تاثیر تلقیح قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری های *Pseudomonas fluorescens* متحمل به خشکی بر عملکرد گیاه گندم در شرایط تنش خشکی

رخساره خلیلی[1*]، حسینعلی علیخانی[2]، مهدی زارعی[3] و سمانه رحمت پور[4]

1 و4- دانشجویان کارشناسی ارشد گروه مهندسی علوم خاک دانشکده فناوری و مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران

2- دانشیار گروه مهندسی علوم خاک دانشکده فناوری و مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران

3- استادیار بخش علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

*E-mail : rokhsareh_khalili@ yahoo.com

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر تلقیح قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری های *Pseudomonas fluorescens* متحمل به خشکی بر عملکرد گیاه گندم در شرایط تنش خشکی بود. برای این منظور آزمایشی گلخانه ای به صورت فاکتوریل و براساس طرح پایه بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل فاکتور اول هشت سطح سویه باکتری، فاکتور دوم دو سطح قارچ و فاکتور سوم سه سطح خشکی بود. نتایج نشان داد که تلقیح مشترک گیاه با قارچ گلوموس موسه و باکتری های *Pseudomonas fluorescens* متحمل به خشکی نسبت به تلقیح مجزای هر یک از آنها شاخص های رشد و عملکرد گیاه گندم را بیشتر افزایش داد.

کلمات کلیدی: **تنش خشکی، *Pseudomonas fluorescens*، قارچ میکوریز آربسکولار، گندم**

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهمترین و رایج ترین تنش های محیطی است که تولیدات کشاورزی را با محدودیت روبرو ساخته و راندمان تولید را در مناطقی که با این پدیده مواجه هستند به شدت کاهش می دهد. در ایران گندم مهمترین و استراتژیک ترین محصول زراعی کشور محسوب می شود. سطح زیر کشت گندم در کشور حدود 6/61 میلیون هکتار برآورد شده است که 38/57 درصد آن آبی و 61/43 درصد به صورت دیم می باشد (بی نام، 1388). طبق آمار های منتشر شده بیش از دو سوم از اراضی کشور در نواحی خشک و نیمه خشک قرار دارند که به طور مستقیم یا غیر مستقیم تحت تاثیر تنش خشکی قرار می گیرند (بی نام، 1385). کمبود آب موثرترین تنش در رشد گیاهان در مناطق نیمه خشک و خشک می باشد. بنابراین ضروری است که میزان کارایی گیاهان در نگهداری و استفاده از آب و مواد غذایی بهبود یابد. تلقیح گیاهان با ریز موجودات سودمند بومی، می تواند تحمل به خشکی گیاهان مناطق خشک و نیمه خشک را افزایش دهد (Marulanda et al., 2007). ریز موجودات فاریشه ای که با شرایط تنشی و زیان آور، سازگار شده اند ممکن است بتوانند جبرانی برای این این گونه شرایط تنشی باشند. از مهمترین ریزموجودات مفیدخاکزی ، می توان به باکتریهای محرک رشد گیاه (PGPR) و قارچهای میکوریز آربسکولار اشاره کرد. با کاربرد قارچ های میکوریز آربسکولار در شرایط تنش خشکی و برقرار شدن همزیستی بین ریشه گیاه و قارچ، این امکان وجود دارد که گیاه از اثرات مفید این همزیستی استفاده کند. قارچ های میکوریز آربسکولار با تولید شبکه ای از هیف ها، حجم خاکی که در دسترس گیاه قرار می گیرد را افزایش می دهند و به این ترتیب شرایط را برای جذب بیشتر آب و عناصر غذایی برای گیاه فراهم می کنند. بسیاری از باکتری های ریزوسفری از طریق برهم کنش های مستقیم یا غیر

مستقیمی که با ریشه گیاه دارند به عنوان باکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) شناسایی و طبقه بندی شده اند. به علاوه بسیاری از ریشه های گیاهان توسط قارچ های میکوریزی کلنیزه شده و حضور آنها رشد گیاه را تحریک می کند (Artursson et al., 2006) . یکی از اثرات خشکی در گیاه، تجمع اتیلن در ریشه آنها و در نتیجه کاهش رشد ریشه و به دنبال آن افت عملکرد گیاه می باشد. در صورت وجود باکتری هایی متحمل به خشکی با توان تولید آنزیم ACC-دآمیناز در فراریشه گیاه، این امکان وجود دارد که در شرایط تنش خشکی این باکتری ها از طریق مکانیسم های مقاومت به خشکی، شرایط نامساعد را تحمل نموده و به رشد خود در شرایط تنشی ادامه داده و با تبدیل پیش ساز اتیلن (ACC) به آلفا کتوبوتیرات و آمونیوم، سطح اتیلن تنشی در گیاه میزبان را کاهش دهند. اگر چه ویژگی های مفید باکتری ها و قارچ های کلنیزه کننده ریشه گیاه، به طور مجزا بررسی شده اند، ولی ضروری است که تأثیرات برهمکنش باکتری ها و قارچ های میکوریزی نسبت به اثرات مجزای آنها در گیاهان نیز مورد بررسی قرار گیرد. این پژوهش در همین راستا و به منظور بررسی چگونگی تاثیر تلقیح مشترک و جداگانه باکتری های گونه ***Pseudomonas fluorescens*** متحمل به خشکی و قارچ میکوریزی گونه ***Glomus mosseae*** در رشد گیاه زراعی گندم تحت شرایط تنش خشکی انجام شده است.

مواد و روشها

به منظور بررسی اثر باکتری های ***Pseudomonas fluorescens*** متحمل به خشکی و قارچ میکوریزی گونه ***Glomus mosseae*** بر رشد و عملکرد گندم رقم چمران در شرایط خشک، آزمایشی درشرایط گلخانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار و در مجموع 144 گلدان انجام شد. عامل اول 8 سطح سویه باکتری (P_0 سطح بدون باکتری (شاهد)، P1 تلقیح با ***Pseudomonas fluorescens*** مولد IAA و ACC- دآمیناز زیاد، P2 تلقیح با ***Pseudomonas fluorescens*** مولد ACC- دآمیناز زیاد، P3 تلقیح با ***Pseudomonas fluorescens*** مولد IAA زیاد، P4 تلقیح با ***Pseudomonas fluorescens*** متحمل به خشکی، P5 تلقیح با ***Pseudomonas fluorescens*** نیمه متحمل به خشکی، P6 تلقیح با ***Pseudomonas fluorescens*** حساس به خشکی و P7 مخلوط تیمارهای P2 وP4، فاکتور دوم قارچ میکوریز آربسکولار در دو سطح F0 (شاهد فاقد قارچ) و F1 (قارچ ***Glomus mosseae***)و فاکتور سوم تنش خشکی به صورت وزنی و در سه سطح S0 (80درصد آب قابل استفاده (بدون تنش))، S1 (50درصد آب قابل استفاده (تنش متوسط)) و S2 (20درصد آب قابل استفاده (تنش شدید)) بود. زادمایه باکتری های منتخب باجمعیت تقریبی $10^8 \times 1$ سلول باکتری در هر میلی لیتر از زادمایه تهیه شد. زادمایه قارچ ***Glomus mosseae*** به روش کشت تله گلدانی (کشت تله ای) و با درصد کلونیزاسیون 80 و تعداد 9 اسپور در گرم زادمایه تهیه شد. بذر گندم رقم چمران از بانک ژن مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر فراهم شد که پس از ضد عفونی شدن، جوانه دار گردید. در این آزمون از گلدانهای پلاستیکی حاوی 4 کیلوگرم خاک استفاده شد. بذرهای جوانه دار شده درون حفره های کاشت قرار گرفت و سپس زادمایه باکتری به میزان 1 میلی لیتر به ازای هر بذر و زادمایه قارچ به مقدار 70 گرم به هر گلدان افزوده شد. بعد از گذشت دو هفته، گیاهان هر گلدان به 3 گیاه در هر گلدان کاهش داده شد. تیمارهای خشکی نیز 3 هفته بعد از کاشت با استفاده از توزین گلدان ها به روش وزنی در سه سطح اعمال شدند. نیاز کودی گلدانها نیز بر اساس خصوصیات شیمیایی خاک محاسبه و به گلدانها اضافه شد. گیاهان به مدت 90 روز در گلخانه نگهداری شدند. شاخص های وزن خشک اندام هوایی (عملکرد بیولوژیک) و وزن خشک دانه (عملکرد دانه) و درصد کلنیزاسیون ریشه تعیین شدند. تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزارهای SPSS و MSTATC و گروه بندی میانگین ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

طبق تجزیه واریانس داده ها اثرات اصلی و متقابل تیمارهای باکتری، قارچ و تنش خشکی بر عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و درصد کلنیزاسیون ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. در این پژوهش با افزایش تنش خشکی در شرایط بدون تلقیح باکتری و قارچ عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه گندم کاهش یافت (جدول 1و 2).

جدول 1- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری (P) و تنش (S) برعملکرد گندم و درصد کلنیزاسیون ریشه به روش آزمون چند دامنه ای دانکن

تیمار	عملکرد بیولوژیک(gr/pot)	عملکرد دانه(gr/pot)	درصد کلنیزاسیون ریشه
P_0S_0	4/147c	1/645i	33/22cd
P_0S_1	3/106gh	1/365jk	24/01f-i
P_0S_2	2/446j	1/233k	19/09i
P_1S_0	3/829cde	2/456b	39/97b
P_1S_1	3/497f	1/903fgh	30/92de
P_1S_2	3/009hi	1/532ij	21/17hi
P_2S_0	4/716ab	2/140c-f	47/22a
P_2S_1	3/632def	1/891gh	36/46bc
P_2S_2	3/348fg	1/626i	23/05ghi
P_3S_0	3/874cd	2/213cd	40/93b
P_3S_1	3/154gh	2/007d-g	29/17def
P_3S_2	2/707ij	1/701hi	23/09ghi
P_4S_0	5/004a	3/454a	51/65a
P_4S_1	3/843cde	2/292bc	40/44a
P_4S_2	3/157gh	1/566ij	28/60d-g
P_5S_0	4/064c	2/092d-g	39/28b
P_5S_1	3/618def	2/024d-g	26/72e-h
P_5S_2	2/891hi	1/932efg	21/67hi
P_6S_0	4/019c	1/893gh	32/12cde
P_6S_1	3/400fg	2/044d-g	23/50ghi
P_6S_2	2/893hi	1/581ij	19/94i
P_7S_0	4/449b	2/154cde	39/05b
P_7S_1	3/531ef	2/004d-g	28/26d-g
P_7S_2	2/915hi	1/631i	20/60i

میانگین های با حداقل یک حرف لاتین مشترک، فاقد تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد

جدول 2- مقایسه میانگین اثر متقابل باکتری(P) و قارچ (F) برعملکرد گندم و درصد کلنیزاسیون ریشه به روش آزمون چند دامنه ای دانکن

تیمار	عملکرد بیولوژیک (gr/pot)	عملکرد دانه(gr/pot)	درصد کلنیزاسیون ریشه
P_0F_0	3/197fg	1/195j	4/740h
P_0F_1	3/384cdef	1/634i	46/14cd
P_1F_0	3/358cdef	1/751ghi	11/35f
P_1F_1	3/533bcd	2/177bc	50/03c
P_2F_0	3/697b	1/824fgh	13/05f
P_2F_1	4/101a	1/947def	58/10b
P_3F_0	3/083g	1/910d-g	12/72f
P_3F_1	3/293defg	2/037cde	49/41c
P_4F_0	3/784b	2/318b	17/80e
P_4F_1	4/219a	2/556a	62/66a
P_5F_0	3/510bcde	1/874e-h	10/96f
P_5F_1	3/538bcd	2/092cd	47/49cd
P_6F_0	3/243efg	1/722hi	6/582gh
P_6F_1	3/632bc	1/957def	43/79d
P_7F_0	3/526bcd	1/719hi	10/39fg
P_7F_1	3/737b	2/140c	48/22c

میانگین های با حداقل یک حرف لاتین مشترک، فاقد تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد

سایر محققین نیز به کاهش درصد کلنیزاسیون ریشه گیاه گندم در شرایط تنش خشکی اشاره نموده اند (Al-karaki and Clark, 1999). علت کاهش درصد کلونیزاسیون احتمالا به دلیل کاهش رشد گیاه در شرایط تنش خشکی و کاهش میزان ترشحات ریشه ای و همچنین کاهش جوانه زنی اسپور به دلیل محدودیت دسترسی اسپور قارچ به آب می باشد. تلقیح باکتری *Pseudomonas fluorescens* و قارچ *Glomus mosseae* در شرایط تنش متوسط (آبیاری با 50 درصد آب قابل استفاده) و تنش شدید (آبیاری با 20 درصد آب قابل استفاده) باعث افزایش معنی دار عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و درصد کلنیزاسیون ریشه نسبت به تیمار شاهد در همان شرایط تنشی گردید. بیشترین عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و درصد کلنیزاسیون ریشه مربوط به گیاهان تلقیح شده با باکتری *Pseudomonas fluorescens* متحمل به خشکی در شرایط بدون تنش (P4S0) و کمترین آن مربوط به گیاهان بدون تلقیح در شرایط تنش شدید (P0S2) بود (جدول 1). Marulanda و همکاران (2009) نشان دادند تلقیح باکتری های متحمل به خشکی تحت شرایط خشک، وزن خشک ریشه، وزن اندام هوایی و مقدار آب گیاه ذرت را افزایش داد. ابوالحسنی و همکاران (1387) نیز نشان دادند که تلقیح گیاه یونجه با جدایه های *Sinorhizobium* مقاوم به خشکی نسبت به جدایه های حساس، به طور معنی داری عملکرد گیاه یونجه را افزایش داد. تمام تیمارهای باکتری در شرایط تلقیح مشترک با قارچ *Glomus mosseae* توانستند عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و درصد کلونیزاسیون ریشه را بیشتر از حالت تلقیح تکی افزایش دهند. تلقیح مشترک *Pseudomonas fluorescens* متحمل به خشکی با قارچ *Glomus mosseae* به گیاه توانست عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و درصد کلونیزاسیون را بیشتر از تلقیح مشترک سایر باکتری ها با قارچ *Glomus mosseae* به گیاه افزایش دهد (جدول 2). نتیجه مشابهی توسط محققین گزارش شده است. Marulanda و همکاران (2009)، افزایش وزن ریشه، وزن خشک اندام هوایی، مقدار آب گیاه و درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاه ذرت را در نتیجه تلقیح مشترک قارچ های میکوریز آربسکولار و باکتری های متحمل به خشکی در شرایط تنش خشکی گزارش نمودند. Kohler و همکاران (2006) گزارش نمودند که تلقیح مشترک قارچ های میکوریز آربسکولار و باکتری های محرک رشد گیاه باعث افزایش معنی داری در شاخص های رشد گیاه *Lactuca sativa* می گردد.

نتیجه‌گیری

تلقیح مضاعف گیاه با قارچ *Glomus mosseae* و باکتری های *Pseudomonas fluorescens* متحمل به خشکی و مولد آنزیم ACC- دآمیناز اثر تنش خشکی بر گندم را از طریق افزایش عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه در گیاه کاهش داد.

منابع

بی نام، 1385.محصولات زراعی و باغی. آمار نامه کشاورزی. جلد اول، نشریه شماره 85/09. وزارت جهاد کشاورزی.

ابوالحسنی زراعتکار م، لکزیان ا، حق نیا غ، آستارایی ع و سرچشمه پور م، 1387. ارزیابی مقاومت به شوری و خشکی جدایه های بومی *Sinorhizobium meliloti* استان کرمان. مجله پژوهش های زراعی ایران، دانشگاه فردوسی مشهد، ج6، ش1، ص1-9.

Al-Karaki GN and Clark RB, 1999. Mycorrhizal influence on protein and lipid of durum wheat grown at different soil phosphorus level. Mycorrhiza 9: 97-101.

Artursson V, Finlay RD and Jansson JK, 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Minireview. Environmental Microbiology 1: 1–10.

Kohler J, Caravaca F, Carrasco L and Roldan A, 2006. Interaction between a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium, an AM fungus and a phosphate-solubilising fungus in the rhizosphere of *Lactuca sative*. Soil Ecology 35:480-487.

Marulanda A, Barea JM and Azcon R, 2009. Stimulation of Plant Growth and Drought Tolerance by Native Microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from Dry Environments: Mechanisms Related to Bacterial Effectiveness. Plant Growth Regul 28:115–124.

Marulanda A, Porcel R, Barea JM and Azcon R, 2007. Drought tolerance and antioxidant activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive Glomus species. Microbial Ecology 54: 543–552.