تولید و عدم تولید آنزیم ACC- دآمیناز در تعدادی از سودوموناس‌های فلورسنت

هادی اسدی رحمانی، پیمان عباس‌زاده دهجی، ناهید صالح راستین، کاظم خاوازی، علی اشرف سلطانی طولارود و کبری ثقفی

به ترتیب استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، دانشیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران وکارشناس آمار موسسه تحقیقات خاک و آب.

abp_1114 @yahoo.com

مقدمه

به اعتقاد Penrose و [۲۰۰۳] افزایش اکسین درگیاه در اثر تولیـد این هورمون توسط باکتری های ریزوسفری می تواند باعث افزایش تقسیمات سلول‌های ریشه و طویل شدن ریشه شود که می‌تواند سبب بهبود قدرت جذبی گیاه شود. افزایش اکسین گیاه همواره مفید نبوده و تولید بیش از حد آن تولید ACC[1] را افزایش می‌دهد که افزایش ACC و تبدیل آن توسط آنزیم ACC- اکسیداز به اتیلن در درون گیاه باعث افزایش میزان اتیلن و کاهش طول ریشه می‌شود. برای تعدادی ازگیاهان مختلف اتیلن باعث افزایش جوانه‌زنی و شکستن دوره خواب بذر می‌شود، اما اگر میزان تولید اتیلن در مرحله جوانه‌زنی زیاد باشد افزایش طول ریشه متوقف می‌شود [Glick، ۱۹۹۵]. تعداد زیادی از انواع PGPR دارای آنزیمی به نام ACC- دآمیناز هستند که بوسیله جدا کردن گروه آمین ACC (پیش ماده سنتز اتیلن در گیاه) و تبدیل آن به آمونیوم و آلفاکتوبوتیریک اسید مانع از تولید بیش از حد اتیلن درگیاه می‌شوند [Penrose و Glick، ۲۰۰۳].

مواد و روشها

اندازه‌گیری آنزیم ACC - دآمیناز:

اندازه‌گیری آنزیم ACC د- آمیناز به روش Amico و همکاران [۲۰۰۵] با کمی تغییرات انجام گرفت. به منظور بررسی باکتری‌های مورد مطالعه در استفاده از ACC به عنوان منبع نیتروژن، باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری به ۲۰ میلی‌لیترازمحیط‌های حاوی۳ میلی‌مولار ACC، محیط DF حاوی ۲ گرم در لیتر سولفات آمونیوم و محیط DF فاقد ACC و سولفات آمونیوم تلقیح گردید. بعد از ۴۸ ساعت با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۴۰۵ نانومتر برای هر سه محیط قرائت شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی توان مصرف ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن نشان داد که تعدادی از سویه‌ها تونایی استفاده از ACC را داشتند. چهار سویه R1، P10، R150 و R159 توانستند به خوبی در محیط DF حاوی ACC رشد کنند و میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتردر محیط حاویACC به ترتیب ۱/۹۰، ۰/۹۴۳، ۱/۲۵۸ و ۱/۷۸۰ بود. هیچ کدام از سویه‌ها در محیط DF عاری از منبع نیتروژن رشد نکردند. تمامی سویه‌ها در محیط DF حاوی سولفات آمونیم رشد کردند(جدول ۱).

نتایج حاصل از بررسی رشد باکتری‌ها در محیط DF حاوی ACC به عنوان منبع نیتروژن نشان داد که تعدادی از سویه‌ها توانستند از ACC به عنوان تنها منبع ازت استفاده کرده و در محیط رشد کنند. در این آزمایش به منظور ارزیابی توان باکتری‌ها در استفاده از ACC، نسبت کدورت محیط حاوی ACC به کدورت محیط حاوی سولفات آمونیوم اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که سویه R۱ با نسبت ۰/۶۸ بهترین سویه در استفاده از ACC می‌باشد. چهار

[1] Aminocyclopropane-1-Carboxylic acid (ACC)

سویه P۱۰، R۱، R۱۵۹ و R۱۵۰ توانستند در محیط DF حاوی ACC رشد کنند. Amico و همکاران [۲۰۰۵] نشان دادند که سودوموناس فلورسنس سویه RS۹ توانست از ACC به عنوان تنها منبع نیتروژن استفاده کند. تحقیقات Pal و همکاران [۲۰۰۱] نشان داند که از دویست و سی سویه دارای آنزیم ACC- دِآمیناز ۹ سویه توانستند طول ریشه بادام‌زمینی را در حد معنی‌داری افزایش دهند. در بین این ۹ سویه ۶ سویه متعلق به گروه سودوموناس‌های فلورسنت بودند.

جدول ۱- نتایج حاصل از ارزیابی توان مصرف ACC به عنوان منبع نیتروژن

شماره سویه	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
جذب نور در محیط DF حاوی ACC	0/17	0/10	0/16	0/21	0/13	0/22	0/10	0/16	0/16	0/94
جذب نور در محیط DF حاوی سولفات آمونیم	2/78	2/72	2/78	2/59	2/69	2/78	2/46	2/67	2/70	2/74
نسبت جذب در دو محیط(ACC به سولفات آمونیم)	0/06	0/04	0/06	0/08	0/05	0/08	0/04	0/06	0/06	0/34
جذب نور در محیط DF بدون منبع نیتروژن	0/22	0/11	0/21	0/21	0/18	0/21	0/12	0/18	0/19	0/05
شماره سویه	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
جذب نور در محیط DF حاوی ACC	0/09	0/10	0/12	0/23	0/18	0/11	0/23	0/06	0/24	0/17
جذب نور در محیط DF حاوی سولفات آمونیم	2/73	2/78	2/76	2/57	2/73	2/77	2/64	2/52	2/77	2/81
نسبت جذب در دو محیط(ACC به سولفات آمونیم)	0/03	0/03	0/04	0/09	0/07	0/04	0/09	0/02	0/09	0/06
جذب نور در محیط DF بدون منبع نیتروژن	0/14	0/13	0/20	0/19	0/13	0/11	0/20	0/11	0/22	0/18
شماره سویه	P21	P22	P23	R1	R26	R30	R36	R41	R69	R93
جذب نور در محیط DF حاوی ACC	0/11	0/09	0/10	1/90	0/13	0/19	0/16	0/10	0/18	0/11
جذب نور در محیط DF حاوی سولفات آمونیم	2/77	2/81	2/24	2/80	2/68	2/77	2/75	2/90	2/68	2/72
نسبت جذب در دو محیط(ACC به سولفات آمونیم)	0/04	0/03	0/04	0/68	0/05	0/07	0/06	0/03	0/07	0/04
جذب نور در محیط DF بدون منبع نیتروژن	0/10	0/08	0/15	0/19	0/13	0/21	0/15	0/19	0/10	0/13
شماره سویه	R99	R112	R143	R150	R159	R168	R173	R187	GRP3	MPFM
جذب نور در محیط DF حاوی ACC	0/24	0/13	0/34	1/26	1/78	0/25	0/27	0/05	0/08	0/15
جذب نور در محیط DF حاوی سولفات آمونیم	2/87	2/51	2/80	2/88	2/89	2/53	2/72	2/01	2/82	2/77
نسبت جذب در دو محیط(ACC به سولفات آمونیم)	0/08	0/05	0/12	0/44	0/62	0/10	0/10	0/02	0/03	0/05
جذب نور در محیط DF بدون منبع نیتروژن	0/26	0/13	0/37	0/06	0/18	0/28	0/32	0/01	0/10	0/15

منابع

[1] Amico, E.D., Cavalca, L., and Andreoni, V. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial *Graminaceae* from polluted water meadow soil, and screening of metal-risistant, potentially plant growth-promoting bacteria. FEMS Microbiology Ecology. 52: 153-162

[2] Glick, B. R. 1995. The enhacement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109-117

[3] Pal, K.K., Dey, R., Bhatt, D.M., and Chauhan, S.M. 2001. National Research Center for Groundnut. Ivnagar Road, PB. No. 5, Junagadh-362001, Gujarat, India.

[4] Penrose ,D.M., Glick,B.R.2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiol.Plant. 18:10-15.