مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۳، شماره۳، پاییز ۱۳۹۱، ۲۷۰-۲۵۹

اثرات تلقیح باکتریایی ریزوبیوم ملیلوتی (*Rhizobium meliloti*) بومی و استاندارد بر رشد گیاه یونجه (*Medicago sativa*) تحت آلودگی SO_2 هوا

مهری عسکری .Ph.D[1*]، شیما حسین‌خانی هزاوه .M.Sc[2]

۱- دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: m-askary@araku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۹/۲۲

چکیده

هدف: در این مطالعه اثرات ریزوبیوم بر رشد گیاه یونجه تحت شرایط آلودگی SO_2 هوا ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها: گیاهان ۳۵ روزه (تلقیح نشده، تلقیح شده با ریزوبیوم بومی و استاندارد) به مدت ۶ روز متوالی، هر روز ۲ ساعت تحت تیمار غلظت‌های مختلف گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ppm۲) قرار گرفتند.

نتایج: نتایج کاهش معنی‌دار سطح برگ، طول ساقه، عمق ریشه و وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه گیاهان تحت غلظت‌های بالای گاز را نشان داد. تعداد برگ در تمام غلظت‌ها، تغییر معنی‌داری را نشان نداد. تلقیح گیاه یونجه با باکتری ریزوبیوم اثرات منفی غلظت‌های بالای گاز دی‌اکسیدگوگرد را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در این بررسی اثرات مثبت باکتری بومی چشمگیرتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله بیانگر اثرات مخرب غلظت‌های بالای آلودگی SO_2 هوا روی رشد گیاهان و اثرات مثبت تلقیح باکتریایی در مقاومت نسبت به تنش آلودگی دی‌اکسیدگوگرد هوا می‌باشد.

واژگان کلیدی: آلودگی هوا، ریزوبیوم، رشد، یونجه

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

یکی از عمومی‌ترین و سمی‌ترین آلاینده‌های هوا گاز دی‌اکسیدگوگرد (SO_2) است (۱). رخداد جنگ جهانی دوم و به دنبال آن گسترش اقتصاد پس از جنگ، منجر به افزایش بی‌سابقه انتشار گاز SO_2 در محیط شد (۲). SO_2 گازی بی‌رنگ و خورنده است که از سوختن سوخت‌های فسیلی غنی از گوگرد مثل زغال‌سنگ و نفت، آتش‌سوزی جنگل، فوران‌های آتشفشانی، ذوب سنگ معدن و تولید آهن، فولاد، آلومینیم، مس، سرب، روی و طلا ایجاد می‌شود (۳). اثر گاز دی‌اکسیدگوگرد روی گیاهان به فاکتورهای مهمی از جمله شرایط محیطی، مدت زمان قرار گرفتن گیاه در معرض گاز، غلظت اتمسفری گاز، میزان سولفور خاک و ژنتیک گیاه بستگی دارد. گاز دی‌اکسیدگوگرد در غلظت‌های پایین دارای اثرات مثبتی در رشد و نمو گیاه می‌باشد (۴) اما در غلظت‌های بالا اثرات منفی روی متابولیسم و فرایندهای رشد و نموی گیاه دارد. اثرات منفی این گاز روی گیاهان بسیار گسترده است. این گاز به آسانی می‌تواند از طریق روزنه‌ها وارد شود و روی ساختار کلروپلاست اثر گذارد و در نهایت رشد و نمو گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. حتی وقتی که روزنه‌ها بسته باشند این گاز می‌تواند با آب واکنش داده و از طریق کوتیکول وارد برگ شود (۴ و ۵).

ریزوبیوم مشهورترین باکتری تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن مولکولی از خانواده‌ی ریزوبیاسه است. این باکتری آندوفیت طبیعی لگوم‌ها (۶) و جز گروهی از باکتری‌ها با نام ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) می‌باشد (۷). این باکتری‌ها می‌توانند از اثرات زیان‌آور عوامل بیماری‌زای گیاهی و تنش‌های زنده و غیرزنده محیطی جلوگیری کنند (۸).

گیاه یونجه *Medicago sativa* به عنوان ملکه نباتات علوفه‌ای با سطح زیر کشت ۳۲ میلیون هکتار در جهان (۹)، علوفه غالب در مناطقی با آب و هوای معتدل است (۱۰). با توجه به اهمیت گیاه یونجه و رویش آن در اکثر مناطق با هوای آلوده، این تحقیق با هدف مطالعه میزان تغییرات رشدی گیاه یونجه در معرض آلودگی SO_2 هوا و تاثیر تلقیح باکتریایی بر کاهش احتمالی اثرات آلودگی اتمسفری SO_2 صورت گرفت تا در صورت بقا و تولید زیست‌توده کافی در حضور آلاینده SO_2، کاشت گیاه علوفه‌ای یونجه در اطراف شهرهای آلوده به منظور کاهش آلودگی SO_2 هوا پیشنهاد گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی مایه تلقیح باکتری: سویه بومی باکتری ریزوبیوم ملیلوتی (R_n) *Rhizobium meliloti* از ریشه‌های گیاه یونجه جمع‌آوری شده از مزارع اطراف شهر اراک استخراج شد. ریشه‌های تازه یونجه دارای گرهک، پس از انتقال به آزمایشگاه شستشو و ضدعفونی شدند (۱۱). سپس گرهک‌ها در چند قطره آب استریل بوسیله انبرک له شدند و یک لوپ استریل از گرهک له شده فوق به محیط اختصاصی ریزوبیوم YMA (Yeast Manitol Agar) انتقال یافت (۱۲). پتری‌دیش‌های حاوی باکتری به انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. پس از انکوباسیون نوع واکنش گرم و مورفولوژی باکتری در زیر میکروسکوپ بررسی شد. تشکیل کلنی‌های محدب و برجسته، نیمه شفاف، لزج و موسیلاژی و واکنش گرم منفی نشانه موفقیت‌آمیز بودن جداسازی ریزوبیوم در نظر گرفته شد (۱۱).

ریزوبیوم ملیلوتی سویه استاندارد (R_s) به صورت آمپول‌های لیوفیلیزه (PTCC 1684) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد. در شرایط استریل با کمک سوهان ضدعفونی شده شکسته و با تزریق مقدار کمی آب استریل به حالت تعلیق در آمد. سپس مقدار کمی از محلول باکتریایی فوق به محیط کشت YMA جامد (۱۲) منتقل و در ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از رشد، باکتری‌ها به محیط‌های جدید انتقال و در یخچال نگهداری گردیدند. از آنجا که غلظت بهینه ریزوبیوم جهت تحریک رشد شبدر و یونجه 10^5 گزارش شده است (۱۳) مایه تلقیح دو ریزوبیوم استاندارد و بومی با غلظت 10^5 تهیه گردید. در شرایط استریل یک لوپ از ریزوبیوم ملیلوتی بومی و استاندارد از محیط کشت جامد برداشته و در ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت YMA مایع حل شد و در درجه حرارت محیط به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر (دور ۱۰۰rpm) کشت داده شد (۱۴). سپس غلظت 10^5 cfu ml^{-1} از هر باکتری با استفاده از معیار جذب نوری (۱۵) تهیه شد. در صورتی‌که جذب نوری در محلول YMA مایع در طول موج ۶۲۰ نانومتر معادل ۰/۱ باشد غلظت ریزوبیوم 10^8 Cells ml^{-1} در نظر گرفته شد (۱۶).

تهیه و تلقیح بذر: بذر گیاه یونجه رقم همدانی از مرکز تحقیقات سازمان جهاد کشاورزی شهر اراک تهیه شد. بذرها توسط اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه و سپس هیپوکلریت‌سدیم ۱درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی سطحی و

Archive of SID
www.SID.ir

سپس ۵ بار با آب مقطر شستشو داده شدند (۱۷). بذرهای یونجه استریل شده به مدت ۲ ساعت در درجه حرارت محیط تحت خلا حاصل از یک پمپ کوچک به منظور تسهیل نفوذ سویه‌های باکتریایی به درون بذر از طریق منافذ بذر، قرار گرفتند (۱۸). بذرهای شاهد R- در بافر فسفات استریل در شرایط مشابه قرار گرفتند. دانه‌های شبدر شاهد و تلقیح یافته بر روی کاغذ صافی مرطوب درون پتری‌دیش به مدت ۱ روز در تاریکی در ۲۵ درجه سانتی گراد جهت جوانه‌زنی قرار گرفتند. گیاهک‌های یک روزه در شرایط کاملا استریل به میکروتیوب‌های استریل با انتهای بریده شده انتقال یافتند. میکروتیوب‌های حاوی گیاهک‌های یک روزه یونجه به ظرف‌های (۲۲ در ۳۱ سانتی‌متر) حاوی محیط غذایی نیمه‌هوگلند که با پمپ هوا هوادهی می‌شدند، انتقال یافتند. هر ظرفِ حاوی ۲۴ عدد بذر یونجه (شاهد یا تلقیح‌شده) یک تکرار از یک تیمار در نظر گرفته شد و با توجه به تعداد تیمارهای گاز دی‌اکسیدگوگرد (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ppm۲)، تعداد ظروف ۱۵ عدد در نظر گرفته شد. این گیاهان در فتوپریود ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد و ۱۸ درجه سانتی گراد به هنگام روز و شب قرار گرفتند.

اعمال تنش گاز SO_2: سیلندر گاز SO_2 از پتروشیمی اراک تهیه شد. تزریق گاز به وسیله سرنگ به محیط ظروف پلاستیکی گیاهان ۳۵ روزه (شاهد تلقیح‌نشده، تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی R_n و استاندارد R_s) در غلظت‌های ppm (به عنوان شاهد آلودگی SO_2)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ppm۲ به مدت ۶ روز و هر روز ۲ ساعت، با بستن کامل درب ظروف پلاستیکی، با توجه به فضای هوای بالای هر ظرف انجام شد. پس از دو ساعت انکوباسیون با باز کردن درب ظروف، گیاهان به هوای معمولی انتقال یافتند. در طی این مدت درب ظروف شاهد (۰ppm) هم بسته بودند و جریان هوای معمولی را نداشتند. آزمایش در شرایط کنترل شده نور و دما (۲±۲۵ سانتی گراد)، به صورت کشت هیدروپونیک در طرح کاملا تصادفی در قالب آزمایشات فاکتوریل در سه تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای رشد: هر هشت روز یکبار، ارتفاع بخش هوایی، عمق ریشه، تعداد و سطح برگ هر گیاه اندازه‌گیری شد. در آخرین روز، وزن تر و خشک برگ، ریشه و ساقه گیاهان ۴۵ روزه توسط ترازو اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS16، مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

تلقیح باکتریایی بر شاخص‌های رشدی گیاه یونجه از جمله سطح و تعداد برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه در دوره‌های رشدی ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ روزه (روزهای قبل از تزریق گاز SO_2) اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). تلقیح با باکتری ریزوبیوم ملیلوتی سویه بومی و استاندارد باعث افزایش رشد گیاهان یونجه شده است. باکتری بومی در افزایش رشد گیاهان یونجه اثر چشمگیرتری نسبت به باکتری استاندارد داشته است. در گیاهان ۳۲ روزه باکتری بومی باعث افزایش ۶۹/۱۹ درصدی سطح برگ، ۶۴/۵۵ درصدی تعداد برگ، ۴۰/۹۶ درصدی عمق ریشه و ارتفاع بخش هوایی شد (جدول ۲).

به گیاهان ۳۵ روزه به مدت ۶ روز گاز SO_2 تزریق شد و گیاهان ۴۰ و ۴۵روزه بررسی شدند. نتایج نشان داد که تیمار تلقیح باکتریایی اثر معنی‌داری بر سطح و تعداد برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه گیاهان یونجه ۴۵ روزه تحت تنش داشت (جدول ۳). بیشترین سطح و تعداد برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه متعلق به گیاهان ۴۵ روزه تلقیح شده با سویه بومی ریزوبیوم بود. گیاهان ۴۵ روزه تلقیح شده با سویه استاندارد نیز رشد بیشتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند (جدول ۴).

جدول ۱: نتایج آنالیز واریانس اثر تلقیح باکتریایی بر رشد شاخص‌ها در گیاهان ۸، ۱۶،۲۴ و ۳۲ روزه (قبل از تزریق گاز SO_2). مقایسه برای هر ردیف (شاخص) جداگانه انجام شده است.

منابع تغییر	تلقیح باکتریایی			
	۸ روزه	۱۶ روزه	۲۴ روزه	۳۲ روزه
سطح برگ (Cm^2)	۳۳/۵**	۴۴/۷**	۲۵۰/۲**	۸۳۳/۳**
تعداد برگ	۳۷**	۳۷/۵**	۳۰/۳**	۴۶/۵**
ارتفاع بخش هوایی (Cm)	۱۸۴/۷**	۲۷۷/۲**	۵۹/۶**	۸۰/۴**
عمق ریشه (Cm)	۳۱/۶**	۲۴/۴**	۳۸**	۴۸/۹**

^{ns} معنی‌دار نیست، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح ۱درصد

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲: مقایسه میانگین‌های اثر تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n و ریزوبیوم استاندارد R_s) بر شاخص‌های رشدی گیاه یونجه ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲ روزه (قبل از تزریق گاز SO_2). هر عدد در جدول میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد است و مقایسه برای هر شاخص به صورت جداگانه انجام شده است.

شاخص	سن (روز)	تلقیح باکتریایی		
		-R	R_n	R_s
سطح برگ (Cm^2)	۸	۲/۹^{c}±۰/۳	۵/۵^{a}±۰/۲	۴/۵^{b}±۰/۱
	۱۶	۱۳/۷۳^{c}±۰/۱	۱۸/۲۶^{a}±۰/۵	۱۶/۰۳^{b}±۰/۱
	۲۴	۱۸/۷۲^{c}±۰/۱	۲۶/۹۱^{a}±۰/۳	۲۳/۳۷^{b}±۰/۲
	۳۲	۲۰/۵۱^{c}±۰/۳	۳۴/۷^{a}±۰/۲	۳۰/۷۶^{b}±۰/۲
تعداد برگ	۸	۱/۳۳^{b}±۰/۰۱	۳/۰۰^{a}±۰/۰۱	۲/۰۰^{ab}±۰/۰۱
	۱۶	۱/۶۷^{c}±۰/۳	۵/۰۰^{a}±۰/۰۱	۳/۳^{b}±۰/۳
	۲۴	۳/۶۷^{c}±۰/۳	۷/۳۳^{a}±۰/۴	۵/۳۳^{b}±۰/۳
	۳۲	۵/۶۷^{c}±۰/۳	۹/۳۳^{a}±۰/۱	۷/۳۳^{b}±۰/۱
ارتفاع بخش هوایی (Cm)	۸	۱۱/۰۱^{c}±۰/۱	۱۸/۸^{a}±۰/۳	۱۳/۴۲^{b}±۰/۳
	۱۶	۱۳/۸۰^{c}±۰/۱	۲۲/۰۷^{a}±۰/۲	۱۶/۸۹^{b}±۰/۳
	۲۴	۱۶/۷۸^{c}±۰/۳	۲۴/۱۷^{a}±۰/۳	۲۰/۵۳^{b}±۰/۶
	۳۲	۱۸/۸۰^{c}±۰/۵	۲۶/۵^{a}±۰/۳	۲۲/۹^{b}±۰/۲
عمق ریشه (Cm)	۸	۸/۵^{c}±۰/۳	۱۴/۳۷^{a}±۰/۵	۱۱/۰۰^{b}±۰/۴
	۱۶	۱۰/۱۸^{c}±۰/۲	۱۷/۹۲^{a}±۱/۲	۱۳/۴۲^{b}±۰/۵
	۲۴	۱۳/۲۷^{c}±۰/۵	۲۱/۴۳^{a}±۰/۴	۱۷/۲۰^{b}±۰/۶
	۳۲	۱۸/۸۰^{c}±۰/۴	۲۶/۵۰^{a}±۰/۴	۲۲/۹۲^{b}±۰/۳

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های ذکر شده هر شاخص مطابق آزمون دانکن است.

جدول ۳: نتایج آنالیز واریانس اثر تیمار گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح، تلقیح با ریزوبیوم بومی و ریزوبیوم استاندارد) بر شاخص‌های رشدی گیاهان یونجه ۴۵۰ روزه. مقایسه برای هر ستون و شاخص جداگانه انجام شده است.

منابع تغییر	تعداد برگ	سطح برگ	ارتفاع بخش هوایی	عمق ریشه
تیمار تلقیح باکتریایی	۴۴/۹۷**	۵۵/۳۵**	۱۰۸/۰۹**	۴۴۳/۲۵**
تیمار گاز SO_2	۲/۴۸^{ns}	۲۲/۵۲**	۸۶/۸**	۲۴/۸۳**
اثر متقابل تلقیح باکتریایی و گاز SO_2	۲/۱۳^{ns}	۶/۶۸**	۱۰/۱۵**	۲۵/۲۹**

*ns معنی‌دار نیست، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد*

جدول ۴: مقایسه میانگین‌های تاثیر تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n و ریزوبیوم استاندارد R_s) بر سطح برگ، تعداد برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه گیاهان یونجه ۴۵ روزه (۱۰ روز پس از تزریق گاز SO_2). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های ذکر شده مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و مقایسه برای هر شاخص به صورت جداگانه انجام شده است.

شاخص	تلقیح باکتریایی		
	-R	R_n	R_s
سطح برگ (Cm^2)	۳۰/۹۳^{b}±۳	۴۵/۲۸^{a}±۰/۶	۴۰/۲۱^{a}±۱
تعداد برگ	۱۴/۸۰^{c}±۰/۴	۱۸/۷۳^{a}±۰/۳	۱۶/۳۳^{b}±۰/۳
ارتفاع بخش هوایی (Cm)	۳۰/۶۷^{c}±۰/۹	۳۶/۰۴^{a}±۰/۶	۳۳/۵۸^{b}±۰/۶
عمق ریشه (Cm)	۲۲/۴۹^{c}±۱/۰	۳۲/۰۷^{a}±۰/۲	۲۸/۳۳^{b}±۰/۱

Archive of SID
www.SID.ir

غلظت‌های مختلف گاز SO_2 اثرات معنی‌داری بر سطح برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه گیاهان یونجه ۴۵ روزه داشت (جدول ۳). میزان سطح برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه در گیاهان ۴۵ روزه در غلظت پایین گاز (۰/۵ ppm) تفاوت معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد نداشت اما افزایش غلظت گاز SO_2 (۱، ۱/۵ و ۲ppm) باعث کاهش معنی‌داری در سطح برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه شد به‌طوری‌که در گیاهان ۴۵ روزه تحت غلظت ppm ۲ گاز SO_2، سطح برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه به ترتیب کاهش ۲۸/۷۰، ۱۷/۲۴ و ۱۱/۲۷ درصدی را نسبت به شاهد (۰ppm) از خود نشان دادند. تعداد برگ در غلظت ppm ۰/۵ در گیاهان ۴۵ روزه نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد اما با افزایش غلظت گاز از تعداد برگ گیاهان کاسته شد (جدول ۵). در بررسی گیاهان ۴۰ روزه نتایجی مشابه با نتایج بررسی گیاهان ۴۵ روزه به دست آمد.

جدول ۵: مقایسه میانگین‌های اثر گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) بر سطح برگ، تعداد برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه در گیاهان ۴۵ روزه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های ذکر شده مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و مقایسه برای هر شاخص به صورت جداگانه انجام شده است.

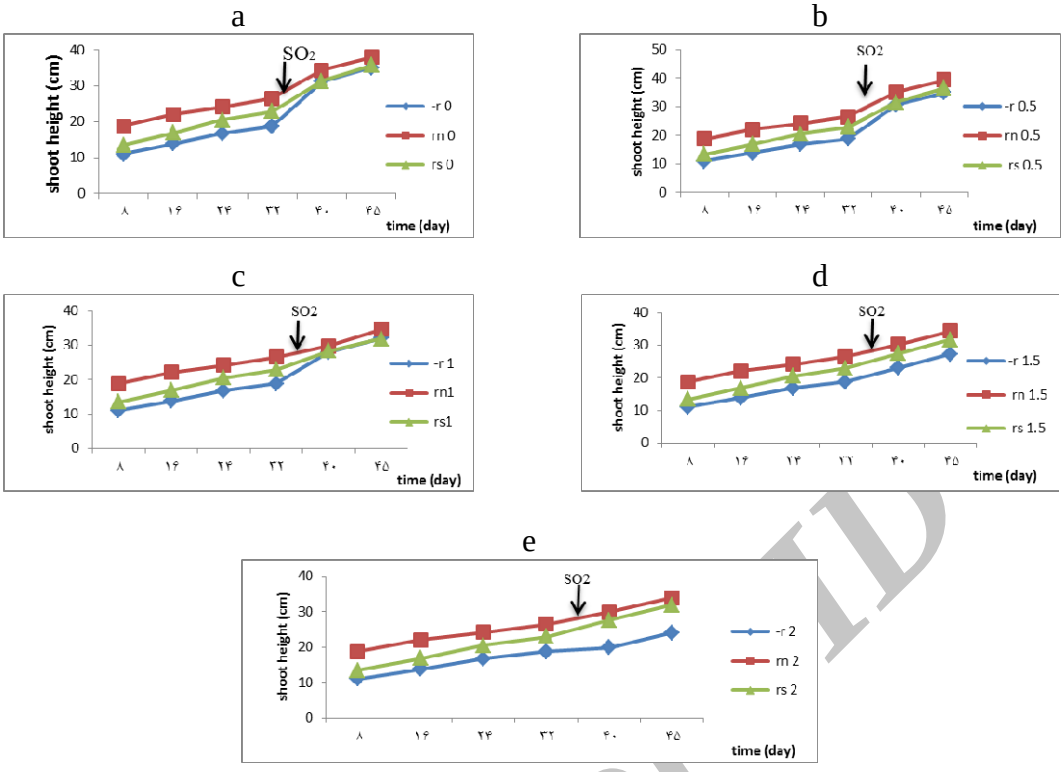
شاخص	غلظت‌های مختلف گاز SO_2 (ppm)				
	۰	۰/۵	۱	۱/۵	۲
سطح برگ (Cm^2)	$۴۶/۳۱^{a}\pm۱/۶$	$۴۴/۰۳^{a}\pm۱/۷$	$۳۶/۴۷^{b}\pm۳/۱$	$۳۴/۲۰^{b}\pm۴/۱$	$۳۳/۰۲^{b}\pm۱/۸$
تعداد برگ	$۱۶/۸۹^{a}\pm۰/۶$	$۱۷/۵۶^{a}\pm۱/۰۴$	$۱۶/۲۲^{b}\pm۰/۶$	$۱۶/۱۱^{b}\pm۰/۶$	$۱۶/۳۳^{b}\pm۰/۴$
ارتفاع بخش هوایی (Cm)	$۳۶/۲۶^{a}\pm۰/۴$	$۳۷/۰۰^{a}\pm۰/۶$	$۳۲/۸۲^{b}\pm۰/۴$	$۳۱/۰۴^{c}\pm۱/۰۵$	$۳۰/۰۱^{d}\pm۱/۵$
عمق ریشه (Cm)	$۲۹/۱۱^{a}\pm۰/۷$	$۲۹/۰۹^{a}\pm۰/۸$	$۲۷/۵۷^{b}\pm۰/۴$	$۲۶/۵۵^{c}\pm۰/۶$	$۲۵/۸۳^{c}\pm۰/۴$

جدول ۶: مقایسه میانگین‌های اثر متقابل گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی Rn و ریزوبیوم استاندارد Rs) بر سطح برگ، تعداد برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه در گیاهان ۴۵ روزه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های ذکر شده مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و مقایسه برای هر شاخص به صورت جداگانه انجام شده است.

تلقیح باکتریایی	گاز SO_2 ppm	شاخص‌های رشد			
		سطح برگ (Cm^2)	تعداد برگ	ارتفاع بخش هوایی(Cm)	عمق ریشه (Cm)
بدون تلقیح -R	۰	$۴۴/۶۵^{ab}\pm۴/۷$	$۱۵/۶۷^{def}\pm۱/۲$	$۳۵/۰۶^{cd}\pm۰/۱$	$۲۶/۹۳^{c}\pm۰/۳$
	۰/۵	$۴۳/۶۲^{ab}\pm۵/۴$	$۱۴/۰۰^{f}\pm۱/۱$	$۳۵/۰۳^{cd}\pm۰/۰۸$	$۲۶/۷۸^{c}\pm۰/۱$
	۱	$۲۶/۶۹^{e}\pm۰/۴$	$۱۴/۳۳^{ef}\pm۰/۳$	$۳۱/۹۶^{e}\pm۰/۴$	$۲۲/۵^{d}\pm۰/۲$
	۱/۵	$۲۱/۲۹^{ef}\pm۰/۶$	$۱۴/۳۳^{ef}\pm۰/۳$	$۲۷/۲۳^{f}\pm۰/۱$	$۱۹/۱۷^{e}\pm۰/۶$
	۲	$۱۸/۴^{f}\pm۰/۲$	$۱۵/۶۷^{def}\pm۰/۶$	$۲۴/۰۶^{g}\pm۰/۰۶$	$۱۸/۵^{f}\pm۰/۳$
تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n	۰	$۴۷/۰۴^{a}\pm۱/۱$	$۱۸/۶۷^{ab}\pm۰/۶$	$۳۷/۹۸^{ab}\pm۰/۲$	$۳۱/۴۷^{a}\pm۰/۸$
	۰/۵	$۴۹/۰۰^{a}\pm۱/۰۷$	$۲۰/۳۳^{a}\pm۰/۸$	$۳۹/۳۶^{a}\pm۰/۳$	$۳۲/۲۵^{a}\pm۰/۶$
	۱	$۴۳/۳۹^{ab}\pm۰/۷$	$۱۸/۶۷^{ab}\pm۰/۳$	$۳۴/۵۸^{d}\pm۰/۳$	$۳۲/۲۳^{a}\pm۰/۵$
	۱/۵	$۴۳/۳۲^{ab}\pm۰/۳$	$۱۸/۳۳^{abc}\pm۰/۳$	$۳۴/۲۵^{d}\pm۰/۵$	$۳۲/۱۵^{a}\pm۰/۷$
	۲	$۴۳/۶۷^{ab}\pm۱/۵$	$۱۷/۶۷^{bcd}\pm۰/۸$	$۳۴/۰۰^{d}\pm۱/۳$	$۳۲/۲۵^{a}\pm۰/۴$
تلقیح با ریزوبیوم استاندارد R_s	۰	$۴۵/۲۸^{ab}\pm۲/۳$	$۱۶/۳۳^{cde}\pm۰/۳$	$۳۵/۷۴^{c}\pm۰/۳$	$۲۸/۹۲^{b}\pm۰/۲$
	۰/۵	$۴۱/۴۵^{b}\pm۰/۹$	$۱۸/۳۳^{abc}\pm۰/۶$	$۳۶/۶۲^{bc}\pm۰/۷$	$۲۸/۲۵^{bc}\pm۰/۴$
	۱	$۳۹/۳۳^{bc}\pm۱/۳$	$۱۵/۶۷^{def}\pm۰/۳$	$۳۱/۹۱^{e}\pm۰/۳$	$۲۸/۰۰^{bc}\pm۰/۴$
	۱/۵	$۳۸/۰۰^{cd}\pm۱/۷$	$۱۵/۶۷^{def}\pm۰/۳$	$۳۱/۶۴^{e}\pm۰/۷$	$۲۸/۳۳^{bc}\pm۰/۶$
	۲	$۳۷/۰۰^{d}\pm۲/۱$	$۱۵/۶۷^{def}\pm۰/۳$	$۳۱/۹۶^{e}\pm۰/۱$	$۲۸/۱۷^{bc}\pm۰/۴$

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱: تغییرات ارتفاع بخش هوایی گیاهان یونجه تلقیح نشده r- تلقیح‌شده با ریزوبیوم بومی r_n و ریزوبیوم استاندارد r_S در غلظت‌های مختلف گاز SO_2 نسبت به زمان. تزریق گاز SO_2 در روز ۳۵ انجام شده است. هر منحنی نشان‌دهنده تغییرات ارتفاع بخش هوایی در یک غلظت خاص گاز SO_2 می‌باشد. نمودارهای a، b، c، d و e به ترتیب تغییرات ارتفاع بخش هوایی نسبت به زمان در غلظت ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm گاز SO_2 را نشان می‌دهد.

اثر متقابل تلقیح باکتریایی و گاز SO_2 روی سطح برگ، ارتفاع بخش هوایی و عمق ریشه در گیاهان یونجه ۴۵ روزه معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین سطح برگ و ارتفاع بخش هوایی در گیاهان یونجه ۴۵ روزه، در گیاهان تلقیح شده با ریزوبیوم بومی و غلظت ppm ۰/۵ گاز و کمترین مقدار آن در گیاهان تلقیح نشده در غلظت ppm ۲ گاز مشاهده شد. تعداد برگ در گیاهان ۴۵ روزه تلقیح نشده تحت غلظت‌های مختلف گاز SO_2 تغییر معنی‌داری نداشت اما در گیاهان ۴۵ روزه تلقیح شده بیشترین میزان تعداد برگ در گیاهان تلقیح شده با باکتری بومی و غلظت ppm ۰/۵ گاز مشاهده شد. گیاهان ۴۵ روزه تلقیح شده با ریزوبیوم بومی بیشترین میزان عمق ریشه را داشتند و غلظت‌های مختلف گاز روی عمق ریشه این گیاهان اثر معنی‌داری نداشت. کمترین میزان عمق ریشه در گیاهان تلقیح نشده که تحت غلظت ppm ۲ از گاز قرار گرفتند مشاهده شد (جدول ۶).

مطابق نمودار ۱ تلقیح باکتریایی باعث رشد بیشتر ارتفاع بخش هوایی نسبت به زمان در مقایسه با گیاهان شاهد تلقیح نشده شد. همچنین اثرات مخرب گاز SO_2 روی رشد بخش هوایی در گیاهان تلقیح یافته نسبت به گیاهان تلقیح نیافته کمتر بود. بررسی سایر شاخص‌های رشدی از جمله سطح برگ، تعداد برگ و عمق ریشه نسبت به زمان نیز نتایج مشابهی را نشان داد.

نتایج حاصل از بررسی گیاهان ۴۵ روزه نشان داد که تلقیح باکتریایی بر میزان وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه گیاهان یونجه اثر معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۱$) داشته است (جدول۷). کمترین میزان وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه در گیاهان تلقیح نشده و بیشترین میزان در گیاهان تلقیح‌شده با سویه بومی ریزوبیوم مشاهده شد. تلقیح یونجه با سویه بومی ریزوبیوم به ترتیب باعث افزایش ۲۴/۸۵ و ۱۷/۳۹ درصدی وزن تر و خشک برگ، افزایش ۵۶/۷۷ و ۵۰/۹۸ درصدی وزن تر و خشک ساقه و افزایش ۶۴/۸ و ۹۵/۶۵ درصدی وزن تر و خشک ریشه نسبت به گیاهان تلقیح نیافته شد. همچنین تلقیح با سویه استاندارد به ترتیب باعث افزایش ۲۱/۶ و ۷/۲۵ درصدی وزن تر و خشک برگ، افزایش ۳۹/۳۵ و ۳۵/۲۹ درصدی وزن تر و خشک ساقه و افزایش ۴۶/۱۵ و ۶۹/۵۶ درصدی وزن تر و خشک ریشه نسبت به گیاهان تلقیح نیافته شد. اثرات تلقیح بر افزایش وزن تر و خشک ریشه بیش از ساقه و برگ بود (جدول ۸).

Archive of SID

www.SID.ir

غلظت‌های مختلف گاز SO_2 نیز بر میزان وزن تر و خشک ریشه، ساقه و برگ گیاهان یونجه اثر معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۱$) را نشان داد (جدول ۳). غلظت ۰/۵ ppm گاز SO_2 با افزایش ۱۱/۹۴، ۲۴/۹۶ و ۱۷/۴۴ درصدی وزن تر و افزایش ۱۷/۰۷، ۲۱/۱۳ و ۵/۱۳ درصدی وزن خشک برگ، ساقه و ریشه به ترتیب نسبت به گیاهان شاهد، اثر تحریک‌کنندگی بر وزن تر و خشک گیاه داشت. غلظت‌های بالاتر گاز (۱، ۱/۵ و ۲ppm) باعث کاهش معنی‌داری در وزن تر و خشک برگ، ریشه و ساقه شد به‌طوری‌که در گیاهان تحت غلظت ۲ ppm گاز SO_2 به ترتیب کاهش ۳۳/۷۵ و ۳۲/۹۳ درصدی در وزن تر و خشک برگ، کاهش ۳۶/۱۹ و ۳۹/۴۴ درصدی در وزن تر و خشک ساقه و کاهش ۳۱/۰۴ و ۳۰/۷۷ درصدی در وزن تر و خشک ریشه نسبت به گیاهان شاهد (تلقیح نشده و بدون آلودگی SO_2) مشاهده می‌شود (جدول ۹).

اثر متقابل تلقیح باکتریایی و گاز SO_2 بر رشد گیاهان یونجه معنی‌دار بود (جدول ۷). بیشترین میزان وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه در گیاهان تلقیح یافته با سویه بومی ریزوبیوم و غلظت ۰/۵ ppmگاز SO_2 و کمترین متعلق به گیاهان تلقیح نشده و غلظت ۲ ppm گاز SO_2 مشاهده شد. در گیاهان تلقیح شده با سویه بومی و غلظت ۰/۵ ppm گاز SO_2 به ترتیب افزایش ۳۶/۰۱ و ۳۹/۷۳ درصدی وزن تر و خشک برگ، افزایش ۶۱/۲۱ و ۴۱/۲۷ درصدی وزن تر و خشک ساقه و افزایش ۵۶/۰۵ و ۶۷/۷۴ درصدی وزن تر و خشک ریشه نسبت به گیاهان شاهد (بدون گاز و بدون تلقیح) مشاهده شد (جدول ۱۰).

جدول ۷: جدول آنالیز واریانس اثر تیمار SO_2 (۰ ، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح، تلقیح با ریزوبیوم بومی و ریزوبیوم استاندارد) بر وزن تر و خشک گیاه یونجه ۴۵ روزه. مقایسه برای هر ستون جداگانه انجام شده است.

منابع تغییر	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تلقیح باکتریایی	۳۷۰/۷۸۲**	۷۱/۴۴۰**	۵۶۴/۲۴۶**	۲۹۶/۱۷۱**	۹۰۵/۸۵۰**	۱۵۶/۶۶**
تیمار گاز SO_2	۷۳۳/۶۴۵**	۳۲۶/۷۰۹**	۴۲۱/۰۸۴**	۲۶۶/۱۲۵**	۳۹۱/۵۱۲**	۲۳۵/۹۶۱**
اثرمتقابل SO_2و تلقیح باکتریایی	۱۲/۶۰۲**	۸/۱۹۵**	۳۴/۰۵۸**	۲۱/۳۴۹**	۴۶/۷۷**	۲۵/۸۲**

^{ns} *معنی‌دار نیست،* * *معنی‌دار در سطح ۵ درصد،* ** *معنی‌دار در سطح ۱ درصد*

جدول ۸: مقایسه میانگین‌های اثر تلقیح باکتریایی (بدون تلقیحR- تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n و ریزوبیوم استاندارد R_s) بر وزن تر و خشک گیاه یونجه ۴۵ روزه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های ذکر شده مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و مقایسه برای هر شاخص به صورت جداگانه انجام شده است.

شاخص (g)	تلقیح باکتریایی		
	بدون تلقیح R-	ریزوبیوم بومی R_n	ریزوبیوم استاندارد R_s
وزن تر برگ	۰/۶۸۴^{c}±۰/۰۴	۰/۸۵۴^{a}±۰/۰۳	۰/۷۸۸^{b}±۰/۰۴
وزن خشک برگ	۰/۰۶۹^{c}±۰/۰۰۳	۰/۰۸۱^{a}±۰/۰۰۴	۰/۰۷۴^{b}±۰/۰۰۳
وزن تر ساقه	۰/۴۶۵^{c}±۰/۰۴	۰/۷۲۹^{a}±۰/۰۳	۰/۶۴۸^{b}±۰/۰۳
وزن خشک ساقه	۰/۰۵۱^{c}±۰/۰۰۵	۰/۰۷۷^{a}±۰/۰۰۳	۰/۰۶۹^{b}±۰/۰۰۴
وزن تر ریشه	۰/۴۲۹^{c}±۰/۰۴	۰/۷۰۷^{a}±۰/۰۲	۰/۶۲۷^{b}±۰/۰۱
وزن خشک ریشه	۰/۰۲۳^{c}±۰/۰۰۲	۰/۰۴۵^{a}±۰/۰۰۲	۰/۰۳۹^{b}±۰/۰۰۱

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۹ : مقایسه میانگین‌های اثر غلظت‌های مختلف گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) بر وزن تر و خشک گیاه یونجه ۴۵ روزه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های ذکر شده مطابق آزمون دانکن است. داده‌ها میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و مقایسه برای هر شاخص به صورت جداگانه انجام شده است.

شاخص (g)	تیمار گاز SO_2 (ppm)				
	۰	۰/۵	۱	۱/۵	۲
وزن تر برگ	۰/۸۷۱^{b}±۰/۰۳	۰/۹۷۵^{a}±۰/۰۲	۰/۷۶۵^{c}±۰/۰۳	۰/۶۸۹^{d}±۰/۰۴	۰/۵۷۷^{e}±۰/۰۱
وزن خشک برگ	۰/۰۸۲^{b}±۰/۰۰۲	۰/۰۹۶^{a}±۰/۰۰۲	۰/۰۷۵^{c}±۰/۰۰۱	۰/۰۶۶^{d}±۰/۰۰۲	۰/۰۵۵^{e}±۰/۰۰۵
وزن تر ساقه	۰/۶۴۱^{b}±۰/۰۳	۰/۸۰۱^{a}±۰/۰۱	۰/۶۹۱^{c}±۰/۰۶	۰/۵۲۷^{d}±۰/۰۴	۰/۴۰۹^{e}±۰/۰۴
وزن خشک ساقه	۰/۰۷۱^{b}±۰/۰۰۲	۰/۰۸۶^{a}±۰/۰۰۱	۰/۰۷۳^{b}±۰/۰۰۶	۰/۰۵۵^{c}±۰/۰۰۴	۰/۰۴۳^{d}±۰/۰۰۵
وزن تر ریشه	۰/۶۲۵^{c}±۰/۰۳	۰/۷۳۴^{a}±۰/۰۲	۰/۶۴۷^{b}±۰/۰۵	۰/۵۰۱^{d}±۰/۰۵	۰/۴۳۱^{e}±۰/۰۴
وزن خشک ریشه	۰/۰۳۹^{b}±۰/۰۰۲	۰/۰۴۱^{a}±۰/۰۰۳	۰/۰۳۹^{b}±۰/۰۰۴	۰/۰۳۱^{c}±۰/۰۰۳	۰/۰۲۷^{d}±۰/۰۰۳

جدول ۱۰: مقایسه میانگین‌های اثر متقابل گاز SO_2 (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm) و تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح R-، تلقیح با ریزوبیوم بومی R_n و ریزوبیوم استاندارد R_s) بر وزن تر و خشک گیاه یونجه ۴۵ روزه. هر عدد در جدول میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) است و مقایسه برای هر شاخص (هر ستون) به صورت جداگانه انجام شده است.

تلقیح	گاز SO_2 Ppm	شاخص‌های رشد					
		وزن تر برگ	وزن خشک برگ	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
R- بدون تلقیح	۰	۰/۷۷۲^{e}±۰/۰۶	۰/۰۷۳^{f}±۰/۰۰۱	۰/۵۲۶^{e}±۰/۰۱	۰/۰۶۳^{d}±۰/۰۰۱	۰/۵۲۱^{e}±۰/۰۱	۰/۰۳۱^{f}±۰/۰۰۱
	۰/۵	۰/۹۰۴^{c}±۰/۰۳	۰/۰۹۶^{b}±۰/۰۰۴	۰/۷۶۶^{c}±۰/۰۱	۰/۰۸۲^{b}±۰/۰۰۱	۰/۶۸۹^{b}±۰/۰۲	۰/۰۲۷^{g}±۰/۰۰۱
	۱	۰/۶۴۸^{g}±۰/۰۱	۰/۰۶۸^{fg}±۰/۰۰۱	۰/۴۳۱^{f}±۰/۰۱	۰/۰۴۵^{f}±۰/۰۰۱	۰/۴۲۶^{f}±۰/۰۱	۰/۰۲۲^{h}±۰/۰۰۱
	۱/۵	۰/۵۶۱^{j}±۰/۰۱	۰/۰۵۷^{h}±۰/۰۰۳	۰/۳۶۹^{g}±۰/۰۲	۰/۰۳۹^{g}±۰/۰۰۱	۰/۲۷۴^{g}±۰/۰۱	۰/۰۱۷^{i}±۰/۰۰۱
	۲	۰/۵۳۹^{j}±۰/۰۵	۰/۰۵۴^{h}±۰/۰۰۴	۰/۲۳۱^{h}±۰/۰۱	۰/۰۲۴^{h}±۰/۰۰۱	۰/۲۳۷^{h}±۰/۰۱	۰/۰۱۴^{j}±۰/۰۰۱
R_n تلقیح با ریزوبیوم بومی	۰	۰/۹۳۹^{b}±۰/۰۱	۰/۰۸۹^{c}±۰/۰۰۱	۰/۷۶۸^{c}±۰/۰۲	۰/۰۸۱^{b}±۰/۰۰۲	۰/۷۱۱^{b}±۰/۰۱	۰/۰۴۵^{b}±۰/۰۰۲
	۰/۵	۱/۰۵^{a}±۰/۰۲	۰/۱۰۲^{a}±۰/۰۰۴	۰/۸۴۸^{a}±۰/۰۱	۰/۰۸۹^{a}±۰/۰۰۱	۰/۸۲۴^{a}±۰/۰۲	۰/۰۵۲^{a}±۰/۰۰۱
	۱	۰/۸۶۳^{d}±۰/۰۱	۰/۰۸۱^{d}±۰/۰۰۴	۰/۸۳۶^{a}±۰/۰۱	۰/۰۸۸^{a}±۰/۰۰۲	۰/۸۱۳^{a}±۰/۰۱	۰/۰۵۱^{a}±۰/۰۰۲
	۱/۵	۰/۷۹۹^{e}±۰/۰۱	۰/۰۷۳^{e}±۰/۰۰۱	۰/۶۵۵^{d}±۰/۰۱	۰/۰۶۸^{c}±۰/۰۰۲	۰/۶۴۹^{c}±۰/۰۲	۰/۰۴۱^{c}±۰/۰۰۱
	۲	۰/۶۱۱^{h}±۰/۰۳	۰/۰۵۷^{h}±۰/۰۰۱	۰/۵۳۳^{e}±۰/۰۱	۰/۰۵۶^{e}±۰/۰۲	۰/۵۳۶^{e}±۰/۰۲	۰/۰۳۴^{e}±۰/۰۲
R_s تلقیح با ریزوبیوم استاندارد	۰	۰/۹۰۱^{c}±۰/۰۱	۰/۰۸۴^{d}±۰/۰۰۱	۰/۶۲۹^{d}±۰/۰۲	۰/۰۶۹^{c}±۰/۰۰۳	۰/۶۴۵^{c}±۰/۰۱	۰/۰۴۰^{c}±۰/۰۰۱
	۰/۵	۰/۹۶۳^{b}±۰/۰۲	۰/۰۸۹^{c}±۰/۰۰۳	۰/۷۸۹^{c}±۰/۰۱	۰/۰۸۷^{a}±۰/۰۰۳	۰/۷۰۱^{b}±۰/۰۱	۰/۰۴۴^{b}±۰/۰۰۳
	۱	۰/۷۸۴^{e}±۰/۰۱	۰/۰۷۴^{e}±۰/۰۰۱	۰/۸۰۴^{c}±۰/۰۱	۰/۰۸۴^{a}±۰/۰۰۱	۰/۶۹۱^{b}±۰/۰۱	۰/۰۴۳^{b}±۰/۰۰۱
	۱/۵	۰/۷۱۰^{f}±۰/۰۴	۰/۰۶۵^{g}±۰/۰۰۱	۰/۵۵۶^{e}±۰/۰۲	۰/۰۵۸^{d}±۰/۰۰۱	۰/۵۷۹^{d}±۰/۰۲	۰/۰۳۶^{d}±۰/۰۰۱
	۲	۰/۵۸۱^{i}±۰/۰۱	۰/۰۵۴^{h}±۰/۰۰۳	۰/۴۶۴^{f}±۰/۰۲	۰/۰۴۹^{f}±۰/۰۰۱	۰/۵۱۸^{e}±۰/۰۱	۰/۰۳۳^{d}±۰/۰۰۱

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های ذکر شده برای هر شاخص مطابق آزمون دانکن است.

بحث

در این تحقیق تلقیح گیاه یونجه با سویه بومی و استاندارد ریزوبیوم ملیلوتی باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد شد. اثر مثبت تلقیح سویه استاندارد ریزوبیوم بر شاخص‌های رشدی یونجه از سویه بومی کمتر بود. همچنین اثرات مثبت تلقیح بر شاخص‌های وزنی ریشه بیش از سایر شاخص‌ها مشاهده گردید. ریزوباکترهای محرک رشد گیاهان PGPR به دو روش مستقیم و غیرمستقیم سبب رشد گیاهان می‌شوند. فرایندهای افزایش رشد به روش مستقیم شامل تثبیت نیتروژن، حل‌کردن فسفر

Archive of SID
www.SID.ir

غیرمحلول، جداکردن آهن توسط تولید سیدروفورها و تولید هورمون‌های گیاهی مثل اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، ژیبرلین‌ها و کاهش غلظت اتیلن می‌باشد. روش غیرمستقیم افزایش رشد گیاهی توسط PGPR شامل تولید آنتی‌بیوتیک، سنتز متابولیت‌های ضدقارچی، تولید آنزیم‌های لیزکننده دیواره سلولی قارچی و مقاومت نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد (۱۹). تلقیح سویا با *Rhizobium japonicum* و ذرت با *Peseudomonas Putida* نیز باعث افزایش ارتفاع گیاه، تعداد گره، سطح برگ، وزن خشک کل و وزن دانه در هر گیاه نسبت به گیاه کنترل شده است (۲۰ و ۲۱). پنبه تلقیح‌یافته با *Azotobacter chroococcum* و *Azospirillum lipoferum* به ترتیب افزایش ۲۱ و ۵ درصدی محصول دانه و ارتفاع گیاه نسبت به گیاهان کنترل را نشان داد (۲۲). مهمترین مکانیسم تحریک رشد توسط سویه‌های ریزوبیومی، تولید فیتوهورمون‌های ایندولی (IAA) می‌باشد که نتیجه آن رشد بهتر ریشه، به دنبال آن افزایش جذب آب و عناصر غذایی (فسفر، نیتروژن و پتاسیم) توسط گیاه و افزایش رشد می‌باشد. باکتری‌های ریزوبیومی توانایی تولید این فیتوهورمون‌ها را دارند اما این توانایی در بین گونه‌های مختلف ریزوبیومی و نیز در بین سویه‌های متعلق به هر گونه، یکسان نیست. بنابراین اثر گونه‌ها و سویه‌های مختلف ریزوبیومی بر گیاهان متفاوت است (۲۳)، همانطور که در این تحقیق نیز اثر سویه بومی و استاندارد ریزوبیوم ملیلوتی بر گیاه یونجه متفاوت بود. مشابه اثرات مثبت تلقیح با سویه‌های همولوگ (ایزوله شده از ریشه‌های استریل همان گیاه) که بیشتر از اثرات سویه‌های هترولوگ (ایزوله شده از ریشه سایر گیاهان) بر گیاهان گندم و ذرت تلقیح یافته است. بنابراین ژنوتیپ گیاهی و سویه همولوگ باکتری نقش مهمی در برقراری جریانات تثبیت بیولوژیک نیتروژن بازی می‌کنند (۲۴). تثبیت N_2 نیز به عنوان یک سازوکار موثر در افزایش رشد گیاهان به دنبال تلقیح باکتریایی مطرح است (۱۸).

تغییرات فیزیولوژیکی ناشی از تنش گاز SO_2 شامل کاهش فعالیت فتوسنتزی، افزایش تنفس، تغییر تولید آنزیم‌ها، تغییر رشد (افزایش یا کاهش) و یا تغییر جذب و تجمع مواد غذایی (مانند گوگرد) است. میزان تغییرات، به غلظت گاز SO_2، مدت زمان قرار گرفتن در معرض گاز، حساسیت نسبی گیاه نسبت به گاز و مکانیسم‌هایی که گیاه برای زدودن این گاز بکار می‌گیرد یا توانایی گیاه برای ترمیم آسیب‌های ناشی از تنش این گاز، بستگی دارد (۲۵). در این تحقیق گاز دی‌اکسیدگوگرد در غلظت‌های پایین اثرات مثبتی در رشد و نمو گیاه داشت اما در غلظت‌های بالا اثرات منفی روی فرایندهای رشد گیاه داشت. نتایج مشابه توسط سایر دانشمندان نیز گزارش شده است. برای مثال در مطالعه گیاه *Solanum melongena* تحت غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ ppm گاز SO_2 طی دو مرحله سنی ۱۵ و ۵۵ روزه نشان داده شد که شاخص‌های رشدی کاهش معنی‌داری پیدا کردند بدین‌شکل که در گیاهان ۵۵ روزه که تحت غلظت ppm ۰/۶ بوده‌اند، ارتفاع ساقه و عمق ریشه به ترتیب کاهش ۲۲/۱۷ و ۳۴/۰۷ درصدی را از خود نشان دادند که این بیانگر حساسیت بیشتر ریشه نسبت به ساقه است. همچنین کاهش معنی‌داری در وزن تر و خشک ریشه و ساقه مشاهده شد که بیشترین کاهش در وزن تر و خشک ریشه و ساقه در غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۶ ppm گاز بود (۲۶). همچنین گیاه *Capsicum annuum* که در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ ppm از گاز SO_2 قرار گرفت کاهش معنی‌داری در شاخص‌های رشدی را از خود نشان داد. بیشترین کاهش شاخص‌های رشدی در غلظت ppm ۰/۷ مشاهده شد (۲۷). در گیاه *Phaseolus mungo* که در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۲ ppm از این گاز قرار گرفتند مشخص شد که با افزایش غلظت گاز، شدت کاهش پارامترهای رشدی هم افزایش می‌یابد (۲۸). نتایج رشد گیاه همیشه بهار در معرض غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ ppm گاز SO_2 نشان داد که غلظت‌های بالای این گاز (۱، ۱/۵ و ppm۲) رشد ریشه، طول ساقه، تعداد برگ‌ها، وزن خشک ریشه و ساقه‌ی گیاه را متوقف می‌کند، گرچه غلظت پایین‌تر (ppm۰/۵) آن اثر تحریک‌کنندگی داشت. دی‌اکسیدگوگرد توسط تغییر تولید و توزیع محصولات فتوسنتزی روی رشد اثر می‌گذارد. نسبت طول ساقه به ریشه در گیاهان تحت مطالعه در این آزمایش بسیار بالا بود بنابراین یک جابه‌جایی و تغییر در تخصیص مواد فتوسنتزی را نشان داد. غلظت طبیعی گاز SO_2 هوا بین ۰/۰۵ تا ۰/۵ ppm می‌باشد، وقتی غلظت از ۰/۵ ppm بیشتر می‌شود آلودگی گاز SO_2 رخ می‌دهد (۲۹). بنابراین غلظت ۰/۵ ppm گاز دی‌اکسیدگوگرد برای گیاهان غلظت سمی نیست. دی‌اکسیدگوگرد هوا در غلظت‌های پایین دارای اثرات مثبت بر رشد و نمو گیاه می‌باشد و به عنوان یک منبع تامین‌کننده گوگرد مورد نیاز گیاه محسوب می‌شود. SO_2 جذب شده از طریق برگ‌ها، پس از ورود به برگ یا به SO_4^{2-} تبدیل و در واکوئل ذخیره می‌شوند یا وارد مسیر تثبیت گوگرد می‌شود و به سولفید احیا می‌شود و در تولید سیستئین و ترکیبات

Archive of SID
www.SID.ir

گوگرددار شرکت می‌کند (۴). غلظت‌های بالا گاز SO_2 اثرات منفی بر رشد و نمو گیاه دارد. گاز دی‌اکسیدگوگرد از طریق روزنه‌ها وارد برگ شده و بر ساختار کلروپلاست اثر می‌گذارد. در کلروپلاست، SO_2 به سولفیت تبدیل می‌شود و باعث کاهش تثبیت CO_2، جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و کاهش نرخ انتقال الکترون فتوسنتزی می‌شود. تنش SO_2 سبب تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که سبب تخریب پراکسیداتیو اجزای سلولی می‌شود. اثرات SO_2 و SO_3^{-2} روی گیاهان شامل تخریب پیگمان، کاهش لیپیدهای سلولی و پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع توسط محققین گزارش شده است. دانشمندان معتقدند که سمیت SO_2 از تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر Reactive Oxygen Species (ROS) نیز نتیجه می‌شود (۳ و ۵).

باکتری‌های غیر بیماری‌زای مستقر در ریشه می‌توانند مقاومت گیاه را به فاکتورهای تنشی زنده و غیرزنده مثل خشکی، شوری و سمیت فلزی افزایش دهند (۸). در این مطالعه تلقیح گیاه یونجه با سویه بومی و استاندارد ریزوبیوم ملیلوتی باعث مقاومت گیاه نسبت به غلظت‌های بالای گاز SO_2 شد و اثرات منفی ناشی از آلاینده اتمسفری SO_2 را بر شاخص‌های رشدی گیاه کاهش داد. مطالعات مختلف نیز نشان داده که تلقیح باکتریایی در تسکین شرایط تنش موثر هستند. تلقیح آرابیدوپسیس با *Paenibacillus polymyxa* باعث افزایش تحمل خشکی می‌شود. سویه‌ی دیگری از باکتری‌های محرک رشد، *Achromobacter piechaudii* ARV8 است که ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلاز (ACC) دآمیناز تولید می‌کند که باعث القای تحمل سیستمیک نسبت به تنش خشکی در گیاهان فلفل و گوجه فرنگی می‌شود (۳۰). تحت تنش خشکی تلقیح لوبیا با ریزوبیوم منجر به افزایش ارتفاع گیاه، وزن خشک ساقه و تعداد گره‌ها شد (۳۱). محتوای اتیلن در گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش بالای شوری، با کاربرد PGPR کاهش یافته است که این نشان می‌دهد که ACC دآمیناز باکتریایی عمل کرده است (۳۲). PGPRهای تولیدکننده ACC رشد گیاهچه‌های گوجه فرنگی را در حضور شوری تا ۶۶ درصد، افزایش می‌دهند (۷). تلقیح با باکتری‌های اندوفیت می‌تواند اثرات استرس شوری در کاهو که با *Azospirillum* تلقیح شده‌اند را تعدیل کند (۳۳). تلقیح باکتریایی در مقاومت گیاهان نسبت به دماهای بالا و پایین نیز موثر است. در گیاه مو تلقیح شده طی تیمار سرما میزان کربوهیدرات، پرولین و فنول‌ها، نرخ فتوسنتز و رسوب نشاسته به طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافته است. چنین تغییرات فیزیولوژیکی نشانگرهای معمول برای القای تحمل سیستمیک هستند و محققان پیشنهاد کردند که مقاومت با واسطه باکتری‌ها به دماهای کم به طور مثبت با القای تحمل سیستمیک در ارتباط است (۳۲). ریزوبیوم در هنگام تنش‌های غیرزیستی با تولید ترکیباتی همچون انواع هورمون‌ها و ویتامین‌ها، ترکیبات اسمولیت مثل گلایسین بتائین، تولید ACC-دآمیناز (جهت جلوگیری از سنتز اتیلن) و تولید آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی در هنگام شرایط تنشی بسیار سخت در کاهش شرایط تنش برای گیاهان موثر است. درواقع این باکتری‌ها در هنگام شرایط تنشی سبب القای دفاع گیاه و ایجاد مقاومت در گیاه می‌شوند (۲۸). از جمله مکانیسم‌های مقاومت سیستمیک القایی می‌توان به تولید آنزیم ACC-دآمیناز اشاره کرد. این آنزیم با تجزیه ACC از تولید هورمون اتیلن جلوگیری می‌کند در نتیجه اثرات اتیلن که موجب رشد ضعیف ریشه و کاهش توانایی آن در اکتساب آب و موادغذایی می‌شود را کاهش می‌دهد. تولید هورمون‌هایی مثل آبسیزیک‌اسید که موجب بسته‌شدن روزنه‌ها می‌شود و آنتی‌اکسیدانت‌هایی مثل سوپراکسیددیسموتاز که (تحت شرایط تنشی خیلی شدید) باعث مهار رادیکال‌های آزاد می‌شوند از جمله مکانیسم‌های دیگر به‌کاررفته توسط این باکتری‌ها هستند. از جمله مکانیسم‌های دیگر می‌توان به تولید ترکیبات اسمولیت مثل پرولین و گلایسین بتائین اشاره کرد که چنین ترکیباتی در هنگام تنش‌ها منجر به ایجاد تعادل اسمزی در گیاه می‌شود (۸).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصله بیانگر اثرات مخرب غلظت‌های بالای آلودگی SO_2 هوا روی رشد گیاهان و اثرات مثبت تلقیح باکتریایی به خصوص سویه بومی ریزوبیوم در مقاومت نسبت به تنش آلودگی دی‌اکسیدگوگرد هوا می‌باشد. با برقراری یک رابطه موفق و کارآ بین یونجه-ریزوبیوم می‌توان علاوه بر رشد گیاه، اثر آلودگی SO_2 را کاهش داد. افزایش پارامترهای رشد به دنبال تلقیح ریزوبیومی یکی از سازوکارهای گیاه برای مقاومت بیشتر در برابر تنش‌ها می‌باشد، رشد بیشتر ریشه نسبت به بخش‌هوایی یعنی توزیع بیشتر مواد فتوسنتزی به سمت اندام زیرزمینی و در نتیجه رشد بیشتر ریشه که سطح جذب آب و عناصر را افزایش می‌دهد، خود سازوکار دیگری برای رشد بیشتر گیاهان تلقیح‌شده و مقاومت به تنش است.

Archive of SID
www.SID.ir

تشکر و قدردانی

از حوزه معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اراک که حمایت مالی این تحقیق را به عهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Irshad AH, Fayaz Ahmad S, Sultan P. Effect of Sulphur dioxide on the biochemical parameters of Spinach (Spinacea oleracia). Trakia J. of Sci. 2011; 9(1): 24-27.

2. Smith SJ, Aardenne JV, Klimont Z, Andres RJ, et al. Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. Atmospheric Chemistry and Physics. 2011; 11: 1101-1116.

3. Rakwal R, Agrawal GK, Kubo A, Yonekura M, et al. Defense/stress responses elicited in rice seedlings exposed to the gaseous air pollutant sulfur dioxide. Environmental and Experimental Botany. 2003; 49: 223-235.

4. Swanepoel JW, Kruger GHJ, Heerden PDR. Effects of sulphur dioxide on photosynthesis in the succulent Augea capensis Thunb. J. of Arid Environ. 2007; 70: 208-221.

5. Sha C, Wang T, Lu J. Relative sensitivity of Wetland plants to so_2 pollution. Wetlands.2010; 30(6): 1023- 1030.

6. Gentili F, Jumpponen A. Potential and Possible uses of bacterial and fungal biofertilizers (chapter 1). In: Handbook of microbial biofertilizers. (Ed: Rai, M. K.). The Haworth Press Incorporated. 2006: 579pp.

7. Kloepper JW, Schroth MN. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. IV. International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Angers France. 1978; 2: 879-882.

8. Yang J, Kloepper JW, Ryu CM. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Plant Sci. 2009; 14: 1-4.

9. Benabderrahim MA, Mansour H, Ferchichi A. Diversity of Lucerne (Medicago sativa L.) Populations in South Tunisia. Pakistan J. of Botany. 2009; 41: 2851-2861.

10. Graham PH, Vance CP. Legumes: importance and constraints to greater use. Plant Physio. 2003; 131(3): 872–877.

11. Swift M, Bignell D. Standard methods for assessment of soil biodioversity and land use practice.International centre for research in Agroforestry (ICRAF) Southeast Asia. Availible: http://www.icraf.cgiar.org/sea. 2001

12. Molla AH, Shamsuddin ZH, Halimi MS, Morziah M, et al. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with Azospirillum and Bradyrhizobium in laboratory systems. Soil Bio. and Biochem. 2001; 33(4): 457-463.

13. Caetano-Anolles G, Wall LG, De Micheli AT, Macchi EM, et al. Role of motility and chemotaxis in efficiency of nodulation by Rhizobium meliloti. Plant Physio. 1988; 86: 1228-1235.

14. Sadovinkova YN, Bespalova LA, Antonyuk LP. Wheat gram agglutinin is a grown factor for bactrerium Azospirillum brasilense. Doklady Biochem. and Biophysics. 2003; 398:103-105.

15. Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 2003; 225: 571-586.

16. Bai Y, Zhou X, smith DL. Crop ecology, management and quality: enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of Bacillus strains with Bradyrhizobium japonicum. Crop Sci. 2003; 43: 1774-1781.

17. Wang YX, Oyaizu H. Evaluation of the phytoremediation potential of four plant species for dibenzofu-ran-contaminated soil. J. of Hazardous Materials. 2009; 168: 760-764.

18. Bashan Y, Levanony H, Mitiku G. Changes in proton efflux of intact wheat roots induced by Azospirillum brasilense Cd. Cana. J. of Microb. 1989; 35: 691-697.

19. Ahemad M, Khan MS. Functional Aspects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. Recent Advance. Insight Microbio. 2011; 1(3): 39-54.

20. Dadson RB, Acquaah G. Rhizobium japonicum, nitrogen and phosphorus effects on nodulation, symbiotic nitrogen fixation and yield of soybean (Glycine max (L.) Merrill) in the Southern Savanna of Ghana. Field Crops Res. 1984; 9:101-108.

21. Gholami A, Shahsavani S, Nezarat S. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of Maize. World Academy of Sci. Engi. and Tech. 2009; 49: 19-24.

22. Anjum MA, Sajjad MR, Akhtar N, et al. Response of cotton to Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) inoculation under different levels of nitrogen. Agri. Res. Pakistan 2007; 45(2):135-142.

23. Etesami H, Alikhani H. Evaluation of plant growth hormones production (auxins) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth indexes and the loss of chemical fertilizers. Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi). 2011; 92: 53-62.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Baldani JI, Baldani VLD. History on the biological nitrogen fixation research in gramiaceous plants: special amphasis on the brazilian experience. Anais da Academia Brasileria de Ciências. 2005; 77(3): 1-50.

25. Alberta Environment. Assessment Report on Sulphur Dioxide for Developing Ambient Air Quality Objectives: Effects on Vegetation. 2004.

26. Bhardwaj MK, Chaudhary R, Bhardwaj A. Studies on growth and biochemical responses in Solanum melongena cv. Pusa Purple Round under sulphur dioxide stress. Indi. J. of Appl. and Pure Bio. 2012; 27(1): 17-23.

27. Bhardwaj MK, Bhardwaj R, Bhardwaj A. Studies in growth and biochemical responses in Capsicum annum under SO_2 exposure. Indi. J. of Appl. and Pure Bio. 2011; 26(1): 129-134.

28. Ahmad Khan A. Iram and Mustabeen. Response of black gram (Phaseolus mungo L.) to sulphur dioxide. J. of Sci. and Tech. 2012; 7: 23-27.

29. Wali B, Iqbal M, Mahmooduzzafar. Anatomical and functional responses of Calendula officinalis L. to SO_2 stress as observed at different stages of plant development. Flora. 2007; 202: 268-280.

30. Mayak S, Tirosh T, Glick BR. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Sci. 2004; 166, 525-530.

31. Figueiredo VB, Burity H, Martinez C, Chanway C. Alleviation of drought stress in thecommon bean (Phaseolus vulgaris L.) by co-inoculation with Paenibacillus polymyxa and Rhizobium tropici. Appli. Soil Eco. 2008; 40:182-188.

32. Dimkpa C, Weinand,T, Asch F. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant, Cell and Environ. 2009; 32: 1682-1694.

33. Barassi CA, Ayrault G, Creus CM, Sueldo RJ, et al. Seed inoculation with Azospirillum mitigates NaCl effects on lettuce. Scientia Horti. 2006; 109, 8-14.

Archive of SID

www.SID.ir