دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران

تبریز، 12 الی 14 شهریور 1390

(بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک)

بررسی تاثیر دونوع مایه تلقیح میکروبی و ترکیب آنها بربرخی صفات فیزیولوژیکی دو رقم گندم در شرایط شور

کبری ثقفی[1]، احمد اصغرزاده[2]،جعفر احمدی[3]،کاظم خاوازی[4]، ندا علیزاده[5]، وحید جعفری[6]

دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه بین المللی امام خمینی

استادیارعضو هیات علمی موسسه تحقیقات خاک وآب

استادیارعضو هیات علمی دانشگاه بین المللی امام خمینی

استادیارعضو هیات علمی موسسه تحقیقات خاک وآب

کارشناس آزمایشگاه بیولوژی موسسه تحقیقات خاک وآب

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

kobra_saghafi@yahoo.com

چکیده:

به منظور تاثیر باکتریهای PGPR[1] در تعدیل اثرات شوری از روی برخی صفات فیزیولوژیکی نظیر پرولین، میزان آب نسبی برگ میزان کلروفیل و شاخص پایداری غشاء در شرایط شور بر روی دو رقم گندم آزمایشی گلخانه ای به صورت آزمایش فاکتوریل با 3 سطح شوری (شاهد و6 و14 دسی زیمنس بر متر) و چهار سطح باکتری بر روی دو رقم کویر و قدس در شرایط یکسان انجام شد نتایج نشان داد که باکتریهای محرک رشد مخصوصا به صورت ترکیبی از جنسهای مختلف میتوانند نقش موثری را سازگاری گیاهان در مقابله با تنش شوری داشته باشند

کلمات کلیدی: باکتریهای محرک رشد، پرولین، تنش شوری، صفات فیزیولوژیکی، گندم

مقدمه:

علاوه بر صفات مورفولوژیکی که در سازگاری گیاه به شرایط تنشی مورد توجه قرارمی گیرند، صفات فیزیولوژیک نیز اهمیت حیاتی در بقا ء و سازگاری گیاهان به تنش های محیطی دارند .از این رو توجه به شاخص های فیزیولوژیکی به منظور مطالعه میزان مقاومت به شوری یکی از جنبه های مهم مقاومت به شوری درگیاهان به حساب می آید (فرشادفر و محمدی، 2003).مطالعه واکنش های فیزیولوژیک به همراه اعمال تیمارهای مختلف در گیاهان زراعی از جمله گندم در شرایط بدون تنش و تنش می تواند به شناسایی ساز و کارهای موثر در سازگاری به تنش شوری کمک کند. باکتریهای PGPR می توانند با به کار گیری مکانیسم های درون سلولی خاص نظیر تولید اسیدآمینه های(پرولین،...) قندها (مالات،...)و هورمونها(آبسیزیک اسید و...) باعث تحریک سیگنالهای مهم مولکولی در شرایط تنشی شده و از این طریق به واکنشهای محیطی پاسخ دهند. همچنین میتوان گفت با توجه به اینکه تجزیه اتیلن تولید شده در شرایط

[1]Plant Growth Promoting Bacteria

(بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک)

شور،توسط باکتریهای PGPRبه واسطه تولید آنزیم ACC-Deaminas مهم ترین و کلیدی ترین مکانیسم دفاعی در شرایط تنش می باشد. با توجه به اهمیت موضوع و ضرورت بکار گیری روشهای مناسب برای کاهش اثرات سوء شوری، هدف از انجام ایت پژوهش بررسی تاثیر باکتریهای محرک رشد گیاه در تعدیل اثرات زیانبار تنش شوری به وسیله بررسی صفات فیزیولوژیک بود.

مواد و روشها:

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی که فاکتور اول با سه سطح شوری (شاهد، 6 و14 دسی زمنس بر متر) وفاکتور دوم با چهار سطح باکتری(شاهد بدون تلقیح، سودوموناس سویه 169، ازتو باکترسویه 5 و ازتو باکتر +سودوموناس)، مجموعا 12 تیمار در سه تکرار بر روی دو رقم متفاوت از گیاه گندم (کویر مقاوم به شوری و رقم قدس حساس به شوری) از نظر مقاومت به تنش شوری بود . که در شرایط کاملا مشابه و یکسان در گلخانه موسسه تحقیقات خاک و آب اجرا شد. در این آزمایش از دومنبع نمک$Nacl+Cacl_2$ با نسبتهای اکی والانی یکسان استفاده شد.پس از استریل کردن بذرها و تیمار با مایه تلقیح ، تعداد 25عدد بذر در گلدانهای 4 کیلوگرمی محتوی ماسه استریل شده کشت شدند جهت آبیاری گلدانها از محلول غذایی هوگلند شور استفاده شد. برای جلوگیری از وارد شدن شوک به گیاهان تیمارهای شوری به صورت تدریجی اعمال گردید. هم چنین به منظور اطمینان از حصول شوری مورد نظر هر هفته یک بار هدایت الکتریکی آب زیر گلدانی اندازه گیری می شد..

شاخص پایداری غشاء سلولی(CMI) از طریق اندازه گیری مقدار نشت الکترولیتی از قطعات برگ انجام شد(سعداله و همکاران1990) درصد سبزینگی برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل متر مدل CCM200 اندازه گیری شد. برای سنجش پرولین از روش (Bates et al.,1987) استفاده شد. محتوای آب نسبی برگ (RWC) نیز طبق روش سایرام و ساکسنا (2000) اندازه گیری شد

نتایج و بحث:

نتایج حاصل ازآنالیز واریانس داده ها بیانگر اثر معنی دار فاکتورهای شوری و باکتری و اثر متقابل شوری و باکتری در هر دو رقم بوده است.همچنین آزمون T-TEST بین دو رقم نیز حاکی از مقاومت بیشتر رقم کویر نسبت به تنش شوری بود هر چند از نظر میزان پرولین دو رقم تفاوت معنی داری نداشتند.

افزایش شوری باعث کاهش میزان آب نسبی برگ (RWC) نسبت به تیمار شاهد گردید و میزان RWCرا کاهش داد روند کاهش میزان آب نسبی برگ در هر دورقم تقریبا یکسان بود هر چند مقدار کاهش در میزان RWCدر رقم مقاوم کمتر بوده است.

استفاده از باکتریهای سودوموناس و ازتو باکتر به طور جداگانه توا نست تا سطح شوری 6 دسی زیمنس بر متر از کاهش میزان آب نسبی برگ در اثر اعمال تیمار شوری تا حد قابل توجهی جلوگیری کند. و استفاده از تیمار ترکیبی دو باکتری در هر دو رقم در سطح شوری 14 دسی زیمنس به طور معنی داری از اثر مخرب تنش شوری بر میزان آب نسبی برگ جلوگیری نماید.

تاثیرتلقیح با سویه هایی متفاوت از یاکتری سودوموناس، در افزایش میزان آب نسبی برگ و پتانسیل آب برگ در سطوح مختلف شوری، در گیاه کلزا توسط(جلیلی و همکاران2009) عنوان کردند که باکتری های PGPR گیاه را جهت تولید متابولیت های سازگار ترغیب نموده، در نتیجه با کاهش پتانسیل اسمزی در داخل گیاه شرایط برای جذب آب در محیط شور فراهم شده است

فریک و همکاران (2002) علت اصلی کاهش در میزان آب نسبی برگ را چنین عنوان کردند که در شرایط شور سرعت طویل شدن سلول ها و تورژسانس کاهش یافته ، دیواره سلول ها سخت و ضخیم می گردند . که این حالت به علت کاهش پتانسیل آب و جذب بالای یون های سدیم وکلر و اثر آنها بر فرایند های خاص مانند سنتز دیواره می باشد به همین دلیل کاهش مقدار نسبی آب در گونه های مقاوم کمتر است

یک استراتژی مهم در توسعه مقاومت به شوری در گیاهان ، حفاظت غشاء سلولی در طی مواجهه با استرس کم آبی است.در هر دو رقم بیشترین آسیب رسانی به غشاء در تیمار شوری 14که با هیچ باکتری تلقیح نشده بود مشاهده شد تلقیح با باکتریهای(سودوموناس + ازتو باکتر) باعث کمترین مقدار آسیب رسانی به غشاء سلول در اثراعمال تیمار شوری در هر دو رقم گردید باکتریهای سودوموناس و ازتو باکتر هریک به تنهایی نیز توانستند تا حد زیادی از آسیب رسانی به غشاء سلول جلوگیری کنند میزان آسیب رسانی نمک به غشاءسلولی در رقم حساس بیش از رقم مقاوم بود. گزارش شده است. که دیواره سلولی رقم مقاوم نسبت به رقم حساس سخت تر است . و همین مسئله سبب میشودکه که مقاومت غشاء سلول در رقم مقاوم بیش از رقم حساس باشد.زیرا زمانیکه دیواره سلولی سخت تر می شود تخریب غشاء توسط انواع عوامل خارجی سخت تر صورت میگیرد. (جونز و همکاران 1998)

نتایج بدست آمده از اندازه گیری عدد کلروفیل متر نشان داد با افزایش شوری تا سطح $6dSm^{-1}$ در کلیه گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده عدد کلروفیل متر افزایش یافت،هر چندنرخ این افزایش در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده تفاوت معنی داری نداشت ولی مقدار آن در گیاهان تلقیح نشده کمتر بود محققین افزایش عدد کلروفیل متر در گیاهان در شرایط معمولی(غیر شورو بدون تلقیح) را افزایش میزان نیتروژن دربرگ و در شرایط شور را به علت افزایش ضخامت برگ ذکرکرده اند بنابراین علت افزایش در عدد کلروفیل متر تا این سطح شوری در گیاهان تلقیح شده را میتوان هم به افزایش ضخامت برگ وهم به تامین نیتروژن توسط باکتریهای محرک رشد نسبت داد. با افزایش سطح شوری تا $14dSm^{-1}$ در گیاهان تلقیح نشده این عدد کاهش معنی داری را نشان داد .ولی در گیاهان تلقیح شده با باکتری مخصوصا ترکیب دو جنس باکتری مقدار کاهش کمتر بود. همچنین کاهش عدد کلروفیل متر در سطوح شوری بالا می‌تواند در ارتباط با صدمه دیدن کلروفیل‌ها باشد. بررسی منابع نیز در برخی گیاهان نتایج تقریبا مشابهی را نشان داده است وگزارش شده است که غلظت کلروفیل برگ با متابولیسم گیاه، فعالیت آنزیم روبیسکو، میزان نیتروژن برگ و شرایط تنش همبستگی دارد.همچنین عنوان شده است که ممکن است در غلظت بالای املاح، به علت اثری که یون‌ها بر روی پروتئین‌ها دارند، اتصال بین کلروفیل و پروتئین‌های کلروپلاستی سست شده و کلروفیل‌ها تخریب گردند. بنابراین میتوان گفت در گیاهان تلقیح شده میزان تخریب کلروفیل کمتر شده است زیرا این باکتریها با قرار دادن آب و موادغذایی بیشتر در اختیارریشه توانسته اند شرایط بهتری را برای سبز و زنده ماندن گیاه فراهم کنند.

همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها بیانگر افزایش مقدار پرولین با افزایش سطح شوری در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری می باشد که هرچند دو رقم به لحاظ آماری فاقد اختلاف معنی دار بوده اند ولی مقدار آن دررقم کویر بیش از رقم قدس می باشد.همچنین مقدار پرولین در شرایط غیرشور در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با هر یک از باکتریها تفاوت معنی داری را نشان نداد ولی در شرایط شور تلقیح گیاه با باکتری در افزایش مقدار پرولین قابل توجه بود.بطوریکه مقدار پرولین

در سطح شوری $14dSm^{-1}$ در گیاهانی که با هر دو جنس باکتری تلقیح شده بودند بسیار بیشتر بوده است این مسئله نشان میدهد که یکی از مکانیسمهایی که گیاهان برای مقابله با تنش به کار می برند از طریق افزایش مقدار اسید آمینه های نظیر پرولین و ..است عنو ان شده است که در غلظتهای بالای شوری پرولین به بهبود وضعیت رشد گیاه کمک میکند پرولین ممکن است به عنوان یک اسمولیت جهت حفظ تعادل اسمزی سلولها در گیاه عمل کرده و در مقاومت گندمبه شوری دخالت داشته باشد.زیرا ورود یون های محیط به داخل سلول باعث ایجاد تغییر در اسمزیته سلول شده و به منظور حفظ تعادل اسمزی سلول نیاز به تولید اسمولیتهایی مثل پرولین دارد تا بتواند بدون آسیب رسیدن به متابولیسم سلول گیاه را از اثرات زیان‌آور نمک دور نگه دارد.همچنین باکتری ها با تغییر در مکانیزم دفاعی گیاه و از طریق افزایش پرولین با اکسیژن های رادیکال آزاد مقابله می کنند. با وجود مطالعاتی که در زمینه ژن‌های دخیل در افزایش پرولین در سلول، انجام گرفته است ولی درک ارتباط بین بیان این ژن‌ها با تغییرات فیزیولوژیکی ایجاد شده در سلول در طی استرس نیاز به تحقیقات وسیع‌تری در آینده دارد.

قدردانی:

نگارنده بر خود لازم میداند از همکاری بی دریغ بخش آزمایشگاه بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک وآب تقدیر و تشکر نماید.

منابع:

1- صالحی، م. 1381. اثر افزایش CO_2 وتنشهای شوری، خشکی و نیتروژن بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک ومورفولوژیک گندم بهاره. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

2- Bates, L. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

1. Fricke, W. and W. S. Peters. 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed. A study at the cell level. plant physiol. 129: 374-388
2. Jalili, F.; K. Khavazi, E. Pazira, A. Nejati, H.A.; Rahmani. H. Rasuli Sadaghiani., and M. Miransari. 2009. Isolation and characterization of ACC deaminase-producing *fluorescent pseudomonads*, to alleviate salinity stress on canola (Brassica napus L.) growth. J., Plant Physiol 166(6):667-74.
3. Jones, M. M. N. C. Turner, 1998. Osmotic adjustment in leaves of *Sorghum* in response to water deficits. Plant Physiol., 61, 122–126.
4. Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. 2001. Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activiy in tolerant and susceptible genotype. Journal of Agronomy and Crop Science. 186: 63-70.
5. Saleem, M., Arshad, M., Hussain, S., and Bhatti, A. S.2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 34:635–648