کارایی تلقیح ریزوباکتریایی محرک رشد بر جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق

بابک پیله‌ور [۱]، محمد بهمنی [۲]، سونیا یوسفی [۳]، احمد اصغرزاده [۴] و داوود کرتولی‌نژاد [۵]
۱- دانشیار دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی، ۲- دانشجوی دکتری دانشگاه لرستان، دانشکده کشاورزی، ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه سمنان، دانشکده کویرشناسی، ۴- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، بخش بیولوژی خاک، ۵- استادیار دانشگاه سمنان، دانشکده کویر شناسی

چکیده
تحقیق حاضر با هدف بهبود بنیه بذر گیاه استبرق (Calotropis procera Ait.) با استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد انجام شده است. این آزمایش با ۸ سطح تلقیح ریزوباکتریایی (شاهد، سودوموناس، آزوسپریلوم، ازوتوباکتر، سودوموناس+ آزوسپیریلوم، سودوموناس + ازوتوباکتر، آزوسپیریلوم + ازوتوباکتر و تلفیق سودوموناس + آزوسپیریلوم + ازوتوباکتر) در چهار تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین درصد (۷۲ درصد) به تیمار تلقیح سودوموناس پوتیدا سویه ۱۶۹ تعلق داشت که ۸/۱ برابر، بزرگترین طول ریشه‌چه (۸۴/۱۹ میلی متر) متعلق به سودوموناس+ازتوباکتر، بزرگترین شاخص بنیه بذر (۸/۱۷) به ازتوباکتر+آسپیرلیوم و هم چنین بالاترین وزن خشک گیاه در تیمار آزوسپریلوم لیپوفروم سویه of اختصاص داشت که بیشتر از شاهد بود. بنابراین تلقیح تلفیقی ریزوباکتریایی ریزوسفری می‌تواند به عنوان رهیافتی نوین در بهبود صفات فیزیولوژی بذر درختچه دارویی و صنعتی استبرق موثر باشد.

واژه های کلیدی: استبرق (Calotropis procera Ait.)، ریزوباکتریایی محرک رشد، جوانه‌زنی بذر

مقدمه
گیاه استبرق (Calotropis procera Ait.) از تیره استبرقیان (Asclepiadaceae) درختچه‌ای با ارتفاع ۳ تا ۴ متر است که در بسیاری از نواحی گرم بیابانی جنوب غربی آسیا و ناحیه مدیترانه تا سواحل آفریقا و همچنین در جنوب ایران (خوزستان تا بلوچستان) پراکنش دارد. استبرق دارای ارزش‌های اقتصادی و منحصر به فردی است که در جنگل‌کاری و احیای اراضی تخریب یافته مناطق خشک و بیابانی به خصوص در جنوب کشور نقش مهمی دارد. گونه مذکور در شرایط رویشگاهی بذر زیادی تولید کرده اما از پراکنش کمی برخوردار است و به نظر می‌رسد که در طبیعت با مشکل استقرار روبرو است (خائف و همکاران، ۱۳۹۰). در سال‌های اخیر رویکرد به‌کارگیری باکتری‌های ریزوسفری همزیست گیاهان جهت تحریک و تسریع صفات رویشی گیاهان سوق پیدا کرده است. برخی از این ریزوباکترها، گونه‌های جنس ازتوباکتر، آزوسپریلوم و سودوموناس مهم‌ترین انواع باکتری‌های محرک رشد[۱۱۲] گیاه های فعال در محیط ریشه (ریزوسفر) می‌باشند. این ریزوباکترها با تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای هورمون‌های تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها، رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Zahir et al., ۲۰۰۴). این ریزوباکترها همچنین قادر به افزایش سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن گیاهچه می‌باشند (Khan et al., ۲۰۰۳).

Yadav و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی روی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت شرایط گلخانه ای به این نتیجه رسیدند که بیشترین طول ساقه و ریشه به ترتیب در سویه‌های ریزوباکتریایی *Psedomonus putida* و *P. aeruginosa* و بیشترین وزن خشک ساقه و ریشه در سویه ریزوباکتریایی *P. aeruginosa* مشاهده شد. Noumavo و همکاران (۲۰۱۳) با مطالعه جوانه زنی بذر و توسعه نهال ذرت (*Zea may* L.) دریافتند که بیشترین درصد جوانه زنی و شاخص بنیه در تلقیح تلفیقی ریزوباکتر *Pseudomonas fluorescents* و *P. putida* نشان داده شد. نتایج شریفی و خاوازی (۱۳۹۰) نیز حاکی است که در گیاهچه ذرت، ریزوباکتر آزوسپریلوم سبب افزایش طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و نسبت آن در مقایسه با سایر ریزوباکترها و شاهد شده است. از آنجا که تاکنون تحقیق خاصی در ارتباط با اثرات تلقیح ریزوباکتری‌های محرک رشد بر بهبود فیزیولوژی بذر گیاه دارویی و صنعتی استبرق در داخل و خارج کشور گزارش نشده است لذا تحقیق حاضر برای اولین بار با به‌کارگیری تلقیح ریزوباکتریایی در صدد نیل به اهداف فوق بوده است.

[۱۱۲] Plant Growth Promotion Rhizobacteria

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه تکنولوژی مرتع در سال ۱۳۹۱ انجام شد. بدین منظور، غوزه‌های رسیده و تازه استبرق در مرداد ماه از رویشگاه طبیعی آن در روستای آباد شهرستان تنگستان از توابع استان بوشهر (عرض جغرافیایی N۳۲۱۳۲۰۶ m و طول جغرافیایی E ۵۲۳۷۰۳ m و ارتفاع از سطح دریا ۵۸ m) جمع‌آوری شد. جهت انجام تحقیق، نخست بذور همسان و یکنواخت جهت ضدعفونی در محلول قارچ کش Carboxin Tiram (۲ گرم در لیتر) به مدت دو دقیقه قرار داده شد و سپس با آب مقطر به طور کامل شسته شدند. طبق دستورالعمل موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، اینوکلوم ریزوباکتریایی محرک رشد به صورت ساده و تلفیقی (شاهد، ۱۶۹ *Psedomonus putida strain* با جمعیت کلنی *Azetobacter chrocoom strain* ۱۲ ،cfu/ml۱۰۹×۳.۶ با جمعیت کلنی cfu/ml۱۰۹×۲ و *Azosprillum lipoferum strain* of با جمعیت کلنی cfu/ml ۱۰۷×۶) تلقیح شدند. بذور تلقیح شده در ژرمیناتور در شرایط استاندارد جوانه‌زني (۱۶ ساعت روشنايي با شدت ۱۰۰۰ لوکس نوري و ۸ ساعت تاريکي، دماي ۲۰ درجه سانتي‌گراد و رطوبت نسبي ۶۵ درصد) به مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفتند. پس از اتمام دوره آزمایش، صفات فیزیولوژی بذر از جمله درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، شاخص بنیه و وزن خشک گیاه توسط کولیس و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ میلی‌متر و ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح پایه آزمایشی کاملا تصادفی با چهار تکرار بود، بدین صورت که پس از برداشت داده‌ها آزمون نرمالیته، همگنی واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kolmogorov- Smirnov)، لِون (Levene) و چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) انجام شد. ضمنا تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و رسم جداول از نرم افزار Sigma plot و Excel استفاده شده است.

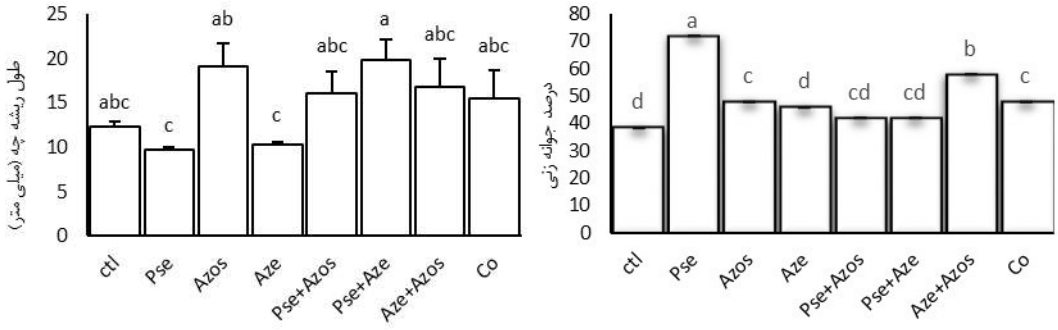
نتایج و بحث

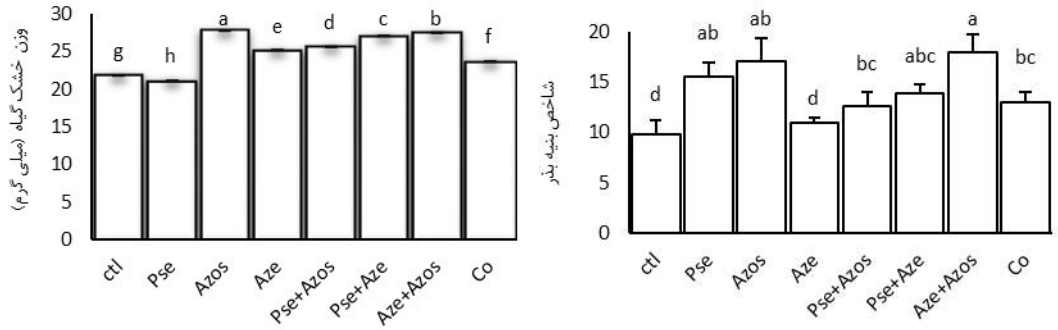
نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (چند دامنه‌ای دانکن) نشان داد که صفات فیزیولوژیک بذر استبرق، به طور معنی‌داری (در سطح ۱ و ۵ درصد) تحت تاثیر تلقیح ریزوباکتریایی محرک رشد قرار گرفتند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس فیزیولوژی بذر استبرق تحت تلقیح ریزوباکتریایی

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	طول ریشه چه	شاخص بنیه بذر	وزن خشک گیاه
ریزوباکتریایی	۷	۰۸۴/۰*	۴/۵۸*	۸۹/۳۱*	۹۸/۲۵**
خطا	۲۴	۰۰۳/۰	۷۶/۱۹	۸۱/۷	۰۲۶/۰
کل	۳۱				

**، * و NS به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱، ۵ ٪ و عدم معنی‌داری است





شکل ۱ - مقایسه میانگین صفات جوانه زنی و بنیه بذر استبرق تحت تلقیح ریزوباکتریایی(میانگین‌های دارای حروف مشترک در ستون آزمون چند دامنه‌ای دانکن بیانگر عدم تفاوت معنی‌داری است)

همان طور که از جدول پیداست، بیشترین درصد جوانه زنی (۷۲ درصد) در تیمار تلقیحی ریزوباکتر سودوموناس پوتیدا سویه ۱۶۹ در مقایسه با عدم تلقیح مشاهده شد. بیشترین طول ریشه‌چه (۸۴/۱۹ میلی‌متر) در تیمار تلقیح تلفیقی ریزوباکتر سودوموناس پوتیدا سویه ۱۶۹+ ازتوباکتر کروکوم سویه ۱۲ در مقایسه با عدم تلقیح مشاهده شد. بیشترین وزن خشک گیاهچه (۸۸/۲۷ میلی‌گرم) در تیمار تلقیحی آزوسپریلوم لیپوفروم سویه of در مقایسه با عدم تلقیح مشاهده شد (شکل ۱). بیشترین شاخص بنیه بذر (۸۸/۱۷) در تیمار تلقیح تلفیقی ازتوباکتر کروکوم سویه ۱۲ + آزوسپریلوم لیپوفروم سویه of در مقایسه با عدم تلقیح دیده شد (جدول ۳). مطالعات مشابه روی سایر گونه‌ها با استفاده از ریزوباکترهای محرک رشد دلالت بر بهبود جوانه‌زنی و سایر صفات فیزیولوژیک بذر دارد. از این رو نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های یزدانی و پیردشتی (۱۳۹۰) روی گندم (*Triticum aestivum* L.)، Yadav و همکاران (۲۰۱۰) روی نخود (*Cicer arietinum* L.)، Noumavo و همکاران(۲۰۱۳) و شریفی و خاوازی (۱۳۹۰) روی ذرت (*Zea mays* L.)، Moeinzadeh و همکاران (۲۰۱۰) روی آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، همخوانی دارد. همچنین، در این تحقیق تلقیح تلفیقی ریزوباکتریایی محرک رشد سبب افزایش برخی صفات فیزیولوژی بذر استبرق از جمله طول ریشه‌چه و شاخص بنیه بذر شده است که احتمالا بیانگر ارتقاء رابطه هم‌افزایی تلقیح انفرادی و تلفیقی ریزوباکتریایی با سایر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (Pan et al., ۱۹۹۹). از طرفی می‌توان اظهار داشت که پاسخ رویشی گیاه، به ژنوتیپ و سویه ریزوباکتریایی آن بستگی دارد (Khalid et al ۲۰۰۴.,).

نتیجه گیری

در پایان، با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که تلقیح تلفیقی ریزوباکترهای محرک رشد می‌تواند عامل مهمی در افزایش صفات فیزیولوژیک بذر استبرق باشد تا مکانیسم‌ها و سویه‌های مختلف ریزوباکتریایی بتوانند اثر بخشی موثری بر بهبود صفات فیزیولوژیک بذر داشته باشند. لذا پیشنهاد می‌شود تا تلقیح ربزوباکتریایی به عنوان یک رهیافت نوین در تحقیقات احیاء و توسعه پایدار رویشگاه‌های رو به تخریب درختچه دارویی و چند منظوره استبرق نیز به کار گرفته شود.

تشکر و قدردانی

از همکاری مسئولین محترم بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کارشناسان مرکز آینده پژوهی سازمان تحقیقات و جهاد خودکفایی نیروی دریایی سپاه پاسداران و تمامی کسانی که به نحوی در پیشبرد این تحقیق دخیل بودند بی نهایت سپاسگزاری و قدردانی می‌گردد.

منابع

خائف، ن. تقوایی، م. صادقی، ح و نیازی، ع. ۱۳۹۰. بررسی اثرهای متقابل نور و درجه حرارت بر جوانه زنی بذر استبرق (*Calotropis procera* L). مجله علمی پژوهشی مرتع، جلد ۵، شماره ۱، صفحه‌های ۱۹ تا ۲۸.

شریفی، س. ر. خاوازی، ک. ۱۳۹۰. تاثیر باکتری‌های محرک رشد برگیاه بر مولفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت (*Zea mas* L.). نشریه بوم شناسی کشاورزی، جلد ۳، شماره ۴، صفحه‌های ۵۰۶ تا ۵۱۳.

یزدانی، م، پیردشتی، ه. ۱۳۹۰. تاثیر ریزوباکترهای محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشدگیاهچه گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط شوری. نشریه زراعت، جلد ۹۲، شماره ۳، صفحه‌های ۲۴ تا ۳۰.

Khalid A., Arshad, M. and Zahir, Z.A, ۲۰۰۴. Screening plant growth-promoting wheat of yield for improving growth and rhizobacteria, Journal of Application Microbiol, ۹۶ (۳): ۴۷۳-۴۸۰.

Khan M.R., Talukdar, N.C. and Thakuria, D. ۲۰۰۳. Detection of Azosprillum and PSB in rice rhizosphere soil by protein and antibiotic resistance profile and their effect on grain yield of rice. Indian Journal of Biotechnology, ۲: ۲۴۶-۲۵۰.

Moeinzadeh A., Sharif-Zadeh F., Ahmadzadeh M. and Heidari Tajabadi F.۲۰۱۰. Biopriming of sunflower (Helianthus annuus L.) seed with Pseudomonas fluorescens for improvement of seed invigoration and seedling growth. Australian Journal of Crope Science, ۴(۷), ۵۶۴-۵۷۰.

Noumavo P. A., Kochoni E., Didagbé Y. O., Adjanohoun A., Allagbé M., Sikirou R., Gachomo E. W., Kotchoni, S. O. and Baba-Moussa, L. ۲۰۱۳. Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development, American Journal of Plant Sciences, ۴: ۱۰۱۳-۱۰۲۱

Pan B., Bai Y. M. Leibovitch S. and Smith D. L. ۱۹۹۹. Plant growth promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short-growing-season area. European Journal of Agronomy, ۱۱:۱۷۹-۱۸۶

Yadav J., Verma J. P. and Tiwari K. N.۲۰۱۰. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Seed Germination and Plant Growth Chickpea (Cicer arietinum L.) under in Vitro Conditions. In Biological : Forum-Annual of International Journal, ۲: ۱۵-۱۸

Zahir Z. A., Arshad M. and Frankenberger W. T. ۲۰۰۴. Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture, Advances in Agronomy, ۸۱: ۹۷-۱۶۷.

Abstract

Using of Plant growth promoting bacteria (PGPB) for inducing the germination of crops have long history in the agriculture but using of this microorganism as a inoculums in the medicinal and industrial plants of Calotrope is new practice, So we try to test the effect of PGPB on Calotrope seed germination. This experiment conducted with ۸ levels inoculation (control, Pseudomonas, Azosprillum, and Azotobacter, Azosprillum + Pseudomonas, Pseudomonas + Azotobacter, Azosprillum + Azotobacter, Azosprillum + Azotobacter and Pseudomonas synthesis) and experiment was carried out in a completely randomized design with four replications. Results of this experiment showed that inoculation of Calotrope seeds were significant effects on physiological traits. The highest germination percentage (۷۲ %) was belonged to inoculation with Pseudomonas putida strain ۱۶۹ that had ۱.۸ more than control treatment. The greatest root length (۸۴/۱۹ mm) was belonging to the Pseudomonas + Azotobacter inoculation was ۶.۱ more than control. Greatest vigor index (۸/۱۷) was belonged to the Azotobacter +Azosprillum that were ۱.۸۲ times more than control. This research revealed that the inoculation of rhizobacterial microorganisms is as a new approach that can be effective in improvement of physiological parameters of seed germination of Calotrope shrubs.

Keyword : Calotrope, Plant Growth Promotion Rhizobacterial, Seed Germination