محور مقاله: تنش کم‌آبی گیاه و روش‌های نگهداری آب در خاک

جداسازی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد با مقاومت بسیار زیاد به خشکی از باغات پسته رفسنجان

مژده خلیل پور*[۱]، وحید مظفری[۲]، پیمان عباس‌زاده دهجی[۳]، احمد تاج‌آبادی‌پور[۲]

[۱] دانشجوی دکتری گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان

[۲] دانشیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان

[۳] استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان

mkhalilpour@ymail.com

چکیده

تعیین باکتری‌های محرک رشد مقاوم به خشکی در خاک محلی می‌تواند به‌عنوان یک راه‌کار ساده و سالم برای افزایش رشد درختان پسته در شرایط تنش خشکی مدنظر قرار گیرد. بدین منظور تعداد ۸۰ نمونه خاک از منطقه ریزو سفری باغات مختلف پسته تهیه گردید و باکتری‌های مقاوم به خشکی از این خاک‌ها جداسازی و خالص‌سازی گردید. جهت بررسی مقاومت به خشکی جدایه‌های مختلف از محیط کشت نوترینت براث (NB) با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) استفاده گردید. نتایج نشان داد که حدود ۳۰ درصد از باکتری‌های جدا شده از تمام مناطق مختلف پسته‌کاری به سطح ۱۰ درصد PEG حساسیت نشان دادند و با افزایش سطح PEG بسیاری از جدایه‌ها قادر به رشد نبودند به‌طوری‌که حدود ۵۱ در صد از جدایه ها در سطح ۲۰ در صد PEG از بین رفتند. نتایج هم‌چنین حاکی از آن بود که به ترتیب ۲۹ و ۸ در صد از باکتری‌های مورد بررسی در سطح ۳۰ و ۴۰ درصد PEG رشد کردند. چهار جدایه Kh19 ، Kh42، Kh63، و Kh65 توانستند در سطح ۴۰ درصد PEG رشد کنند. لذا با توجه به نتایج این تحقیق و با شناسایی و بررسی صفات محرک رشدی این جدایه‌ها، می‌توان از جدایه‌های برتر در جهت افزایش مقاومت نهال‌ها و درختان پسته به شرایط تنش خشکی و بهبود رشد و عملکرد آنها استفاده کرد.

کلمات کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، پسته، پلی‌اتیلن گلیکول، خشکی، ریزوسفر

مقدمه

ایران با قرار گرفتن بین عرض‌های جغرافیایی ۲۵ تا ۴۰ درجه از خط استوا در نیم‌کره شمالی، جزء مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود. کمبود آب و تنش ناشی از آن یکی از مهم‌ترین و معمول‌ترین تنش‌های محیطی است که هر ساله خسارت‌های هنگفتی به محصولات کشاورزی در جهان به‌خصوص ایران وارد می‌نماید (صباغ پور، ۱۳۸۲). از آنجا که بیش از ۸۵ درصد آب مصرفی در دنیا، در بخش کشاورزی مصرف می‌شود (Van schilfgaarde, 1994)، حتی کاهش جزئی در میزان مصرف آب در این بخش، آب قابل دسترس برای سایر بخش‌ها را افزایش می‌دهد. مسئله خشکی و کم‌آبی در ایران همواره یکی از مهم‌ترین مسائل و مشکلات کشاورزی بوده است. به‌طوری‌که کشورمان با متوسط نزولات آسمانی معادل ۲۴۰ میلی‌متر در زمره مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا طبقه‌بندی می‌شود (Mohammadkhani and Heidari, 2008). کمبود آب و ناکارآمدی روش‌های استفاده از آن از عوامل اصلی محدودکننده توسعه کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک به‌شمار می‌رود. ازجمله گیاهان مقاوم به شوری و خشکی می‌توان از درخت پسته نام برد. کشت و کار تجاری پسته در مناطقی که دارای تابستان‌های گرم و طولانی و خشک بوده و زمستان سرد دارند امکان‌پذیر است. این درخت به کم‌آبی و خشکی خاک بسیار مقاوم بوده و مقاومت آن به شوری آب و خاک نیز در حد بالایی است (Mohammadkhani and Heidari, 2008). با این حال انتظار می‌رود که مسئله تنش آبی یک آسیب محیطی برای این محصول فراهم آورد چرا که علت مزوفیت و گلیکوفیت بودن آن، همانند همه محصولات باغبانی ولی در سطحی بالاتر از تنش، دچار آسیب و خسارت می‌شود. با توجه به شرایط موجود در مناطق پسته‌کاری ایران استفاده از کودهای زیست محیطی می‌تواند به‌عنوان یک راهکار در سیستم‌های کشاورزی پایدار می‌باشد. جدایه‌های مختلفی در خاک‌ها وجود دارند که تأثیر آنها بر میزبان از نظر تثبیت زیستی و مقابله با تنش‌های محیطی یکسان نیست (Rehman and Nautiyal, 2002). لازمه دستیابی به بهترین کودهای زیستی، شناسایی دقیق جدایه‌های هر منطقه و اکولوژی زیستی آنهاست، در نتیجه جداسازی جدایه‌های مقاوم به شرایط منطقه و اختصاصی پسته و سازگار به شرایط اقلیمی متفاوت می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مد نظر قرار گیرد (McDermoti and Graham, 1990). باکتری‌های محرک رشد از طریق اتصال مستقیم

به سطح ریشه و یا نفوذ به سطوح داخلی ریشه سبب تغییر در فعالیت ریشه و تحریک رشد می‌گردند. این باکتری‌ها از طریق تغییر در مقدار وضعیت هورمونی نظیر افزایش هورمون اکسین و هم‌چنین تغییر در متابولیسم ریشه سبب تحریک ریشه می‌شوند. در شرایط تنش، باکتری‌های محرک رشد سبب تحریک و انتقال سیگنال در بافت گیاه می‌گردد که این امر منجر به تجمع برخی از ترکیبات اسملیت‌کننده در بافت گیاه شده و در نتیجه سبب افزایش تحمل گیاه می‌گردد (Niu و همکاران ۲۰۱۸). بنابراین با توجه به نقش این باکتری‌های محرک رشد گیاه در افزایش مقاومت به شرایط تنش و تحریک رشد در این شرایط، از آن‌ها می‌توان به‌عنوان یک روش بیولوژیک، مفید و سالم برای افزایش مقاومت به گیاهان به شرایط تنش استفاده کرد. بنابراین با توجه به اینکه اغلب مناطق پسته‌کاری در ایران جزء مناطق شور و خشک می‌باشد، استفاده از این باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد مقاوم به شوری و خشکی یک ضرورت می‌باشد. هدف از این مطالعه جداسازی باکتری‌های بسیار مقاوم به خشکی‌های بسیار زیاد از مناطق پسته‌کاری رفسنجان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور جداسازی و خالص‌سازی باکتری‌های مقاوم به شوری خاک برخی از مناطق پسته‌کاری شهرستان رفسنجان، ابتدا ۸۰ نمونه خاک از منطقه ریزوسفری باغات پسته تهیه گردید و برای به حداقل رسیدن تبخیر در داخل پلاستیک‌های استریل به سردخانه دانشگاه ولی‌عصر (عج) انتقال داده شد. سپس در آزمایشگاه باکتری‌ها به‌روش Kumar و همکاران (۲۰۱۷) از خاک جداسازی و خالص‌سازی گردیدند. جهت بررسی مقاومت به خشکی جدایه‌های مختلف از محیط کشت نوترینت براث (NB) با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد PEG (به‌ترتیب معادل ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ گرم بر لیتر) استفاده گردید (wang و همکاران ۲۰۱۴). لازم به ذکر است جدایه‌هایی که در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند، طی آزمایش قبلی مقاومت به شوری آنها مورد بررسی قرار گرفت و تمام این جدایه‌ها به سطح ۱۵ یا ۲۰ درصد شوری مقاومت نشان دادند (خلیل‌پور و همکاران، ۱۳۹۷).

نتایج و بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که ۵۲ جدایه مقاوم به شوری مورد آزمایش، واکنش متفاوتی به سطوح مختلف خشکی در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند. براساس نتایج جدول ۱ حدود ۷۰ درصد جدایه‌های باکتری‌های جداسازی شده به سطح ۱۰ درصد PEG مقاومت نشان دادند. نتایج هم‌چنین نشان داد که حدود ۴۹ درصد از باکتری‌های جداسازی شده از تمام مناطق مختلف پسته‌کاری به سطح ۲۰ درصد PEG مقاومت نشان دادند و سایر جدایه‌ها از بین رفتند. نتایج هم‌چنین حاکی از آن بود که به ترتیب ۲۹ و ۸ درصد از باکتری‌های مورد بررسی در سطح ۳۰ و ۴۰ درصد PEG رشد کردند. چهار جدایه Kh19، Kh42، Kh63، و Kh65 توانستند در سطح ۴۰ درصد PEG رشد کنند (جدول ۱).

خشکی یکی ازمشکلاتی می‌باشد که در سال‌های اخیر تولید بسیاری از محصولات کشاورزی را تحت تأثیر قرار داده، به‌طوری‌که از طریق تأثیر بر پتانسیل آب گیاه، تورژسانس سبب تغییر در بسیاری از شاخص‌های گیاه می‌گردد که این امر سبب کاهش عملکرد می‌گردد (Rahdari and Hoseini, 2012). یکی از اولین علایمی که در شرایط تنش خشکی در گیاه رخ می‌دهد تحریک و سنتز برخی از هورمون‌های گیاهی نظیر اسیدآبسایزیک و اتیلن می‌باشد. گزارش شده است که تنش خشکی تولید اتیلن را در گیاهان افزایش می‌دهد. از طرف دیگر مشخص شده است سطوح بالای اتیلن تأثیر تعدادی از تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی را شدیدتر می‌کند (Vurukonda و همکاران ۲۰۱۶). در مواردی نشان داده شده است که حذف اتیلن تولید شده در نتیجه تنش، تأثیر تنش بر گیاهان را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (Aabeles و همکاران ۱۹۹۲). یک راه جهت کاهش تولید اتیلن تنشی، تلقیح گیاهان با باکتری دارای توان تولید ACC-دآمیناز است. تولید اتیلن در شرایط تنش باعث کند شدن رشد ریشه و در نهایت کاهش رشد و پیری می‌شود (Glick, 2004). این ریزجانداران در افزایش میزان تحمل گیاهان نسبت به تنش‌های زنده و غیرزنده نظیر تنش شوری، خشکی، عناصر غذایی و بیماری‌ها موثر هستند (Dimkpa و همکاران ۲۰۰۹). استفاده از باکتری‌های محرک رشد برای تحریک تحمل گیاهان زراعی (Kasim و همکاران ۲۰۱۳) و باغی نظیر پسته (فتحی و همکاران، ۱۳۹۴) نسبت به تنش‌های غیرزنده نظیر خشکی گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق بهبود توسعه سیستم ریشه، افزایش پایداری غشاء سلولی، بهبود شرایط آبی گیاه، تجمع مواد تنظیم‌کننده اسمزی و بیان ژن‌های افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش خشکی، سبب افزایش رشد و عملکرد گیاه گندم نسبت به شرایط تنش گردید (Kasim و همکاران ۲۰۱۳). هم‌چنین گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد از طریق فعال کردن آنزیم‌های آنتی اکسیدانت سبب افزایش مقاومت گیاه به شرایط تنش شدند (Kasim و همکاران ۲۰۱۳). فتحی و همکاران (۱۳۹۴) نیز طی بررسی بر روی دانهال‌های پسته نشان دادند که باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تنظیم‌کننده‌های اسمزی دانهال‌های پسته سبب افزایش مقاومت این گیاه به شرایط تنش شدند.

جدول ۱- پاسخ ۵۲ جدایه مقاوم به شوری به غلظت‌های مختلف PEG در محیط NB

جدایه	منطقه	۱۰٪	۲۰٪	۳۰٪	۴۰٪
Kh 10	لطف‌آباد، شاهم آباد	+	+	+	_
Kh 15	گلستان	+	_	_	_
Kh 19	بیاض قدیم	+	+	+	+
Kh 22	توکل آباد، محمودآباد	+	_	_	_
Kh 23	توکل آباد	+	+	_	_
Kh 24	توکل آباد	+	+	_	_
Kh 26	بیاض، توکل‌آباد، محموآباد	+	+	+	_
Kh 40	توکل آباد	_	_	_	_
Kh 42	توکل آباد	+	_	_	_
Kh 43	توکل آباد	+	+	+	+
Kh 46	نوق، روان‌مهران	_	_	_	_
Kh 47	گلشن	+	+	_	_
Kh 49	لطف‌آباد، حجت آباد، گیتی آباد	+	+	_	_
Kh 51	لطف‌آباد، حجت آباد، گیتی آباد	+	+	+	_
Kh 54	محموآباد	+	+	+	_
Kh 55	محموآباد	+	+	+	_
Kh 57	لطف‌آباد، حجت آباد، گیتی آباد	+	_	_	_
Kh 63	توکل آباد	+	+	+	+
Kh 64	توکل آباد	_	_	_	_
Kh 65	توکل آباد	+	+	+	+
Kh 66	جوادیه فلاح	+	_	_	_
Kh 68	جوادیه فلاح	+	_	_	_
Kh 71	نوق، روان‌مهران	_	_	_	_
Kh 72	انار، احمد آباد	_	_	_	_
Kh 73	انار، پشت امامزاده	+	+	+	_
Kh 74	انار، پشت امامزاده	+	+	+	_
Kh 76	امیرآباد، گلشن	+	+	_	_
Kh 77	احمد آباد	+	+	_	_
Kh 78	نوق، روان مهران	_	_	_	_
Kh 79	انار، احمد آباد	+	_	_	_
Kh 86	امیرآباد، گلشن	+	+	_	_
Kh 88	جوادیه فلاح	_	_	_	_
Kh 95	جوادیه فلاح	_	_	_	_
Kh 100	جوادیه فلاح	_	_	_	_
Kh 105	جوادیه فلاح	_	_	_	_
Kh 107	عباس‌آباد	+	+	+	_
Kh 108	جوادیه فلاح	+	_	_	_
Kh 109	جوادیه فلاح	+	+	_	_

Kh 112	احمدآباد	–	–	–	–
Kh 114	جوادیه فلاح	–	–	–	–
Kh 119	جوادیه فلاح	+	–	–	–
Kh 124	انار	+	–	–	–
Kh 127	جوادیه فلاح	+	+	+	–
Kh 130	امیرآباد، گلشن	+	+	+	–
Kh 132	جوادیه فلاح	–	–	–	–
Kh 138	انار	+	+	–	–
Kh 150	نوق، روان مهران	+	+	–	–
Kh 155	جوادیه فلاح	–	–	–	–
Kh 158	احمدآباد	+	+	–	–
Kh 160	انار	+	–	–	–
Kh 162	انار	–	–	–	–
Kh 164	انار	+	–	–	–

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق و با شناسایی و بررسی صفات محرک رشدی این جدایه‌ها، می‌توان از جدایه‌های برتر نظیر Kh19، Kh42، Kh63، و Kh65 در جهت افزایش مقاومت نهال‌ها و درختان پسته به شرایط تنش خشکی و بهبود رشد و عملکرد آنها استفاده کرد. با این وجود نیاز به تحقیقات بیشتری در زمینه بررسی توانایی سازگاری این باکتری‌ها با درخت پسته، توان ماندگاری در شرایط آبیاری در باغ و هم‌چنین قدرت کلونیزاسیون ریشه درختان پسته لازم است.

منابع

خلیل‌پور، م.، مظفری، و. و عباس‌زاده دهجی، پ. ۱۳۹۷. جداسازی باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری‌های بسیار زیاد از باغات پسته رفسنجان. دومین همایش ملی پسته دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان.

صباغ پور، س. ح. ۱۳۸۲. سازوکارهای تحمل به خشکی در گیاهان. فصل‌نامه خشکی و خشک‌سالی کشاورزی، شماره ۱۳، صفحه ۳۲-۲۱

فتحی، ف.، صابری، ر. و مرادی، م. ۱۳۹۴. تأثیر چند جدایه سودوموناس فلورسنت بر میزان پرولین، قند محلول و کلروفیل در نهال‌های پسته تحت شرایط تنش خشکی. سومین همایش کنترل بیولوژیکی دانشگاه فردوسی مشهد.

Aabeles F.B., Morgan D.W., and altveit M.E. 1992. Ethylene in Plant Biology. (2nd Ed). Academic Press, New York.

Dimkpa, C., Weinand, T. and Asch, F. 2009. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant, Cell and Environment, 32, 1682–1694.

Glick, B.R. 2004. Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. Advances in Applied Microbiology, 56, 291-312.

Kasim, W.A., Osman, M.E., Omar, M.N., Abd El-Daim, I.A., Abd El-Daim, I.A., Bejai, S. and Meijer, J. 2013. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth- Promoting Bacteria. Journal of Plant Growth Regulation, 32, 122–130.

Kumar, K., Amaresan, N. and Madhuri, K. 2017. Alleviation of the adverse effect of salinity stress by inoculation of plant growth promoting rhizobacteria isolated from hot humid tropical climate. Ecological Engineering, 102, 361-366.

McDermoti, T.R. and Graham, P.H., 1990. Competitive ability and efficiency in nodule formation of strains of Bradyrhizobium japonicum. Applied and Environmental Microbiology, 56, 3035-3039.

Mohammadkhani, N. and Heidari, R. 2008. Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. Turkish Journal of Biology, 32(1), 23-30.

Niu, X., Song, L., Xiao, Y. and Ge, W. 2018. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress. Frontiers in Microbiology, 8, 1-11.

Qin, S., Zhang, Y.J., Yuan, B., Xu, P.Y., Xing, K., Wangle, J. 2014. Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte Limonium sinense, (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress. Plant Soil, 374, 753–766.

Rahdari, P. and Hoseini, S.M. 2012. Drought stress: a review. International Journal of Agronomy and Plant Production, 3, 443-446.

Rehman, A. and Nautiyal, C.S. 2002. Effect of drought on the growth and survival of the stress-tolerant bacterium Rhizobium sp. NBRI2505 sesbania and its drought-sensitive transposon Tn5 mutant. Current microbiology, 45, 368-377.

Sheehy, R.E., Honma, M., Yamada, M., Sasaki, T., Martineau, B. and Hiatt, W.R. 1991. Isolation, sequence, and expression in Escherichia coli of the *Pseudomonas* sp. strain ACP gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. Journal of Bacteriology, 173, 5260-5265.

Van Schilfgaarde, J. 1994. Irrigation: a blessing or a curse. Agricutural water Management, 25:203-219.

Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M. and SkZ, A. 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiological Research, 184, 13-24.

Wang, S., Ouyang, L., Ju, X., Zhang, L., Zhang, Q. and Li, Y., 2014. Survey of plant drought-resistance promoting bacteria from Populus euphratica tree living in arid area. Indian Journal of Microbiology, 54, 419-426.

Topic for submission: Water Deficit Stress and Methods of Water Conservation

Isolation of high drought-tolerant plant growth promoting rhizobacteria from Rafsanjan pistachio orchards

Mojdeh Khalilpour[1*], Vahid Mozaffari[2], Payman Abbaszadeh Dahaji[3], Ahmad Tajabadi

1. Ph.D student, Department of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan
2. Associate Professor, Department of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan
3. Assistant Professor, Department of Soil Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan

Abstract

Determination of drought tolerant bacteria in soil can be considered as a simple and safe solution for increasing growth of pistachio trees in drought stress conditions. Eighty rhizosphere soil samples were prepared from pistachio orchards, then drought tolerant bacteria were isolated and purified Nutrient broth medium containing 10, 20, 30 and 40 percent of Polyethylene glycol (PEG) was used to investigate isolates tolerant to drought. The results showed that the 30% bacteria strains collected from all studied area are resistance to 10 percent of PEG. With increasing levels of PEG, many isolates were not able to grow, so that about 51.1% of isolates disappeared at 20% PEG level. The results also indicated that 9.28% and 7.69% of the bacteria were grown at 30% and 40% PEG levels. Four isolates Kh19, Kh42, Kh63 and Kh65 were able to grow in medium containing 40% PEG. Therefore, according to the results of this study by identification and investigation of plant growth promoting characteristics of isolates, it is possible to use the superior isolates to increase pistachio seedlings and trees to drought stress and improving plants growth and yield.

Keywords: plant growth promoting bacteria , pistachio, polyethylene glycol, drought, rhizosph