توانایی سودوموناس‌های فلورسنت از نظر تولید سیانید هیدروژن و استفاده از ACC به عنوان منبع نیتروژن

علی اشرف سلطانی طولارود، ناهید صالح‌راستین، کاظم خاوازی، هادی اسدی‌رحمانی، پیمان عباس‌زاده دهجی و ویدا همتی

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران، دانشیار دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران، استادیارهای پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران و کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب.

abp_1114 @yahoo.com

مقدمه

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) به گروه نامتجانسی از باکتری های ریزوسفری مفید اطلاق می‌شوند که قادرند در شرایط معین با استفاده از یک یا چند مکانیسم خاص رشد گیاه را افزایش دهند. این باکتری‌ها می‌توانند بطور مستقیم با مکانیسم هایی مانند سنتز هورمون‌های گیاهی، افزایش قابلیت فراهمی عناصر معدنی نامحلول مثل فسفروسنتز آنزیم‌هایی چون آنزیمACC -deaminase یا غیر مستقیم با سنتز آنتی‌بیوتیک، ترشح سیدروفور،HCN، ترشح آنزیم‌های برون سلولی مانند کیتینازموجب افزایش یا تحریک رشد گیاه شوند [Glick, 1995].

مواد و روشها

در این تحقیق تعداد ۲۵ جدایه سودوموناس‌های فلورسنت از ریزوسفر گندم جداسازی و از نظر صفات فوق مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آنزیم ACC -deaminase: ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون تازه باکتری به ۲۰ میلی‌لیتر از محیط‌های DF حاوی ۳ میلی‌مولار ACC، محیط DF حاوی ۲ گرم در لیتر سولفات آمونیوم و محیط DF فاقد ACC و سولفات آمونیوم (A.S.) تلقیح گردید. بعد از ۴۸ ساعت با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۴۰۵ نانومتر برای هر سه محیط قرائت شد [Amico *et al.*, 2005].

سیانید هیدروژن: ابتدا جدایه‌ها در پلیت‌های حاوی محیط TSA غنی شده با گلایسین (۴/۴ gr/L) کشت داده شدند. سپس کاغذ صافی‌های خیسانده شده در پیکرات سدیم در قسمت داخلی دربِ پلیت گذاشته شد. پلیت‌ها به مدت ۱۲۰ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. توانایی تولید سیانیدهیدروژن از روی تغییر رنگ کاغذ صافی ارزیابی گردید [Donate-correa *et al.* , 2004]. تغییر رنگ کاغذ صافی‌ها به ترتیب از کرم (تولید HCN کم)، قهوه‌ای روشن (تولید HCN متوسط)، قهوه‌ای تیره (تولید HCN زیاد)، تا آجری (تولید HCN خیلی زیاد) متغییر بود.که به ترتیب با درجه‌بندی ۱ تا ۴ مشخص شد.

نتایج و بحث

مطالعات اخیر نشان داده است که تعدادی *از Pseudomonas* های خاک از فعالیت آنزیم ACC-deaminase بر خوردار بوده‌اند [Klee *et al.*, 1991]. جاکوبسن [1993] نیز نشان داد که *P.putida* سویه GR12-2 دارای فعالیت ACC-deaminase بود. در این تحقیق نتایج حاصل از ارزیابی توانایی باکتری برای استفاده از ACC به عنوان منبع نیتروژن نشان داد که از ۲۵ جدایه سودوموناس فلورسنت مورد مطالعه تعداد ۹ جدایه توانایی تولید آنزیم-ACC deaminaseرا دارند و توان تولید این آنزیم در بین جدایه‌ها در سطح ۱ درصد معنی دار بود. تولید سیانید هیدروژن توسط انواعی از باکتری‌ها گزارش شده است [Lork, 1984]. محققین مختلف نشان دادند که سویه‌هایی از باکتریهای

P. fluonescens، *P. aeruginosa* و *Chromobacterium violaceum* توانایی تولید سیانید هیدروژن را داشتند [Siddiqui *et al*; 2003]. جدایه‌های سودوموناس فلورسنت مورد مطالعه در این تحقیق نیز توانایی تولید سیانیدهیدروژن در دامنه خیلی زیاد تا خیلی کم را داشتند [جدول ۱].

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

(میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی داری ندارند)

شماره سویه	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
جذب نور در محیط DF حاوی ACC	1/77C	2/12B	0/22E	0/30E	1/80C	0/22E	2/42A	2/08B	1/22D	0/29E
جذب نور در محیط DF حاوی سولفات آمونیم	2/65	2/74	2/68	2/81	2/73	2/66	2/73	2/80	2/77	2/80
نسبت جذب در دو محیط(ACC به سولفات آمونیم)	0/67	0/79	0/08	0/11	0/66	0/08	0/89	0/74	0/44	0/10
جذب نور در محیطDF بدون منبع نیتروژن	0/30	0/38	0/23	0/34	0/26	0/28	0/38	0/30	0/22	0/32
نتایج تولید سیانید هیدروژن	1	3	1	1	3	1	1	3	1	2
شماره سویه	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
جذب نور در محیطDF حاوی ACC	2/19B	0/27E	0/24E	0/25E	0/28E	0/29E	0/28E	0/27E	0/21E	0/21E
جذب نور در محیط DF حاوی سولفات آمونیم	2/74	2/62	2/88	2/57	2/70	2/63	2/85	2/50	2/81	2/68
نسبت جذب در دو محیط(ACC به سولفات آمونیم)	0/80	0/10	0/08	0/10	0/11	0/11	0/10	0/10	0/07	0/08
جذب نور در محیطDF بدون منبع نیتروژن	0/26	0/28	0/25	0/27	0/30	0/35	0/35	0/24	0/28	0/24
نتایج تولید سیانید هیدروژن	4	1	1	4	1	1	1	4	3	2
شماره سویه	P21	P22	P23	P24	P25					
جذب نور در محیطDF حاوی ACC	0/20E	0/17E	2/22B	0/32E	2/23B					
جذب نور در محیط DF حاوی سولفات آمونیم	2/68	2/57	2/84	2/66	2/72					
نسبت جذب در دو محیط(ACC به سولفات آمونیم)	0/08	0/07	0/78	0/12	0/82					
جذب نور در محیطDF بدون منبع نیتروژن	0/26	0/22	0/29	0/36	0/28					
نتایج تولید سیانید هیدروژن	1	1	2	1	4					

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-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. FEMS Microbiol. Ecol. 52: 153-162.

[2] Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M.and Perez-Galdona, R. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proligerus*, a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Island. Plant Soil 266: 261-272.

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

[4] Jacobsin, C. B. 1993. Isolation and characterization of ACC deaminase from *Pseudomonas putida* GR12-2 M. Sc. Thesis, Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo antario, Canada.

[5] Klee, H. J., Hayford, M. B., Kretzmer, K. A., Barry, G. F.and Kishore, G. M. 1991. Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. Plant Cell. 3: 1187-1193.

[6] Lork, H.1984. Production of hydrocyanic acid by bacteria. Physiol. Plant 11: 142-146.

[7] Siddiqui, I.A., Shaukat, S.S., Khan, G.H., and Ali, N.I.2003. Supperssion of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas aeruginosa* IE-6S+ in tomato: the influence of Nacl, oxygen and iron level. Soil.Biol.Biochem.35:1625-1634.