تعیین توان تولید فیتوهورمون ایندولی (IAA) توسط سویه های ریزوبیومی بومی برخی از خاک های ایران به دو روش کمی و کیفی

حسن اعتصامی، حسینعلی علیخانی و ناهید صالح راستین
به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و اعضاء هیئت علمی گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

مقدمه

ریزوبیوم ها به دلیل توان بی مانند خود در برقراری همزیستی با گیاهان خانواده لگومینوز و ایجاد سیستم های توانمند در تثبیت نیتروژن مولکولی قادر به تامین بخش قابل توجهی از نیتروزن مولکولی اکوسیستم های زراعی در سطح جهانی می باشند. به همین دلیل در طول بیش از یک قرن که از زمان شناسایی آنها می گذرد همیشه درکانون توجه بسیاری از محققین علوم زیستی قرار داشته اند(۳). در دهه های اخیر با اینکه هنوز می توان تثبیت نیتروژن توسط این باکتری ها و به خصوص ویژگی های ژنتیکی فرایند همزیستی را به عنوان محور اصلی پژوهش های محققین بیولوژی خاک محسوب داشت، معهذا با اثبات توانایی های دیگری در ریزوبیوم ها و محسوب داشتن این باکتری ها در گروه ریزوباکتریهای محرک رشد گیاه (PGPR) کارهای پژوهشی در زمینه PGPR نیز به فزونی گذاشته اند(۱).

اکنون کاملاً محقق شده است که می توان در بین سویه های بیشمار از هر گونه ریزوبیومی، سویه هایی را یافت که علاوه بر کارایی بالا در تثبیت N_2، توان انجام فرایندهای موثر در تحریک رشد گیاه مانند تولید هورمون های رشد گیاهی خصوصا اکسین های ایندولی همچون IAA را نیز داشته باشند. پژوهش حاضر مبتنی بر دو فرض است: فرض اول اینکه باکتری های ریزوبیومی بومی خاک های ایران قادر به تولید مقادیر کافی از هورمون رشد گیاهی IAA می باشند. دومین فرض آنکه این باکتری ها با ترشح فیتوهورمونهای IAA موجب افزایش سیستم ریشه ای گیاه و در واقع افزایش سطح جذب عناصر غذایی از خاک شده و از این طریق موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می شوند(۲و۴).

مواد و روش‌ها

مناسبترین روش برای اندازه گیری مقدار اکسین روش های کروماتوگرافی مانند HPLC می باشند که این روش گران بوده و به تجهیزات و امکانات خاص آزمایشگاهی نیاز دارند(۵). بنابراین در این تحقیق اندازه گیری کیفی تولید IAA توسط سویه های ریزوبیومی خالص شده از روش بریک و همکاران (۱۹۹۱) برروی پلیت های حاوی محیط کشتLB انجام گرفته که پس از تلقیح سطح آگار توسط غشاءهای نیتروسلولز استریل شده پوشیده شدند(۵).و اندازه گیری کمی تولید IAA توسط سویه های ریزوبیومی خالص شده نیز به همان روش بریک منتهی در محیط کشت مایع رنگی در نتیجه استفاده از محلول سالکوفسکی، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر(UNICO1100 USA) انجام گرفت(۶).

نتیجه گیری و بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که باکتریهای ریزوبیومی توانایی تولید هورمون اکسین(IAA) را دارند. بعلاوه این که این توانایی در بین گونه های مختلف ریزوبیومی و در سویه های متعلق به هر گونه ریزوبیومی یکسان نیست. همچنین مقایسه نتایج حاصل از دو روش کمی و کیفی نشان می دهد که باکتری های ریزوبیومی که در روش کیفی توانایی تولید بالایی داشتند در اندازه گیری کمی هم تقریبا توان بالایی در تولید IAA نسبت به دیگر سویه ها داشتند و هماهنگی قابل قبولی بین دو روش کمی وکیفی وجود دارد. در جداول (۱ و ۲) تجزیه واریانس مقادیر به دست آمده ارائه شده است. نتیجه مقایسه میانگین داده ها به روش آزمون دانکن در سطح ۵٪ نشان می دهد که در روش کیفی گروه های ریزوبیومی Rlpو Rlv بدون اختلاف معنی دار میزان IAA بیشتری نسبت به مابقی گروه های مورد آزمایش(Sm، Mcو Bsp)تولید کرده اند، بین گروه های دسته دوم اختلاف معنی دار مشاهده نشد و نتیجه مقایسه میانگین در روش کمی نشان داد که گروه های Rlp با بیشترین مقدار IAA تولیدی (۱۷۷,۹۲ppm) و سویه های ریزوبیومی Bsp با حداقل میزان IAA تولیدی (۷۳,۰۴) به ترتیب به عنوان برترین و کم توان ترین سویه ها در بین سویه های مورد آزمون معرفی شدند. در هر دو روش نیز گروه Rlpو Bsp به ترتیب به عنوان برترین و کم توان ترین سویه تولید کننده IAA شناخته شدند.

جدول (۱) تجزیه واریانس میزان IAA تولید شده بر اساس شاخص (نسبت قطر هاله به کلنی) بر روی محیط کشت جامد LB-TRP و مقدار عددی IAA تولید شده بر روی محیط کشت مایع LB-TRP با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر(UNICO1100 USA)توسط سویه های ریزوبیومی مورد استفاده در آزمون

منبع تغییرات (SOV)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	
		کمی	کیفی
گروههای ریزوبیومی	4	78082.288**	15.026**
گروه(باکتری)	95	1920.379**	0.270**
خطا	200	0.420	0.001

** معنی داری در سطح ۵٪

جداول(۲) مقایسه میانگین تولید IAA به ترتیب در محیط LB-TRP مایع به روش کمی(Bric)و روش کیفی بر روی محیط کشت جامدLB-TRP درون ظروف پتری توسط برخی از سویه های ریزوبیومی بومی کشور به روش آزمون چند دامنه ای دانکن(۵٪)

Duncan grouping	میانگین	تعداد	گروه
A	177.92	45	Rlp
B	142.92	51	Rlv
C	96.74	177	Sm
C	94.73	9	Mc
C	73.04	18	Bsp

Duncan grouping	میانگین	تعداد	گروه
A	2.71	45	Rlp
A	2.42	51	Rlv
B	1.65	177	Sm
B	1.50	9	Mc
B	1.38	18	Bsp

منابع مورد استفاده

1-Anton, H., N. Gossard, R, Chabot,. and R. Lalande. 1998. Potential of rhizobium and bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (Raphanus sativus L.). Plant and Soil. ,204: 57-67

2-Arshad, M. 2004. Screeninig rhizobacteria for improving the growth, yield, and oil content of canola (Brassica napus L.). Australian Journal of Agricultural Research, 55: 187-194.

3-Antoun, H. and D. Prevost. 2001. Pgpr avtivity of Rhizobium with nonleguminous plants.Agriculture and Agri-food Canada. Canada GIV 2J3.

4-Asghar, H. N., Z. A. Zahir, M. Arshad and A. Khaliq. 2002. Relationship between in invitro production of auins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in Brassica juncea L. Biol Fertil Soils, 35: 231-237.

5-Bric, J. M., R. M. Bostok,. and S. A. Silverston, (1991) Rapid in situ assay for indoleacetic production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrance. Appl. Environ. Microbiol, 57(2): 535-538.

6-Torres-Rubio, M. G. S. Astrid, J ,Castillo and P. Martiners. 2000. Isolation of Enterobacteria, Azotobacter sp. And Pseudomonas sp., producers of indole-3-acetic acid and Siderophores, from colombian rice rhizosphere. Revista Latinoamericana de Microbiologia, 42: 171-176.