بررسی تاثیر سودوموناسهای فلورسنت دارای فعالیت آنزیم ACC deaminase بر جوانه زنی و رشد دو رقم کلزا در شرایط شور

فرزاد جلیلی، کاظم خاوازی، ابراهیم پذیرا و هادی اسدی رحمانی

به ترتیب دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران وعضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی، استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب، استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب.

مقدمه

یکی از معضلات جدی کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک مسئله شوری و تجمع املاح در لایه سطحی خاک می‌باشد که باعث کاهش عملکرد و سطح زیرکشت می‌گردد. بر اساس برآورد سازمان ملل متحد، تقریباً۵۰ درصد از زمین های زراعی قابل کشت دنیا تحت تنش شوری قرار دارند(Flowers & Yeo,1995). وپیش بینی می شود این رقم به علت استفاده نادرست از منابع آب و خاک افزایش یابد . یکی از دلایل کاهش یا عدم رشد گیاه در شرایط تنش های غیرزنده ای چون شوری، تجمع اتیلن در گیاه می باشد.در این شرایط مقدار ACC (ماده پیش ساخت اتیلن)در داخل گیاه افزایش یافته که پیامد آن، افزایش سنتز اتیلن در بافتهای گیاهی می باشد(Glick *et al*.,1997;1998). بنابراین در اینگونه مواقع یکی از راهکارهای موثر برای تعدیل اثرات شوری، کاهش میزان ACC موجود در گیاه می باشد. بعضی از باکتری های ریزوسفری می توانند با استفاده از آنزیم ACC, ACC deaminase را به عنوان منبع نیتروژن یا کربن مورد استفاده قرار داده و با تبدیل آن به آلفا کتوبوتیرات و آمونیاک غلظت ACC رادر گیاه کاهش دهند(Penrose & Glick,2003).در این فرایند،آمونیاک آزاد شده از ACC به عنوان منبع نیتروژن برای باکتری بکار گرفته شده و به علت کاهش میزان ACC در داخل گیاه از اثر بازدارندگی اتیلن کاسته می شود (Penrose *et al*.,2001) .در نتیجه گیاهانی که با باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه دارای فعالیت آنزیم ACC deaminase تلقیح شده‌اند بایستی ریشه‌های درازتر و نیز بخش هوایی بیشتری داشته باشند(Glick *et al* .,1997).

مواد و روشها

به منظورجداسازی سودوموناسهای فلورسنت،تعداد۲۸ نمونه مرکب خاک ازبرخی مناطق کشور تهیه گردید.نمونه ها قبل و بعد از انتقال به آزمایشگاه،در دمای۴درجه سانتی گراد نگهداری و بلافاصله مراحل جداسازی انجام شد. به منظور شناسایی گونه جدایه ها،از آزمون های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مندرج در کتاب Bergey استفاده شد.

به منظور بررسی تاثیر شوری بر جوانه زنی، آزمایشی به صورت فاکتوریل ودرقالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید.فاکتور های آزمایش عبارت بودند ازفاکتور رقم شامل رقم های Hayola308وRGS003 ،فاکتور شوری با سه سطح ۱۱،۸ و۱۴dS/m از منابعNaClو$CaCl_2$با نسبت اکی والانی یکسان وفاکتور باکتری که شامل چهار باکتری با شماره های P11,P108,P169,P196 ویک تیمار بدون باکتری به(عنوان شاهد)بود.

به منظورتهیه مایه تلقیح ،جدایه ها ابتدا در محیط کشت DFحاوی دو گرم در لیتر سولفات آمونیوم منتقل وبرای مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکرانکوباتوردار بادمای ۲۸ درجه سانتی گراد و دور۱۲۰دور در دقیقه قرار داده شد. سپس به محیطDFحاوی سه میلی مولارACC منتقل و مجدداً وبرای مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکرانکوباتوردار بادمای ۲۸ درجه سانتی گراد و دور۱۲۰دور در دقیقه قرار داده شد.پس از سانترفیوژ و شستشوی سلول های باکتری با $MgSO_4$ ۰/۰۳ مولار ، بذور استریل سطحی شده کلزا برای مدت یک ساعت در داخل سوسپانسیون باکتری نگهداری گردید. سپس به هر پتری دیش ۶ میلی لیتر آب مقطر ویا محلول نمکی مورد نظر اضافه شد و به انکوباتوربا دمای ۲۸ درجه سانتی گراد انتقال داده شد.بعد از ۱۴۴ ساعت درصد جوانه زنی ،طول ریشه و طول اندام هوائی ،وزن تازه و وزن خشک گیاهچه تعیین گردید.

نتایج و بحث

غربال گری جدایه ها از نظر فعالیت آنزیم ACC deaminase نشان داد که ۲۸ درصدجدایه ها (۱۶ درصد گونه های پوتیداو ۱۲ درصد گونه های فلورسنس) دارای مشخصه مذکور بوده و بنابراین می توانند از ACC به عنوان منبع نیتروژن استفاده کنند. جدایه هایی که توسط Ma وهمکاران (۲۰۰۳) از موقعیت های جغرافیایی مختلف خاکها جداسازی شده بود مشخص گردید که ۵ سویه از ۱۷ سویه ریزوبیا ،دارای فعالیت آنزیم ACC deaminase بوده و قادر بودند گره زایی گیاهان لگوم مختلف را تحریک کنند. ویژگی ACC deaminase در طیف وسیعی ا ز باکتریهای آزادزی خاک بخصوص سودوموناس ها و قارچها وجود دارد(Glick et al .,1995;) و اخیراً وجود آن در باکتریهای اندوفیت به اثبات رسیده است.

نتایج نشان داد که اثر شوری بر جوانه زنی دو رقم کلزای مورد مطالعه متفاوت بودو رقم RGS003 متحمل تر از Hayola308 به نظر می رسد. بررسی ها نشان داده است که تحمل به شوری در بین گونه های مختلف گیاهی و کولتیوارهای مختلف یک گونه متفاوت است. با افزایش غلظت نمک در محیط رشد، کاهش رشد بیشتری در جوانه زنی مشاهده شد.لیکن،موقعی که گیاهان با سوسپانسیون باکتری دارای فعالیت آنزیم ACC deaminase تیمار شدند تغییراتی در جوانه زنی ،طول ریشه و اندام هوایی مشاهده گردیدو کاهش فزاینده جوانه زنی با افزایش شوری روند کاهشی را نشان داد.با این حال، اثر جدایه ها در کاهش اثرات مضر شوری متاوت بود.این وضعیت بطور آشکارا نشان داد که بعضی از باکتریهای منتخب توانسته اند اثرات تنش شوری را کاهش دهند.شواهد نشان داده است که باتری های دارای فعالیت آنزیم ACC deaminase قادرند برخی از اثرات منفی آبیاری بر محصولات با شوری زیاد آب را خنثی کنند (Mayak *et al*.,2004). علت این امر شاید به دلیل کاهش اتیلن گیاه در اثر فعالیت آنزیم ACC deaminase باشد که در اثرتنش شوری ایجاد شده است.

منابع

[1] Flowers,T.J.,and Yeo,A.R.1995.Breeding for salt tolerance in crop plant:Where next?Aust.J.Plant Physiol.22:875-884.

[2] Glick,B.R.,Liu,C.,Ghosh,S.,and Dumbroff,E.B.1997.The effect of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 on the development of canola seedling subjected to various stresses.Soil Biol.Biochem. 29:1222-1239.

[3] Glick,B.R.,Penrose,D.M.,and Li.J.1998.A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth promoting bacteria.J.Theor.Biol.,190:63-68.

[4] Glick,B.R.1995.The enhancement of plant growth promotion by free living bacteria.Can.J.Micribiol. 41:109-117.

[5] Ma,W., Sebestianova, S., Sebestian, J., Burd, G.I., Guinel, F. and Glick, B.R. 2003. Prevalence of 1-aminocyclopropaqne-1-carboxylate in deaminase in Rhizobia spp. Anton. Van Leeuwenhoek 83: 285–291.

[6] Mayak,S.,Tirosh,T.,and Glick,B.R.2004.Plant Growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants salt stress .Plant Physiol.Biochem. 42:565-572.

[7] Penrose,D.M.,and Glick,B.R.2003.Methodse for isolating and characterizing ACC deaminase containing plant growth promoting rhizobacteria,Physiologia Plantarum 118:10-15.