ارزیابی برخی پارامترهای رویشی و فیزیولوژیکی نهال‌های پسته تلقیح شده با باکتری‌های حل کننده فسفات تحت تنش شوری

فرهاد آذرمی [۱]، وحید مظفری [۲]، پیمان عباس‌زاده دهجی [۳]
۱- دانشجوی دکتری گروه علوم‌خاک دانشگاه ولی عصر رفسنجان، ۲- دانشیار گروه علوم‌خاک دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان،
۳- دانشیار گروه علوم‌خاک دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان

چکیده
شوری خاک یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد درختان پسته در مناطق مختلف از جمله رفسنجان می‌باشد. یکی از راهکارهای نوین برای کاهش اثرات مخرب شوری استفاده از باکتری‌های مفید خاک است. به‌منظور بررسی نقش باکتری‌های حل کننده فسفات بر برخی پارامترهای رویشی و فیزیولوژیکی نهال‌های پسته در شرایط شور، آزمایشی با چهار سطح باکتری سودوموناس فلوروسنت (شاهد (pf_0)، pf_1، pf_2 و pf_3) و سه سطح شوری (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم) در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش شوری پارامترهای رویشی و فیزیولوژیکی نهال‌های پسته کاهش یافت. تلقیح با باکتری‌ها تعداد برگ، قطر ساقه، وزن خشک اندام‌هوایی، ریشه، شاخص سبزینگی و کلروفیل کل را به‌طور متوسط ۱۹، ۲۳، ۱۴، ۱۳، ۶ و ۲۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. جذب فسفر در نهال‌های تلقیح شده با جدایه‌ها در تمام سطوح شوری نسبت به همان سطح شوری افزایش یافت. بنابراین حضور باکتری‌های حل کننده فسفات می‌تواند بخشی از اثرات منفی شوری را کاهش دهد.

واژه های کلیدي: باکتری‌های محرک رشد گیاه، پسته، جذب فسفر، کلروفیل

مقدمه
تنش شوری از مهم‌ترین عواملی است که تولید محصولات زراعی و باغی را در مناطق مختلف از جمله مناطق خشک و نیمه خشک تهدید می‌کند. آبیاری با آب‌های نامناسب و شور مهم‌ترین عامل افزایش نمک و شور شدن خاک است. پاسخ گیاهان به تنش شوری متفاوت بوده و به میزان سمیت و پتانسیل اسمزی نمک و مدت زمان تنش بستگی دارد (Comba et al., ۱۹۹۸). کاهش فراهمی آب در خاک در اثر پایین بودن پتانسیل اسمزی و در نتیجه کمبود آب برای گیاه، افزایش سمیت عناصر به‌ویژه سدیم و کلر و در نتیجه تخریب غشای پلاسمایی، آسیب دیدن اندامک‌های درون سلول، کاهش فتوسنتز و محدود شدن فعالیت‌های آنزیمی؛ کاهش جذب عناصر غذایی و در نتیجه بر هم خوردن تعادل تغذیه‌ای گیاه از مهم‌ترین اثرات شوری بر گیاه می‌باشد (Feng et al., ۲۰۰۲).
پسته به‌عنوان یکی از مهمترین محصولات کشاورزی ایران مقاومت نسبتا زیادی به شوری خاک و آب دارد. با این‌وجود افزایش بیش از حد شوری در سال‌های اخیر به دلایل مختلفی از جمله کاهش بارندگی، افزایش تبخیر و تعرق، کیفیت پایین آب آبیاری و ماهیت شور و سدیمی بودن خاک‌های مناطق پسته‌کاری رشد و عملکرد درختان پسته را تحت تاثیر قرار داده است. علائم شوری در درختان پسته در ارقام مختلف متفاوت است. به‌طورکلی کاهش رشد و عملکرد، کاهش فتوسنتز، تغییر در مورفولوژی برگ و ریشه، کاهش وزن خشک، کاهش مقدار آب بافت‌ها و سوختگی ناشی از تجمع یون‌ها از جمله کلر از مهم‌ترین علائم شوری در پسته می‌باشد. مظفری و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که شوری موجب کاهش کلروفیل کل، کارتنوئیدها و حداکثر عملکرد کوانتوم (F_v/F_m) در نهال‌های پسته شد.
از بین راهکارهای مختلف، استفاده از باکتری‌های بومی خاک با قابلیت زنده ماندن در شرایط شور یکی از روش‌هایی است که در سال‌های اخیر برای کاهش تنش‌های مختلف محیطی از جمله شوری در گیاهان مختلف ارایه شده است. سودوموناس‌ها از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری و فیلوسفری هستند که به‌دلیل توانایی بالای آن‌ها در رقابت با سایر ریزجانداران برای عناصر غذایی و سازگاری سریع با شرایط محیطی مختلف، در بیشتر محیط‌ها مشاهده می‌شوند. گونه‌های مختلف سودوموناس‌ها با مکانیسم‌های مختلفی مانند توانایی انحلال ترکیبات کم‌محلول و نامحلول عناصر غذایی و در نتیجه افزایش فراهمی آن‌ها، تثبیت نیتروژن، کنترل بیمارگرهای گیاهی با تولید سیانید هیدروژن، ترکیبات ضد میکروبی و رقابت برای جذب عناصر غذایی، تولید سیدروفور، افزایش تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و سمیت عناصر، تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول‌استیک‌اسید (IAA) و دارا بودن آنزیم ACC- دآمیناز برای کاهش سطح اتیلن در گیاه می‌توانند رشد گیاه را افزایش دهند (Glick, ۲۰۱۴). مؤثرترین گروه از سودوموناس‌ها، سودوموناس‌های فلوروسنت هستند که به‌دلیل خصوصیات متابولیکی و عملکردی متنوع، نقش بارزی در سلامت خاک ایفا می‌کنند (Saharan and Nehra, ۲۰۱۱). بر اساس نتایج مطالعات بال و همکاران (۲۰۱۳) تلقیح با سویه‌های مختلف حاوی آنزیم ACC دآمیناز درصد جوانه‌زنی، رشد ساقه و ریشه و مقدار کلروفیل برنج را در شرایط شور افزایش داد. حسنی و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی تاثیر تلقیح سویه‌های سودوموناس فلوروسنت با توان تولید IAA و ACC- دآمیناز بر رشد نهال‌های پسته نشان دادند که تلقیح با این باکتری‌ها موجب افزایش سطح برگ، تعداد برگ، وزن تر و وزن خشک نهال‌های پسته شد.

بنابراین با توجه به افزایش روز افزون شوری در خاک‌های مناطق پسته‌کاری رفسنجان و هم‌چنین اختلالات رشدی و تغذیه‌ای درختان پسته، هدف از این مطالعه بررسی نقش باکتری‌های حل کننده فسفات سودوموناس فلوروسنت بر برخی پارامترهای رویشی، فیزیولوژیکی و جذب فسفر در نهال‌های پسته تحت تنش شوری می‌باشد.

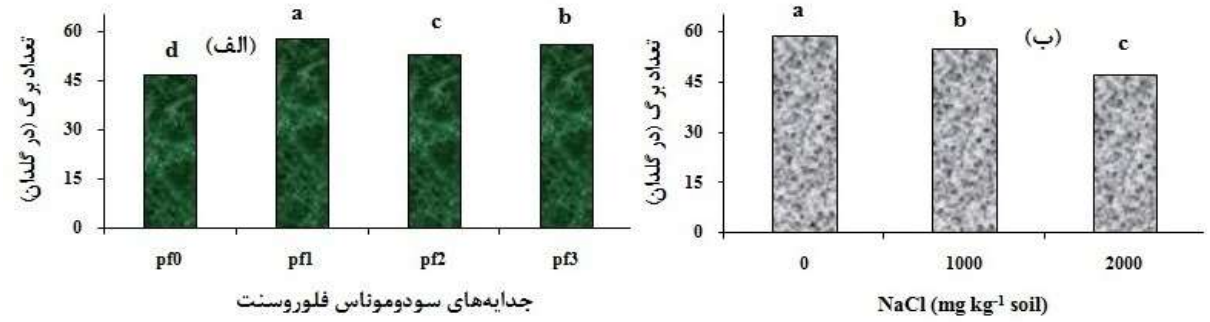
مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تاثیر تلقیح باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت بر برخی پارامترهای رشدی و تغذیه‌ای نهال‌های پسته تحت تنش شوری، سه جدایه سودوموناس فلوروسنت جدا شده از ریزوسفر درختان پسته با خصوصیات محرک رشدی بالاتر (آذرمی و همکاران، ۱۳۹۳) انتخاب و در آزمایشی گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار به کار گرفته شدند. تیمارها شامل چهار سطح باکتری (شاهد (pf_0)، pf_1، pf_2 و pf_3) و سه سطح شوری (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک) بود. هر گلدان با ۵ کیلوگرم خاک مناسب با شوری کم ($dS\ m^{-1}$ ۰/۷۱EC=) پر شده و عناصرغذایی مختلف براساس آزمون خاک و قبل از کشت به گلدان‌ها اضافه شد. ابتدا در هر گلدان ۸ عدد بذر جوانه‌دار شده پسته (رقم بادامی) کشت شده و هر بذر با ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون آماده شده باکتری با جمعیت 10^8 سلول در میلی‌لیتر آغشته شد. پس از جوانه‌زنی تعداد نهال‌ها در هر گلدان به ۵ عدد کاهش داده شده و ۴ هفته پس از کشت تیمار شوری در سه نوبت و همراه آب آبیاری به گلدان‌ها اضافه شد. در طول دوره رشد گلدان‌ها با آب مقطر آبیاری شده و پس از ۲۴ هفته نهال‌ها برداشت و شاخص‌های مختلف اندازه‌گیری شد. کلروفیل کل به روش عصاره‌گیری با استون ۸۰ درصد، شاخص سبزینگی با دستگاه SPAD و مقدار فسفر نهال‌ها به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. محاسبات آماری و رسم نمودارها نیز با نرم‌افزارهای SAS و Excel انجام شد.

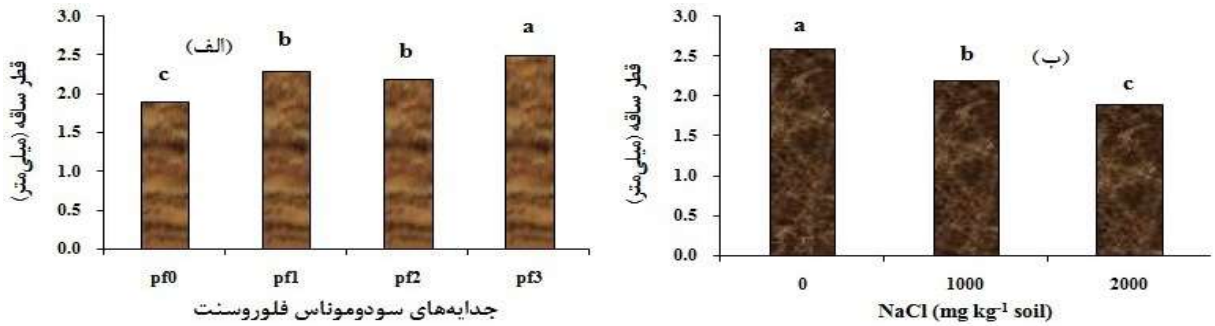
نتایج و بحث

تعداد برگ و قطر ساقه

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، فقط اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و شوری بر تعداد برگ و قطر ساقه نهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.01$) شد. نتایج نشان داد که تلقیح با جدایه‌های pf_2، pf_1 و pf_3 تعداد برگ در گلدان را به ترتیب ۲۳، ۱۳ و ۱۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۱-الف). از طرفی افزودن ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم در کیلوگرم خاک تعداد برگ نهال‌ها را به‌ترتیب ۱۷ و ۲۶ درصد کاهش داد (شکل ۱-ب). همچنین قطر ساقه نهال‌های پسته تلقیح شده با جدایه‌های pf_2، pf_1 و pf_3 به‌ترتیب ۲۱، ۱۶ و ۳۲ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش یافت (شکل ۲-الف). از طرفی قطر ساقه نهال‌ها در سطوح شوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب ۱۸ و ۳۷ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد (شکل ۲-ب). افزایش پارامترهای رویشی نهال‌ها را می‌توان به تولید ترکیبات مختلف از جمله اکسین و آنزیم ACC- دآمیناز نسبت داد که با افزایش ریشه‌زایی موجب بهبود جذب آب و عناصرغذایی و رشد گیاه می‌شوند.



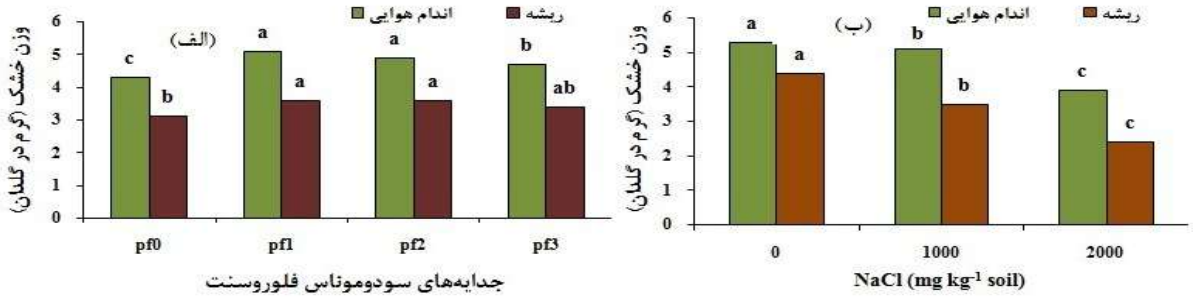
شکل ۱- اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت (الف) و شوری (ب) بر تعداد برگ نهال‌ها در انتهای دوره رشد



شکل ۲- اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت (الف) و شوری (ب) بر قطر ساقه نهال‌ها در انتهای دوره رشد

وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه

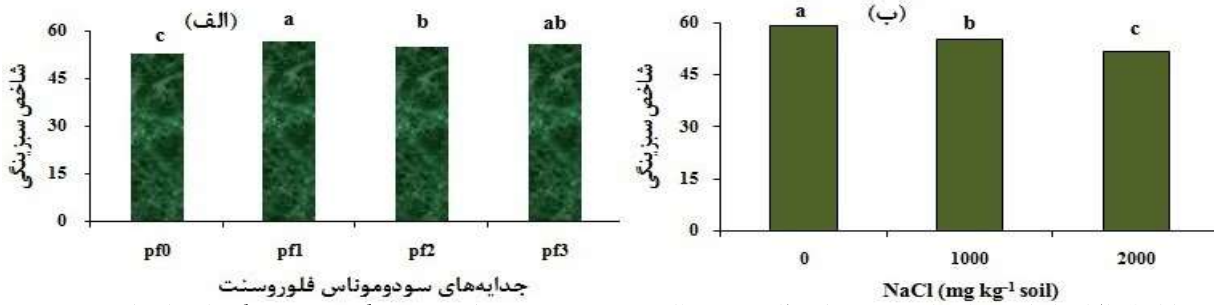
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و شوری بر وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه نهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.01$) شد. نتایج نشان داد که تلقیح با جدایه‌های pf۲ ،pf۱ و pf۳ وزن خشک اندام‌هوایی را به‌ترتیب ۱۹، ۱۴ و ۹ درصد و وزن خشک ریشه را به‌ترتیب ۱۶، ۱۶ و ۱۰ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. هر چند بین جدایه pf۳ و تیمار شاهد در رابطه با وزن خشک ریشه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳-الف). یکی از مهم‌ترین اثرات باکتری‌های مفید خاک افزایش رشد رویشی گیاه از قبیل طول و تعداد ریشه‌ها و تکثیر ریشه‌های جانبی است. زهیر و همکاران (۲۰۰۸) نیز افزایش وزن تر و خشک گیاهان را در اثر تلقیح با باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت و سودوموناس پوتیدا گزارش کرده‌اند. از طرفی با افزایش شوری وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه نهال‌ها کاهش یافت. به‌طوری‌که افزودن ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم در کیلوگرم خاک وزن خشک اندام‌هوایی را به‌ترتیب ۴ و ۳۶ درصد و وزن خشک ریشه را به‌ترتیب ۲۶ و ۸۳ درصد کاهش داد (شکل ۳-ب). کاهش وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه در اثر شوری می‌تواند به افزایش فشار اسمزی، کمبود عناصر غذایی و اختلالات تغذیه‌ای مربوط باشد.



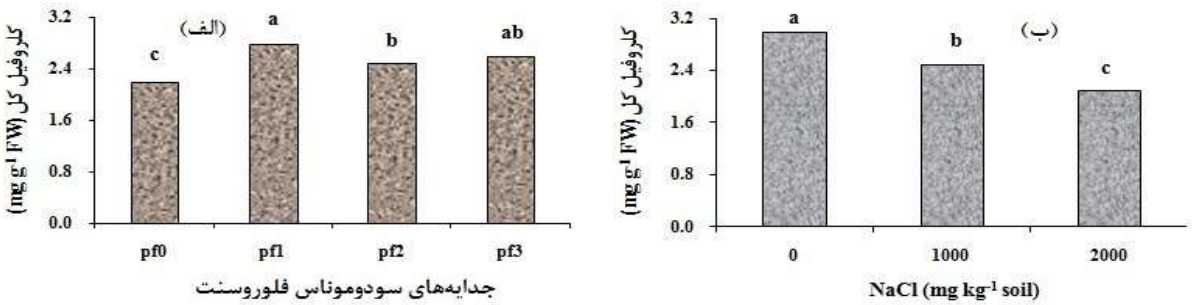
شکل ۳- اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت (الف) و شوری (ب) بر وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه در انتهای دوره رشد

شاخص سبزینگی (SPAD) و کلروفیل کل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، فقط اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و شوری بر شاخص سبزینگی و مقدار کلروفیل کل برگ معنی‌دار ($p<0.01$) شد. تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت موجب افزایش شاخص سبزینگی و کلروفیل کل شد ولی شوری مقدار این شاخص‌ها را کاهش داد. تلقیح با جدایه‌های pf_2 ،pf_1 و pf_3 شاخص سبزینگی را به‌ترتیب ۸، ۴ و ۶ درصد و مقدار کلروفیل کل را به‌ترتیب ۲۷، ۱۴ و ۱۸ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. بین جدایه‌های pf_1 و pf_3 در افزایش این پارامترها اختلافی مشاهده نشد (شکل ۴-الف و ۵ -الف). باکتری‌های مفید خاکزی با مکانیسم‌های مختلفی از قبیل تولید سیدروفور، اسیدهای آلی، اکسین، تثبیت نیتروژن و افزایش فراهمی عناصر غذایی موجب بهبود جذب عناصر غذایی، آب و در نتیجه رشد و عملکرد گیاه می‌شوند. از طرف دیگر مقدار شاخص سبزینگی به‌ترتیب ۷ و ۱۵ درصد و کلروفیل کل به‌ترتیب ۲۰ و ۴۳ درصد نسبت به شاهد با کاربرد ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم در کیلوگرم خاک کاهش یافت (شکل ۴ -ب و ۵ -ب). مظفری و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که شوری موجب کاهش کلروفیل کل، کارتنوئیدها و حداکثر عملکرد کوانتوم (F_v/F_m) در نهال‌های پسته شد.



شکل ۴- اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت (الف) و شوری (ب) بر شاخص سبزینگی (SPAD) برگ‌ها در انتهای دوره رشد



شکل ۵- اثرات اصلی جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت (الف) و شوری (ب) بر مقدار کلروفیل برگ‌ها در انتهای دوره رشد

جذب فسفر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و برهمکنش باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت و شوری بر جذب فسفر توسط اندام هوایی و ریشه معنی‌دار ($p<0.01$) شد. نتایج نشان داد که با افزایش شوری مقدار جذب فسفر کاهش ولی تلقیح با جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت آن را افزایش داد. کاهش جذب فسفر در شرایط شور می‌تواند به دلیل تجمع یون‌های سدیم و کلر در بافت‌های گیاه و در نتیجه اختلال در جذب سایر عناصر از جمله فسفر باشد. تلقیح با جدایه‌های pf_2، pf_1 و pf_3 جذب فسفر توسط اندام‌هوایی را به‌ترتیب ۷۰، ۴۰ و ۲۵ درصد در سطح شوری صفر، ۹۱، ۵۳ و ۳۴ درصد در سطح شوری ۱۰۰۰ و ۸۸، ۵۷ و ۲۵ درصد در سطح شوری ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک نسبت به همان سطح شوری افزایش داد. از طرفی کاربرد ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک جذب فسفر در اندام‌هوایی را به‌ترتیب ۳ و ۸۲ درصد کاهش داد. بیشترین مقدار جذب فسفر اندام‌هوایی از تیمار سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم تلقیح شده با جدایه pf_1 بدست آمد (۲/۱۷ میلی‌گرم در گلدان). باکتری‌های حل کننده فسفات با تولید اسیدهای آلی، اسیدهای معدنی، پروتون و هم‌چنین آنزیم فسفاتاز موجب افزایش فراهمی فسفات‌های کم‌محلول و فسفر آلی در خاک شده و جذب آن توسط گیاه را افزایش می‌دهند. نقش اسیدهای آلی در افزایش فراهمی فسفر به کاهش pH، کلات نمودن کاتیون‌ها و رقابت با فسفر جهت اشغال مکان‌های جذب در خاک نسبت داده می‌شود.

تاثیر شوری بر کاهش مقدار جذب فسفر در ریشه بیشتر از اندام‌هوایی بود. به‌طوری‌که جذب فسفر توسط ریشه با کاربرد ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک به ترتیب ۳۸ و ۱۷۶ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. از طرفی تلقیح با جدایه‌های pf_1، pf_2 و pf_3 جذب فسفر ریشه را به‌ترتیب ۶۴، ۲۴ و ۱۲ درصد افزایش داد. بیشترین مقدار جذب فسفر ریشه در اثر تلقیح با جدایه pf_1 در سطح شوری صفر بدست آمد (۴/۱۵ میلی‌گرم در گلدان). هم‌چنین تلقیح با جدایه‌های pf_2، pf_1 و pf_3 جذب فسفر ریشه را در سطح شوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک به ترتیب ۴۹، ۴۷ و ۲۵ درصد و ۸۲، ۴۷ و ۳۵ درصد نسبت به همان سطوح شوری افزایش داد. افزایش جذب فسفر در نهال‌های تلقیح شده را علاوه بر تولید اسیدهای آلی، می‌توان به تولید اکسین، سیدروفور و آنزیم ACC- دآمیناز در نتیجه افزایش رشد ریشه نهال‌ها و دسترسی به نقاط بیشتر خاک نسبت داد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل جدایه‌های سودوموناس فلوروسنت و شوری بر جذب فسفر در اندام‌هوایی و ریشه نهال‌های پسته (میلی‌گرم بر گلدان)

باکتری	کلرید سدیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)				کلرید سدیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		
	۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰		۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
۳/۹ fg ۰/۹ fg ۱/۵ i ۴/۹ cd ۸/۶ e ۴/۳ g	اندام‌هوایی				ریشه		
pf_1 pf.	۸/۱۵ b	۲/۱۷ a	۶/۹ f		۴/۱۵ a	۱/۱۰ c	۲/۶ e
pf_2	۰/۱۳ cd	۸/۱۳ c	۰/۸ g		۷/۱۱ b	۰/۱۰ c	۰/۵ f

$pf_{۳}$	۶/۱۱ e	۱/۱۲ de	۴/۶ h		۵/۱۰ c	۵/۸ d	۶/۴ f

منابع

آذرمی، ف. مظفری، و. عباس‌زاده دهجی، پ. و حمیدپور، م. ۱۳۹۳. جداسازی باکتری‌هی سودوموناس فلوروسنس از ریزوسفر درختان پسته و تعیین برخی خصوصیات محرک رشدی آن‌ها. مجله زیست‌شناسی خاک. جلد ۲، صفحه‌های ۱۷۳ تا ۱۸۶.

حسنی، گ. اخگر، ع. و تاج‌آبادی پور، ا. ۱۳۹۱. بررسي تأثير تلقيح سويه‌های سودوموناس فلورسنت داراي توان توليد IAA و ACC دآمیناز بر رشد نهال‌های پسته. پژوهش‌های خاک. جلد ۲۶، صفحه‌های ۸۹ تا ۹۷.

مظفری، و. اسدالهی، ز. تاج‌آبادی پور، ا و اخگر، ا. ۱۳۹۲. تأثير شوري و منگنز بر برخي خصوصيات فيزيولوژيكي و اكوفيزيولوژيكي پسته. مجله تحقیقات آب و خاک ایران. جلد ۴۴، صفحه‌های ۸۱ تا ۹۴.

Bal H. B., Nayak L., Das S. and Adhya, T. K. ۲۰۱۳. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. Plant Soil, ۳۶۶: ۹۳-۱۰۵.

Comba M. E., Benavides M. P. and Tomaro, M. L. ۱۹۹۸. Effect of salt stress on antioxidant defense system in soybean root nodules. Aust. J. Plant Physiol. ۲۵: ۶۶۵-۶۷۱.

Glick B. R. ۲۰۱۴. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiol. Res. ۱۶۹: ۳۰- ۳۹.

Feng G., Zhang F. S., Xl L., Tian, C. Y., Tang, C. and Rengel, Z. ۲۰۰۲. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza, ۱۲: ۱۸۵-۱۹۰.

Zahir Z. A., Munir A., Asghar H. N., Shaharoona B. and Arshad M. ۲۰۰۸. Effectiveness of rhizobacteria containing ACC deaminase for growth promotion of peas (Pisum sativum) under drought conditions. J Microbiol Biotechnol ۱۸: ۹۵۸-۹۶۳.

Saharan B. S. and Nehra, V. ۲۰۱۱. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. Life Sci. Med. Res. ۲۱: ۱-۳۰.

Abstract

Soil salinity is one of the most important limiting factors for growth and yields of pistachio trees in Rafsanjan area. The use of soil beneficial bacteria is a novel strategies to reduce destructive effects of salinity. In order to investigation of PSB on some growth and physiological parameters of pistachio seedlings in saline conditions, a greenhouse study was carried out with four isolates of pseudomonas fluorescens (pf۰, pf۱, pf۲ and pf۳) and three levels of salinity (۰, ۱۰۰۰ and ۲۰۰۰ mg NaCl kg-۱ soil). The results illustrated that salinity significantly decreased growth and physiological parametres of pistachio seedlings. Inoculaton of pistachio seedlings with PSB drastically increased leaf number, stem diameter, shoot dry weight, root dry weight, SPAD index and total chlorophyll content by ۱۹, ۲۳, ۱۴, ۱۳, ۶ and ۲۰% in comparison with the control, respectively. Also, P uptake by shoot and root of inoculated seedlings significantly increased at all levels of salinity. Thus, application of PSB can reduce the negative effects of soil salinity.