاض خلال الايام اللاحقة ، في حين في الطحلب الاخضر يلاحظ استمرار ارتفاع الهرمون الى فترة 14 يوم وبدا بعدا بالانخفاض، قد يعزى ذلك الى الخواص الفسيولوجية لكل نوع من اقسام الطحالب حيث ان السيانوبكتريا قد تكون اسرع نمواً بسبب خواصها وتميزها عن باقي اقسام الطحالب الاخرى مما يحفز انتاج الهرمون بوقت اسرع واكبر من الطحالب الخضراء وسرعة افرازه بالوسط واستغلال المكونات الاولية بالوسط عند مقارنتها بالطحالب الخضراء.

الجدول (8): انتاج هرمون IAA في المفاعلات الضوئية البسيطة

الزمن(يوم) / الطحلب	7	8	11	12	13	14	18
Gloeocapsa	*53.074	98.192	143.131	109.694	102.561	76.168	61.099
Chlorella	24.898	26.503	24.184	27.127	28.197	38.005	25.254

* تركيز هرمون IAA بـ ml/µg.



الشكل (7): انتاج IAA في المفاعلات الضوئية البسيطة

المصادر

1- Belcher, E. and Swale, E. (1976).A beginner's guide to freshwater algae (First.,p48). Crown.
2- Serediak, N. and Huynh, M. (2011). Algae Identification. Her Majesty the Queen in Right of Canada. Agriculture and Agri-Food Canada. Field Guide.(pp.1-40).
3- Frost, P.; Schindler,D.; Porter-Goff,E. and Middleton,C. (2012). The algae of the Kawartha

Lakes: Their place in the ecosystem , when they become a hazard and what controls their growth.A publication of the Kawartha Lake Stewards Association. (p.37).

4- Miazek, K.; Iwanek, W.; Remacle, C.; Richel, A. and Goffin, D.**(2015).** Effect of metals , metalloids and metallic nanoparticles on microalgae growth and industrial product biosynthesis: A Review. Int. J. Mol. Sci., 16: 23929-23969. Doi: 10.3390/ijms 161023929. www.mdpi.com/journals/ijms

5- Harmsen, P. (2011). Microalgae: the green gold of the future ?.Large- scale sustainable cultivation of microalgae for the production of bulk commodities. Print:propress, Wageningen. UR. ISBN 978-94-6173-062-6.www. algae. wur. nl

6- الخفاجي، زهرة محمود(2008). التقنية الحيوية الميكروبية (توجهات جزيئية). معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا. جامعة بغداد. جمهورية العراق. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

7- Virag, E.; Molnar, Z. and Ördög, V.**(2011).** Application of algal biomass for enhanced acclimatization of orchids. Acta Biolog. Szege.,55 (1):179-181.

8- Shariatmadari ,Z.; Riahi, H. and Shokravi, S.(2011). Study of soil blue-green algae and their effect on seed germination and plant growth of vegetable crops. Rostaniha, 12(2):101-110.

9- Ahmed, M.; Stal, L. J. S. and Hasnain, S. (2010).Production of Indole-3-Acetic Acid by the Cyanobacterium*Arthrospiraplatensis* strain MMG-9. J. Microbiol. Biotechnol.,20 (9):1259-1265.

10- Tarakhovskaya, E.R.; Maslov, Y.I. and Shishova, M.F.(2007).Phytohormones in Algae. Russian J. of Plant Physiology, 54(2):163-170. Published in FiziologyRastenii , 2007 , 54 (2) : 186 - 194.

11-Lambercht, M.; Okon, Y.; Broek, A. V. and Vanderleyden .(2000). IAA: a reciprocal signalling molecule in Bacteria - Plant Interaction. Tren Microbiol., 8:7.

12- Varalakshmi, P. and Malliga, P. (2012). Evidence for production of Indole-3-acetic acid from a fresh water cyanobacteria (*Oscillatoniaannae*) on the growth of *Heliminthus. annus*. International Journal of Scientific and Research Publications, 2(3), March.ISSN2250-3153.(www.ijsrp.org).

13- Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil,. 255:571-586.

14- دفلن، روبرت م. و ويذام، فرانسيس هـ. (1991). فسلجة النبات. ترجمة الكتور تحرير رمضان عبدالمجيد والدكتورة فهمية عبداللطيف صالح والدكتورة هناء فاضل خميس. الجزء الثاني. مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. بغداد. العراق.

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

16- صالح، محمود محمد سليم.(2015). تقنية النانو وعصر علمي جديد. مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية KACST. المملكة العربية السعودية. (www. j4know. com).

17- Weidman, V. E.; Walne, P. R. and Tainor, F. R. (1984).A new technique for obtaining axinic culture of algae. Can. J. Bot., 42:985-995.

18- Falch, B. F.; Konig, G. M.; Wright, A. D.; Argehofer, C. K.; Pezzuto, J. M. and Bachman, H. (1995). Bioligicalactivites of cyanobacteria: evaluation extracts and pure compound. Planta Med., 61:321-328.

19- Stein, J. R. (1975). Handbook of Phycological Methods. Cambridge Univ. Press., Cambridge, UK. pp445.

20- Desikachary, T. V. (1959). Cyanophyta. Indian Council Agricultural Research. . New Delhi. India.

21- Prescott G. W. (1975).Algae of the westeren great lake area.6 th ed. Willam C. Brown Co. Publisher Dubugue. Towa.

22- Wehr, J. D. and Sheath, R. G. (2003).Freshwater Algae of North America.Ecology and Classification. ACADEMICPRESS. Elsvier Science (USA).

23- Lu, W.; Evans, E. H.; McColl, S. M. and Saunders, V.A.(1997). Identification of cyanobacteria by polymorphisms of PCR-amplified ribosomal DNA spacer region.FEMS Microbiology Letters.,153:141-149.

24- Babu, S. V.; Ashokkumar, B.; Sivakumar, N.; Sudhakarsamy, P. and Varalakshmi, P. (2013).Indole-3-acetic acid from filamentous cyanobacteria: screening, strain identification and production. Journal of scientific and Industrial Research.,72; 581-584.

25- Abd-Alla, M. H.; EL-Sayed, E. A. and Rasmey A. M. (2013). Indole-3-acetic acid (IAA) production by *Streptomycesatrovirens* isolated from rhizospheric soil in Egypt. J. Biol. and Earth Sci., 3 (2):182-193.

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

27- Sahasrabudhe, M. M. (2011). Screening of rhizobia for indole acetic acid production. Annals of Biological Research, 2(4):460-468. www. scholarsresearchlibrary. com

28- Patil, V. (2011).Production of indole acetic acid by *Azobacter* sp. .Resent Research in Science and Technology, 3 (12):14-16. www. scholarjournals. org.

29- جاسم، ايمن عوني سليم. (2010). تشخيص بعض النواتج الحيوية لانواع من السيانوبكتريا المعزولة من مياه وترب مدينة تكريت ودراسة فعاليتها على بعض انواع البكتريا المرضية والحيوانات المختبرية. اطروحة دكتوراه. كلية التربية. جامعة تكريت. العراق.

30- Czerpak, R. and Bajguz, A. (1997).Stimulatory effect of auxins and cytokinins on carotenes, with differential effects on xanthophylls in the green alga *Chlorellapyrenoidosa* Chick. Acta Soc Bot Pol, 66:41-46.

36- الجميلي، عصام فاضل و السامرائي، نجوى شهاب احمد (2009). دراسة العوامل المؤثرة في انتاج منظم النمو حامض الانـــدول خليك من العزلة المحلية F2 *Fusariumoxysporum*. مركز بحوث التقنيات الحياتية. المجلد 3،العدد(1): 15-22.

37- Sasirekha, B.; Shivakumar, S. and Sullia, S. B. (2012).Statistical optimization for improved indole-3-acetic acid (iaa) production by *Pseudomonasaeruginosa* and demonstration of enhanced plant growth promotion. J. of Soil Science and Plant Nutrition, 12 (4):863-873.

38- Kerkar, S.; Raiker, L.; Tiwari, A.; Mayilraj, S. and Dastagei, S. (2012).Biofilm associated indole acetic acid producing bacteria and their impact in the proliferation of biofilm mats in solar saltens. Biologia, 67 (3):454-460.

39- Khakipour, N.; Khavazi, K.; Mojallali, H.; Pazira E. and Asadirahmani, H. (2008).Production of Auxin Hormones by Fluorescent Pseudomonas.American-Eurasian J. Agric and Environ. Sci., 4 (6):687-692.

40- Jeyanthi, V. and Ganesh, P. (2013).Production, optimization and characterization of phytohormoneindole acetic acid by *Pseudomonas fluorescence*.International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives, 4 (2):514-520. www. ijpba. mfo.

31- Shahab, S.; Ahmed, N. and Khan, N. S. (2009).Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSBs. African J. of Agricultural Research,4(11):1312-1316. http://www. academicjournals. org/AJAR.

32- Karthikeyan, N.; Prasanna, R.; Sood, A.; Jaiswal, P.; Nayak, S. and Kaushik, B. D. (2009). Physiological characterization and electron microscopic investigation of cyanobacteria associated with wheat rhizosphere. Folia Microbiol.,54 (1):43-51. http://www. biomed. cas. cz/mbu/folia/.

33- Spaepen, S.; Vanderleyden, J. and Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism - plantsignaling. FEMS Microbiol. Rev., 31:425-448.

34- Mohite, B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth.J. of Soil Science and Plant Nutrition, 13 (3):638-649.

35- Sachdev, D. P.; Chaudhari, H. G.; Kasture, V. M.; Dhavale, D. D. and Chopade, B. A. (2009).Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) Producing Klebsiella pneumonia strains from rhizosphere of wheat (Triticumaestivum) and their effect on plant growth. Indian J. of Expermental Biology, 47:993-1000.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)
مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 2017 (10) 22

Estimation of indole acetic acid in some local algae and study the optimal conditions for its production of cyanobacteria *Gloeocapsa* sp. PCC7428

Al-Katib M. A. , Al-Shaheree Y. J. , Al-Niemi A. N.
Department of Biology , College of Education for pure science , Mosul University , Mosul , Iraq.

Abstract

A In this study, isolates and diagnoses of some local microbial isolates were diagnosed by phenotypic and hereditary diagnosis. Indole Acetic Acid (IAA) was also evaluated in these isolates and in the presence and absence of amino acid tryptophan. The IAA is externally isolated into the middle and internal hormone And identified the best isolates for the production of the hormone and concluded that the IAA secreted from the outside can be adopted as a source of production better than the internal hormone for ease of separation and the possibility of utilization of the organism and other times of production and low production cost to dispense with the destruction of cells to remove the internal content of the Hormone as well as the superior efficacy of the hormone externally excreted on the internal hormone. The cyanobacteria showed *Gloeocapsa* sp. PCC7428 The best efficacy for the production of the hormone 12.682 ml / µg in a medium equipped with 0.5 L / gm tryptophan was for the sex of *Chlorella* sp. IFRPD 1018 8.313 ml/µg This result was confirmed when comparing the effectiveness of the hormone of these two species when they were developed in simple light reactors where there was a large and clear variation in the production of externally isolated IAA. Cyanobacteria recorded an efficiency of 109.694 ml / µg on day 12 of development, The highest level of activity in the day 14 was 38.005 ml / µg, which confirms that cyanobacteria are better and faster to produce the hormone. It is also observed that the production of the hormone by the cyanobacteria is clearly affected by changes in surrounding conditions, especially pH and concentration of tryptophan Added to the food medium and lighting agent and add The highest effect of the hormone was observed in the medium with pH = 7 followed by 8 and the highest efficacy at 14 days for both fixed farms 24.719 ml / µg and shaking 23.917 ml / µg with affinity Effectiveness of both species, although the advantage of faltering farms at pH 7 on day 7 was evident on fixed farms. The concentration of tryptophan was found to be proportional to the effectiveness of the hormone and to all the treatments during all periods of measurement and the superiority of the shaking farms 46.119 ml / µg on the constant 25.433 ml / µg within 7 days at the concentration of 4 L / gm and 14 days of development. For the light factor, continuous light treatment showed the highest hormone production on the vibratory farms in the first week only 19.637 ml / µg. The hormone activity decreased with the recording of the fixed plant more effective in light during the second and third weeks (35.241 and 25.165 ml / µg) respectively, In contrast to the continuous dark treatment in which the fixed farms exceeded the first week only 19.28 ml / µg and the hormone decreased during the other weeks with the superiority of the faltering farms in the second and third weeks, The measurement was recorded at 37.113 ml / µg at 14 days. When using different sources of nitrogen in the middle proved the susceptibility of cyanobacteria to exploit the substance Treptone partially containing tryptophan, which is the raw material for the production of the hormone IAA, making it better compared to the rest of the additives to the center so can be considered a successful tryptophan alternative to tryptophan .