مطالعه انباشت متابولیت‌های سازگار در گیاه یونجه تلقیح شده با سوشهای باکتری مقاوم به خشکی در شرایط تنش آبی در گلخانه

محبوبه ابوالحسنی*[۱]، احمد تاج آبادی‌پور[۲]، امیر لکزیان [۳] و حمید محمدی[۴]

[۱] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد- [۲ و ۳] عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان- [۴] عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد واحد رفسنجان

مقدمه

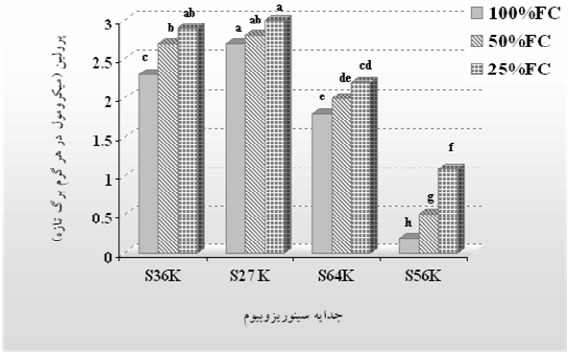
در چرخه زندگی، گیاهان تحت تاثیر انواع مختلفی از تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند که برای ادامه حیات مجبور به یکسری تغییرات در فعالیت‌های زیست‌شیمیایی و آنزیمی می‌شوند (۱). پاسخ گیاهان و باکتری‌های ریزوبیومی همزیست به کمبود آب بسیار پیچیده است و می‌تواند شامل اثرات مخرب و یا تغییرات سازشی باشد. پاسخ اولیه به کمبود آب در جهت بقا و ادامه حیات لازم و ضروری است (۱). تنظیم اسمزی به عنوان یکی از مکانیسم‌های اصلی گیاه برای مقاومت در برابر تنش خشکی در نظر گرفته شده است. زمانی‌که سلول در تنش اسمزی پایین قرار می‌گیرد، اسمولیت‌ها یا متابولیت‌های سازگار در آن تجمع می‌یابند (۵). نوع متابولیت‌های سازگار در گونه‌ها و ارقام مختلف گیاهی متفاوت است، این متابولیت‌های سازگار شامل آمینواسیدهای مختلف (پرولین)، قندها (ساکاروز و فروکتان)، پلی‌اول‌ها (مانیتول و پنیتول)، آمین‌های چهارتایی (گلایسین و بتائین) اسیدهای آلی (مالات و سیترات) می‌باشند. این ترکیبات کوچک و دارای حلالیت بالا در **pH** خنثی هستند و در غلظت‌های بالا در سلول هیچ‌گونه اثر سمی و مضر ندارند (۵). تجمع اسمولیت‌ها در سلول‌های گیاهی سبب کاهش پتانسیل اسمزی سلول گردیده و از این رو سبب ادامه و حفظ جذب آب و فشار تورگر می‌شوند که برای ادامه برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی همچون باز بودن روزنه‌ها و ادامه رشد لازم می‌باشند (۵). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که در شرایط نامساعد محیطی تلقیح گیاهان با جدایه‌های بومی مقاوم تاثیر مثبتی در همزیستی لگوم – ریزوبیوم و انباشت متابولیت‌های سازگار داشته و این گیاهان از رشد و عملکرد بیشتری نسبت به سایر گیاهان برخوردار بوده‌اند (۶ و ۴).

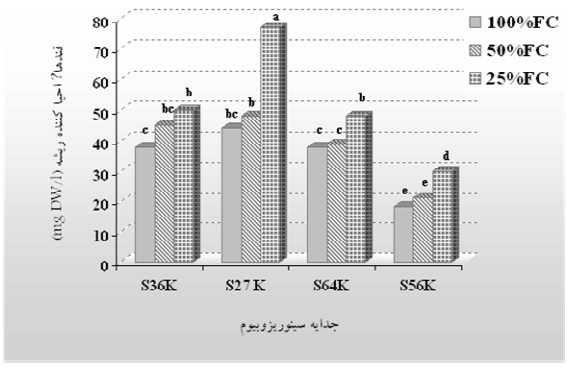
مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش از جدایه‌های جداسازی شده از خاکهای کرمان که مقاومت به تنش خشکی آنها در شرایط آزمایشگاه بررسی شده بود ۴ جدایه سینوریزوبیوم جهت مطالعات گلخانه‌ای شد. در شرایط گلخانه از تلقیح دو جدایه سینوریزوبیوم مقاوم (**S27K, S36K**) و دو جدایه سینوریزوبیوم حساس به خشکی (**S56K, S64K**) بر روی گیاه یونجه (رقم بمی) در سه سطح خشکی (شاهد، خشکی متوسط و خشکی شدید به ترتیب ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) در قالب طرح کامل تصادفی به صورت فاکتوریل در چهار تکرار بر روی خاکی با نیتروژن کل ۰/۰۴ درصد استفاده شد. ظرفیت زراعی خاک به روش گراوی‌متری تعیین شد. پس از کاشت بذور سترون و تلقیح با باکتری‌ها گلدان‌ها در گلخانه به مدت ۷۰ روز نگهداری شدند. جهت تامین عناصر مورد نیاز گیاه از محلول غذایی **FP** (فاقد نیتروژن) استفاده شد. در پایان دوره آزمایش میزان قندهای احیا کننده ریشه (به روش **Somogy & Nelson**) و میزان غلظت پرولین برگ (به روش **Irigoyen** و همکاران) اندازه‌گیری شد (۲). نتایج حاصل با نرم‌افزار **MINITAB** به صورت فاکتوریل و بر مبنای طرح کامل تصادفی مورد آنالیز قرار گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین مربعات برهم‌کنش جدایه سینوریزوبیوم و تنش خشکی بر میزان اسید آمینه پرولین نشان داد، بیشترین میزان اسید آمینه پرولین مربوط به یونجه تلقیح شده با جدایه‌های سینوریزوبیومی مقاوم **S27K** و **S36K** در رطوبت ظرفیت زراعی (**FC**) بودند. میزان اسید آمینه پرولین در این دو جدایه در تمام سطوح خشکی نسبت به سایر جدایه‌ها بیشتر بود (شکل ۱). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها مشاهده شد که در سطح خشکی شدید میزان اسید آمینه پرولین گیاهان یونجه تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم ۲/۷ برابرنسبت به جدایه حساس **S56K** می باشد (شکل ۱). تجمع پرولین در سلول‌های گیاهی که تحت تنش خشکی و شوری هستند، یک پدیده طبیعی می‌باشد (۷). پرولین در تمام اندام‌های گیاه در طی تنش وجود دارد، با این وجود میزان تجمع آن در برگ‌ها سریع‌تر و بیشتر از سایر نقاط می‌باشد (۷). پرولین علاوه بر اینکه به عنوان اسمولیت عمل می‌کند، می تواند نقش‌های دیگری از قبیل محافظت از آنزیم‌ها در برابر دناتوره شدن، حفظ حلالیت پروتئین‌ها، تثبیت فسفولیپیدهای غشایی، تنظیم کننده اسیدیته سیتوپلاسمی، منبع نیتروژن و کربن در سلول، تنظیم پتانسیل رداکس سلول توسط متابولیسم پرولین و موارد دیگر بر عهده داشته باشد (۷). مقایسه میانگین قندهای احیا کننده ریشه گیاهان تلقیح شده با چهار جدایه انتخاب شده سینوریزوبیوم در شرایط تنش خشکی نشان داد که خشکی باعث افزایش میزان قندهای احیا کننده ریشه در تمام سطوح تیمار خشکی نسبت به شاهد (رطوبت ظرفیت زراعی) شده است و گیاهان تلقیح شده با دو جدایه مقاوم **S27K** و **S36K** بیشترین میزان قندهای احیا کننده ریشه و جدایه حساس **S56K** کمترین میزان قندهای احیا کننده ریشه را داشتند (شکل ۲). به‌طوری که مشاهده می‌گردد میزان میزان قندهای احیا کننده ریشه در گیاهان تلقیح شده با جدایه‌های مقاوم ۱/۷ برابر جدایه حساس **S56K** بوده است (شکل ۲). قندها به‌صورت‌های مختلف در تحمل به خشکی در گیاهان شرکت می‌کنند. قندها می‌توانند به عنوان متابولیت‌های سازگار یا اسمولیت‌ها سبب تنظیم اسمزی شوند (۳). همچنین سبب پایداری غشاها و پروتئین‌های در حال خشک شدن می‌گردند، بدین صورت که تثبیت غشاء از طریق جایگزین شدن آب موجود در لیپید دو لایه صورت می‌گیرد و به این ترتیب از متراکم شدن فسفولیپیدها جلوگیری کرده و همچنین از پیوندهای نابجا بین پروتئین‌های غشایی جلوگیری می‌کند. تثبیت پروتئین‌ها نیز از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل قند و زنجیره‌های قطبی پروتئین صورت می‌گیرد (۳).





شکل ۱ و ۲- مقایسه میانگین میزان پرولین برگ تازه و قندهای احیا کننده ریشه گیاه یونجه در تیمارهای آزمایشی در سطوح مختلف خشکی

منابع

1-Chaves MM (2002) How plants crop with water stress in the field. Photosynthesis and growth. Ann Botan 89:907-916

2-Horwiz W, Latimer J (2005) Official method of analysis AOAC international. Maryland. USA.

3-Ingram J, Bartles D (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annu Rev Plant Phhysiol. Plant Mol. Biol 47:377-403

4-Rehman A, Nautiyal CS (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. Springer-Verlag. New York. LLC. 45(5):368-377

5-Serraj R. Sinclair TR (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought condition? Plant Cell Environ 25: 333-341

6-Shamseldin A, Werner D (2004) Selection of competitive strains of *Rhizobium* nodulating *Phaseolus vulgaris* and adapted to environmental conditions in Egypt, using the gus-reporter gene technique. World J.of Microbiol. Biotechnol 20:377-382

7-Walton EF, Podivinsky E (1998) Regulation of praline biosynthesis in kiwifruit buds with and without hydrogen cynanmide treatment. Physiol plantarum 102: 171-178