اثر سویه های مختلف باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم (*Bradyrhizobium japonicum*) بر میزان قندها، پرولین، گلیسین بتائین و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز سویا (*Glycine max* L.)

آذر دخت مهدی پور*[1]، احمد اصغرزاده[2]، علی چراتی[3]، افسانه کلبادی[4]

[1] و [4] کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران

[2] عضو هئیت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب

[3] عضو هئیت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران
*E-mail : admehdipoor @ gmail.com

چکیده

به منظور بررسی اثرات تلقیح 6 سویه مختلف باکتری با سویا، بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شامل قندهای محلول و نامحلول، پرولین، گلیسین بتائین و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ تحقیقی مورد بررسی قرار گرفت. تمامی تیمارهای باکتریایی نسبت به شاهد در شاخص های بررسی شده تفاوت معنی دار نشان دادند. بر اساس نتایج سویه باکتری تولید داخل از نظر میزان تجمع گلیسین بتائین و قندها بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. تجمع پرولین در تیمار های مختلف متفاوت بوده است و از نظر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز سویه BD نسبت به سایر سویه ها برتری داشته است.

کلمات کلیدی: **باکتری برادی ریزوبیوم، سویا، همزیستی، قندها، پرولین، گلیسین بتائین**

مقدمه

رابطه همزیستی تثبیت کننده نیتروژن بین انواع لگوم و باکتری های خانواده ریزوبیاسه (*Rhizobiaceae*) سال هاست که شناسایی شده و مایه تلقیح های تولید شده ریزوبیومی جهت افزایش عملکرد و کاهش مصرف کودهای نیتروژنی در کشت انواع لگوم استفاده می گردد. سویا از لگوم هایی است که از نقطه نظر محتوای روغن و پروتئین از محصولات ارزشمند محسوب می گردد. گونه ریزوبیومی که میزبان اختصاصی گیاه سویا است ریزوبیوم ژاپونیکوم نام دارد (*Aishwath* **و همکاران**، 2003). به این میکروارگانیسم ها کودهای بیولوژیکی (*Biofertilizer*) اطلاق می شود. هدف از این تحقیق بررسی میزان قندها، پرولین، گلیسین بتائین و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ گیاه سویا در همزیستی با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم(*Bradyrhizobium japonicum*) جهت تعیین بهترین سویه می باشد.

مواد و روشها

این تحقیق به منظور مطالعه اثرات تلقیح گیاه سویا رقم JK با سویه های مختلف باکتری همزیست و تعیین بهترین ترکیب باکتری بصورت آزمایش مزرعه ای در ایستگاه تحقیقات قراخیل مرکز تحقیقات کشاورزی مازندران انجام شد

این آزمایش بصورت طرح بلوک های کامل تصادفی با 8 تیمار [شاهد بدون تلقیح، مصرف اوره بر اساس آزمون خاک ، مایه تلقیح های سویای تولید داخل(BD)،RS150، RS151، RS152، RS154 و Nitrogen Italia(BI)] در 4 تکرار که در مجموع شامل 32 کرت بوده به اجرا در آمد. مصرف کودهای شیمیایی به استثنا نیتروژن براساس آزمون خاک انجام شد برای تمامی تیمارها به صورت یکنواخت 5 کیلوگرم کود اوره به عنوان استارتر و به هنگام کشت مصرف گردید. صفات مورد بررسی در این تحقیق شامل قندهای محلول و نامحلول، پرولین، گلیسین بتائین و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ بود که با شاهد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتیجه گیری

همان طور که در جدول 1 نشان می دهد تلقیح سویه‌های مختلف باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم با بذر سویا موجب افزایش میزان قند محلول در سویه‌های BD، RS151 و RS150 نسبت به شاهد گردیده، اما در قند نامحلول تنها سویه BD افزایش نشان داد. محققین بیان کردند که کاهش نیتروژن گیاه، کاهش سنتز پروتئین را به دنبال داشته که این امر موجب نقصان فعالیت آنزیم‌ها در فرآیند سنتز کربن (فتوسنتز) و متابولیسم شده و بدین صورت روی محتوی کربوهیدرات گیاه تاثیر گذاشته است (Lawlor، 2000). نتایج به دست آمده از این تحقیق مشابه نتایج محققین فوق می‌باشد، به طوری که با تلقیح بذر سویا با باکتری برادی ریزوبیوم تثبیت ازت انجام و میزان نیتروژن افزایش، متعاقب آن مقدار پروتئین نیز بالا رفت و به دنبال آن محتوی کربوهیدرات‌ها نیز افزایش یافت.

جدول 1 - خلاصه نتایج(میانگین)

تیمارها	قند محلول (mg g^{-1} DW)	قند نا محلول (mg g^{-1} DW)	پرولین برگ (µ mol g^{-1}FW)	گلیسین بتائین (µ mol g^{-1} DW)	نیترات ردوکتاز (µ mol No2 g^{-1})
Control	58^{c}	4.3^{b}	457^{a}	234^{c}	2.8^{d}
UR	64^{b}	4.1^{b}	365^{c}	238^{bc}	2.6^{e}
BD	72^{a}	4.9^{a}	467^{a}	242^{bc}	2.6^{de}
RS150	64^{b}	4.3^{b}	465^{a}	195^{d}	3.1^{b}
RS151	70^{a}	4.2^{b}	298^{d}	253^{bc}	2.9^{c}
RS152	48^{d}	3.7^{c}	404^{b}	226^{c}	2.2^{f}
RS154	57^{c}	4.1^{b}	251^{e}	243^{bc}	2.1^{f}
BI	58^{c}	3.5^{c}	284^{de}	320^{a}	3.3^{a}

میزان پرولین در برگ سویا نیز تحت اثر تلقیح بذر آن با باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم تنها در سویه‌های BD و RS150 افزایش داشته است. در سایر سویه‌ها کاهش مشاهده شده است (جدول1). تجمع پرولین تحت تنش عمدتاً با افزایش میزان قندهای محلول همراه است. طبق گزارشات محققین اندازه تجمع پرولین نسبتا به سطوح هیدرات‌های کربن وابسته است (Clifford **و همکاران**، 1998). در این پژوهش نیز وابستگی بین پرولین و قند مشاهده می‌گردد. برخی آمینو اسیدها مانند پرولین توسط گیاه میزبان تولید می‌شوند، و اکسیداسیون پرولین به طور فعال در

باکتریوئیدها انجام می‌گیرد. همچنین پرولین به عنوان ذخیره انرژی در همزیستی باکتریایی (باکتریوئیدها) *B. japonicum* و *S. meliloti* نقش ایفا می‌کند. پرولین در شرایط رفع استرس به عنوان منبع سریع قابل دسترسی نیتروژن و کربن به کار می‌رود. در بسیاری از گیاهان در پاسخ به برخی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی تجمع پرولین آزاد مشاهده می‌شود (Curtis و همکاران، 2004 ; Jason و همکاران، 2004). تجمع پرولین تحت تنش عمدتاً با افزایش میزان قندهای محلول همراه است (Clifford **و همکاران**، 1998). همان طور که این نتایج نشان می‌دهد، میزان پرولین در سویه‌های BD و RS150 افزایش داشته است، شاید بتوان چنین تفسیر کرد که باکتریوئیدهای تحت تاثیر این سویه‌ها دارای فعالیت تولید بیشتر پرولین بوده اند و یا به نظر می‌رسد، با تلقیح باکتری‌ها از استرس گیاه نسبت به محیط کاسته شده، در نتیجه گیاه از پرولین به عنوان یک اسمولیت استفاده نکرده است و یا چنانچه استرس اندکی وجود داشته است، گیاه از مکانیسم تولیداسموپروتکتانت دیگری استفاده کرده است (Le Rudullier و همکاران، 1982). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که تنها در تیمار BI و RS151 میزان گلیسین بتائین سویا افزایش معنی داری داشته است، سایر سویه‌ها نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در میزان گلیسین بتائین ایجاد نکردند(جدول1). در این تحقیق به نظر می‌رسد گیاه سویا در محیط طبیعی خود گلیسین بتائین تولید شده توسط باکتری‌ها را از ریزوسفر به عنوان بخشی از مکانیسم سازشی دریافت کرده باشد که با نتایج پژوهشگران مطابقت دارد (Jeffries، 1980). همچنین شاید علت این که سایر سویه‌ها اختلاف معنی دار در میزان گلیسین بتائین نشان ندادند این باشد که این سویه‌ها گلیسین بتائین اگزوژن در دسترس ریشه گیاه قرار نداده اند.

در سویه‌هایی از باکتری‌های PGPR رشد یافته در تنش اسمزی، افزایش و تجمع گلیسین بتائین در محیط کشت دیده شده است (Magdy و همکاران، 1990). بطور کلی نتایج بدست آمده نشان داده است که تیمارهای تلقیح یافته با باکتری‌های برادی ریزوبیوم تاثیر چندانی در تجمع گلیسین بتائین نداشته اند. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ گیاه سویا اختلاف معنی‌داری در تمامی سویه‌ها ایجاد کرده است، به نحوی که سویه‌های BI و RS150 دارای حداکثر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بوده اند (جدول1). محققین نشان دادند که این میکروارگانیسم‌ها سبب افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز و محتوای کلروفیلی می‌شوند(Aishwath و همکاران، 2003). که تا حدی با نتایج این تحقیق مبنی بر افزایش محتوی کلروفیلی مطابقت دارد. پژوهشگران گزارش کردند که آنزیم نیترات ردوکتاز در باکتریوئیدهای ریزوبیوم ژاپونیکوم وجود دارد. همچنین به وجود فعالیت نیترات ردوکتازی در گرهک‌های ریشه سویا تاکید داشتند Randall و همکاران، 1978). نتایج محققین نشان داد که فعالیت نیترات ردوکتاز در گرهک‌های yellow lupine بیشتر از سایر قسمت‌های گیاه بوده است (Polcyn **و** Lucinski، 2004). این گزارشات با نتایج حاضر مبنی بر فعالیت نیترات ردوکتاز در باکتریوئیدهای برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم در سویا که تثبیت بیولوژیک انجام می‌دهند هماهنگی دارد.

منابع

Aishwath O P, Dravid M S and Deshmukh P S, 2003. Nitrate reductase activity and chlorophyll content in wheat as influenced by chemical fertilizers, biofertilizers and farmyard manure. Vol. 24, No. 3: 466-473.

Clifford S C, Arndt S K, Corlett J E, Sankhla N Popp M and Jones HG, 1998. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in Ziziphus mayritiana.

Curtis J, Shearer G and Kohi D H, 2004. Bacterial prolin catabolism effects N2 fixation rate of drought-stressed Soybeans. Plant physiology, V. 136 (2): 3313-3318.

Jason C, Georgia S and Daniel H K, 2004. Proline catabolism affects N2 Fixation Rate of Drought-Stressed Soybeans. Plant Physiol. Vol. 136,3313-3318.

Jeffries R L, 1980. The Role of organic solute in Osmoregulation in halophytic higher plants, P. 135-154. In D. W. Rains, R. C. Valentine, and A. Hollaender (ed.), Genetic engineering of Osmoregulation: impact on plant productivity for food, chemicals, and energy, Plenum Publishing Corp., New York.chapman & Hall, now acquired by Aspon publishers, Inc.Gaithersburg,MD.

Lawlor D W, 2000. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. J. Exp. Bot. 53, pp. 773-787.

Le Rudullier D, Yang S S and Csonka L N, 1982. Nitrogen fixation in Klebsiella pneumoniae during osmotic stress. Effect of exogenous proline or a proline overproducing plasmid. Bhochim. Biophys. Acta 719:273-283.

Magdy A M, Smith L t and Smith G M, 1990. Preferential osmolyte accumolation: A mechanism of osmotic stress adaptation in diazotrophic bacteria. Applied and environmental microbiology. Vol.56,no.9,p.2876-2881.

Polcyn W, Lucinski R, 2004. Functional similarities of nitrate reductase from yellow lupine bacteroids to bacterial denitrification system. J. plant physiol. 158: 829-834.

Randall DD, Russell W J and Johnson D R, 1978. Nodule nitrate reductase as source of nitrogen in soybean, Glycine max (L.).Physiol. Plant. 44: 325-328.