بررسی اثر سویه‌های منتخب باکتری خانواده سودوموناس بر مؤلفه‌های فتوسنتزی در گیاه زیتون

کبری ثقفی*[۱]، سید مهدی حسینی مزینانی[۲]، احمد اصغرزاده[۳]، سولماز احمدآبادی[۴]

[*۱] کارشناس ارشد اصلاح نباتات موسسه تحقیقات خاک و آب

[۲] دانشیار، پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی، ایران، تهران

[۳] دانشیار،موسسه تحقیقات خاک و آب

[۴] دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری

*نویسنده مسئول: kobra_saghafi@yahoo.com

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر چند سویه منتخب از باکتری‌های خانواده سوموموناس بر مؤلفه‌های فتوسنتزی آزمایشی در قالب کاملاً تصادفی و با چهار تکرار با ۴ جدایه باکتری جنس *Pseudomonas* جدا شده از خاک‌های مناطق تحت کشت زیتون استان‌های فارس و گلستان، بر روی رقم آربکین در گلخانه موسسه تحقیقات خاک و آب به اجرا درآمد. در این پژوهش خصوصیاتی چون غلظت دی‌اکسید کربن داخل روزنه‌ای، میزان تعرق، هدایت روزنه‌ای، میزان فتوسنتز، هدایت مزوفیلی، اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نهال‌های زیتون تلقیح شده با باکتری‌ها از لحاظ تمامی خصوصیات مرتبط با فتوسنتز به‌غیراز غلظت دی‌اکسید کربن داخل روزنه‌ای اختلاف معنی‌داری داشتند. باکتری‌های محرک رشد به‌طور متوسط افزایش معنی‌دار (۲۸٪)در میزان فتوسنتز و (۲۱٪)در مقدار هدایت مزوفیلی در گیاهان ایجاد کردند. تلقیح گیاهان با جدایه *P. resinovorans* strain G21 سبب کاهش میزان تعرق به مقدار (۱۶٪) نسبت به گیاهان تلقیح نشده گردید.

***کلمات کلیدی:* pgpr، زیتون، تعرق، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز، هدایت مزوفیلی**

مقدمه

باکتری‌های محرک رشد گیاه که اصطلاحاً باکتری‌های pgpr نامیده می‌شوند و به گروهی از باکتری‌های ریزوسفری اطلاق می‌شود که موجب افزایش رشد گیاه و بهبود عملکرد محصولات زراعی می‌شوند. مهم‌ترین مرحله در برقراری ارتباط بین این باکتری‌های سودمند و گیاه میزبان، کلونیزاسیون ریشه‌ها توسط باکتری‌های PGPR است پس از ایجاد کلونیزاسیون، این باکتری‌ها با تقویت بنیه بیشتر گیاهچه‌ها در مراحل اولیه رشد، توسعه سیستم ریشه‌ای و افزایش مقاومت گیاه در برابر بیماری‌ها و بهبود سلامت گیاه سبب افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌گردند (Singh and Kapoor, 1999). تحریک رشد گیاهان با این مکانیسم‌ها می‌تواند به‌صورت مستقیم مانند بهبود تغذیه گیاهی یا غیرمستقیم مانند تأثیر بر سلامت گیاه با حذف عوامل بیماری‌زا انجام پذیرد. ر روش مستقیم باکتری‌ها از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفری، افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی در ناحیه ریزوسفر، افزایش سطح تماس ریشه، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد و بهبود همزیستی‌های مفید با گیاه میزبان در مراحل مختلف رشد، اثرات سودمند خود را نشان می‌دهند (Glick, 1995) . تأثیر باکتری‌های محرک رشد به‌طور غیرمستقیم بر زندگی گیاه با کاهش آسیب عوامل بیماری‌زای گیاهی صورت می‌پذیرد. این عمل یا با اثر آنتاگونیستی باکتری بر عوامل بیماری‌زای خاکزی و یا از طریق القای مقاومت سیستمیک در برابر عوامل بیماری‌زای اطراف گیاه رخ می‌دهد (*Haas and Defago, 2005*).

زیتون یکی از مهم‌ترین محصولات باغی کشور است و بر اساس گزارشات علمی موجود گیاهی مایکوتروفیک است یعنی رابطه مستقیمی بین درصد کلونیزاسیون ریشه زیتون با قارچ‌های میکرو ریز و سایر میکروارگانیسم‌های خاک و افزایش توانایی سیستم ریشه‌ای گیاه برای جذب آب و عناصر غذایی وجود دارد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر چهار جدایه از باکتری *Pseudomonas* جداسازی شده از ریزوسفر درختان زیتون از استان‌های گلستان و فارس بر نهال‌های زیتون آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار باکتری و چهار تکرار در گلخانه موسسه تحقیقات خاک و آب انجام شد. تیمارهای موردبررسی در این تحقیق شامل استفاده از سویه‌های مختلف *سودوموناس* شامل *Pseudomonas resinovorans strain G21* ،*Pseudomonas reinekei strain G6* ، *pseudomonas putida strain F9* بودند جهت انجام آزمایش از نهال‌های کشت بافتی رقم آربکین با متوسط ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر در گلدان‌هایی که با ۷ کیلوگرم خاک مزرعه پر شده بودند استفاده شد و تلقیح انجام گرفت تیمارها شامل تیمار شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح ریشه با باکتری‌ها بود. قبل از تلقیح جمعیت باکتری‌ها بر اساس روش شمارش کلنی و با استفاده از محیط‌های کشت مناسب شمارش گردید. بطوریکه جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح به‌طور متوسط 10^7 (cfu/g) بود همچنین ویژگی‌هایی از قبیل حل‌کنندگی فسفات، میزان پی اچ، میزان تولید اکسین –میزان سیدروفور در مورد تک‌تک جدایه‌ها با روش‌های مرسوم اندازه‌گیری شد.

تبادلات گازی گیاه در ساعت ۱۱ صبح و در دامنه شدت نور اشباع ۱۷۰۲-۱۴۰۲ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دستگاه فتوسنتزمتر ایرگا (مدل UK.Co.ADC. LCI) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری صفات موردنظر برای دومین برگ انتهایی از شاخه اصلی، ۵روز پس از آخرین آبیاری و دو هفته بعد از محلول‌پاشی انجام شد نمونه برگ‌ها به مدت ۳۰ ثانیه درون اتاقک اندازه‌گیری (چمبر)، طوری قرار داده شد که سطح فوقانی برگ به‌طرف بالا قرار گیرد، کارایی مصرف آب از تقسیم شدت فتوسنتز خالص بر شدت تعرق و کارایی مصرف نور نیز از تقسیم شدت فتوسنتز خالص بر میزان تابش فعال فتوسنتزی دریافتی (PAR) بدست آمد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال مربوطه مقایسه شد.

نتایج و بحث

جدول ۱- جدول آنالیز واریانس کلیه مؤلفه‌های فتوسنتزی

منبع تغییرات	درجه آزادی	CO2 زیر روزنه‌ای (میکرومول بر مول)	تعرق (میلی مول در مترمربع)	هدایت روزنه‌ای (میلی مول در مترمربع در ثانیه)	فتوسنتز (میکرو مول در مترمربع در ثانیه)	هدایت مزوفیلی
باکتری	3	1005.81^{ns}	1.171**	0.0008**	5.585**	0.00007**
خطا	20	898.23	0.125	0.0003	1.7751	0.00003
ضریب تغییرات		11.55	18.69	22.93	16.18	18.43

ns, **و* -به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۲- جدول مقایسه میانگین کلیه مؤلفه‌های فتوسنتزی

جدایه باکتری	CO2 زیر روزنه‌ای Ci	تعرق E	هدایت روزنه GS	فتوسنتز A	هدایت مزوفیلی A/ci
Control	248.67a	1.66 b	0.063 b	6.79 b	0.0275 b
p. putida strain F9	274.60 a	2.21 a	0.090 a	8.76 a	0.0326 ab
P. reinekei strain G6	250.00 a	2.29 a	0.086 ab	8.78 a	0.0353 a
P. resinovorans strain G21	269.00 a	1.38 b	0.078 ab	8.61 a	0.0323 ab

در هر ستون و برای هر صفت میانگین‌هایی با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند

کاربرد تیمارهای مختلف باکتری به‌طور معنی‌داری به‌غیراز CO2 زیر روزنه‌ای بر کلیه مؤلفه‌های فتوسنتزی تأثیر داشت. کلیه پارامترها در گیاهان تیمار شده با باکتری نسبت به گیاهان تیمار نشده (کنترل) برتری نشان دادند. نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول۲) نشان می‌دهد که تلقیح گیاه با باکتری به‌طور محسوس می‌تواند میزان تعرق از واحد سطح برگ را کاهش دهد، به‌طوری‌که میزان کاهش آن در جدایه *P. resinovorans* strain G21 در مقایسه با تیمار شاهد تلقیح نشده ۱۶

./بـود. البته در گیاه زیتون روزنـه‌هـا در سـطح زیرین برگ قرار دارند که این مسئله نیز اهمیت خاصی در کنترل حفظ آب برگ و کاهش تعرق دارد. بیشترین میزان فتوسنتز مربوط به گیاهان تلقیح شده و کمترین میزان آن مربوط به گیاهان شاهد (عدم تلقیح)بوده است. همچنین بالاترین مقدار هدایت مزوفیلی مربوط به گیاهان تلقیح شده با باکتری reinekei *strain G6* *P.* و کمترین مقدار مربوط به گیاهان تلقیح نشده بوده است.

دلیل افزایش میزان فتوسنتز، هدایت وزنه‌ای و هدایت مزوفیلی در اثر تلقیح با باکتری به دلیل قابلیت تولید اکسین توسط باکتری‌ها و توسعه سیستم ریشه‌ای و بهتر شدن وضعیت آبی گیاه در اثر تلقیح می‌باشد. بطوریکه با قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب‌تر در اختیار گیاه باعث افزایش میزان ساخت رنگیزه‌ها شده و انتقال مواد فتوسنتزی را در گیاه راحت‌تر می‌نمایند. همچنین گزارش شده است که تیمار گیاهان با باکتری‌های PGPR موجب تغییر و اصلاح ساختار دیواره سلولی و تغییرات بیوشیمیایی فیزیولوژیکی می‌شود که منجر به سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های مرتبط با پایداری رنگدانه‌ها، افزایش غلظـت کلروفیـــل برگ‌ها و در نتیجـه سـرعت فتوسـنتز می‌باشند. ازاین‌رو افزایش سرعت فتوسنتز خالص را می‌توان به افزایش غلظت کلروفیل بر اثر همزیستی باکتری-گیـاه نـسبت داد. از طرفی فراهمی عناصر غذایی نظیر عنصر نیتروژن که در اثر همزیستی گیاهان با باکتری‌ها ایجاد می‌شود از یک طرف با اثر بر میزان کلروفیل گیاه و از طرف دیگر با افزایش رشد رویشی، تعداد و سطح برگ، می‌تواند سبب افزایش فتوسنتز و ساخت مواد غذایی در گیاه و در نهایت افزایش کارایی مصرف نور آن گردد(Kaschuk *et al.*, 2009). باکتری‌های محرک رشد سبب قابلیت انحلال فسفات‌های نامحلول شده و همزیستی باکتری با ریشه گیاه جذب فسفر را بهبود می‌بخشد عنصر فسفر نیز با شرکت در ساختار حامل‌های انرژی مانند ATP و NADPHنقش مهمی در فرآیندهای نورانی و تاریکی فتوسنتز ایفا می‌کند (Smith *et al.*, 2003). با توجه به نتایج این آزمایش چنین به نظر می‌رسد تلقیح گیاه زیتون با باکتری‌های محرک رشد با افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و مولکول‌های حامل انرژی سبب افزایش شدت فتوسنتز خالص و در نهایت کارایی مصرف نور در گیاه گردند همچنین این نتایج بیانگر آن است که تلقیح گیاه زیتون با باکتری‌های محرک رشد نه‌تنها سـبب افـزایش جذب آب توسط ریشه گیاه می‌شود بلکه با کاهش تبخیـر و تعرق گیاه، از هدر رفت آب جلوگیـــری بـه عمـل می‌آورد و با توجه به اینکه کشور ما در منطقه خـشک و نیمه‌خشک قرار گرفته است این موضوع بسیار حائز اهمیت است.

منابع

Singh, S. and K. K. Kapoor. 1999. Inoculation with phosphate solubilizing microorganisms and a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. Biol. Fertil. Soils 28: 139–144**.**

Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109–117.

Haas, D. and G. Defago. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. Natur. Rev. Microbiol. 3(4): 307-319.

Smith, S. E., Smith, F. A., and Jakobsen, I. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. Plant Physiology 133:16–20.

Kaschuk, G., Kuyper, T. W., Leffelaar, P. A., Hungria, M., and Giller, K. E. 2009. Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobialand arbuscular mycorrhizal symbioses? Soil Biology and Biochemistry41: 1233-1244.

The Effect of Selected Strains of Pseudomonas Bacteria Family on Photosynthetic Parameters in Olive Plant

Kobra Saghafi[1]*, SEyed Mehdi Hoseini Mazinani[2], Ahmad Asgharzadeh[3],Sulmaz Ahmadabadi[4]
[1*] Expert Plant Breeding Soil and WaterResearch InsIttue
[2] Associate Professor National Institute of. Genetic Engineering and. Biotechnology
[3] Associate Professor Soil and WaterResearch InsIttue
[4]M.SC student Agriculture Biotechnology National Institute of. Genetic Engineering and. Biotechnology
[*]*Corresponding Author: kobra_saghafi@yahoo .com*

Abstract

The effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on growth and photosynthesis components of local Arbequin cultivar of olive (*Olea europaea* L.) were determined in a greenhouse of soil and water research institute. For this purpose, in a completely randomized design (CRD) and four replicates, four putative bacteria, including genus of Pseudomonas, that selected from soil under olive cultivation provinces of Fars and Golestan. In a greenhouse experiment, the concentration of carbon dioxide inside the stomatal, transpiration rate, stomatal conductance, photosynthesis, mesophyll conductance were measured.Analysis of variance showed that olive seedlings inoculated with bacteria of all photosynthesis-related characteristics, except the concentration of carbon dioxide in stomatal,were significant difference.The results indicated that PGPR, on average,showed a significant increase (28%) in the rate of photosynthesis and (21%) in the amount of mesophyll conductance in plant. Plants inoculated with isolates of P. resinovorans strain G21 reduces the amount of transpiration rate (16%) compared with non-inoculated plants.

***Keywords*: PGPR, Oive, Transpiration, Stomatal conductance, Photosynthesis, Mesophyll conductance.**