مطالعه وضعیت آنزیم ACC دآمیناز در برخی سویه‌های ریزوبیوم بومی ایران

هوشنگ خسروی[۱]، حسینعلی علیخانی[۲] و باقر یخچالی[۳]

۱- دانشجوی دکتری دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران.
۲- استادیار دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران.
۳- استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری و دانشکده مهندسی آب و خاک دانشگاه تهران.

مقدمه

باکتری‌های افزاینده رشد گیاه یا اصطلاحا Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) از طریق مکانیسم‌های متفاوتی بر شاخص‌های مختلف رشد گیاه تأثیر می‌گذارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به توانایی سنتز هورمون ایندول استیک اسید یا IAA، جیبرلیک اسید، سیتوکینین، تثبیت غیر همزیستی نیتروژن، توان حل-کنندگی فسفات‌های نامحلول و سایر عناصر غذایی، کنترل پاتوژن‌های گیاهی از طریق ایجاد رابطه آنتاگونیستی با آنها که ممکن است بوسیله تولید آنتی‌بیوتیک، سیانید هیدروژن، کیتیناز، سیدروفور و بتا ۱ و ۳ گلوکاناز باشد اشاره کرد. از جمله باکتری‌های PGPR می‌توان به Azospirillum، Acetobacter، Azotobacter و Pseudomonas اشاره نمود. ریزوبیوم‌ها نیز معمولاً از طریق تثبیت همزیستی نیتروژن می‌توانند بر رشد لگوم‌ها مؤثر واقع شوند. برخی از سویه‌های ریزوبیومی قادرند بر رشد گیاهان غیر لگوم نیز از طریق مکانیسم‌های غیر از تثبیت نیتروژن مؤثر واقع شوند. اتیلن گازی است که مقدار آن در شرایط تنشی به میزان قابل توجهی در گیاه افزایش پیدا می‌کند و باعث پیری زودرس گیاه می‌گردد. گزارش شده که مقدار اتیلن در حدود ۰/۰۲۵ پی‌پی‌ام موجب کاهش ۲۵ درصدی عملکرد گندم شده است. اخیراً کشف شده که بسیاری از باکتری‌های PGPR حاوی آنزیمی به نام ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دآمیناز (ACC دآمیناز) هستند که قادر است ACC (۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات) که پیش‌ماده مستقیم اتیلن در گیاهان است را به آمونیاک و آلفاکتوبوتیرات تبدیل نماید، و از این طریق موجب کاهش اتیلن ناشی از تنش شود. در این فرآیند آمونیاک به عنوان منبع نیتروژن برای باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرد. لذا چنانچه سویه یا سویه‌هایی از باکتری‌های PGPR دارای مزیت‌های مختلفی باشند می‌توانند اثرات بهتری در رشد گیاه داشته باشند. به عنوان نمونه کاهش اثرات اتیلن تنشی بر روی رشد گیاه می تواند از طریق استفاده از باکتری‌های دارای توان سنتز آنزیم ACC دآمیناز حاصل شود. بدیهی است که در شرایط تنشی شوری و خشکی خاک‌های ایران اهمیت این موضوع بیشتر می‌باشد. لذا توسعه کودهای بیولوژیک دارای مزیت سنتز آنزیم ACC دآمیناز یکی از مهمترین اهداف تحقیق جاری است که لازمه آن شناسایی باکتری‌های تولید کننده ACC دآمیناز است. در تحقیق حاضر باکتری‌های ریزوبیومی کلکسیون میکروبی آزمایشگاه بیولوژی خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران از این نظر مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در این تحقیق ۳۳۰ سویه ریزوبیومی از چهار گونه *Sinorhizobium meliloti* (۱۶۸ سویه)، *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (۴۴ سویه)، *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli* (۵۸ سویه) و *Mesorhizobium ciceri* (۶۰ سویه) بومی خاک‌های مناطق مختلف ایران از نظر توان سنتز آنزیم ACC دآمیناز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ۲۸/۲ درصد از کل سویه‌ها دارای توان سنتز آنزیم ACC دآمیناز می‌باشند. بیشترین درصد سویه‌های دارای فعالیت آنزیمی مربوط به گونه *Sinorhizobium meliloti* با ۴۶/۵ درصد و کمترین مربوط به گونه *Mesorhizobium ciceri* با ۶/۷ درصد بود(جدول۱). سویه‌های دارای فعالیت آنزیم ACC دآمیناز بر اساس اندازه قطر کلنی روی محیط کشت RMM نسبت به شاهد در پنج گروه صفر، ۴-۲ ، ۶-۴ ، ۸-۶ و۱۰-۸ میلی‌متر تقسیم‌بندی شدند. از هر گروه چهار سویه برای ادامه تحقیقات انتخاب شد. توان حل کنندگی فسفات‌های نامحلول و تولید سیانید هیدروژن در سویه‌های انتخابی مشاهده نگردید. توان سنتز ایندول استیک اسید (IAA) در سویه‌های مختلف انتخابی بین صفر تا ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت بود. کاتلان و همکاران(۱۹۹۹) از ۱۱۶ جدایه باکتری جداسازی شده از ریزوسفر سویا شش جدایه را دارای توان سنتز آنزیم ACC دآمیناز گزارش کردند. ما و همکاران(۲۰۰۲) گزارش دادند که از ۱۳ سویه ریزوبیوم از لگوم‌های مختلف تعداد پنج

سویه دارای فعالیت آنزیم ACC دآمیناز و در واقع دارای توان استفاده از ACC به عنوان منبع نیتروژنی بوده‌اند

جدول ۲- تعداد و فراوانی سویه‌های ریزوبیوم دارای فعالیت آنزیم ACC دآمیناز

نام باکتری	تعداد سویه مورد بررسی	فعالیت آنزیم ACC دآمیناز	
		تعداد	فراوانی
Sinorhizobium meliloti	۱۶۸	۷۸	۴۶/۵
Rhizobium leguminosarum bv. *viciae*	۴۴	۶	۱۳/۶
Rhizobium leguminosarum bv. *phaseoli*	۵۸	۵	۸/۶
Mesorhizobium ciceri	۶۰	۴	۶/۷
کل سویه‌ها	۳۳۰	۹۳	۲۸/۲

مطالعات نشان داده که استفاده از باکتری‌های طبیعی یا نوترکیب مولد ACC دآمیناز منجر به مقابله با اتیلن تنشی ناشی از شرایط غرقابی، افزایش مقاومت به عوامل بیماریزا و افزایش گره‌زایی توسط ریزوبیوم به میزان ۴۰-۳۵ درصد شده است. انتقال این ژن به گیاهان کلزا و گوجه فرنگی نیز باعث تحمل بیشتر این گیاهان نسبت به فلزات سنگین شده است. بنابراین با توجه به اینکه در کشور ما شرایط تنشی از جمله خشکی، شوری و در مواردی آلودگیهای زیست محیطی از عوامل محدود کننده رشد گیاهان محسوب می‌شوند لذا ارائه راهکارهای لازم برای مقابله با این عوامل تنش‌زا امری ضروری می‌باشد. بنابراین مطالعه باکتری‌های ریزوبیومی به عنوان مهمترین باکتری‌های افزاینده رشد گیاه از نظر میزان سنتز آنزیم ACC- دآمیناز که آنزیمی برای مقابله با تنش شناخته شده دارای اهمیت فراوان است. بعلاوه استفاده از کودهای زیستی باعث کاهش استفاده از کودهای شیمیایی می‌شود که نتیجه آن کاهش آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف این کودها می‌شود. از دیگر نتایج این تحقیق دستیابی به ژن acdS است که می‌تواند در تحقیقات آتی برای انتقال آن به سایر باکتری‌های PGPR که دارای مزیت‌های دیگری از نظر اثر بر رشد گیاه می‌باشند و یا ترانسفورم نمودن گیاهان با ژن مذکور مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

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

[2] Grichko, V. P., and B. R. Glick. 2001. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase- containing plant growth- promoting bacteria. Plant Physiol. Biochem. 39:11-17.

[3] Cattelan A.J., P.G. Hartel and J.J. Fuhrmann.1999.Screening for Plant Growth–Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. Soil Science Society of America Journal, 63:1670-1680

[4] Ma, W., D.M. Penrose and Glick, B.R.(2002). Strategies used by rhizobia to lower plant ethylene levels and increase nodulation. Can. J. Microbiol. 48:947-957.