تأثیر جدایه‌های سودوموناس پوتیدا تولید کننده هورمون اکسین بر تحریک رشد و افزایش تارهای کشنده ریشه گندم

نازنین عطائی[۱]، کاظم خاوازی[۲] و شیرین قربانی[۳]

[۱] کارشناس ارشد مرکز تحقیقات زیست محیطی خراسان جنوبی، [۲] عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات خاک و آب، [۳] عضو هیئت علمی دانشکده علوم پایه دانشگاه الزهرا(س).

مقدمه

باکتری‌های جنس سودوموناس (***Pseudomonas***) یکی از مهمترین انواع باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه **PGPR** (**Plant Growth Promoting Rhizobacteria**) می‌باشند که توجه زیادی از محققین را به خود جلب کرده است (**Glick,1995**). سویه‌های خاصی از سودوموناس‌های فلورسنت که عمدتاً شامل انواع فلورسنس (***P. fluorescens***) و پوتیدا (***P. putida***) می‌باشند موجب افزایش عملکرد بسیاری از گیاهان شده‌اند (**Freitas and Germida,1992 ; Vlassak *et al*.,1992**). تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های مذکور قادر به تولید انواع هورمون‌های گیاهی می‌باشند (**Freitas and Germida, 1990**). بیش از ۵۰ سال است که ثابت شده باکتری‌های خاک از جمله سودوموناس می‌توانند اکسین و مواد شبه اکسین ترشح کنند. تولید انواع اکسین‌ها توسط باکتری‌های ریزوسفری و تأثیرات آنها بر سیستم ریشه‌ای گیاه در گزارشات بسیاری آمده است (**Sarwar and Kremer,1995 ; Costacura *et al*., 1998**). برخی از این تغییرات شامل افزایش جذب مواد غذایی از طریق تکثیر تارهای کشنده و افزایش ریشه‌های جانبی می‌باشد (**Persello-Carieaux *et al*., 2001**). به منظور بررسی توان تولید هورمون توسط جدایه‌های سودوموناس پوتیدا و تأثیرات این جدایه‌ها بر ریشه‌زایی گندم رقم زرین این آزمایش طراحی و اجرا گردید.

مواد و روشها

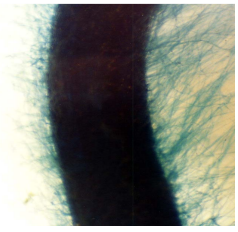
در این تحقیق تعداد ۸۹ جدایه سودوموناس پوتیدا که از ۵۲ نمونه خاک ریزوسفری مناطق مختلف زیر کشت گندم تهیه شده بود برای تولید اکسین مورد بررسی قرار گرفت. باکتری های جدا شده در محیط **TSA** (**Tryptic Soy Agar**) کشت شدند و برای مدت سه روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردیدند. از کلنی‌های رشد یافته برای تلقیح فلاسک‌های ۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط **TSB** (**Tryptic Soy Broth**) استفاده شد. از فلاسک‌های مذکور در سه نوبت نمونه‌گیری شد و پس از گذراندن مراحل سانتریفوژ، مخلوطی از نمونه و معرف سالکوسکی (**Salkowski**) (یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵ مولار $FeCl_3$ + ۵۰ میلی‌لیتر H_3ClO_4 ۳۵٪) به نسبت ۲:۱ تهیه و میزان هورمون اکسین تولید شده اندازه‌گیری شد (**Bent *et al*.,2001**). با رسم گراف‌های مربوط، بهترین زمان قرائت دستگاه و بهترین غلظت تریپتوفان انتخاب شد و سپس با استفاده از منحنی استاندارد غلظت اکسین تولید شده توسط سایر جدایه‌ها در یک زمان و با دو غلظت انتخابی صفر و پنجاه میلی‌گرم در لیتر تریپتوافان مورد ارزیابی قرار گرفت. از ۸۹ جدایه انتخابی ۱۵ جدایه با توانایی‌های متفاوت تولید اکسین برای آزمایش ریشه‌زایی گندم انتخاب شدند. به منظور کاشت بذور ابتدا بذرهای گندم (رقم زرین) که با استفاده از الکل ۹۶ درجه و هیپوکلریت سدیم یک درصد استریل شده بودند بر روی پلیت آب- آگار جوانه‌دار شدند. سپس حدود ۲۰ بذر به فلاسک تلقیح نشده اضافه شد. فلاسک به مدت ۱۰ دقیقه و با استفاده از شیکر با دور **rpm** ۱۳۰ و دمای ۲۸ درجه همزده شد. بذرها در لوله‌های حاوی ورمیکولیت (**Vermiculite**)کاشته شدند به طوری که در هر لوله ۲ بذر و حدود ۱۰ لوله بدین منظور به عنوان شاهد کاشته شد. در مرحله بعد به هر فلاسک تلقیح شده حاوی باکتری،۲۰ عدد بذر افزوده شد و طبق شرایط شاهد همزده شد. بذرها پس از آبگیری در ۴ لوله و در هر لوله ۲ بذر کاشته شد. همچنین جمعیت باکتری‌ها روی بذر در

زمان تلقیح اندازه‌گیری شد. پس از گذشت ۱۳ و ۱۹ روز از زمان کاشت شاخص‌های طول ریشه، وضعیت تارهای کشنده، وزن خشک و تر ریشه اندازه‌گیری شد. سپس نتایج با استفاده از نرم‌افزار **SAS** مورد بررسی قرار گرفت.

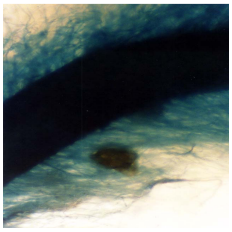
نتایج و بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری‌های مورد مطالعه از نظر میزان تولید هورمون اکسین توانایی متفاوتی داشتند. محدوده سنتز اکسین باکتری‌های مورد مطالعه از ۱/۹ تا ۷۹/۹ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود و به طور متوسط ۶۱/۹ میلی‌گرم اکسین در لیتر تولید می‌کردند. میزان تولید هورمون اکسین در ۵۰/۵۶ درصد جدایه‌ها کمتر از ۵ میلی‌گرم در لیتر، در ۳۲/۵۸درصد جدایه‌ها ۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و در ۱۶/۸۵ درصد جدایه‌ها بیش از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بود. سرور و کرمر (**Sarwar and Kremer,1995**) محدوده تولید اکسین باکتری‌های ریزوسفری مورد مطالعه خود را بین ۴ تا ۸۶/۱ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همچنین نتایج بررسی تولید هورمون در غلظت‌های مختلف تریپتوفان نشان داد که توانایی باکتری‌ها برای تولید هورمون در غلظت‌های مختلف تریپتوفان متفاوت می‌باشد. بعلاوه بعضی از باکتری‌ها قادر بودند که در غلظت صفر تریپتوفان نیز نسبت به تولید هورمون اکسین اقدام نمایند که این ویژگی یکی از شاخص‌های خوب برای انتخاب جدایه‌های صنعتی می‌باشد. بدین معنی که در طیف وسیعی از ارقام گندم بالاخص ارقامی که در ترشحات ریشه‌ای خود اسیدآمینه تریپتوفان را ندارند نیز قادر به تولید هورمون می‌باشند. نتایج اولین برداشت (۱۳ روز) نشان داد که تلقیح باکتری تأثیر معنی‌دار بر وزن تر ریشه (**P<0.05**) و طول ریشه (**P<0.01**) داشت ولی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه نداشت. نتایج دومین برداشت (۱۹ روز) نشان داد که تلقیح باکتری تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های ریشه نداشت. عکس‌های تهیه شده از مورفولوژی ریشه نشان داد که صرف نظر از زمان برداشت، ریشه های تلقیحی از نظر فرم ریشه با نمونه شاهد تفاوت قابل ملاحظه‌ای داشتند به طوری که گیاهچه‌ای که با جدایه‌های تولید کننده موثر (تولید بالا) تلقیح شد ریشه‌های کوتاه‌تر و حجیمتری را نسبت به نمونه‌های شاهد نشان دادند. نتایج عکس‌های میکروسکوپی نیز نشان داد که باکتری‌های تولید کننده هورمون موجب افزایش تارهای کشنده ریشه می‌شود که تفاوت محسوسی را با نمونه شاهد نشان داد. با توجه به نقش فوق‌العاده و مهم تارهای کشنده در جذب آب و عناصر غذایی پیشنهاد می‌شود که آزمایش در شرایط خاک انجام گردد. در این شرایط به دلیل وجود محدودیت‌های مختلف مطمئناً با توسعه سیستم‌های ریشه‌ای گیاه و بالاخص تارهای کشنده افزایش عملکرد قابل پیش‌بینی خواهد بود.

شکل۱- ریشه تلقیح نشده



شکل۲- ریشه تلقیح شده



شکل۳- ریشه تلقیح شده

منابع

1- Bent , E. , Tvzun, S., chanway , C.P. , and Enebak , S.(2001). Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria , 47 , 793-800 .

2- Costacurta , A. , Mazzafera , P. , Rosato , Y.B.(1998).Indole-3-acetic acid biosynthesis by Xanthomonas axonopodis PV.Citri is increased in the presence of plant leaf axtracts. FEMS Microbiology letters, 159, 215-220.

3- Freitas, J.R, and Germida, J.J.(1992). Growth promotion of winter wheat by fluorescent pseudomonad under field conditions. Soil Boil. Biochem. 24,1137-1146.

4- Freitas, J.R. ,and Germida, J.J.(1990). Aroot tissue culture system to study winter wheat-rhizobacteria interactions. Appl Microbiol Biotechnol, 33, 589-595.

5- Glick,B.R.(1995). The enhancement of plant growth by fre-living bacteria.Can.J.Microbiol.41,109-117.

6- Lambrecht,M. , Okon,Y. , Broek, A.V. , and Vanderleyden, J.(2000). Indole-3- Acetic Acid : a reciprocal signaling molecule in Bacteria-plant interaction. Trend. Microbiology 8:661-680.
7- Persello-Cartieaux, F., David,P., Sarrobert, C., Thbaud, M.C. , Achouak,W. , Robaglia, C., and Nussaume, L.(2001). Utilization of mutants to analyze the interaction between Arabidopsis thaliana and its naturally root-associated pseudomonas. Planta , 212, 190-198.
8- Sarwar,M. , and Kremer, R.J.(1995). Enhanced suppression of plant growth through production of L.tryptophan- derived compounds by deleterious rhizobacteria. Plant and soil , 172, 261-269.
9- Vlassak, K., Holm, L.V., Duchateau, L., Vanderleyden,J., and Mot, R.D.(1992). Isolation and characrerization of fluorescent pseudomonas associated with the roots of rice and banana grown in sri lanka. Plant and soil 145, 51-63.