مقایسه تولید هورمون رشد اکسین توسط سویه های بومی باکتریهای آزوسپیریلوم و ازتوباکتر در محیطهای کشت مختلف

روزبه محمدی و محسن علمائی

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه گرگان و استادیار گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه گرگان

مقدمه:

ریزوسفر را ناحیه ای با فعالیت های فشرده میکروبی که حاصل ترشحات ریشه ای گیاه می باشد، تعریف کرده اند. جوامع میکروبی این منطقه ازنظر کمی و کیفی با جوامع میکروبی خاک غیرریزوسفری تفاوت بسیار زیادی دارند. باکتریهای منطقه ریزوسفر را که می توانند بر رشد گیاه اثرات مثبت داشته باشند و رشد گیاه را تحریک می کنند، اصطلاحاً **PGPR**[16] می گویند. باکتریهای محرک رشد گیاه با استفاده ازمکانیسم های مختلفی در افزایش رشد و عملکرد گیاه ایفای نقش می کنند. یکی از این مکانیسم ها تولید هورمونهای رشد گیاهی است.

ایندول-۳- استیک اسید(**IAA**) متداولترین اکسین طبیعی است که ترشح آن بوسیله باکتریهای **PGPR** توسط محققین گزارش شده است. تریپتوفان به عنوان اولین پیش ماده بیوسنتز **IAA** در محیط کشت میکروبی است، این ماده پس از طی چند مرحله نهاتاً به **IAA** تبدیل می گردد(۲). تلقیح گیاهان با این باکتریها از طریق تولید هورمونهای رشد در منطقه ریزوسفر باعث افزایش رشد و عملکرد آنها می شود.

مواد و روشها:

به منظور انجام آزمون کمی ایزوله های تولید کننده **IAA**، روش رنگ سنجی با استفاده از محلول سالکوفسکی در نظر گرفته شد. در این آزمون ۸ جدایه باکتری آزوسپریلوم دردو محیط کشت **Nfb** و **Nfb** غنی شده (حاوی ۰/۵ گرم درلیتر نیترات آمونیوم) بدون آگار و معرف رنگی و حاوی تریپتوفان**(100mg/L)** و ۶ جدایه باکتری ازتوباکتر در دو محیط کشت **LG** و **LG** غنی شده(حاوی ۰/۵ گرم در لیتر نیترات آمونیوم) و بدون آگار و معرف رنگی و حاوی تریپتوفان مورد سنجش قرار گرفتند. در ابتدا هرکدام از جنسهای باکتریها درمحیط کشت اختصاصی خود به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و بر روی شیکر دورانی با چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه رشد داده شدند، سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه باکتری به ۲۰ میلی لیتر محیط کشتهای **Nfb** و **Nfb** غنی شده(محیط کشت اختصاصی باکتری آزوسپریلیوم) و **LG** و **LG** غنی شده(محیط کشت اختصاصی باکتری ازتوباکتر) منتقل گردید. متعاقباً نمونه های بر روی شیکر دورانی ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای $30^{\circ C}$ و به مدت ۱۲۰ ساعت شیکر شدند، سپس در زمانهای ۴۸ ساعت و ۱۲۰ ساعت مقدار ۳ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری و محیط کشت سانتریفوژ گردید (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) و یک میلی لیتر از محلول رویی سانتریفوژ شده با ۲ میلی لیتر معرف سالکوفسکی(شامل ۱۵۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی لیتر $FeCl_3.6H_2O$ نیم مولار) مخلوط گردید. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه از زمان اختلاط، شدت جذب رنگ صورتی ایجاد شده بوسیله اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد.

به منظور ترسیم منحنی استاندارد، غلظت های مختلف **IAA** (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) به روش فوق با محلول سالکوفسکی تیمار و مقادیر شدت جذب رنگ ایجاد شده در آنها در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد و مقدار تولید اکسین تولید شده توسط فعالیت باکتری به کمک این منحنی کمی گردید.

نتایج و بحث:

---

[16] **Plant Growth Promoting Rhizobacteria**

توان تولید هورمون ایندول-۳- استیک اسید در میان سویه های آزوسپریلیوم درمحیط **Nfb** در زمان ۴۸ ساعت از ۸/۹۴- ۰/۱۳ میلی گرم در لیتر متغیر بود در حالی که در همین زمان (۴۸ ساعت) درمحیط **Nfb** غنی شده با نیتروژن بین ۴/۱۹-۰ متغیر بود یعنی مقدار کمتری را نسبت به محیط کشت **Nfb** نشان داد.

تولید هورمون **IAA** در زمان ۱۲۰ ساعت افزایش بیشتری نسبت به زمان ۴۸ ساعت نشان داد و بازهم با افزایش نیترات آمونیوم به محیط **Nfb** در زمان ۱۲۰ ساعت در روند تولید هورمون **IAA** نسبت به محیط **Nfb** افزایشی مشاهده نگردید. بیشترین میزان تولید هورمون رشد در زمان ۱۲۰ ساعت در سویه **R_3** به مقدار **10/46 PPm** مشاهده گردید.

میزان تولید هورمون رشد **IAA** بر حسب **ppm** درسویه های آزوسپریلیوم

شماره سویه ها	۴۸ ساعت		۱۲۰ ساعت	
	Nfb	غنی شده **Nfb**	**Nfb**	غنی شده **Nfb**
R_1	۰/۱۳	-	۱/۹۸	۰/۲۹
R_2	۰/۳۹	-	۱/۸۳	۰/۵۹
R_3	۷/۹	۵/۶۳	۱۰/۴۶	۷/۱۲
R_4	۸/۹۷	۳/۶۳	۹/۵۴	۱/۲۶
R_5	۰/۶۴	۰/۱۳	۴/۸۱	۳/۶۳
R_6	-	-	-	۰/۰۳
R_7	۰/۵۹	-	۴/۲۴	۳/۰۶
R_8	۵/۲۲	۴/۱۹	۶/۰۹	۵/۳۷

این مشاهدات با نتایج تولر و همکاران(۳) درخصوص تولید هورمون **IAA** درمحیط **Nfb** دارای سولفات آمونیوم مشابهت دارد. تولید هورمون رشد **IAA** در میان سویه های ازتوباکتر در زمان ۴۸ ساعت در محیط **LG** حدود **ppm** ۴/۹۶- ۰/۵۴ متغیر بود در حالیکه در همین زمان تولید هورمون در محیط **LG** غنی شده مقدار بیشتری را نشان داد و حدود **ppm** ۲۱/۰۵- ۶/۶ متغیر بود، یعنی اینکه با اضافه نمودن نیترات آمونیوم به محیط کشت **LG** تولید هورمون رشد **IAA** توسط سویه های باکتری ازتوباکتر در زمان ۴۸ ساعت نسبت به محیط کشت **LG** افزایش بیشتری نشان داد. تولید هورمون **IAA** در زمان ۱۲۰ ساعت افزایش بیشتری نسبت به زمان ۴۸ ساعت در محیط کشت **LG** نشان داد**(1/21- 6/25 PPm)**. تولید هورمون در محیطهای کشت **LG** غنی شده با ازتوباکتر در زمان ۱۲۰ ساعت به علت ژله ای شدن و رشد بیش از حد باکتری تعیین نگردید.

میزان تولید هورمون رشد **IAA** بر حسب **ppm** در سویه های ازتوباکتر

شماره سویه ها	۴۸ ساعت		۱۲۰ ساعت	
	LG	غنی شده **LG**	**LG**	غنی شده **LG**
S_1	۰/۵۴	۷/۴۸	۳/۵۲	**nd**
S_2	۰/۵۹	۶/۶	۳/۱۶	**nd**
S_3	۰/۸	۱۲/۱۱	۱/۲۱	**nd**
S_4	۲/۲۹	۱۱/۸۵	۱/۷۸	**nd**
S_5	۱/۵۷	۸	۳/۸۳	**nd**
S_6	۴/۹۶	۲۱/۰۵	۶/۲۵	**nd**

منابع:

1- Bashan,Y. and H.Levanony.1990.current status of *Azospirillum* technology

Azospirillum as a challenge for agriculture.Can.J.Microbiol.36:591-600
2- Lambrecht , M ., Y .okon ., A .Vande Broek , and J . vanderlyden.2000.Indole-3-acetic acid : a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interaction. Trend in Microbiology,8(7):298-300
3- Thuler,D.S.,E.I.S.Floh.,W.Handro and H.R.Barbosa.2003.Plant growth regulators and amino acids released by *Azospirillum spp*. In chemically defined media.Letters in Applied Microbiology , 37:174-178