محور مقاله: بیولوژی خاک و کودهای زیستی

نقش باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر رشد و جذب عناصر غذایی کم‌مصرف در قلمه‌های انار

فرهاد آذرمی آتاجان[۱*]

[۱] استادیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

چکیده

انار یکی از محصولات مهم و با ارزش باغبانی ایران است. به‌دلیل آهکی بودن و pH بالای خاک در بسیاری از باغات انار در ایران، جذب عناصر کم‌مصرف توسط درختان و نهال‌های انار پایین بوده و این امر کاهش رشد و عملکرد آن را در پی داشته است. یکی از راهکارهای نوین برای افزایش جذب عناصر کم‌مصرف در گیاهان، استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌باشد. در این پژوهش تأثیر ۴ سویه باکتری *Pseudomonas* sp. (شاهد (B_0)، B_1، B_2، B_3 و B_4) با توانایی تولید سیدروفور بر رشد و جذب عناصر آهن، روی، منگنز و مس توسط قلمه‌های انار در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. نتایج نشان داد که استفاده از این باکتری‌ها موجب افزایش وزن خشک برگ و ریشه قلمه‌های انار شد. بیشترین وزن خشک برگ و ریشه قلمه‌های انار به‌ترتیب برابر با ۲/۵۷ و ۲/۰۴ گرم بر نهال از کاربرد سویه B_4 بدست آمد. هم‌چنین تلقیح با این باکتری‌ها موجب افزایش جذب عناصر آهن، روی، منگنز و مس در برگ قلمه‌های انار شد که نقش سویه‌های B_1 و B_4 در این افزایش بیشتر از دیگر سویه‌ها بود. بنابراین استفاده از باکتری‌های تولید کننده سیدروفور می‌تواند نقش مهمی در بهبود وضعیت تغذیه‌ای و رشد قلمه‌های انار داشته باشد.

کلمات کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، تغذیه انار، جذب آهن، ریشه‌زایی

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. از خانواده *Punicaceae* به‌صورت گسترده‌ای در مناطق گرمسیری و نیم‌گرمسیری کشت می‌شود. در بسیاری از منابع از ایران به‌عنوان منشاء این گیاه نام برده شده و کشور ایران از لحاظ تنوع، کیفیت و سطح زیر کشت اولین تولید کننده انار در دنیا می‌باشد. سطح زیر کشت این محصول در ایران حدود ۹۰ هزار هکتار و تولید سالیانه آن حدود یک میلیون تن می‌باشد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۵). یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک، فراهمی پایین عناصر غذایی کم‌مصرف در خاک می‌باشد (Hajiboland and Amirzad, 2010). عمده‌ترین دلایل این امر شامل مقدار زیاد کربنات کلسیم، pH بالا، کود دهی نامتعادل، مواد آلی کم و شوری خاک و آب و آبیاری می‌باشد. با وجود مشخص شدن ضرورت عناصر غذایی کم‌مصرف مانند آهن، روی، منگنز و مس برای رشد و عملکرد گیاهان، کمبود این عناصر از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده اختلالات تغذیه‌ای در گیاهان در بیشتر نقاط جهان می‌باشد (Alloway, 2008).

روش‌های مختلفی برای افزایش فراهمی عناصرغذایی به‌خصوص عناصر کم‌مصرف برای گیاه وجود دارد. اگرچه افزودن کودهای محتوی این عناصر می‌تواند تا حدودی کمبود آن‌ها را برای گیاه جبران کرده و موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه شود، اما مطالعات نشان داده است که بخش اعظم این کودها به‌ویژه در خاک‌های آهکی تثبیت شده و از دسترس گیاه خارج می‌شوند. در سال‌های اخیر استفاده از ریزجانداران مفید خاکزی یک راهکار نوین برای افزایش فراهمی عناصرغذایی در ناحیه ریزوسفر مورد توجه قرار گرفته است. باکتری‌های محرک رشد گیاه گروهی از باکتری‌های ریزوسفری هستند که با سازوکارهای مختلفی مانند انحلال ترکیبات کم‌محلول و نامحلول عناصرغذایی و در نتیجه افزایش فراهمی آن‌ها، تثبیت نیتروژن، کنترل بیمارگرهای گیاهی با تولید سیانید هیدروژن، ترکیبات ضد میکروبی و رقابت برای جذب عناصرغذایی، تولید سیدروفور، افزایش تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و سمیت عناصر و تولید هورمون‌های گیاهی مانند ایندول‌استیک‌اسید (IAA) رشد گیاه را افزایش می‌دهند (Glick, 2014). برخی از PGPRها مواد کلات کننده‌ای با وزن مولکولی کم به نام سیدروفور ترشح می‌کنند که تمایل زیادی به جذب آهن دارند. سیدروفور ترشح شده توسط باکتری‌ها با بخش اعظم آهن فریک موجود در خاک کمپلکس‌های پایدار تشکیل می‌دهد که این امر می‌تواند به تغذیه آهن گیاه کمک نموده و از طرف دیگر آهن را از دسترس قارچ‌های بیماری‌زا خارج نماید (Glick, 1995). این ترکیبات توسط سلول‌های میکروبی و به‌منظور مقابله با تنش حاصل از کمبود فرم قابل جذب آهن ترشح می‌شوند. بدین طریق آهن برای سلول‌هایی که دارای پذیرنده‌های غشایی اختصاصی باشند، قابل دسترس می‌گردد. ریزجانداران خاک در شرایط کمبود آهن ($Fe^{+3}<10\mu M$) با ترشح سیدروفور که کمپلکس پایداری با آهن (III) می‌دهد، آن‌را به‌صورت محلول و قابل دسترس درمی‌آورند (Leoni و همکاران ۲۰۰۲). سودوموناس‌های تولید کننده سیدروفور مانع جذب آهن توسط بیمارگرهای گیاهی شده و رشد گیاه را

* ایمیل نویسنده مسئول: farhadazarmi@birjand.ac.ir

بهبود می‌بخشند. سیدروفور ترشح شده توسط باکتری‌ها، با آهن فریک خاک تشکیل کمپلکس پایدار داده و با جلوگیری از تثبیت و غیرفعال شدن آن در خاک، تغذیه آهن گیاه را بهبود می‌بخشد. نقش سیدروفور تولید شده توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه در جذب عناصر کم‌مصرف در گندم (رسولی صدقیانی و همکاران،۱۳۸۷)، ذرت (Ghavami و همکاران، ۲۰۱۶) و پسته (Azarmi و همکاران، ۲۰۱۶) گزارش شده است.

با توجه به غلظت پایین فرم قابل‌جذب عناصر غذایی کم‌مصرف در خاک و هم‌چنین آهکی بودن خاک‌های باغات انار در منطقه مرکزی ایران، هدف از این پژوهش بررسی نقش باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر رشد و جذب عناصر غذایی کم‌مصرف در قلمه‌های انار بود.

مواد و روش‌ها

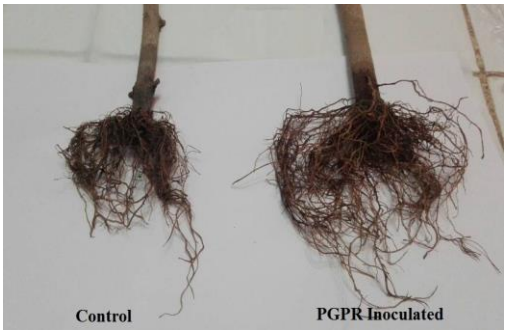
به‌منظور بررسی نقش باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر رشد و جذب عناصر غذایی کم‌مصرف در قلمه‌های انار، چهار سویه باکتری *Pseudomonas* sp. جداسازی شده از ریزوسفر درختان پسته با توانایی تولید سیدروفور در محیط CAS-Agar (جدول ۱) انتخاب و در آزمایشی گلخانه‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارها شامل سطوح باکتری تولید کننده سیدروفور و نمونه شاهد بدون تلقیح باکتری (شاهد (B_0)، B_1، B_2، B_3 و B_4) با سه تکرار بود. برای این پژوهش یک نمونه خاک مناسب انتخاب و پس از اندازه‌گیری برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن (جدول ۲)، در هر گلدان ۲ کیلوگرم خاک عبور داده شده از الک ۴ میلی‌متری ریخته شد. برای تهیه نهال‌ها ابتدا قلمه‌های انار تهیه و بعد از ریشه‌دار شدن آن‌ها، قلمه‌های هم‌اندازه و هم‌شکل انتخاب و در هر گلدان یک قلمه کشت گردید. برای تلقیح، به محیط ریشه هر قلمه دو میلی‌لیتر سوسپانسیون آماده شده باکتری با جمعیت 10^8 سلول در میلی‌لیتر در زمان کشت اضافه شد. آبیاری قلمه‌ها با آب مقطر انجام شده و ۱۰ هفته بعد قلمه‌ها برداشت و شاخص‌های مختلف شامل وزن خشک برگ، وزن خشک ریشه و جذب عناصر آهن، روی، منگنز و مس در برگ‌ها اندازه‌گیری شد. غلظت عناصر کم‌مصرف در برگ قلمه‌های انار پس از خاکستر کردن نمونه‌ها و عصاره‌گیری با اسید کلریدریک ۲ نرمال، با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین‌ها به‌روش LSD و رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel انجام شد.

جدول ۱- تولید سیدروفور و دیگر خصوصیات محرک رشدی باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش در محیط CAS-Agar

نام باکتری	B_1	B_2	B_3	B_4
سیدروفور (قطر هاله به قطر کلونی)	۲/۸۶	۲/۴۷	۲/۰۹	۲/۳۴
ایندول استیک اسید (میکروگرم در میلی‌لیتر)	۵/۱۵	۶/۵۹	۲/۹۹	۱۰/۲
انحلال فسفر (میکروگرم در میلی‌لیتر)	۴۹۸	۴۹۹	۷۰۵	۵۲۰

جدول ۲- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

بافت	اسیدیته	قابلیت هدایت الکتریکی	آهن	روی	منگنز	مس
		$dS\ m^{-1}$	$mg\ kg^{-1}$			
لومی	۷/۸	۱/۴۲	۲/۶۸	۰/۳۱	۳/۸۱	۱/۲۲



شکل ۱. تأثیر باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر ریشه‌زایی قلمه‌های انار

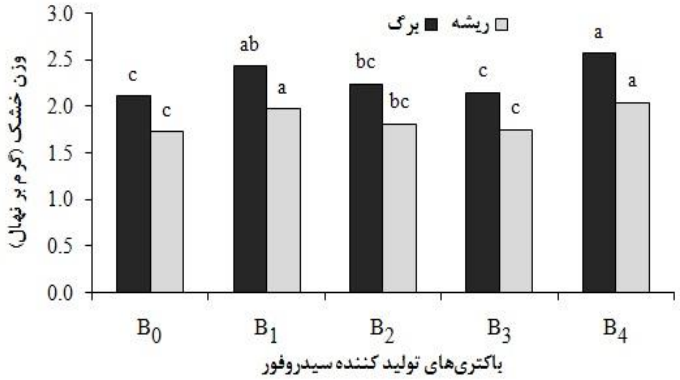
نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، کاربرد باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر وزن خشک برگ و ریشه قلمه‌های انار معنی‌دار شد (جدول ۳). براساس نتایج، باکتری‌های استفاده شده موجب افزایش رشد قلمه‌های انار مانند ریشه شد (شکل ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که فقط باکتری‌های B_1 و B_4 تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک برگ و ریشه قلمه‌های انار داشتند، به‌طوری‌که تلقیح با این دو باکتری وزن خشک برگ را به‌ترتیب ۱۵ و ۲۲ درصد و وزن خشک ریشه را به‌ترتیب ۱۰ و ۱۸ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند (شکل ۲). یکی از مهم‌ترین اثرات باکتری‌های مفید خاک افزایش رشد رویشی گیاه از قبیل طول و تعداد ریشه‌ها و تکثیر ریشه‌های جانبی است. پژوهشگران مختلف نیز افزایش وزن تر و خشک گیاهان را در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه گزارش کرده‌اند (Kumar و همکاران ۲۰۱۸).

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر رشد و جذب عناصر کم‌مصرف در قلمه‌های انار

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه	جذب آهن	جذب روی	جذب منگنز	جذب مس
باکتری	۴	۰/۱۱۴**	۰/۰۴۹**	۱۲۶۳۲**	۳۱۸۴**	۷۰۵۱**	۲۶۵ **
خطای آزمایشی	۱۰	۰/۰۱۰۷	۰/۰۰۵	۳۹۶	۱۰۱	۶۴/۹	۱۳/۷
ضریب تغییرات		۴/۵۱	۳/۷۴	۷/۷۶	۱۳/۵	۵/۱۸	۱۱/۵

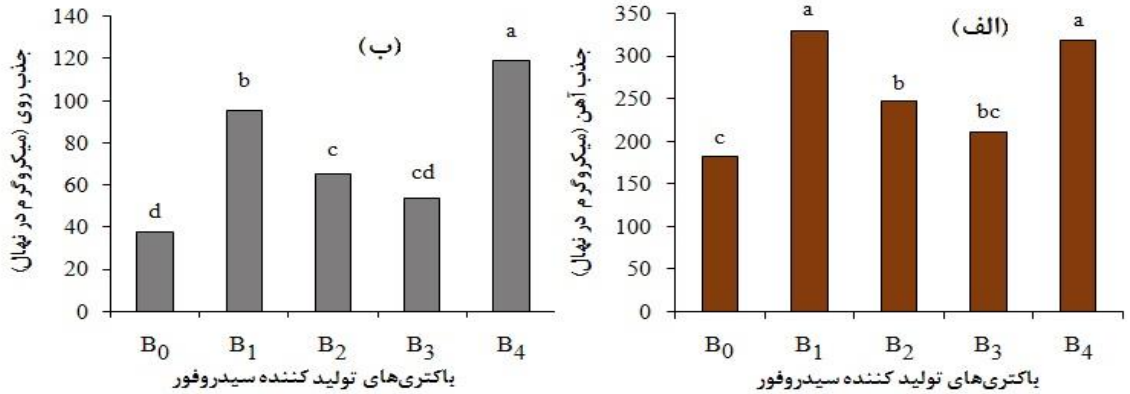
**: معنی‌دار در سطح یک درصد.



شکل ۲. مقایسه میانگین تأثیر باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر وزن خشک برگ و ریشه قلمه‌های انار ($p<0.05$)

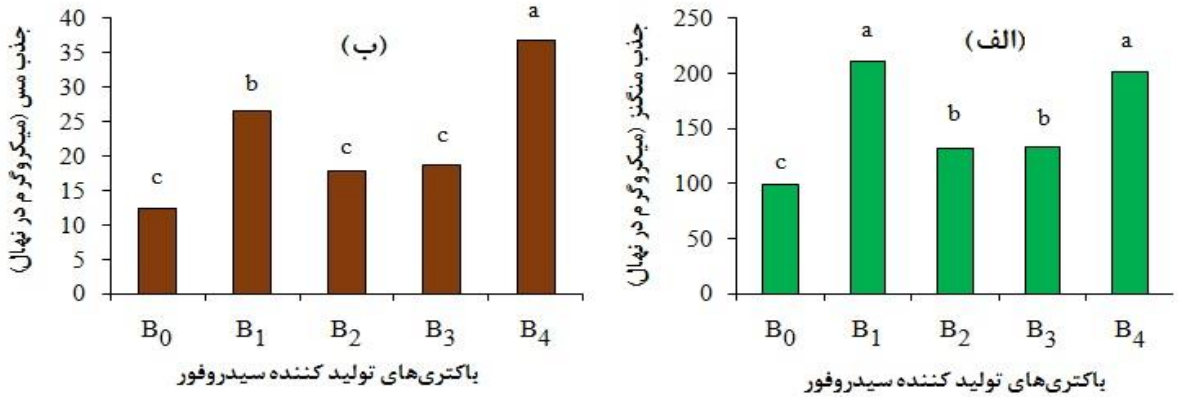
B_0، B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب شاهد بدون تلقیح و باکتری‌های تولید کننده سیدروفور

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تلقیح با باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر جذب عناصر آهن، روی، منگنز و مس در برگ قلمه‌های انار معنی‌دار شد (جدول ۳). براساس نتایج بدست آمده همه سویه‌ها به‌غیر از سویه B_3، موجب افزایش معنی‌دار جذب آهن در برگ شدند. تلقیح با باکتری‌های B_1، B_2 و B_4 جذب آهن در برگ قلمه‌های انار را به‌ترتیب ۸۰، ۳۶ و ۷۴ درصد نسبت به تمار شاهد بدون تلقیح افزایش داد (شکل ۳- الف). در مورد جذب روی نیز نتایج مشابه جذب آهن بود. به‌طوری‌که کمترین مقدار جذب روی در برگ متعلق به تیمار شاهد (۳۷/۸ میکروگرم در نهال) و بیشترین مقدار آن مربوط به باکتری B_4 (۱۱۹ میکروگرم در نهال) بود (شکل ۳- ب). براساس نتایج مطالعات Saha و همکاران (۲۰۱۶)، سیدروفور تولید شده توسط باکتری‌ها تمایل بیشتری نسبت به سیدروفورهای گیاهی برای جذب آهن دارند. پژوهشگران مختلفی نقش باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر رشد و جذب عناصر آهن، روی و مس توسط گیاهان مختلف را گزارش کرده‌اند (Gouda و همکاران، ۲۰۱۸).



شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر جذب آهن (الف) و روی (ب) در برگ قلمه‌های انار ($p<0.05$)
B_0، B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب شاهد بدون تلقیح و باکتری‌های تولید کننده سیدروفور

از طرفی نتایج نشان داد که همه باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش موجب افزایش معنی‌دار جذب منگنز در برگ قلمه‌های انار نسبت به تیمار شاهد شدند. به‌طوری‌که تلقیح با باکتری‌های B_1، B_2، B_3 و B_4 جذب منگنز در برگ را به‌ترتیب ۱۲۱، ۳۳، ۳۵ و ۱۰۳ درصد نسبت به تیمار شاهد بدون تلقیح افزایش دادند (شکل ۴- الف). در رابطه با جذب مس نیز فقط باکتری‌های B_1 و B_4 نقش معنی‌داری در افزایش جذب این عنصر نشان دادند. کمترین مقدار جذب مس مربوط‌به تیمار شاهد (۱۲/۵ میکروگرم در نهال) و بیشترین آن مربوط به باکتری B_4 (۳۶/۷ میکروگرم در نهال) بود (شکل ۴- ب). Chen و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که سیدروفور سودوباکتین ترشح شده توسط *Pseudomonas putida* حلالیت آهن، روی، منگنز و مس را افزایش داد. هم‌چنین کاربرد باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس باعث افزایش منگنز برگ‌های گیلاس شد (Esitken *et al.*, 2006).



شکل ۴. مقایسه میانگین تأثیر باکتری‌های تولید کننده سیدروفور بر جذب منگنز (الف) و مس (ب) در برگ قلمه‌های انار ($p<0.05$)
B_0، B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب شاهد بدون تلقیح و باکتری‌های تولید کننده سیدروفور

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از باکتری‌های تولید کننده سیدروفور توانست وزن خشک برگ و ریشه قلمه‌های انار را افزایش دهد. همچنین جذب عناصر غذایی آهن، روی، منگنز و مس در برگ قلمه‌های انار تلقیح شده با باکتری‌ها نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش نشان داد. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده، استفاده از باکتری‌های تولید کننده سیدروفور یا باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند جذب عناصر غذایی کم‌مصرف بویژه در خاکهای آهکی با pH بالا در گیاه را افزایش داده و با بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه رشد و عملکرد آن را افزایش دهد. از طرفی، با توجه به توانایی باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه در تولید ایندول استیک اسید و انحلال ترکیبات فسفاتی نامحلول، افزایش رشد ریشه و

ریشه‌زایی قلمه‌ها را می‌توان به کمک باکتری‌ها افزایش داد. استفاده از باکتری‌های تولید کننده سیدروفور می‌تواند علاوه‌بر بهبود کیفیت محصولات تولیدی به حفظ محیط زیست از آلودگی‌های کودهای شیمیایی نیز کمک کند.

منابع

رسولی صدقیانی، م.ح.، ملکوتی، م.ج.، خاوازی، ک. و قنادی مراغه، م. ۱۳۸۷. نقش سیدروفور سودوموناسهای فلورسنت در جذب روی توسط گندم با استفاده از ایزوتوپ Zn^{65}. مجله علوم و فنون هسته‌ای، ۴۳، ۳۰-۲۰.

Alloway, B. J. 2008. Micronutrients and crop production. In: Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production. pp. 1-39, Springer Science Business Media BV.

Azarmi, F., Mozaffari, V., Hamidpour, M. and Abbaszadeh-dahaji, P. 2016. Interactive Effect of Fluorescent Pseudomonads Rhizobacteria and Zn on the Growth, Chemical Composition, and Water Relations of Pistachio (*Pistacia vera* L.) Seedlings under NaCl Stress. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 47, 955-972.

Chen, Y., Jurkevitch, E., Bar-Ness, E. and Hadar, Y. 1994. Stability constants of pseudobactin complexes with transition metals. Soil Science Society of America Journal, 58, 390-396.

Esitken, A., Pirlak, L., Turan, M. and Sahin, F. 2006. Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria on yield, growth and nutrition of sweet cherry. Scientia Horticulturae, 110, 324-327.

Ghavami, N., Alikhani, H. A., Pourbabaee, A. A. and Besharati, H. 2016. Study the Effects of Siderophore-Producing Bacteria on Zinc and Phosphorous Nutrition of Canola and Maize Plants. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 47, 1517-1527.

Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant-growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41, 109-117.

Glick, B. R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research, 169, 30-39.

Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H. S. and Patra, P. J. 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiol. Res. 206, 131–140.

Hajiboland, R. and Amirazad, F. 2010. Growth, photosynthesis and antioxidant defense system in zn-deficient red cabbage plants. Plant Soil Environment, 5, 209-217.

Kumar, P., Thakur, S., Dhingra, G. K., Singh, A., Kumar Pal, M., Harshvardan, K., Dubey, R. C. and Maheshwari, D. K. 2018. Inoculation of siderophore producing rhizobacteria and their consortium for growth enhancement of wheat plant. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 15, 264–269.

Leoni, L., Amborsi, C., Petrucca, A. and Visca, P. 2002. Transcriptional regulation of pseudobactin synthesis in the plant growth promoting pseudomonas B10. FEMS Microbiology Letter, 208, 219-225.

Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S. and Tribedi, P. 2016. Microbial siderophores and their potential applications: a review. Environ. Sci. Pollut. Res. 23, 3984–3999.

Topic for submission: Soil Biology and Biofertilizers

The role of siderophore producing bacteria on the growth and uptake of micronutrient in the pomegranate cuttings

Azarmi-Atajan*[1], F.

[1] Assistant Prof., Soil Science and Engineering Department, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran

Abstract

Pomegranate is one of the most important and valuable horticultural products of Iran. Due to the high pH and carbonate calcium content in soils of Iranian pomegranate gardens, the uptake of micronutrient is low. One of the novel ways to increase the uptake of micronutrient in plants is the use of plant growth promoting bacteria. In this study, the effect of 4 *Pseudomonas sp.* strains (Control (B_0), B_1, B_2, B_3 and B_4) with siderophore production ability on growth and uptake of Fe, Zn, Mn and Cu by pomegranate cutting under greenhouse condition were investigated. The results showed that the use of bacteria increased the leaf and root dry weight of pomegranate cuttings. The highest leaf and root dry weight of pomegranate cuttings was obtained from B_4 strain which were 2.57 and 2.04 grams per seedlings, respectively. Also, inoculation with these bacteria increased the uptake of Fe, Zn, Mn and Cu in the leaves of pomegranate cuttings. The role of strains B_1 and B_4 in this increase was more than other strains. Therefore, the use of siderophore producing bacteria can play an important role in improving the nutritional status and growth of pomegranate cuttings.

Keywords: Fe uptake, Plant growth promoting bacteria, Pomegranate nutrition, Rooting

* Corresponding author, Email: farhadazarmi@birjand.ac.ir