ارزیابی صفات محرک رشد گیاهی(PGP) در برخی از باکتری های ریزوسفری یونجه

شهلا پاشاپور[۱]، حسین بشارتی[۲]* و محمود رضازاد باری[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، [۲]استادیار پژوهش موسسه تحقیقات خاک و آب تهران، خیابان کارگر شمالی، خیابان جلال آل احمد، روبروی بیمارستان شریعتی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب
۳استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

مقدمه

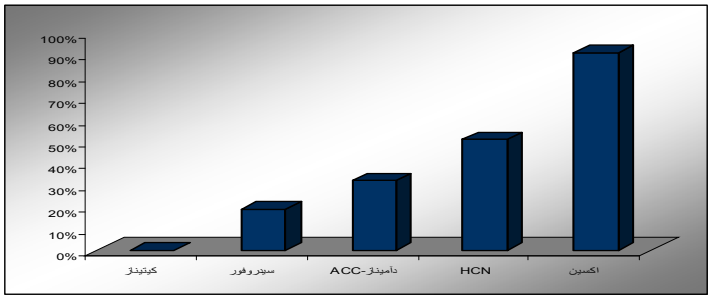
باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه (**PGPR**) با مکانیسم های مختلف بصورت مستقیم یا غیر مستقیم باعث افزایش رشد گیاه می شوند. تولید و ترشح اکسین ، سیدروفور، سیانیدهیدروژن و آنزیمهای برون سلولی مثل کیتیناز از جمله مکانیسمهایی هستند که **PGPR** به کمک آنها رشد گیاه را بهبود می بخشند[۷]. اکسین با افزایش حجم و زیتوده ریشه و تغییر مرفولوژی آن منجر به افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه می شود. در تحقیقی تلقیح بذرهای سویا با باکتری های ریزوسفری تولیدکننده اکسین منجر به افزایش ۲ تا ۳ برابری طول ریشه های گیاهچه گردید[۷]. سیدروفورها ترکیبات آلی با وزن ملکولی کم هستند که تمایل شدید برای ترکیب شدن بطور اختصاصی با آهن فریک را دارند[۹] سیدروفورها با کلاته کردن Fe^{+3} موجود در ریزوسفر، آهن را برای پاتوژن ها غیر قابل دسترس کرده، رشد و سلامت گیاه را افزایش می دهند [۱۰]. **HCN** به عنوان یک متابولیت ثانویه توسط بسیاری از باکتری های ریزوسفری تولید می شود [۵]. توانایی باکتری برای تولید **HCN** در شرایط میکروهوازی بیشتر است. این ترکیب با دخالت در فعالیت سیتوکروم اکسیداز گیاه منجر به کاهش فعالیت تنفسی ریشه می شود ولی مقدار اندک آن با تاثیر سوء بر پاتوژنها باعث بهبود رشد گیاه می گردد[۱]. کیتیناز آنزیمی است که با هیدرولیز دیواره هیف قارچها فعالیت آنها را تحت تاثیر قرار می دهد[۲]. باکتری‌های ریزوبیوم از نظر تثبیت نیتروژن بسیار شناخته شده اند، اما مطالعات اندکی در خصوص فعالیت های **PGP** آنها انجام شده است. این مطالعه با هدف ارزیابی فعالیت های **PGP** در ۴۵ جدایه ریزوبیوم و ۲ جدایه باسیلوس انجام شد.

مواد و روش ها

ارزیابی توانایی تولید اکسین در ۴۷ سویه مورد آزمایش با روش پیشنهادی پتن و گلیک (۲۰۰۲) انجام شد. دانسیته ی نوری محیط زلال باکتریها در ۵۳۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر(**Beckman DU 530**) اندازه گیری شد. تولیدآنزیم **ACC**- دِآمیناز با استفاده از روش آمیکو و همکاران (۲۰۰۵) ، تولید **HCN** با روش دونات-کورا و همکاران (۲۰۰۴) مورد ارزیابی قرار گرفت. تغییر رنگ کاغذ صافی ها از قهوه ای روشن (تولید سیانید هیدروژن پایین) تا قهوه ای تیره (تولید سیانید هیدروژن بالا) نشان هنده تولید مقادیر متفاوت **HCN** بود. تولید سیدروفور در محیط **CAS-Agar** با روش ارائه شده توسط الکساندرو زوبیر(۱۹۹۱) ارزیابی شد. ایجاد هاله های نارنجی در اطراف کلونی ها ی رشد یافته در این محیط نشان دهنده تولید سیدروفور بود. توانایی تولید آنزیم کیتیناز با روش بولر و مانچ (۱۹۸۸) اندازه گیری شد. تشکیل هاله های شفاف اطراف کلونی ها نشان دهنده تولید آنزیم کیتیناز می باشد.

نتایج و بحث

۴۳جدایه از باکتری ها توانایی تولید اکسین داشتند. میانگین تولید اکسین **۴,۲۹µg/ml** و دامنه تولید بین **۴,۹۵µg/ml** تا ۴,۰۴ قرار داشت. در تحقیقی متوسط تولید اکسین در سویه هایی از انتروباکتر جداسازی شده از ریزوسفر چغندرقند **µg/ml** ۲,۲۱ گزارش گردید(۱۲). نتایج این مطالعه نشان داد که تولید **HCN** در ۲۴جدایه ضعیف بود، در ۲۰ جدایه متوسط، در ۲ جدایه درحد بالا و تنها در یک جدایه بسیار بالا بود. در آزمایشی از جدایه های تولید کننده **HCN** برای کنترل پاتوژن های گندم استفاده شد[۵]. هیچ یک ا زجدایه های مورد بررسی قادر به تولید کیتیناز نبودند. عدم تولید آنزیم کیتینازدر برخی از سویه های سودوموناس پاتیدا و آئروژینا گزارش شده است[۶]. تنها ۹ جدایه از ۴۷ جدایه مورد بررسی قادر به تولید سیدروفور بودند. کمترین و بیشترین توانایی تولید سیدروفور (نسبت قطر هاله به قطر کلونی) به ترتیب به جدایه های **Rm7** و**Rm43** تعلق داشت. رسولی و همکاران (۱۳۸۴) گزارش کردند که جدایه های مورد مطالعه آنها نسبت قطر هاله به کلونی ۲,۲۱ تا ۳,۹۶ داشتند. تولید **ACC**-دِآمیناز در ۱۵ جدایه مشاهده شد، بیشترین مقدار تولبد **µg/ml** ۱,۵۵ و کمترین مقدار **µg/ml**۰,۲۳ بودند. جدایه های تولید کننده ی **ACC**-دِآمیناز تا حدودی می توانند از کاهش طول ریشه و اندام های هوایی و بیوماس گیاه ناشی از تولید اتیلن اضافی در شرایط تنش جلوگیری نمایند[۱۳]. در شکل ۱ درصد سویه هایی که خاصیت محرک رشد گیاهی مختلف را نشان دادند، آورده شده است.



شکل ۱. فعالیت PGPدر جدایه های مورد بررسی

از میان ۴۷ جدایه مورد بررسی تنها در ۴ جدایه تمامی خصوصیات **PGP** مورد ارزیابی (بغیر از کیتیناز) مشاهده شد که پس از بررسی اثرات آنها بر روی گیاهان مختلف از آنها می توان به عنوان کودهای سازگار با محیط زیست در تهیه مایه تلقیح استفاده کرد.

منابع

[۱] رسولی صدقیانی.ح.، ک. خاوازی.، ح. رحیمیان.، م. ج.، ملکوتی .۱۳۸۴. ارزیابی توان سویه های بومی سودوموناس فلورسنت ریزوسفر گندم برای تولید سیدروفور. مجله آب و خاک. جلد ۲۰، شماره ۱، مؤسسه تحقیقات آب و خاک، تهران، ایرن.

[2]Ajit, N. S., Verma, R. And Shanmugan, V. 2006. Extreacellular Chitinase of *fluorescens pseudomonase* antifungal to *fusarium oxysporum* carnation wilt. Current Microbiology. 52: 310-316.

[3] Alexander, D. B. and Zuberer, D. A. 1991. Use of Chrome Azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biol. Fertil. Soils. 12: 39-45.

[4] Amico, E. D., Cavalca, L., and Andreoni, V. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Graminaceae from polluted water. FEMS Microbiology Ecology. 52: 153-162.

[5] Blumer, C., Haas, D., 2000. Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. Archives of Microbiology 173, 170–177.

[6] Boller, T., Mauch, F., 1988. Colorimetric assay for chitinase. Methods of Enzymology. 161:430–435.

[7] Caron M, Patten CL, Ghosh S et al. Effects of plant growth promoting rhizobacteria Pseudomonas putida GR-122 on the physiology of canolla roots. Plant Growth Reg Soci Am, 22nd proceeding, Ed. Green DW, July 18-20, 1995.

[8] Donate-Corre, J., Leon-Barrios, M. and Perez-Galdona, R. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in Chamaecytisus proligerus, a forage tree-shrub legume edemic to Canary Island. Plant Soil. 266:261-272.

[9] Frankenberger WT Jr., Brunner W. Methods of detection of auxin-indole acetic acid in soil by high performance liquid chromatography. Soil Soc Am J 47: 237-241, 1983.
[10] Joshi, F., Archana, G., Desai, A.J., 2006. Siderophore cross-utilization among rhizospheric bacteria and role of their differential affinities for Fe^{+3} on growth stimulation under iron limited conditions. Curr. Microbiol.53, 141-147.
[11] Loper, J.E, Henkels M.D., (1999) Utilization of heterologous siderophore enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in rhizosphere. Appl Environ Microbiol 65:5357–5363.
[12] Patten, C.L., Glick, B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. Appl. Environm. Microbiol. 68:3795–3801.