جداسازی و ارزیابی توان تولید اکسین برخی از سودوموناس‌های بومی خاک‌های ایران

علی اشرف سلطانی طولارود، ناهید صالح‌راستین، کاظم خاوازی، هادی اسدی‌رحمانی، پیمان عباس‌زاده دهجی و ملک حسین شهریاری

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 و دانشجویان کارشناسی ارشد دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران.

abp_1114 @yahoo.com

مقدمه

باکتری‌های جنس *Pseudomonas* ازمهم ترین باکتری‌های ریزوسفری می‌باشند که مطالعات گسترده‌ای در خصوص صفات محرک رشد گیاهی آنها صورت گرفته است . این باکتری‌ها دارای طیف گسترده‌ای از این صفات می‌باشند که بطور مستقیم یا غیرمستقیم باعث افزایش رشد گیاه می‌گردند [Benizri *et al.*, 1998]. یکی از مکانیسم‌های مستقیم مورد استفاده توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه ترشح تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (PGRs: Plant growth regulators) یا فیتوهورمون‌ها می‌باشد [Glick، ۱۹۹۵]. در میان هورمون‌های گیاهی، بیشترین مطالعات صورت گرفته به اکسین اختصاص داشته است. ایندول استیک اسید رایج‌ترین و شناخته‌ترین اکسینی است که از نظر فیزیولوژیکی بیشترین فعالیت را در گیاه دارا بوده و عکس‌العمل‌های سریع (مانند افزایش طول سلول) و طولانی مدت (مانند تمایز و تقسیم سلولی) گیاه را تنظیم می‌نماید [Hagen, 1990]. هدف از این تحقیق جداسازی و بررسی میزان ترشح هورمن اکسین جدایه‌ها بود.

مواد و روشها

جداسازی:

به منظور جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت، تعداد ۴۰ نمونه خاک (شامل ریشه‌های کامل گندم) از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری گردید. سپس ده گرم از خاک ریزوسفری از نمونه‌ها جدا و آنگاه با استفاده از سرم فیزیولوژیک سری‌های رقت$^{-1}$ ۱۰ تا $^{-10}$۱۰ تهیه شد. رقت‌های مختلف بر روی محیط کشت King B پخش شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت زمان مذکور پلیت‌ها با استفاده از لامپ U.V از نظر وجود کلونی‌های با خاصیت فلورسنس بررسی وپس از خالص سازی، کلونی‌های با خاصیت مذکور به عنوان جدایه‌های سودوموناس فلورسنت جدا گردیدند.

اکسین:

به منظور بررسی توان تولید اکسین، ابتدا باکتری‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۵ میلی‌لیتر محیط TSB حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر L-tryptophane در ۳ تکرارمنتقل گردید. بعد از ۴۸ ساعت، سوسپانسیون باکتری با دور ۱۰۰۰۰g در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ و یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با ۲ میلی‌لیتر معرف Salkowski مخلوط گردید [Patten and Glick 2002] سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و بلافاصله با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در ۵۳۵ نانومتر قرائت گردید. مقدار تولید اکسین با مقایسه این جذب با منحنی استاندارد تهیه شده از ایندول استیک اسید محاسبه شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق ۲۵ جدایه سودوموناس فلورسنت از ریزوسفر گندم مناطق مختلف کشور جدا شد. این جدایه‌ها از PA1تا PA25 شماره گذاری شدند. بسیاری از باکتری‌های ریزوسفری قادر به سنتز ایندول استیک می‌باشند. تخمین

زده شده است که ۸۵٪ از باکتری‌هایی که از ریزوسفر جداسازی می‌شوند قادر به تولید ایندول استیک اسید هستند [Patten and Glick, 1996].در این تحقیق نیز کلیه جدایه‌های *Pseudomonas* مورد مطالعه قادر به تولید ایندول استیک اسید بودند. میزان تولید ایندول استیک اسید توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه متفاوت می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی توان تولید ایندول استیک اسید ۱۱ جدایه سودوموناس توسط احمد و همکاران [2005] نشان داد که دامنه تولید IAA توسط باکتری‌ها بین ۵/۳۴ تا ۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر در غلظت‌های مختلف تریپتوفان متغیر بود. در تحقیق حاضر دامنه تولید ایندول استیک اسید توسط جدایه‌های *Pseudomonas* از ۱/۳ تا ۴/۵ میکروگرم بر میلی لیتر متغیر بود و تفاوت تولید اکسین در این جدایه‌ها در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود(جدول ۱ و ۲).

جدول ۱- نتایج حاصل از ارزیابی توان تولید اکسین (میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی داری ندارند)

شماره سویه	PA1	PA2	PA3	PA4	PA5	PA6	PA7	PA8	PA9	PA10
اکسین (µg/mL)	1/80IJ	1/56JKL	1/30L	2/63DEF	2/03HI	1/36KL	3/36C	1/80IJ	2/03HI	4/50A
شماره سویه	PA11	PA12	PA13	PA14	PA15	PA16	PA17	PA18	PA19	PA20
اکسین (µg/mL)	2/63DEF	1/63JK	2/30FGH	2/46EFG	2/56DEF	2/86D	3/83B	3/90B	2/10HI	2/46EFG
شماره سویه	PA21	PA22	PA23	PA24	PA25					
اکسین (µg/mL)	2/63DEF	2/46EFG	2/16GH	2/03HI	2/66DE					

جدول۲- تجزیه واریانس اثر جدایه‌ها بر تولید اکسین در محیط TSB

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
سویه	۲۴	1/865**
خطا	۵۰	0/031

**-معنی دار بودن در سطح ۱ درصد

منابع

[1] Ahmad F., Ahmad, L.and Saghir, M. 2005. Indol acetic acid production by the indogenous isolate of *Azotobacter* and *Pseudomonas fluorescens* in the presence and absence of Tryotophan. Turk. J. Biol. 29-34.

[2] Benizri, E., Courtade, A., Picard, C., and Guckert, A.1998. Role of maize root exudates in the production of auxin by *pseudomonas fluorescens* M.3.1. Soil. Biol. Biochem. 30: 1481-1484.

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

[4] Hagen, G. 1990. The control of range expression by auxin. In Davies, P. J. (ed.), Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp. 149-163.

[5] Patten, C. and Glick, B. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. Appl. Environ. Microbiol. 3795-3801.

[6] Patten, C. and Glick, B. R. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Can. J. Microbiol. 42: 207-220.