SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

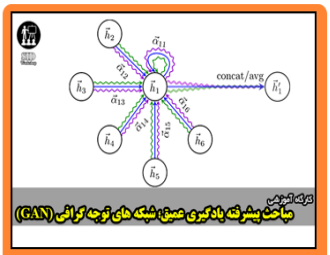
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)

Archive of SID

اولین کنگره بین المللی
و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات
و سومین همایش علوم وتکنولوژی بذر
1st International and
13th Iranian Crop Science Congress
3rd Iranian Seed science and Technology Conference

غربال رایزوباکتریهای تولید کننده ACC دآمیناز بومی ایران

بهناز اوژند*[1]، محمود ملکی[2]، مهدی سلطانی[2] و شهریار شاکری[2]، صدیقه نوروزپور[1]
۱ دانشجوی کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته
۲ گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته
behnaz.oujand@yahoo.com

چکیده:

یکی از مکانیزم های مهم مورد استفاده توسط باکتری های محرک رشد گیاه[1] به منظور توسعه و تسهیل رشد گیاه در شرایط تنشی، کاهش سطح اتیلن توسط دآمینه شدن ۱-آمینوسیکلوپروپان ۱-کربوکسیلیک اسید(ACC)، پیش ماده اولیه اتیلن در گیاهان است. کاهش سطح اتیلن، به گیاهان اجازه تحمل بیشتر در مقابل طیف وسیعی از تنش های محیطی را می دهد. استفاده از باکتری های مفید بعنوان نهاده های کشاورزی برای افزایش تولیدات محصولات کشاورزی مستلزم انتخاب ریزوباکتری های شایسته برای افزایش رشد گیاه است. PGPRهای حاوی ACCدآمیناز، می توانند رشد گیاه را تسهیل کنند و براثرات مضر غلبه کنند.بنابراین چندین جدایه باکتری که می توانندACC را بعنوان تنها منبع نیتروژن استفاده کنند، از نمونه های خاک ریزوسفری جداسازی شدند. این پژوهش با هدف بررسی توان تولید آنزیم ACCدآمیناز در جدایه های رایزوباکتریهای برخی خاکهای ایران و یافتن جدایه های برتر از این نظر انجام شد در این راستا تعداد۵۷ جدایه ریزوبیومی خالص سازی شده از برخی از خاکهای ایران روی محیطM9 با دو منبع نیتروژن (ACC و امونیوم کلرید) کشت داده شدند.همچنین محیط M9 فاقد نیتروژن نیز بعنوان شاهد در نظرگرفته شد.نتایج نشان داد که از میان ۵۷جدایه ریزوبیومی، ۸ جدایه دارای توان تولید آنزیم ACCدآمیناز بودندکه براساس OD در سه گروه قوی، متوسط، ضعیف گروه بندی می شوند.

کلمات کلیدی: اتیلن ، PGPR، ACCدآمیناز

مقدمه:

اتیلن یک فیتوهورمون مهم است که در عملکردهای تنظیمی در اکثر مراحل زندگی گیاه حاضر است و ریشه ها بطور محسوس به مقدار اتیلن از محیط پاسخ می دهند و بطور کلی رشد ریشه ها به غلظت کمی از اتیلن تحریک می شود و غلظت های بالای اتیلن، رشد ریشه را مهار می کند اتیلن به شکل گازی شکل است که بطور داخلی توسط اکثر گیاهان تولید می شود و نیز هم چنین در خاک از طریق انواعی از مکانیسم های زنده وغیر زنده ، تولید می شود و یک نقش اساسی در القای تغییرات فیزیولوژیکی در گیاهان را برعهده دارد . شاخص های فیزیولوژیکی ناشی از اتیلن شامل طولانی شدن خواب بذر، رشد نابجای ریشه و شاخه، ریزش برگ و

[1] PGPR

www.agrobreedcongress.ir
August 24-26,2014
Seed and Plant Improvement Institute Karaj, Iran
۴-۶ شهریورماه ۱۳۹۳
موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر، کرج، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

میوه، القای گلدهی، افزایش ماده زایی در گیاهان دولپه، پیری گل و برگ ، رسیدگی میوه ، تمایز بافت، سنتز آنتوسیانین و پاسخ گیاه به تنش های زنده و غیر زنده است.

تحت شرایط تنشهایی مثل شوری، خشکی، غرقابی، فلزات سنگین و بیماریهای گیاهی تولید اتیلن افزایش می یابد و اثر معکوسی روی رشد ریشه و در کل روی رشد کل گیاه خواهد داشت. برخی از باکتریهای محرک رشد گیاهی (PGPR) دارای آنزیمی به نام آمینو سیکلو پروپان کربوکسیلات دآمیناز (ACCدآمیناز) هستند که سطح اتیلن را با تبدیل کردن آمینو سیکلو پروپان کربوکسیلات (ACC) به آلفا کتوبوتیرات و آمونیوم تنظیم می کند. در واقع تلقیح با PGPRهای حاوی ACC دآمیناز با کاستن از تولید اتیلن القا شده، به شرایط تنش در رشد و نمو پایدار گیاه تحت شرایط تنش کمک خواهد کرد. گیاهانی که با ریزوباکتری های دارای ACCدآمیناز تلقیح شدند دارای تحمل بیشتر در برابر اثرات مضر اتیلن هستند که این اتیلن در اثر تنش های محیطی مثل غرقابی، خشکی و غلظت نمک بالا تولید می شود. نقش اصلی آنزیم ACC دآمیناز ، جلوگیری از اثرات مضر اتیلن تنشی است و همچنین می تواند رشد ریشه و شاخه را نیز بهبود بخشد و در نتیجه ، باعث افزایش طول ریشه های گیاهان می شود. به دلیل اهمیتی که اینگونه باکتریها دارند در این پروژه سعی شده است تا رایزوباکتریهای تولید کننده ACC دآمیناز بومی ایران جداسازی شوند.

مواد و روش **ها:**

جداسازی عمومی:

به منظور جداسازی و غربال رایزوباکتری های تولید کننده ACCدآمیناز، نمونه های خاک از محیط رایزوسفری ریشه گیاهان مختلف واقع در استانهای مختلف تهیه گردیدند. نمونه خاک مورد نظر بوسیله هاون چینی بطور کامل خرد گردیده و یک گرم آن برای تهیه رقت‌های 10^{-6} –10^{-1} و با استفاده از سرم فیزیولوژی بکار رفت. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رقت ۶–۱۰ بر روی محیط کشت NA[2] تلقیح شد. محیط کشت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. پس از ظهور کلونیها، باکتریهای مختلف بصورت تک کلونی کشت شدند و برای آنالیزهای بعدی آماده شدند.

جداسازی اختصاصی:

نمونه ها را پس از خروج از انکوباتور از لحاظ رنگ، شکل، اندازه گروه بندی نموده و آنهایی که مشابه هستند در یک گروه قرار داده می شود حالا آنها را روی محیط کشت جامد نوترینت آگار بطور جداگانه کشت می دهیم.حالا بایست از بین این باکتری ها آنهایی را که توان تولید بالای ACC را دارند ، انتخاب نمود. مراحل کار بدین صورت است که:

ابتدا محیط کشت حداقل مایع درست می کنیم با مواد زیر:

مواد	g.L-1
Na2HPO4	۵/۸
KH2PO 4	۳
NaCl	./۵
CaCl2	۰/۰۲۵
MgSO4	۰/۰۸۸
glucose	۲
NH4CL	۱

[2] nutrient agar

www.SID.ir

Archive of SID

و سویه های باکتری را در این محیط کشت مایع تلقیح داده و در شیکر انکوباتوربا rpm۱۰۰ به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده می شوند، تا باکتری ها رشد کنند. سپس ۳ نوع محیط کشت به شرح ذیل آماده نموده : ۱-محیط کشت حداقل مایع M 9 بدون NH_4CL ۲- M9 با NH_4CL ۳- M9 با ACC . برای این کار میکرو پلیت تهیه نموده و سپس در تمام چاهک های آن ، ۱۲۰ میکرولیترمحیط کشت مایع M9 می ریزیم و در لاین ۱و ۲ که به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته می شود فقط محیط مایع M9 اضافه می شود و در لاین ۳ و ۴ که شاهد مثبت در نظر گرفته می شود علاوه بر M9 ، ۱۵ میکرولیتر NH_4CL به چاهک ها افزوده می شود و در لاین ۵ و ۶ علاوه بر M9 ، ۱۵ میکرولیتر محلول آماده شده ACC 3 m M را به آن افزوده وسپس به تمامی چاهک ها ۱۵ میکرولیتر محیط کشت باکتریایی تلقیح می کنیم و به مدت ۲۴ساعت در انکوباتور گذاشته وسپس OD آنها را با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ۶۳۰ nm بعد از مدت زمان ۲۴ ، ۴۸ ، ۷۲ ساعت خوانده وبا مقایسه OD چاهک های ACC و NH_4CL و شاهد آنها را به ۳ گروه قوی ، متوسط ، ضعیف گروه بندی می نماییم.

نتایج و بحث:

نمونه های ریزوباکتریال روی دو منبع نیتروژن ACC و NH_4CL رشد داده شدند و از بین ۵۷ نمونه ریزوبیومی فقط ۸ سویه دارای قدرت استفاده از ACC بعنوان منبع نیتروژن بودند.

sample	m9	m9+NH4CL	M9+ACC
v11	0.6505	1.2275	0.779
v7	0.7285	1.196	0.8405
y1	0.5785	1.006	0.6945
vermi11	0.434	0.886	0.518
vermi15	0.3	0.815	0.6165
vermi7	0.3215	0.8105	0.557
u2	0.454333333	0.777667	0.558333
v6	0.626	0.933	0.767667

نتایج حاصل از آزمایشات توان تولید آنزیمACCدآمیناز اندازه گیری شده در ۵۷ جدایه ریزوبیومی ، نشان می دهد که برخی از باکتری های ریزوبیومی توان تولید این آنزیم را دارند و می توان آنها را در لیست باکتری های مولد آنزیم ACC دآمیناز قرار داد. هم چنین این آنزیم در بسیاری از باکتری های محرک رشد گیاه ، بعضی قارچها و مخمرها نیز یافت شده است . نکته قابل دریافت از این پژوهش این است که توان تولید این آنزیم در بین جدایه های مختلف ریزوبیومی مولد آن یکسان نیست و ازین جهت جدایه ها براساس OD در طول موج ۶۳۰ نانومتر در مدت زمان ۲۴ ، ۴۸،۷۲ ساعت به ۳ گروه ضعیف، متوسط ، قوی گروه بندی شده اند.جدول ۱ لیست جدایه های ریزوبیومی تولید کننده ACC دآمیناز را نشان می دهد. از بین ۵۷ جدایه، تعداد۸ جدایه ریزوبیومی توانایی تولید آنزیم ACCدآمیناز را نشان دادند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع:

1. **Bajgiran, A. R., Lakzian, A., and Rastin, 2008.N.**, Elongation of shoot and root in wheat by ACC deaminase of Rhizobium spp. indigenous to soils of Iran, *Int J Agr Biol*, vol. 10, pp. 481-486.
2. **Penrose, D. M. and Glick, B. R**., **2003**. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase containing plant growth promoting rhizobacteria, *Physiologia Plantarum*, vol. 118, pp. 10-15.
3. **Arshad, M., Saleem, M., and Hussain**,2007. S., Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation, *Trends in biotechnology*, vol. 25, pp. 356-362.
4. **Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., and Bhatti,2007 A. S**., Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture, *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, vol. 34, pp. 635-648.
5. **Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J., and Duan, J**.,2007. "Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria," in *New Perspectives and Approaches in Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Research*, ed: Springer**,** pp. 329-339.

Screening of ACC producing rhizobacteria originated from Iran

Abstract:

One of the mechanisms utilized by plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR) to facilitate plant growth and development is the lowering of ethylene levels by deamination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) the immediate precursor of ethylene in plants. Decreased ethylene levels allows the plant to be more resistant to a wide variety of environmental stresses. *The use of beneficial bacteria as agricultural inputs for increasing crop production needs the selection of competent rhizobacteria with plant growth promoting attributes. Nodulation in plants is inhibited due to higher levels of ethylene production in the rhizosphere under stress conditions. Rhizobacteria having trait ACC-deaminase can facilitate plant growth to over come these deleterious effects* . Several bacterial strains that can utilize ACC as a sole source of nitrogen have been isolated from rhizosphere soil samples. This study aimed to evaluate the productivity of the enzyme ACC deaminase isolates Rhizobacteria Soils of Iran and all isolates the top of the comments were made in this direction, total of 57 strains of Rhizobacteria purified from some Iranian soils on the M9 with two nitrogen source (ACC and ammonium chloride) were cultured. well as the M9 lacking nitrogen (control) was considered. results showed that among 57 strains of Rhizobacteria, 8 isolates have the ability to produce the enzyme ACC deaminase base on the OD of three strong, moderate, weak, grouped

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

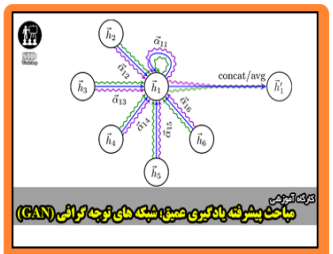
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)