اثر تنش‌های خشکی و شوری بر تولید هورمون IAA در باکتری‌های جداسازی شده از خاک‌های شور و شور-سدیمی

رضا سلیمانی، حسن توفیقی و حسینعلی علیخانی*

دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۲ / پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۲۳

گروه مهندسی علوم خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
*مسئول مکاتبات: halikhani@ut.ac.ir

چکیده. این تحقیق به‌منظور ارزیابی توانایی تولید هورمون Indole acetic acid (IAA) به‌وسیلهٔ باکتری‌های جداسازی شده از خاک‌های متأثر از خشکی و شوری اجرا شد. به‌همین منظور ضمن جداسازی ۴۰۰ باکتری از خاک‌های با درجات مختلف قابلیت هدایت الکتریکی و نسبت سدیم تبادلی، تغییرات تولید IAA، اثر مقادیر مختلف تریپتوفان و تنش‌های خشکی و شوری بر تولید این هورمون تحت بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر تنش‌های خشکی و شوری بر تغییرات تولید IAA از نظر آماری معنی‌دار بود. گونهٔ باکتری *Arthrobacter siccitolerans* (جداسازی شده از خاک‌های شور-سدیمی)، مولد هورمون IAA است و مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که این باکتری در وضعیت تنش خشکی به میزان ۸۴/۳ درصد نسبت به جدایهٔ RS11، هورمون بیشتری تولید کرد. درحالی‌که جدایهٔ RS11 در شرایط بدون تنش خشکی در مرحله اول غربالگری، بیشترین مقدار IAA (۱۰/۴۱ $\mu g.ml^{-1}$) را نسبت به سایر باکتری‌ها تولید کرد. همچنین *A. siccitolerans* تا قابلیت الکتریکی برابر با ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر و پتانسیل اسمزی ۲۵- بار همچنان به تولید IAA ادامه داد. مقدار تولید هورمون IAA به‌ازای مصرف هر واحد تریپتوفان، در این باکتری برابر با ۰/۱ و در باکتری‌های دیگر، کمتر از ۰/۱ بود. با توجه به آزمون‌های انجام شده، برتری نسبی باکتری یادشده محرز شد و برای انجام آزمون‌های مزرعه‌ای در تنش‌های موجود در خاک‌های متأثر از خشکی، شوری و شور- سدیمی پیشنهاد شد.

واژه‌های کلیدی. خشکی، نسبت جذب سطحی سدیم، هدایت‌الکتریکی، هورمون IAA

The effect of drought and salinity tensions on IAA production in isolated bacteria from saline and saline-sodic soils

Reza Soleimani, Hasan Tofighi and Hosseinali Alikhani*

Received 09.12.2013 / Accepted 13.07.2015

Department of Soil Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran
*Correspondent author: halikhani@ut.ac.ir

Abstract. This investigation was carried out to evaluate Indole acetic acid (IAA) production by isolated bacteria from drought and salinity affected soils. Four hundred bacteria were isolated from soils with different levels of electrical conductivity (EC) and sodium adsorption ratio (SAR). Then the ability of these bacteria to produce IAA and the effects of different amounts of tryptophan and drought-salinity tensions on IAA production were analyzed. Results indicated that the effects of drought and salinity tensions on variability of IAA production were statistically significant. One of the bacterial species isolated from saline-sodic soils, *Arthrobacter siccitolerans*, was IAA producer and data comparison indicated that under drought stress conditions it produced IAA 84.3% higher than isolate RS11. While isolated RS11 produced highest rate of IAA (10.42 $\mu g.ml^{-1}$) under normal conditions. Also, *A.siccitolerans* continued to produce IAA until the EC was 40 $dS.m^{-1}$ and OP (Osmosis pressure) was -20 bar. The amount of IAA production per unit of applied tryptophan in this bacterium was 0.1 and in others it was lesser. According to experiments, the relative preference of this bacterium was verified and proposed for field experiments in drought, salinity and salinity-sodicity affected soils.

Keywords. drought, electrical conductivity, IAA, sodium adsorption ratio

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

مقدمه

یکی از مهم‌ترین آثار مستقیم باکتری‌های محرک رشد گیاه، تولید هورمون IAA (Indole Acetic Acid) به‌منزلهٔ متابولیت ثانویه می باشد. این هورمون جزء اکسین‌های فعال فیزیولوژیکی است. نقش اساسی اکسین، در القاء ریشه‌زایی و تشکیل آغازنده ریشه اثبات شده است (Mangang *et al*., 2015). به‌طوری‌که در غلظت‌های کمتر از 10^{-8} مولار، نقش‌های فیزیولوژیکی دیگری نیز در گیاه ایفا می‌کند که از آن‌جمله می‌توان به تغییر در معماری ریشه (Root Architecture) و الگودهی اندام‌ها (Organ Patterning) اشاره کرد (Woodward *et al*., 2005; Lamine *et al*., 2008). در وضعیت تنش‌های خشکی و شوری، کاهش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه را به اختلال در تولید هورمون IAA در گیاه نسبت می‌دهند (Dilfuza, 2011). به‌طوری‌که مصرف IAA در غلظت‌های کم و به طور پیوسته پیشنهاد شده است (Fernandez-Falcon *et al*., 2005). تولید IAA به‌وسیلهٔ ریزموجودات خاک از جمله باکتری‌ها به طور پیوسته انجام می‌گردد (Mandal *et al*., 2007). باکتری‌ها، این هورمون را به منظور بهبود فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه و ایجاد شرایط مناسب در سیکل تشدیدی رشد خود تولید می‌کنند (Mohite, 2013). هورمون IAA تولید شده در این باکتری‌ها، با متعادل‌کردن توزیع اکسین در گیاه، فرایندهای رشد و نمو گیاه ازجمله توسعهٔ ریشه را تنظیم می‌کند (Spaepen, *et al*., 2007). مقدار IAA تولیدشده بستگی به عوامل ژنتیکی و محیطی دارد. با توجه به محدودبودن مسیر تولید IAA در هر گیاه، باکتری‌ها، با ایجاد تنوع در مسیرهای تولید IAA، به تولید پایدار آن در جهت رشد گیاه کمک می‌کنند (Spaepen & Vanderleyden, 2012). مسیرهای اصلی بیوسنتز IAA شامل مسیر Indole-3-Acetamide (IAM)، مسیر Indole-3-Pyruvate (IPA) و مسیر تریپتامین (Tra) است و بیوسنتزهورمون IAA در باکتری‌ها، بیشتر از مسیر IAM و گاهی از مسیر IPA انجام می‌شود (Mohite, 2013). با توجه به وابسته‌بودن مسیر تولید IAA، به تریپتوفان (Trp-dependent pathway)، در مرحلهٔ اول، ژن *iaaM*، آنزیم تریپتوفان مونواکسیژناز (Tryptophan-2-monooxigenase) را کد می‌کند. این آنزیم تریپتوفان را به IAM تبدیل می‌کند. در مرحلهٔ دوم مسیر، ژن *iaaH*، آنزیم ایندول‌استامیدهیدرولاز (IAM-hydrolase) را کد می‌کند و آنزیم ایندول‌استامیدهیدرولاز، IAM را به IAA و آمونیوم تبدیل می‌کند (Matsukawa *et al*., 2007). همچنین تولید هورمون IAA به‌شدت به وضعیت محیطی موجود در آشیان اکولوژیکی باکتری‌ها، از جمله فاکتورهای لازم برای فعالیت‌های میکروبی شامل اسیدهای آلی، قندها و دیگر متابولیت‌های گیاهی مثل L-Tryptophane (پیش‌مادهٔ تولید اکسین) وابسته است. در تحقیقاتی مشخص شد که توان تولید اکسین توسط *Pseudomonas putida* با افزودن تریپتوفان به محیط کشت باکتری، افزایش یافت (Patten & Glick, 2002). به‌طوری‌که در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان، به‌ترتیب ۱۴/۵، ۲۲/۵، ۲۶/۲ و ۳۲/۷ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA تولید شد. در تحقیقات دیگر نیز مشخص شده‌است که مصرف تریپتوفان، توانایی تولید هورمون IAA را به‌وسیلهٔ باکتری سودوموناس افزایش داد به‌طوری‌که Bent و همکاران گزارش کردند که در غلظت‌های ۰/۱، ۲۵ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان، به‌ترتیب ۷/۱، ۱۲ و ۹۶ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA تولید شد (Bent *et al*., 2001). در بین گونه‌های مختلف باکتری نیز تفاوت‌های زیادی در مقدار تولید هورمون IAA گزارش شده است به‌طوری که *Ensifer meliloti* و *Rhizobium leguminosarum* به‌ترتیب ۲۰ و ۲ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA تولید کردند (Dilfuza, 2011).

تاکنون مطالعه‌ای درباب توان تولید هورمون IAA در باکتری‌های بومی در خاک‌های مناطق جنوب‌غربی کشور که تحت تنش با درجات مختلف خشکی، شوری و شور-سدیمی قرار دارند و همچنین پاسخ‌های باکتری‌های مولد، به تنش‌های شوری و خشکی انجام نشده‌است. بنابراین تحقیق حاضر به‌منظور تعیین مناسب‌ترین جدایهٔ باکتری مولد هورمون IAA از نظر توانایی تحمل خشکی و شوری و کاراترین آن ازنظر مصرف تریپتوفان انجام شد.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

مواد و روش‌ها

برای تهیهٔ نمونه‌های خاک و جداسازی باکتری‌ها از خاک با استفاده از دستگاه موقعیت‌یاب جهانی (GPS) و دستگاه EC سنج پرتابل، اقدام به مکان‌یابی و نمونه‌برداری از تودهٔ خاک‌های شور، شور-سدیمی و معمولی و خاک ریزوسفری گیاه گندم در استان خوزستان و جنوب استان ایلام شد. نمونه‌های مرکب خاک به مقدار دو کیلوگرم از این خاک‌ها از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری تهیه شد و نمونه‌ها پس از هوا خشک‌کردن به‌منظور تجزیه‌های شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس از خاک‌ها، گل اشباع تهیه‌شده و pH و EC عصارهٔ اشباع، غلظت کلسیم، غلظت سدیم و پتاسیم به روش فلیم فتومتری اندازه‌گیری شدند (Page *et al*., 1982). باتوجه به این نتایج Sodium Adsorption Ratio محاسبه شد. با توجه به نتایج تجزیه شیمیایی خاک‌ها، از خاک‌های شور، شور-سدیمی و معمولی ۵۶ نمونه خاک برای جداسازی باکتری‌ها انتخاب شد. به‌این‌منظور، ابتدا سوسپانسیون همگن از هر نمونه، با انتقال ۱۰ گرم خاک به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. سوسپانسیون تهیه شده، در شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و پس از آن، سری‌های رقت (از 10^{-1} تا 10^{-9}) تهیه گردید. در نهایت، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت، بر روی پلیت حاوی محیط کشت Nutrient Agar با روش کشت چمنی پخش شد (Wang *et al*., 2007). تمام پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۵ روز گرماگذاری شدند. به‌منظور خالص-سازی جدایه‌ها، کلنی‌های تشکیل شده از بالاترین رقت‌های هر نمونه کشت شده انتخاب و دوباره بر روی محیط کشت NA رشد داده شدند. کلونی‌هایی که پس از کشت‌های متوالی مشابهت داشتند انتخاب شده و برای استفادهٔ بعدی روی محیط کشت شیب‌دار در یخچال نگهداری شدند.

ارزیابی جدایه‌های باکتری از نظر توان تولید هورمون IAA

توانایی تولید هورمون IAA با روش پیشنهادی Bric انجام شد. برای اندازه‌گیری کمی تولید IAA در محیط کشت مایع، شدت رنگ ایجاد شده در اثر استفاده از محلول سالکوفسکی با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجش شد؛ به‌نحوی که ابتدا باکتری‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت TSB کشت داده شد. در مرحلهٔ غربالگری اولیه، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری در مرحلهٔ غربالگری اولیه به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت دارای ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان و در مرحلهٔ بعد به‌منظور مقایسهٔ کارایی مصرف تریپتوفان همین مراحل با استفاده از محیط کشت حاوی مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت، سوسپانسیون خالص باکتری به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ g) شد و سلول‌های باکتری از محیط کشت و مواد مترشحه جدا شدند. محلول رویی به نسبت ۱ به ۲ با معرف سالکوفسکی (۱۵۰ میلی-لیتر اسیدسولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی لیتر $FeCl_3.6H_2O$ ۰/۵ مولار) مخلوط گردید. سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و آن‌گاه با استفاده از اسپکتروفتومتر، مقدار جذب نور در طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Patten & Glick, 2002). مقدار تولید هورمون IAA با مقایسهٔ جذب آن با جذب در نمودار استاندارد تهیه‌شده از ایندول‌استیک‌اسید محاسبه شد.

آزمون میزان تحمل به تنش کم‌آبی باکتری‌ها با استفاده از PEG-6000

به‌منظور ارزیابی میزان تحمل جدایه در برابر سطوح مختلف تنش کم‌آبی، از توان رشد آنها در محیط کشت TSB حاوی غلظت های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ استفاده شد. براساس معادله (Michel & Kaufmann, 1973) غلظت های صفر، ۲۰۲/۲، ۲۹۵/۷، ۳۶۷/۷، ۴۲۸/۴ و ۴۸۱/۹ گرم پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ به ازای هر کیلوگرم محیط کشت TSB معادل پتانسیل های آبی صفر، ۵-، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰- و ۲۵- بار است. میزان رشد جدایه‌ها با اندازه گیری OD (Optical density) محیط رشد آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و درصد کاهش رشد هر جدایه در سطوح مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول در مقایسه با میزان رشد همان جدایه در محیط TSB محاسبه شد. سه تکرار از محیط TSB تلقیح نشده حاوی مقادیر مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول نیز به‌عنوان شاهد جهت

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

تعیین میزان OD این محیط در وضعیت فوق تهیه شد (Sandhya *et al*., 2009).

آزمون میزان تحمل در برابر تنش شوری

به‌این منظور، توان رشد جدایه‌های مختلف باکتری در محیط کشت TSB حاوی مقادیر مختلف نمک‌های کلریدسدیم، کلریدکلسیم و کلریدمنیزیم تحت ارزیابی قرار گرفت. مقادیر نمک اضافه شده به‌نحوی تنظیم شد که نتیجهٔ آن، ایجاد شوری‌های صفر، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر بود. سپس تغییرات رشد جدایه‌ها با اندازه گیری OD محیط رشد آنها در طول موج ۶۰۰ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و در بین جدایه‌ها با هم مقایسه شد.

شناسایی جدایهٔ برتر

برای شناسایی باکتری‌های برتر به روش ژنتیکی (16S rRNA)، استخراج DNA با روش استاندارد انجام شد (Dauphin *et al*., 2009). ابتدا لیز سلول و تغییر ماهیت دادن پروتئین با با به‌کارگیری بافر لیزکننده (لیزوزیم، EDTA، SDS، پروتئیناز K)، صورت گرفت و سپس با استفاده از فنل و کلروفرم تمام اجزای غیر از اسیدهای نوکلئیک رسوب داده شد (Maciel *et al*., 2009). در پایان، با استفاده از استات‌سدیم و اتانول مطلق سرد، DNA موجود در محلول رسوب کرد. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (PCR) با شرایط تکثیر استاندارد انجام شد. در این تحقیق، برای تکثیر ژن 16S rDNA جدایهٔ منتخب از پرایمرهای FP (A19-F2) (5′AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3′) و RP(A1R1)(5′AAGGAGGTGATCCAGCCGCA3′) (Lorraine, *et al*., 2000) استفاده شد. محصول به‌دست‌آمده از PCR در ژل آگارز ۱ درصد، بارگذاری و بعد از مشاهدهٔ باند مشخص تحتنظر با توجه به راهنما، برای تعیین توالی به شرکت ماکروژن کرهٔ جنوبی ارسال شد.

تجزیه‌های آماری

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی، تیمار تریپتوفان در شش سطح شامل صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، تنش خشکی در شش سطح شامل صفر، ۵-، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰- و ۲۵- بار و تنش خشکی در ۶ سطح شامل صفر، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ دسی‌زیمنس بر متر با چهار تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و نتایج تجزیهٔ واریانس به‌دست آمد. سپس با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن (DMRT)، میانگین داده ها در سطح ۵٪ با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیهٔ شیمیایی خاک‌های نمونه‌برداری شده نشان داد که محدودهٔ شوری خاک‌ها بین ۰/۱ تا ۲۶/۳ دسی‌زیمنس بر متر و SAR بین ۰/۱ تا ۳۰/۱۲ (میلی‌اکی والان بر لیتر) قرار داشت. همچنین سدیم، کلسیم و منیزیم محلول خاک به‌طور میانگین به‌ترتیب ۵۶، ۲۲ و ۱۷ میلی‌اکی‌والان بر لیتر و میانگین pH خاک‌ها ۷/۶۱ بود. در مجموع تعداد ۴۰۰ جدایه باکتری از خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری جداسازی گردید.

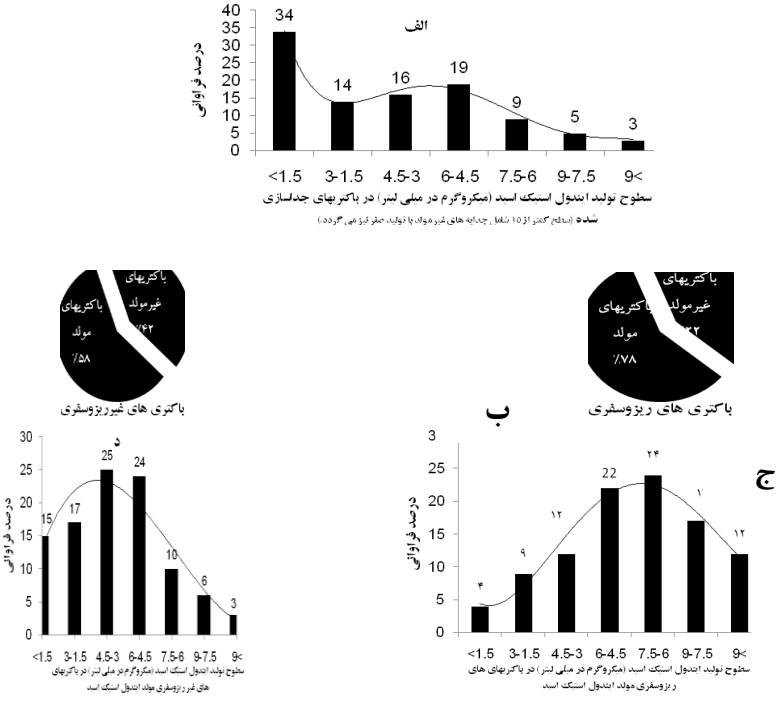
فراوانی مقادیر تولید هورمون IAA توسط جدایه‌های باکتری

فراوانی مقادیر تولید هورمون IAA در محدوده‌های با فاصله های ۱/۵ میکروگرم در میلی‌لیتری در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، مقادیر بالای تولید هورمون IAA، فراوانی‌های کمی داشت؛ به‌طوری‌که تنها در ۳ درصد از باکتری‌ها، مقدار تولید هورمون IAA، بیشتر از ۹ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده و ازطرفی، مقدار تولید IAA در ۳۴ درصد از باکتری‌ها، کمتر از ۱/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. تولید هورمون IAA در محدودهٔ میانه جمعیت (۶-۴/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر)، دارای فراوانی برابر با ۱۹ درصد بود (شکل ۱الف). همچنین مشخص شد که ۷۸ درصد از باکتری‌های جداسازی شده از ناحیهٔ ریزوسفری و ۵۴ درصد از باکتری‌های جداسازی شده از ناحیهٔ غیرریزوسفری (تودهٔ خاک)، مولد هورمون IAA بودند (شکل ۱ب). در این تحقیق، تفاوت‌های دیگری نیز در کمیت تولید IAA در شرایط ریزوسفری و غیرریزوسفر مشاهده شد (شکل ۱ج). به‌طوری‌که بیشترین فراوانی تولید هورمون

IAA در باکتری‌های ریزوسفری، مربوط به محدودهٔ ۷/۵-۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و در تحت باکتری‌های غیرریزوسفری، مربوط به محدودهٔ ۴/۵-۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. به‌عبارت دیگر، اوج نمودار در تحت باکتری‌های جداسازی شده از خاک ریزوسفری به سمت مقادیر بیشینه و در تحت باکتری‌های جداسازی شده از خاک غیرریزوسفری به سمت مقادیر کمینه تولید هورمون IAA کشیده شده‌است. در همین زمینه Mohote (2013) ۱۰ جدایه از ریزوسفر گندم و ذرت با توانایی تولید هورمون IAA گزارش کرد که ۵ باکتری شامل *Bacillus megaterium*، *Lactobacillus acidophilus*، *B. subtilis*، *B. cereus* و *L. acidophilus* کارایی بیشتری داشتند و بین ۵/۱۴ تا ۱۶/۲۲ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA تولید کردند.

تغییرات تولید هورمون IAA

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت‌های بین تولید هورمون IAA در جدایه‌های باکتری ریزوسفری و غیر-ریزوسفری در سطح یک‌درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین مقایسهٔ میانگین تولید هورمون IAA با آزمون چند-دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد که در بین باکتری-های ریزوسفری، جدایه‌های RS11، RN74، RSS57، RSS32 و RS2 به‌ترتیب با تولید ۱۰/۴۱، ۱۰/۳۷، ۱۰/۰۳ و ۱۰/۰۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بیشترین مقدار تولید هورمون IAA را داشته و در بالاترین گروه آماری قرار گرفتند. همچنین در بین باکتری‌های غیر ریزوسفری، جدایه‌های RSS15 و BSS207 به‌ترتیب با تولید ۹/۴۲ و ۹/۳۱ میکروگرم در میلی-لیتر بیشترین مقدار تولید هورمون IAA را داشتند و در بالاترین گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). Kavamura و همکاران (2013) نشان دادند که ۳۰٪ از باکتری‌ها بیشتر از ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و تمام باکتری‌های جنس Bacillus کمتر از ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر هورمون IAA تولید کردند.



شکل ۱- مقایسهٔ فراوانی تولید هورمون IAA در جدایه های باکتری تحت مطالعه. الف-فراوانی تولید در جدایه‌های باکتری؛ ب-نسبت باکتری‌های مولد و غیر مولد؛ ج- مقایسهٔ فراوانی در باکتری‌های ریزوسفری مولد؛ د- مقایسهٔ فراوانی در باکتری‌های غیرریزوسفری مولد.

Fig. 1. Comparison of IAA production frequency in isolated bacteria.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

جدول ۱- خلاصهٔ نتایج تجزیهٔ واریانس (میانگین مربعات) تولید هورمون IAA توسط جدایه‌های ریزوسفری و غیرریزوسفری.

Table 1. Results of variance analysis (mean squares) of IAA production by rhizospheric and non-rhizospheric bacteria.

منبع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات	احتمال
جدایه‌های ریزوسفری			
تکرار	۲	۴/۲۱ ns	۰/۳۴۲
تولید IAA	۸۹	۳۴۵/۶*	۰/۰۱۳
خطا	۱۷۸	۲۴/۲	
CV%=۸/۴۳			
جدایه‌های غیرریزوسفری			
تکرار	۲	۸/۷۵ ns	۰/۴۷۱
تولید IAA	۳۰۹	۶۵۶/۴ *	۰/۰۲۲
خطا	۶۱۸	۵۳/۶	
CV%=۶/۱۲			

* نشان‌دهندهٔ معنی داربودن در سطح ۵ درصد می باشد

جدول ۲- مقادیر هورمون IAA تولیدشده توسط جدایه‌های باکتری برتر ریزوسفری و غیرریزوسفری.

Table 2. Amounts of IAA produced by upper rhizospheric and non-rhizospheric isolated bacteria

ردیف	جدایه‌های ریزوسفری	میانگین تولید IAA ($\mu g.ml^{-1}$)	شیب منحنی تحمل به تنش		ردیف	جدایه‌های غیر ریزوسفری	میانگین تولید IAA ($\mu g.ml^{-1}$)	شیب منحنی تحمل به تنش	
			خشکی	شوری				خشکی	شوری
۱	RS11	۱۰/۴۱a	-۰/۱۷۰c	-۰/۱۲۴c	۱	BS153	۹/۴۲a	-۰/۱۷۹c	-۰/۱۱۸b
۲	RN74	۱۰/۳۷a	-۰/۱۹۳c	-۰/۱۳۸c	۲	BSS207	۹/۳۱a	-۰/۱۹۱c	-۰/۱۳۲c
۳	RSS57	۱۰/۰۳a	-۰/۱۲۸a	-۰/۰۶۳a	۳	BS80	۹/۲۷b	-۰/۱۷۸c	-۰/۱۰۴b
۴	RSS32	۱۰/۰۱a	-۰/۱۸۴c	-۰/۱۰۶b	۴	BSS174	۹/۱۷b	-۰/۱۶۶c	-۰/۱۰۸b
۵	RS2	۱۰/۰a	-۰/۱۸۸c	-۰/۱۵۸d	۵	BN276	۹/۰۲b	-۰/۱۷۱d	-۰/۱۲۶c
۶	RN76	۹/۷۶b	-۰/۱۹۹c	-۰/۱۰۳b	۶	BSS179	۸/۲۸c	-۰/۱۶۶c	-۰/۱۰۱b
۷	RN83	۹/۷۵b	-۰/۱۹۴c	-۰/۱۳۲c	۷	BSS172	۸/۱۳c	-۰/۱۵۷b	-۰/۱۱۵b
۸	RN80	۹/۳۳b	-۰/۲۱۳d	-۰/۱۱۸b	۸	BSS234	۸/۰۱c	-۰/۱۸۸c	-۰/۱۲۵c
۹	RN65	۸/۷۴c	-۰/۱۵۷b	-۰/۰۹۱a	۹	BS96	۷/۵۴c	-۰/۱۶۳c	-۰/۱۲۴c
۱۰	RS10	۸/۷۱c	-۰/۱۳۷a	-۰/۱۰۸b	۱۰	BSS192	۶/۷۳d	-۰/۱۳۹a	-۰/۰۹۸a

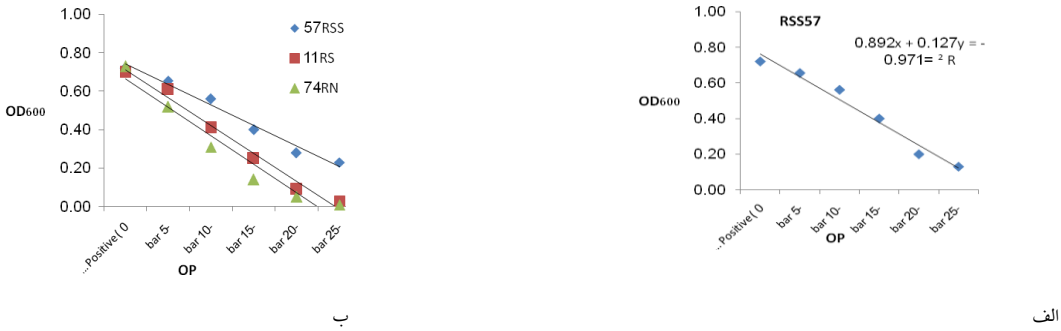
میانگین هایی که با حرف یا حروف مشترک مشخص شده اند براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

R=Rhizosphere, B=Bulck, S=Saline, SS=Saline- sodic, N=Non-saline soils

مقایسهٔ توان تحمل تنش به خشکی و شوری

در باب سنجش تنش خشکی، با حل‌کردن مقادیر مختلف مادهٔ PEG 6000 در محیط کشت باکتری، قابلیت استفاده مولکول-های آب کاهش‌یافته و پتانسیل‌های اسمزی متفاوتی ایجاد شد. همان‌طور که در شکل ۲ در باب جدایهٔ RSS57 مشاهده می-گردد، با افزایش غلظت PEG 6000 در محیط کشت، چگالی نوری (OD_{600}) به عنوان معیاری از رشد باکتری روند کاهشی نشان داد. شیب منحنی حاصل، نشان‌دهندهٔ شدت پاسخ جدایهٔ باکتری به تنش ایجاد شده است. به‌طوری‌که شیب کاهشی کمتر (شیب ملایم‌تر)، نشان دهندهٔ تحمل نسبی بیشتر است که دربارهٔ جدایهٔ RSS57 این شیب برابر با ۰/۱۲۸- بود (شکل ۲). وضعیت کاهشی چگالی نوری و مقایسهٔ سه جدایهٔ برتر مولد هورمون IAA در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول ۲ نشان دادشده‌است، جدایهٔ RSS57 نسبت به جدایه‌های دیگر دارای توان تحمل به خشکی بیشتری بود و پس از آن، جدایه‌های RS10 و BSS192 با شیب‌های ۰/۱۳۷ و ۰/۱۳۹- در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]



شکل ۲- (الف) اثر تنش خشکی بر روند رشد جدایهٔ RSS57 و (ب) مقایسهٔ سه جدایهٔ برتر مولد هورمون IAA.

Fig. 2. The impact of drought tension on A) growth trend of RSS57 isolate and B) comparison of three high IAA producers. OP= Osmosis potential.

همچنین، ارزیابی توان تحمل شوری جدایه‌ها با استفاده از محلول‌های نمکی (ترکیبی از کلریدهای سدیم، کلسیم و منیزیم) نشان داد که در این شرایط نیز، با افزایش EC، چگالی نوری (OD_{600}) به‌منزلهٔ معیاری از رشد باکتری تغییر یافت. در این حالت نیز، روند کلی شیب منحنی حاصل، شدت پاسخ جدایه‌های باکتری را به تنش شوری نشان داد؛ به‌طوری‌که شیب کاهشی کمتر، نشان‌دهندهٔ تحمل نسبی بیشتر است. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می شود جدایهٔ RSS57 با شیب ۰/۰۶۷-، پرتحمل‌ترین جدایه و پس از آن جدایه‌های RN65 و BSS192 به‌ترتیب با شیب‌های ۰/۰۹۱- و ۰/۰۹۸- در رتبه‌های بعدی قرار داشتند.

اثر مصرف تریپتوفان در سطوح مختلف تنش خشکی بر تولید هورمون IAA

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تأثیر غلظت‌های مختلف تریپتوفان، تنش خشکی و برهم‌کنش آنها بر مقدار تولید هورمون IAA به‌ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین، مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که مصرف تریپتوفان در تحت جدایهٔ RSS57 باعث تولید هورمون IAA بیشتری نسبت به سایر جدایه‌ها شد. این جدایه، در غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان، مقدار ۴/۲۲ میکروگرم در میلی‌لیتر هورمون IAA تولید کرد که نسبت به تولید هورمون IAA در جدایه RS11 (با تولید ۲/۲۹ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۸۴/۳ درصد افزایش نشان داد. درحالی‌که جدایهٔ RS11، در وضعیت بدون تنش خشکی در مرحلهٔ اول غربال‌گری، بیشترین مقدار IAA را تولید کرد (جدول ۲).

جدول ۳- خلاصه نتایج تجزیهٔ واریانس (میانگین مربعات) تغییرات تولید هورمون IAA متأثر از مصرف تریپتوفان و سطوح تنش خشکی. ** و * به ترتیب نشان‌دهندهٔ معنی داربودن در سطوح ۱ و ۵ درصد می باشد.

Table 3. Results of variance analysis (mean square) of IAA production variation as affected by tryptophan application and drought tension levels.

منبع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات	احتمال
تکرار	۳	۱۴/۳۲^{ns}	۰/۴۸۲
جدایه باکتری	۹	۴۷۶/۳**	۰/۰۰۲
مصرف تریپتوفان	۵	۱۶۲/۷*	۰/۰۱۳
تنش خشکی	۵	۲۷۴/۵*	۰/۰۱۱
جدایه*تریپتوفان	۴۵	۸۷۶/۲*	۰/۰۳۴
جدایه*تنش خشکی	۴۵	۶۳۴/۷*	۰/۰۲۶
تریپتوفان*تنش خشکی	۲۵	۴۲۹/۶*	۰/۰۱۷
جدایه*تریپتوفان*تنش خشکی	۲۲۵	۹۸۳/۷*	۰/۰۴۱
خطا	۱۰۵	۲۴/۲	

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

در دیگر تیمارهای مصرف تریپتوفان نیز این روند ملاحظه شد؛ به‌طوری‌که در غلظت ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان نیز، ۲۸/۳ درصد افزایش تولید هورمون IAA حاصل شد (جدول ۴). در جدایه‌های دیگر نیز همین روند وجود داشت و جدایه-های با توان تحمل خشکی و شوری بالاتر (جدایه‌های RS10 و BSS192) هم نتوانستند مقادیر درخور ملاحظه‌ای هورمون IAA با مصرف تریپتوفان تولید کنند و پایداری تولید مناسبی نسبت به جدایه RSS57 نداشتند. به‌عبارت دیگر افزایش تولید IAA باتوجه به روند افزایشی غلظت تریپتوفان ناچیز بود و در تیمار ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تریپتوفان، مقدار تولید IAA از ۲/۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر تجاوز نکرد. محاسبهٔ کارایی مصرف تریپتوفان نیز نشان داد که در تیمار ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، جدایه‌های RSS57 وBSS192، به‌ترتیب ۰/۱ و ۰/۰۱ میکروگرم در لیترهورمون IAA به ازاء مصرف هر واحد تریپتوفان (یک میکروگرم در لیتر) تولید کردند که بیان‌گر ۱۰ برابر بودن کارایی مصرف تریپتوفان و تولید هورمون IAA در جدایه RSS57 نسبت به جدایه RSS192 بود. درباب دیگر جدایه‌ها نیز کارایی کمتر از ۰/۱ بود. کارایی مصرف تریپتوفان از فرمول زیر محاسبه شد:

$E_t = (P_t - P_c)/Trp_{app}$

E_t= کارایی مصرف تریپتوفان, P_t= تولید هورمون در تیمار با مصرف تریپتوفان

P_c= تولید هورمون در تیمار بدون مصرف تریپتوفان

Trp_{app}= مقدار تریپتوفان مصرف شده

جدول ۴- تغییرات تولید هورمون IAA جدایه‌های برتر در اثر مصرف مقادیر مختلف تریپتوفان (با اعمال تنش‌های خشکی).

Table 4. IAA production variability of bacteria as affected by tryptophan treatments.

ردیف	جدایه‌های باکتری	غلظت تریپتوفان (میکروگرم در میلی‌لیتر)						
		صفر	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	۲۵۰	میانگین
۱	RS11	۱/۱۳d	۲/۲۹d	۳/۳۵c	۴/۴۳b	۵/۰۶b	۵/۲۷a	۳/۵۹B
۲	RN74	۱/۱۲d	۱/۱۷d	۲/۴۲c	۳/۱۲b	۳/۱۸b	۳/۲۲b	۲/۳۷C
۳	RSS57	۱/۵۰d	۴/۲۲b	۵/۶۱a	۶/۱۸a	۶/۴۹a	۶/۸۵a	۵/۱۴A
۴	RSS32	۱/۶۱d	۲/۰۴d	۳/۶۱c	۴/۶۴b	۴/۹۴b	۵/۰۲b	۳/۶۴B
۵	RS2	۱/۱۴e	۱/۲۴d	۲/۲۹c	۲/۵۷c	۲/۹۶c	۳/۱۵b	۲/۰۳C
۶	RN65	۰/۱۰d	۱/۰۱d	۲/۲۶c	۲/۳۴c	۲/۲۷c	۲/۲۹c	۱/۷۱D
۷	RS10	۰/۱۲d	۲/۱۵d	۲/۹۵c	۳/۱۰c	۳/۱۵c	۳/۱۸c	۲/۴۲C
۸	BS153	۱/۵۵d	۱/۹۲d	۲/۴۱c	۳/۳۷c	۴/۲۲b	۴/۳۴b	۲/۹۷C
۹	BSS207	۱/۴۸d	۱/۷۸d	۲/۳۶c	۳/۲۹c	۴/۲۶b	۴/۴۳b	۲/۹۵C
۱۰	BSS192	۱/۴۲e	۱/۷۹d	۲/۰۱d	۲/۰۵d	۲/۱۰d	۲/۱۶d	۱/۵۱D

- میانگین‌هایی که با حرف مشترک مشخص شده اند براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

در این تحقیق، با ملاحظه اثر تنش خشکی و برهم‌کنش تنش خشکی و مصرف تریپتوفان، برتری جدایه RSS57 مشخص شد. به‌نحوی‌که علاوه بر اثر پذیری کمتر از تنش خشکی در تنش‌های با شدت کم، در تنش نهایی (۲۵- بار) نیز این جدایه باکتری توانست به تولید خود ادامه دهد. درحالی‌که در جدایه-های RS11 و RSS32، تولید هورمون IAA، به‌ترتیب ۴/۸۲ و ۴/۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و کاهش تولید، به‌ترتیب ۶۴/۵ و ۶۵/۲ درصد بود (جدول ۵). Ali و همکاران (2009) گزارش کردند که در باکتری‌های جنس *Pseudomonas* با افزایش مصرف تریپتوفان از ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرو گرم در میلی‌لیتر مقدار تولید ۷/۹۳ میکروگرم در میلی‌لیتر در جدایه RSS57 بود. با اعمال تنش ۵- بار، تولید در این جدایه به ۷/۳۹ میکروگرم در

میلی‌لیتر می‌رسد که نشان دهندهٔ ۷/۳۰ درصد کاهش تولید IAA از ۹/۵۲ به ۲۸/۴۱ میکروگرم در میلی‌لیتر افزایش یافت.

جدول ۵- مقایسهٔ تغییرات تولید هورمون IAA در سه جدایهٔ برتر، متأثر از برهم‌کنش مصرف تریپتوفان و تنش خشکی.

Table 5. Comparison of variability in IAA production of three upper isolates as affected by tryptophan and drought tension interaction.

تنش خشکی (بار)	غلظت تریپتوفان (میکروگرم در میلی‌لیتر)						
	صفر	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	۲۵۰	میانگین
	جدایه RSS57						
۰	۲/۰۲d	۵/۹۴b	۸/۷۴b	۹/۹۸a	۱۰/۰۳a	۱۰/۸۸a	۷/۹۳A
-۵	۱/۹۴d	۵/۷۳b	۷/۸۹b	۸/۹۷b	۹/۷۰a	۱۰/۱۳a	۷/۳۹A
-۱۰	۱/۷۱d	۵/۶۸b	۶/۸۴c	۷/۲۸b	۷/۹۵b	۸/۴۱b	۶/۳۱B
-۱۵	۱/۶۸d	۴/۵۵c	۵/۵۹b	۶/۰۴b	۶/۱۳b	۶/۳۳b	۵/۰۵C
-۲۰	۱/۶۵d	۲/۸۶d	۳/۸۶d	۴/۰۳c	۴/۳۰c	۴/۴۰c	۳/۵۲D
-۲۵	۰/۴۰e	۰/۵۳e	۰/۷۲e	۰/۷۸e	۰/۸۵e	۰/۹۳c	۰/۷۰E
	جدایه RS11						
۰	۱/۷۲d	۲/۸۴d	۴/۳۰c	۸/۹۳b	۱۰/۴۱a	۱۰/۴۶a	۶/۵۵A
-۵	۱/۵۴d	۲/۹۴b	۴/۰۸c	۵/۹۷c	۷/۲۸b	۷/۰۸b	۴/۸۲B
-۱۰	۱/۲۱e	۲/۸۹d	۳/۵۸c	۴/۵۱c	۵/۱۵c	۶/۰۹b	۳/۹۱B
-۱۵	۱/۱۸e	۲/۶۷d	۳/۱۱c	۳/۶۶c	۳/۹۹c	۴/۵۶c	۳/۲۰B
-۲۰	۱/۱۵e	۲/۴۰d	۲/۵۴d	۲/۸۹d	۲/۸۷d	۲/۹۰d	۲/۴۶C
-۲۵	۰۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰D
	جدایه RSS32						
۰	۲/۴۸d	۲/۷۸d	۴/۵۸c	۷/۳۲b	۱۰/۳۷a	۱۰/۳۹a	۶/۳۲A
-۵	۱/۸۶d	۲/۵۹d	۴/۴۸c	۶/۶۵b	۶/۸۴b	۶/۹۹b	۴/۸۰B
-۱۰	۱/۸۱d	۲/۴۸d	۳/۲۵c	۵/۴۴b	۵/۷۱b	۵/۷۱b	۴/۱۱B
-۱۵	۱/۷۷e	۲/۲۹d	۳/۲۰c	۴/۸۴c	۳/۷۵c	۳/۸۷b	۳/۲۵C
-۲۰	۱/۷۲d	۲/۱۰d	۳/۱۶c	۳/۶۱c	۳/۱۰c	۳/۱۶c	۲/۷۸C
-۲۵	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰e	۰/۰۰D

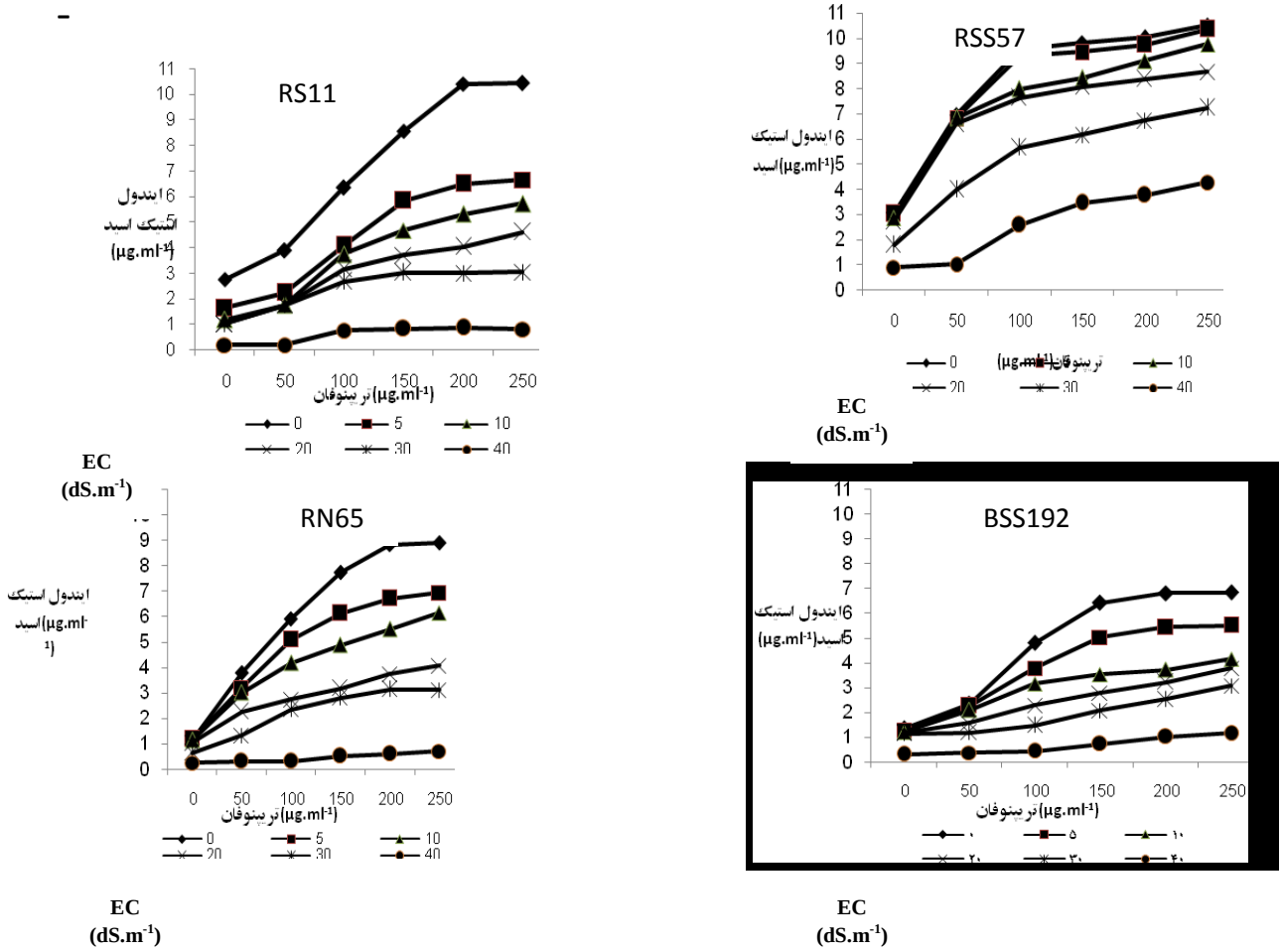
میانگین هایی که با حرف مشترک مشخص شده اند براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری با هم ندارند.

اثر مصرف تریپتوفان و سطوح تنش شوری بر تولید هورمون IAA

بررسی تغییرات تولید هورمون IAA در اثر برهم‌کنش تنش شوری و مصرف تریپتوفان در جدایه RSS57 نشان داد که مقدار شوری برابر با ۵ دسی‌زیمنس برمتر نسبت به شرایط بدون تنش شوری اثر چندانی بر روند تولید IAA در این جدایه نداشت به‌طوری‌که منحنی حاصل از هر دو حالت (بدون تنش و تنش در سطح EC برابر با ۵ دسی‌زیمنس بر متر) روی هم قرار گرفتند (شکل ۳). همچنین با مصرف مقادیر کم تریپتوفان نیز، این جدایه برتر توانست مقادیر نسبی قابل ملاحظه‌ای از هورمون IAA نسبت به دیگر جدایه‌ها در وضعیت مشابه، تولیدکند. در جدایه‌های دیگر، کاهش تولید IAA از شوری از ۵ دسی-زیمنس برمتر شروع شده و این موضوع در شکل ۳ با مشاهده فاصله ایجادشده منحنی‌های تنش شوری، نسبت به منحنی بدون تنش شوری (شاهد) مشخص می‌شود.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]



شکل ۳- روند تغییرات تولید هورمون IAA توسط ۴ جدایهٔ برتر در سطوح مختلف تریپتوفان و تنش شوری .

Fig. 3. The trend of variability in IAA production by 4 upper isolates at different levels of tryptophan and salinity tension.

در این تحقیق، باتوجه به این‌که نمونه‌برداری اولیه به تعداد زیاد و از خاک‌های با درجات مختلف EC و SRA انجام شد، باکتری‌های جداسازی‌شده نیز به همان نسبت، متنوع بودند و توانایی‌های متفاوتی در تولید هورمون IAA در شرایط تنش‌های خشکی و شوری و کارایی‌های مختلفی نسبت به مصرف تریپتوفان از خود نشان دادند. Dilfuza (2011) گزارش کرد که ۹۰ درصد از باکتری‌های جداسازی‌شده از ریزوسفر، قادر به تولید هورمون IAA بودند. باتوجه به تجزیه و تحلیل نمودارهای فراوانی، مشخص شد که توانایی تولید هورمون IAA در سطوح بالا، در باکتری‌های جداسازی‌شده از ریزوسفر گندم نسبت به باکتری‌های جداسازی شده از تودهٔ خاک بیشتر بود. به نظر می‌رسد که به‌دلیل وجود ترکیباتی مانند هیدرات‌های کربن و ترکیبات آلی در ترشحات ریشه‌ای اطراف ریشه و همچنین سلول‌های مرده جانداران خاک در ریزوسفر نسبت به توده خاک، فراوانی و مقدار تولید هورمون IAA در باکتری‌های جداشده از ریزوسفر بیشتر بود.

در وضعیت تنش‌های خشکی، شوری و شور-سدیمی، ترشحات ریشه‌ای به تبعیت از رشد گیاه، کمتر بود و تریپتوفان کمتری در اختیار باکتری‌ها قرار می‌گرفت (Ahmed *et al.*, 2008). از-طرفی، جمعیت باکتری‌ها و توده‌های مرده آنها، کمتر بود و منبع تریپتوفان فراوانی در دسترس باکتری قرار نمی‌گرفت. بنابراین کارایی بیشتر مصرف تریپتوفان در این شرایط، تعیین‌کنندهٔ موثر-بودن تلقیح بوده و به‌تدریج با افزایش ریشه‌های گیاه، اثر متقابل باکتری و گیاه در جهت گسترش رشد هر دو موجود زنده پیش می‌رفت. Swain و همکاران (2007) گزارش کردند که

باکتری *Bacillus subtilis*، مقادیر متغیری از هورمون IAA تولید کرد. Ahmad و همکاران (2005) نشان دادند که تعدادی از جدایه‌های *Pseudomonas flurescens* قادر بودند در محیط NB بدون افزودن تریپتوفان، مقادیر بین ۵/۳۴ تا ۲۲/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر IAA تولید کنند. همچنین، باکتری RSS57 در وضعیت تنش‌های خشکی و شوری، بیشتر از دیگر جدایه‌ها، هورمون IAA تولید کرده و پایداری تولید در پتانسیل‌های اسمزی مختلف و مقادیر شوری کم تا زیاد را از خود نشان داد. اهمیت این موضوع از آنجا مشخص می‌شود که محققین مختلف ازجمله Berg و همکاران (2013) اظهار کردند که بخشی از توانایی یک گونهٔ گیاهی برای سازش با شرایط تنش خشکی و شوری به میکروارگانیسم‌های توانا به تولید هورمون‌های رشد گیاهی به‌ویژه IAA در همان وضعیت بستگی دارد. ازآن‌جاکه بخشی از کاهش رشد گیاه در شوری-های پایین، به کاهش تولید هورمون IAA گیاهی در بافت گیاهی نسبت داده می‌شود، لذا هورمون IAA تولیدی ازطریق باکتری‌های تحمل‌کنندهٔ شوری، می‌تواند جبران کنندهٔ این خلاء در گیاه باشد (Alqarawi, *et al*., 2014).

نتیجه شناسایی جدایهٔ باکتری برتر

پس‌از انجام مراحل شناسایی ژنتیکی، نتایج تعیین توالی‌ها، در سایت NCBI بررسی شد و با توجه به میزان قرابت‌ها مشخص شد که به احتمال ۹۹ درصد این جدایه باکتری متعلق به گونهٔ *Arthrobacter siccitolerans* می‌باشد. Narvaez- و Narvaez-Reinaldo و (2010) همکاران گزارش کردند که باکتری‌های جنس *Arthrobacter*، که از ریزوسفر گیاهان مناطق خشک جداسازی شد، تجمع‌دهندهٔ ترکیبات محافظت-کننده از خشکی از جمله ترهالوز و گلوتامین است و همین موضوع باعث دوام آنها در وضعیت تنش خشکی و شوری شده است. هرچند در مورد *A. siccitolerans* گزارشی از تولید IAA مشاهده نشد اما درباب گونه‌های دیگر این جنس تحقیقاتی انجام شده است. Banerjee و همکاران (2010) تولید هورمون IAA را در برخی از گونه‌های Arthrobacter در حدود ۳ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش کردند.

نتیجه‌گیری

بااستفاده از چندین مرحله آزمون و مقایسهٔ جدایه‌ها، یک باکتری متعلق به گونهٔ *Arthrobacter siccitolerans* که از ریزوسفر گندم در خاک شور-سدیمی جداشده بود، ویژگی-های باکتری برتر را داشت. به‌طوری‌که محاسبهٔ کارایی مصرف تریپتوفان نشان داد که در تیمار ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، باکتری مقدار ۰/۱ میکروگرم در لیتر هورمون IAA به ازای مصرف هر واحد تریپتوفان (یک میکروگرم در لیتر) تولید کرد که این مقدار تولید، نسبت به دیگر جدایه‌ها بالاترین مقدار بود. همچنین باکتری مذکور، دارای پایداری تولید هورمون IAA در تنش خشکی و شوری بود و کارایی بالایی نیز در مصرف تریپتوفان داشت. بنابراین، با توجه به نتایج، این جدایه گزینهٔ مناسبی برای انجام آزمون‌های مزرعه‌ای به‌منزلهٔ باکتری محرک رشد گیاه در تنش‌های موجود در خاک‌های شور و شور-سدیمی مناطق خشک و نیمه‌خشک در جنوب‌غربی کشور محسوب می‌شود و می‌تواند به توسعهٔ رشد ریشه، جذب بیشتر آب و عناصر غذایی و درنتیجه افزایش عملکرد گیاهان در اوضاع دشوار محیطی کمک کند.

References

Ahmed, R., Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z.A., and Mahmood, T. 2008. Effect of compost enriched with N and L-tryptophan on soil and maize. – Agronomy Sustainable Development 28: 299-305.

Ali, B., Sabri, A.N., Ljung, K., and Hasnain. 2009. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. – Letters in Applied Microbiology 48: 542-547.

Alqarawi, A.A., Abd Allah, E.F., Hashem, A., Al Huqail, A., Asma, Abdulaziz, A. and Al-Sahli A.A. 2014. Impact of abiotic salt stress on some metabolic activities of *Ephedra alata* Decne. – Journal of Food, Agriculture and Environment 12: 620-625.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]

[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]

Banerjee, S., Palti, R., Sengupta, C., and Standing, D. 2010. Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. – Australian Journal of Crop Science 4: 378-383.

Bent, E., Tuzan, S., Chanway, C.P. and Enebak, S. 2001. Alteration in plant growth andin root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. – Canadian Journal of Microbiology 47:793-800.

Berg, G., Alavi, M., Schmidt, C.S., Zachow, C., Egamberdieva, D. and Lugtenberg, F.B. 2013. Biocontrol and osmoprotection for plants under saline conditions. In: J. de Bruijn Frans (Ed.), Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere. – Wiley-Blackwell, USA.

Dauphin, L., Moser, A. and Bowen, M.D. 2009. Evaluation of five commercial nucleic acid extraction kits for their ability to inactivate *Bacillus* anthracis spores and comparison of DNA yields fom spores and spiked environmental samples. – Journal of Microbiology Methods 76:30-37.

Dilfuza, E. 2011. Indole-acetic acid production by root associated bacteria and its role in plant growth and development. In: Keller, A.H., and Fallon, M.D. (Ed.), Auxins: Structure, Biosynthesis and functions. – Nova Science Publishers, Inc.

Fernandez-Falcon, M., Borges, A. and Borges-Perez, A. 2003. Induced resstance to *Fusarium* wilt of banana by exogenous applications of indoleacetic acid. – Phytoprotection 84:149-153.

Lamine, B., Maria, L.V. and Marc-Andre, F. 2008. Induction and growth of hairy roots for the production of medicinal compounds. – Electronic Journal of Integrative Bioscience 3:1-9.

Lorraine, G.W., D.L. Balkwill, F.H. Crocker, B.N. Bjornstad, and Robert, V.M. 2000. Genetic diversity among *Arthrobacter* Species collected across a heterogeneous series of terrestrial deep-subsurface sediments as determined on the basis of 16S rRNA and *recA* gene sequences. – Applied Environmental Microbiology 66: 3454-3463.

Kavamura, V.N., Santos, S.N., and Melo, I.S. 2013. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. – Microbiological Research 168: 183-191.

Maciel, B.M., Santos, A.C.F., Dias, J.C.T., Vidal, R.O., Dias, R.G.C., Gross, E., Cascardo, J.C.M. and Rezende, R.P. 2009. Simple DNA extraction protocol for a 16S rDNA study of bacterial diversity in tropical landfarm soil used for bioremediation of oil waste. – Genetics and Molecules Research 8: 375-388.

Mandal, S.M., Mondal, K.C., Dey, S. and Pati, B.R. 2007. Optimization of cultural and nutritional conditions for indole-3-acetic acid (IAA) production by a *Rhizobium* sp. isolated from root nodules of Vigna mungo (L.) Hepper. – Research Journal of Microbiology 2: 239-246.

Mangang, J.S., Deaker, R. and Rogers, G. 2015. Early seedling growth response of lettuce, tomato and cucumber to *Azospirillum brasilense* inoculated by soaking and drenching. – Horticultural Science 42: 37-46.

Matsukawa, E., Nakagawa, Y., Iimura, Y. and Hayakawa, M. 2007. Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. – Actinomycetologica 21: 32-39.

Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. – Plant Physiology 51:914-916.

Mohite, B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. – Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13: 638-649.

Narváez-Reinaldo, J.J., Barba, I., González-López, J., Tunnacliffe, A. and Manzanera, M. 2010**.** Rapid method for isolation of desiccation-tolerant strains and xeroprotectants. – Applied Environmental Microbiology 76: 5254-5262.

Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. 1982. Methods of Soil Analysis. 2nd Edn. – American Society of Agronomy, Madison, WI., USA.

Patten, C.L. and Glick, B.R. 2002. Role of *pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of host plant root system. – Applied Environmental Microbiology 68: 3795-3801.

Sandhya, V., Ali S.K.Z., Minakshi, G., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. 2009. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. – Biology and Fertility of Soils 46: 17-26.

Spaepen, S., Vanderleyden, J. and Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. – FEMS Microbiological Review 31:425-448.

Spaepen, S. and Vanderleyden, J. 2012. Auxin and plant-microbe interactions. – Cold Spring Herbal Perspect Biology 10: 1-14.

Swain, M.R., Naskar, S.K. and Ray, R.C. 2007. Indole3-acetic acid production and effect on sproutingof yam. (*Dioscorea rotundata* L) Minisetts by *Bacillus subtilis* isolated from culturable cowdungmicroflora. – Polish Journal of Microbiology 56: 103-110.

Wang, Q.F., Li, W., Liu, Y.L., Cao, H., Li, Z. and Guo, G.Q. 2007. *Bacillus qingdaonensis* sp. nov., a moderately haloalkaliphilic bacterium isolated from a crude sea-salt sample collected near Qingdao in eastern China. – International Journal of Systematic Evolution in Microbiology 57: 1143-1147.

Woodward, A.W. and Bartel, B. 2005. Auxin: regulation, action, and interaction. – Annuals of Botany 95: 707-730.

*****

Soleimani, R., Tofighi, H. and Alikhani, H. 2015. The effect of drought and salinity tensions on IAA production in isolated bacteria from saline and saline-sodic soils. – Nova Biologica Reperta 2: 186-198.

سلیمانی، ر.، توفیقی، ح. و علیخانی، ح.ع. ۱۳۹۴. اثر تنش‌های خشکی و شوری بر تولید هورمون IAA در باکتری‌های جداسازی شده از خاک‌های شور و شور-سدیمی.– یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲: ۱۹۸-۱۸۶.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1394.2.3.4.5]
[DOI: 10.21859/acadpub.nbr.2.3.186]