

بررسی همکاری باکتریهای خاک در تولید هورمون اکسین

داریوش شکری^۱، گیتی امتیازی^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، ^۲ استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

مقدمه

علاوه بر گیاهان بسیاری از میکروارگانیسم‌های خاک نیز دارای توانایی سنتز هورمون اکسین (اندول-۳-استیک اسید) هستند که دارای نقش‌های متنوعی است [۳]. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که اندول-۳-استیک اسید می‌تواند به عنوان یک ملکول سیگنال دهنده نقش داشته باشد که بسیاری از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۴ و ۳]. در این تحقیق تولید اندول-۳-استیک اسید در باکتری‌های تثبیت‌کننده ازت موجود در خاک که شامل سویه‌های مختلف پانی‌باسیلوس، کلبسیلا اکسی‌توکا، ازتوباکتر، اگروموباکتریوم، سینوریزوبیوم و ریزوبیوم می‌باشد مورد بررسی قرار گرفت و احتمال همکاری و همیاری این باکتری‌ها در تولید این هورمون بررسی شد.

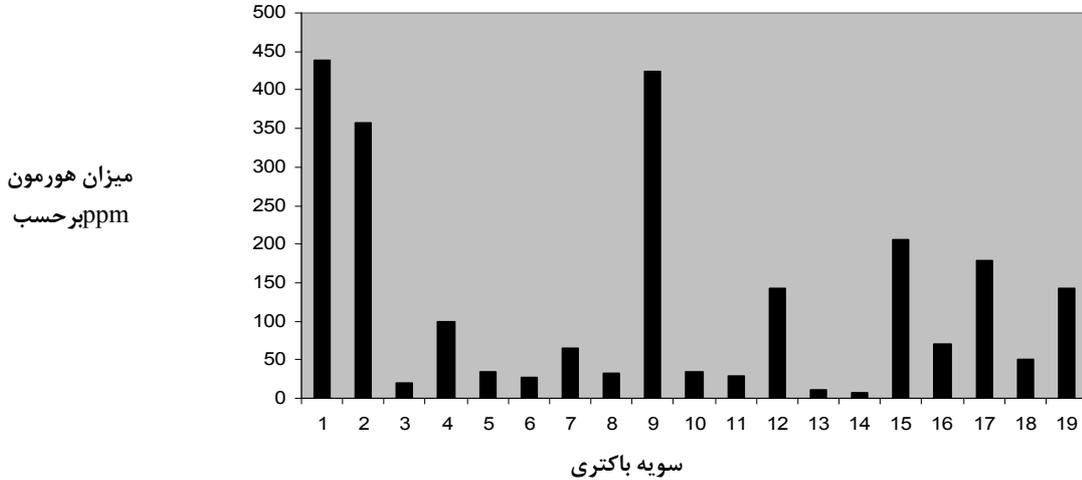
مواد و روشها

تمامی باکتری‌های مورد مطالعه از خاک مناطق مختلف اطراف اصفهان (ناژوان، تیران و درچه) جداسازی گردیدند. برای بررسی کمی تولید هورمون در باکتری‌های مختلف جدا شده از روش کمی بریک و همکاران [۲] استفاده شد. به این ترتیب که باکتری‌ها در داخل محیط YEMB غنی‌شده با تریپتوفان به مدت ۷۲ ساعت در دمای 28°C کشت داده شدند. سپس سوپرناتانت باکتری‌ها با سانتریفیوژ در دور 5000 rpm به مدت ۳۰ دقیقه جداسازی گشت. به این سوپر ناتانت به نسبت ۲ به ۱ معرف سالکوفسکی اضافه شد و تغییرات جذب نوری در طول موج 530 nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد. در مرحله آخر احتمال افزایش تولید هورمون توسط اثر همیاری باکتری‌هایی که بهترین تولید را داشتند (ریزوبیوم، اگروباکتریوم و پانی‌باسیلوس) در طی زمان بررسی شد. به این ترتیب که تولید هورمون توسط این باکتری‌ها به صورت جداگانه و به صورت مخلوط [۱] اگروباکتریوم همراه ریزوبیوم، [۲] اگروباکتریوم همراه پانی-باسیلوس، [۳] ریزوبیوم همراه پانی‌باسیلوس، [۴] اگروباکتریوم همراه پانی‌باسیلوس و همراه ریزوبیوم [۵] با یکدیگر مقایسه شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS (آنالیز واریانس یک راهه و آزمون Tukey HSD) و Excel انجام شد.

نتایج و بحث

۱۲ سویه مختلف ریزوبیوم، ۳ سویه مختلف سینوریزوبیوم، ۱۵ سویه مختلف پانی‌باسیلوس، ۲ سویه باکتری کلبسیلا اکسی‌توکا و ۲ گونه باکتری ازتوباکتر جداسازی شدند. همچنین از دو سویه استاندارد باکتری اگروباکتریوم بنام‌های LB 061030 و A2 061030 استفاده شد. از بین کل ۳۶ سویه باکتری ۱۹ سویه تولیدکننده هورمون بودند. (نمودار ۱).

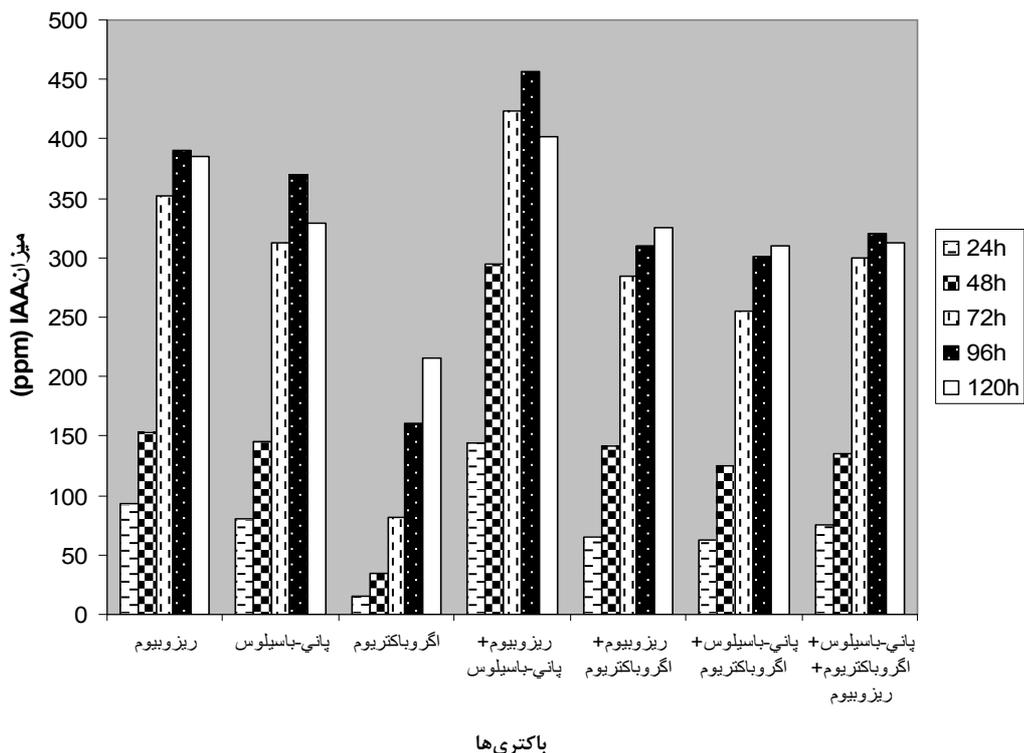
نمودار ۱- میزان تولید هورمون اکسین در ۱۹ باکتری مطالعه شده



نتایج نشان داد سویه‌های ریزوبیوم دارای بهترین راندمان تولید هورمون نسبت به دیگر باکتری‌ها می‌باشند و بهترین سویه‌ی آن (سویه ۱) که از نخود جداسازی شده بود (ریزوبیوم لگومینوساروم بیووار سیسیری) دارای بالاترین راندمان تولید در حد **۴۳۹ ppm** بود. همچنین یکی از سویه‌های پانی باسیلوس (سویه ۹) و نیز یکی از سویه‌های اگروباکتریوم (سویه ۱۷) و نیز از توپاکتر کروکوکوم (سویه ۱۵) هم دارای تولید نسبتاً خوبی بودند (به ترتیب **۴۲۴ ppm**، **۲۰۵ ppm** و **۱۴۲ ppm**).

نتایج اثر همیاری ۳ باکتری که دارای بهترین تولید هورمون بودند (ریزوبیوم، اگروباکتریوم و پانی باسیلوس) برای تولید این هورمون در نمودار ۲ نشان داده شده است.

نمودار ۲- مقایسه میزان تولید هورمون اکسین در اثر همکاری باکتری‌ها بر حسب ppm در زمان‌های مختلف



نتایج نشان می‌دهد که دو باکتری ریزوبیوم و پانی‌باسیلوس با همکاری یکدیگر دارای بهترین تولید هورمون به میزان **۴۵۶ ppm** در بهترین حالت خود هستند (بعد از ۹۶ ساعت) که نسبت به تولید هورمون توسط خود سوبه‌ی پانی‌باسیلوس به تنهایی (مقدار **۳۷۰ ppm**) و یا ریزوبیوم به تنهایی (مقدار **۳۹۰ ppm**) مقدار بالاتری می‌باشد. همچنین این نتایج نشان می‌دهد که باکتری *اگروباکتریوم* هنگامی که به صورت مخلوط با دیگر باکتری‌ها استفاده می‌شود دارای اثر منفی در تولید هورمون می‌باشد و باعث کاهش تولید به میزان قابل توجهی می‌شود.

منابع

- [1] Ahmad, F. Ahmad, L. Saghirkhan, M. 2004. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and *Fluorescent Pseudomonas* in the presence and absence of Tryptophan. Turk Journal Biology. 29: 29-34.
- [2] Bric, J.M. Bostock, M. Silverstone, S.E. 1991. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. Applied and Environmental Microbiology. 25:535-538.
- [3] Kawaguchi, M. Sydno, K. 1996. The excessive production of Indole-3 acetic acid and its significance in studies of the biosynthesis of this regulator of plant growth and development. Plant Cell Physiology. 37:1043-1048
- [4] Torres-Rubio, M.G. Valencia-Plata, S.A. Bernal-castillo, J. Martinez-Nieto, P. 2000. Isolation of *Enterobacteria*, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp., producers of Indole 3-acetic acid and siderophores, from colombian rice rhizosphere. Revista Latinoamericana de Microbiología. 42:171-176.