تأثیر باکتری‌های شورزی مولد پلی ساکارید بر رشد گندم در تنش های خشکی و شوری

مریم طالبی اتویی[1]*، احمدعلی پوربابایی و مهدی شرفاء

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشگاه تهران؛ mta_soil84@yahoo.com

استادیار گروه علوم خاک دانشگاه تهران؛ Pourbabaei@ut.ac.ir

دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه تهران؛ m_shorafa@yahoo.co.uk

چکیده

شوری و خشکی از مهمترین تنش‌هایی هستند که باعث کاهش قابلیت تولید محصولات زراعی مانند گندم در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک می شوند. در این مطالعه به منظور بررسی تأثیر جدایه‌های باکتری‌های نمک دوست مولدپلیمر(پلی‌ساکارید) بر کاهش اثرات شوری و خشکی، ابتدا باکتری‌های برتر نمک دوست مولد پلی ساکارید از خاک‌های شور اشتهارد جداسازی شدند. سپس آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی گندم انجام شد. فاکتورها شامل: باکتری (در چهار سطح بدون تلقیح باکتری (B1)، جدایه باکتری (B2)TP7، جدایه باکتری TP5 (B3)، هردو جدایه باکتری (B4))، خاک شور (در چهار سطح ۲، ۴، ۸، ۱۶ دسی زیمنس بر متر) و آب (در دو سطح رطوبتی ۲۵ و ۷۵ درصد آب قابل استفاده برای گیاه) بودند. تعیین ترادف ژنی ۱۶S rRNA نشان داد جدایه TP7 به میزان ۹۸/۵ ٪ با سویه *Bacillus subtlis* susp.Inaquosorum (T) و جدایه TP5 به میزان۹۷/۷ ٪ با سویه SM19(T) از باکتری *Marinobacter lipolyticus* قرابت فیلوژنی دارند. نتایج نشان داد که بذرهای گندم تلقیح شده با جدایه‌های باکتری در مقایسه با شاهد (عدم تلقیح) در همه سطوح شوری سبب افزایش در صفات درصد و سرعت جوانه زنی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گردید ($p<0.05$). این افزایش در تیمارهای تلقیح شده با هر دو جدایه باکتری و همچنین در شوری‌های ۸ و۱۶دسی‌زیمنس برمتر در هر دو سطوح رطوبتی چشمگیرتر بوده است.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های نمک دوست، اگزوپلی ساکارید، تنش، درصد و سرعت جوانه‌زنی

مقدمه

فرآیند شوری در حال گسترش بوده و بخش اعظم خاک‌های زراعی مناطق خشک با این مشکل مواجه هستند. حدود ۳۵٪ از کشورهای درحال توسعه دارای شرایط نیمه خشک است که در آن رطوبت مانع اصلی در تولید گندم به شمار می‌رود و تنوع اقلیمی در این نواحی موجب نوسانات سالیانه‌ی بسیاری در عملکرد گندم می‌شود (راجارام[2] ، ۲۰۰۱). تنش شوری در تمامی مراحل رشد بر گیاه مؤثر است ولی ممکن است در یک مرحله از رشد نسبت به مرحله دیگر متفاوت باشد. تنش شوری عموماً باعث تأخیر در جوانه زنی، کاهش درصد و سرعت جوانه زنی و نیز کاهش رشد گیاهچه می‌گردد. استقرار ضعیف گیاهچه بدلیل خشکی، فقدان آبیاری کافی و شوری یکی از مهمترین مشکلات مناطق نیمه خشک، بویژه کشورهای در حال توسعه این مناطق می‌باشد (حسینی و همکاران، ۱۳۸۵). مرحله جوانه-زنی یکی از حساس‌ترین مراحل رشد گیاه به تنش‌های

---

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: کرج، چهار راه دانشکده، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه علوم خاک

* دریافت: شهریور ۱۳۹۰ و پذیرش: آبان ۱۳۹۱

[2]. Rajaram

Archive of SID

www.SID.ir

حساسیت گیاه شوری و خشکی است. در صورتی‌که گیاه به تواند در این مرحله تنش را تحمل کند، می‌تواند مراحل بعدی رشد را پشت سر بگذارد (تمرتاش و همکاران، ۱۳۸۹). کمبود آب می‌تواند بسته به شدت و زمان تنش و مرحله نمو گیاه، بر فیزیولوژی رشد (حجم سلول، تقسیم سلولی، دیواره سازی سلول، اندازه کلی گیاه و وزن‌تر و خشک)، عملکرد و اجزای عملکرد تأثیر بگذارد. در کشاورزی همواره سعی بر این بوده است تا تحمل گیاهان زراعی نسبت به تنش های محیطی افزایش یابد. اخیراً استفاده از روش‌های بیولوژیکی یعنی استفاده از ریز موجودات خاکزی به منظور کاهش اثرات زیان‌بار شوری بر گیاهان اهمیت زیادی پیدا کرده است. مطالعات مختلف نشان داده است که برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها با مکانیزم‌های تولید پلیمر نقش مهمی در جبران مشکل رطوبتی خاک بخصوص در شرایط تنش خشکی و شوری ایفا می‌کنند. علاوه بر این، مطالعات مختلف نشان داده است که در محیط‌های شور برخی میکروارگانیسم‌های نمک‌دوست قادر به زندگی و ادامه حیات هستند. این باکتری‌ها با تولید بیوسورفکتانت‌ها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی می‌توانند نقش ویژه‌ای در مقابله با تنش‌های محیطی کمبود آب در خاک که به طور معمول عامل اصلی کاهش عملکرد در گیاهان می‌باشد بازی کنند (مارگزین[1] و همکاران، ۲۰۰۱؛ هارت و همکاران،[2] ۱۹۹۹؛ اشرف[3]، ۱۹۹۴). طی تحقیقی راویکومار[4] و همکاران(۲۰۱۱) اثر کود زیستی *Azospirilium* نمک دوست بر روی *jatropha curcas* مورد بررسی قراردادند. تلقیح آزوسپیریلیوم به طور معنی‌داری بر روی رشد و رنگدانه بذر اثر مثبت داشته است. تلقیح باکتریایی باعث افزایش معنی‌داری ۴۴/۹ ٪ طول ساقه، ۳۹/۳٪ طول ریشه اولیه و ۳۷/۵٪ ثانویه شده است. از بین جنس‌های باکتری-های *Azospirillum lipoferum* بیومس ساقه و ریشه را به ترتیب ۲۴٪ و ۱۵٪ و سطح ریشه ۲۸/۶٪ نسبت به تیمار شاهد افزایش داده است. عالمی[5] و همکاران (۲۰۰۰) اثر باکتری‌های ریزوسفری مولد پلی ساکارید خارج سلولی (EPS)[6] را بر روی خصوصیات فیزیکی خاک چسبیده به ریشه آفتابگردان و افزایش رشد گیاه تحت شرایط تنش خشکی و فراهمی آب (بدون تنش) را مطالعه کردند. تلقیح بذرهای آفتابگردان و خاک با سویه YAS34 باعث افزایش معنی‌داری در نسبت خاک چسپیده به ریشه به وزن خشک ریشه (بیشتراز۱۰۰٪) و حجم منافذ بزرگ خاک (۶۰-۱۲ میکرومتر در قطر) شد. همچنین اثر تلقیح روی وزن خشک ساقه (بیشتر از۵۰٪) و وزن خشک ریشه (بیشتر از۷۰٪) هم در شرایط تنش خشکی هم بدون تنش بطور معنی‌داری افزایش نشان داده است.

املال[7] و همکاران (۱۹۹۹) اثر باکتری‌های مولد پلی ساکارید خارج سلولی روی خصوصیات فیزیکی ریزوسفر خاک را به عنوان تابعی از مقدار آب و خاک بوسیله تلقیح بذرهای گندم با سویه *Pantoea agglomerans* (NAS 206) جدا شده از ریزوسفر گندم مورد بررسی قرار دادند. کلنیزاسیون متراکم ریزوسفر گندم با باکتری‌های مولد EPS، با خاکدانه سازی و پایداری خاک چسبیده به ریشه همراه بوده است. تأثیر پلی ساکارید خارج سلولی جامعه سیانو باکتری بر روی جوانه زنی سه گیاه (ذرت، گندم، برنج) در غلظت‌های مختلف شوری بررسی شد. جوانه زنی بذر، شاخص قدرت و بازده متحرک کردن در هر سه گیاه همراه با کاربرد پلی ساکارید خارج سلولی سیانو باکتری بهبود یافت. به طوری که جوانه‌زنی به طور معنی‌داری از ۱۳ تا ۳۰٪، بازده متحرک کردن از ۱/۰ به ۱/۱ برابر و شاخص قدرت از ۱/۱ به ۲/۴ برابر در این گیاهان در واکنش به پلی ساکارید خارج سلولی افزایش یافت که بیانگر نقش EPS در کاهش تنش شوری می‌باشد. شوری اثر بازدارنده روی جوانه‌زنی در هر سه گیاه داشته و منجربه کاهش عملکرد از ۱۸ تا ۵۴٪ گردید (آرورا[8] و همکاران، ۲۰۱۰). اشرف و همکاران (۲۰۰۴) اثر تلقیح پنج باکتری مولد EPS شامل *Aeromonas hydrophila/caviae* (MAS-765) *sp*(MAS617,MAS620, *Bacillus insolitus*(MAS17*)* *Bacillus* MAS820) , روی عملکرد ماده خشک و جذب K^+، Na^+، Ca^{++}، بوسیله گندم در خاک نسبتاً شور بررسی کردند. تلقیح سبب افزایش عملکرد ماده خشک ریشه (۵۲۷-۱۴۹٪ افزایش) و ساقه ها (۲۸۱-۸۵٪ افزایش) و وزن خاک ریزوسفر (۷۹۰-۱۷۶٪ افزایش) در همه این سویه‌ها به جز MAS617 گردید. همچنین تلقیح با این باکتری‌ها دارای اثر مثبتی بر افزایش نسبت وزن خاک ریزوسفر به وزن ریشه و جمعیت باکتری‌ها مولد EPS برروی سطح ریشه شد. این پارامترها دارای همبستگی معنی‌داری با مقدار ساکاریدهای محلول در آب

1. Margesin
2. Hart
3. Ashraf
4. Ravikamar
5. Alami
6. Exopolysaccharide
7. Amellal
8. Arora

Archive of SID

www.SID.ir

در ریزوسفر می‌باشد. خودیار[1] و همکاران (۲۰۰۸) اثر تلقیح دو سویه تولید کننده پلی ساکارید خارج سلولی *Bacillus circulans*(UBF20&26), *Bacillus polymyxa* UBF15 را بر روی عملکرد ماده خشک، جذب K^+، Na^+، Ca^{++}، در گیاه گندم در خاک‌های شور مورد بررسی قرار دادند. تلقیح *Bacillus circulans*(UBF26) منجر به افزایش عملکرد ماده خشک ریشه (۲۸۰-۸۰٪) ساقه ها (۴۵۳/۸-۱۵۳/۸٪) و وزن خاک چسبیده به ریشه (۳۸۳/۳-۱۶۶/۷٪) گردید. از بین سویه‌های بکار برده شده در آزمایش، *Bacillus circulans* UBF26 و *Bacillus polymyxa* UBF 15 به‌ترتیب موثرترین و کم اثرترین سویه بوده‌اند. اگرچه مطالعات زیادی بر روی باکتری‌های مولد پلی ساکارید بر کاهش تنش خشکی و شوری انجام شده است اما هدف از این تحقیق بررسی پتانسیل جدایه-های نمک دوست مولد پلی ساکارید در کاهش تنش خشکی در خاک‌های شور ایران است.

مواد و روش

جداسازی باکتری‌های نمک دوست مولد پلیمر

برای جداسازی باکتری‌های نمک دوست مولد پلیمر (پلی ساکارید) از خاک‌های شور منطقه اشتهارد نمونه‌برداری شد (جدول ۳). پس از تهیه سری رقت از خاک بر روی ظرف پتری حاوی NA+ ۵٪ نمک ۳۵ کلنی که با هم از نظر ظاهری فرق داشتند جداشدند . از بین ۳۵جدایه بر اساس آزمون تولید پلیمر، مقاومت به خشکی در نهایت دو جدایه باکتریTP7و TP5 بعنوان جدایه برتر انتخاب شدند و جهت تلقیح به بذر بکاربرده شدند. جهت شناسایی اولیه، صفات مرفولوژی شامل شکل، اندازه و آرایش سلول‌ها پس از رنگ آمیزی گرم با میکروسکوپ نوری مطالعه شد و آزمون‌های بیوشیمیایی ارایه شده در (جدول ۱) انجام گردید (پاری و همکاران[2] ، ۱۹۸۸). جهت تعیین ترادف 16s rRNA، DNA جدایه‌های برتر TP5 و TP7 از طریق کیت تهیه شده از شرکت QIAamp با شماره ۵۱۵۰۴ استخراج و خالص سازی گردید و سپس محصولات تکثیر شده و خالص از ژن 16S rRNA از طریق شرکت ژن فن آوران به شرکت Macrogen در کره جنوبی ارسال گردید.

اعمال تیمارها و کشت گیاه

در این تحقیق از گندم بهاره رقم بم استفاده گردید. ابتدا تعداد کافی از بذور سالم گندم انتخاب و به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۹۶ درجه و سپس به مدت ۲-۱/۵ دقیقه در محلول وایتکس ۱۰ درصد ضد عفونی سطحی شده و با آب مقطر استریل ۸-۷ مرتبه شستشو گردیدند. جهت کشت گیاه از گلدان‌های پلاستیکی محتوی ۵۰۰ گرم خاک هوا خشک عبور یافته از الک ۴ میلی‌متری استفاده شد. جهت اعمال تیمار جدایه باکتری، در هنگام کشت بذور حدود پنج سانتی‌متر از قسمت بالایی خاک هر گلدان برداشته شد. و هر بذر با یک میلی لیتر از زادمایه جدایه باکتری با جمعیت (cfu/ml) 10^9مایه زنی و روی آن ها با خاک پوشانده شد. اعمال تیمار تنش خشکی با استفاده از توزین گلدان‌ها به روش وزنی در دو سطح ۷۵ و ۲۵ درصد آب قابل استفاده صورت گرفت. مدت زمان روشنایی ۱۲ ساعت در روز تنظیم شد. درجه حرارت گلخانه بین ۳۰-۲۰ درجه سانتی گراد در طول شبانه روز متغیر بود. برای رساندن خاک به شوری۲، ۴، ۸ و۱۶ دسی زیمنس بر متر در SAR برابر ۸ از سه کاتیون سدیم، کلسیم و منیزیم که کاتیون‌های غالب خاک‌های شور هستند استفاده شد. این کاتیون‌ها از نمک سدیم کلرید (NaCl)، منیزیم کلرید ($MgCl_2.6H_2O$) و کلسیم کلرید ($CaCl_2.2H_2O$) تأمین شدند. محلول‌ها با EC معین تهیه و تا حد اشباع به هر کدام از خاک‌ها اضافه شد و برای اطمینان از شوری خاک‌ها، EC در عصاره اشباع آنها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. گلدان‌ها فاقد زهکش بودند و برای عدم تغییر شوری خاک از آب مقطر با EC برابر ۲میکروزیمنس بر سانتی‌متر به منظور آبیاری گلدان‌ها استفاده شد.

تعیین درصد و سرعت جوانه زنی

اندازه‌گیری درصد جوانه‌زنی از روز دوم به بعد با شمارش بذور جوانه‌زده بصورت روزانه در ساعتی معین انجام شد. شمارش تا هنگام ثابت ماندن تعداد بذور جوانه‌زده ادامه یافت و نتیجه آخرین شمارش به عنوان درصد نهایی جوانه‌زنی در نظر گرفته شد. برای تعیین سرعت جوانه‌زنی نیز از روز دوم به بعد، هر ۲۴ ساعت یکبار بذور جوانه زده شمارش شدند و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از معادله (۱) تعیین شد (ماگویر[3]، ۱۹۶۲).

$$GR=\sum_{i=1}^{n}\frac{si}{Di} \qquad \text{معادله (۱)}$$

که در آن GR : سرعت جوانه زنی (تعداد بذر جوانه زده در روز)، S_i: تعداد بذر جوانه زده در هر شمارش، D_i: تعداد روز تا شمارش nام، n: تعداد دفعات شمارش می‌باشد.

[1] Khodiar
[2] Parry
[3] Maguire

Archive of SID

www.SID.ir

عملیات برداشت

بعد ازگذشت ۶۰ روز از کشت گیاه بخش هوایی در هر گلدان قطع و ریشه گیاهان نیز به دقت از خاک گلدان جدا گردید. پس از اندازه‌گیری وزن‌تر آنها و شستشو با آب مقطر به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد خشک و وزن خشک آنها نیز اندازه‌گیری گردید.

تجزیه آماری داده ها

آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل: باکتری (در چهار سطح بدون تلقیح باکتری (B1)، جدایه باکتری TP7(B2)، جدایه باکتری TP5(B3)، هردو جدایه باکتری (B4))، خاک شور (در چهار سطح ۲، ۴، ۸، ۱۶ دسی زیمنس بر متر) و آب (در دو سطح رطوبتی ۲۵و ۷۵ درصد آب قابل استفاده برای گیاه) بودند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت، مقایسه میانگین ها نیز با آزمون LSD در سطح ۵ ٪ انجام شد.

نتایج

مشخصات جدایه باکتری‌های منتخب

جدایه باکتری TP7 گرم مثبت، به‌شکل باسیل و به طول۵-۴ میکرومتر و قطر ۱- ۰/۵ میکرومتر که از دو طرف تقریباً منقطع و اسپوردار است. جدایه باکتری TP5 گرم منفی، به‌شکل باسیل و به طول۶-۵ میکرون و قطر ۰/۵-۰/۲ میکرون و دارای آرایش رشته‌ای کوتاه و برخی خمیده (کمانی شکل) دارند. در (جدول ۱) برخی صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی جدایه‌های منتخب آمده است. نتایج حاصل از توالی خوانی ژن 16S rRNA نشان داد جدایه TP7 به میزان ۹۸/۵ ٪ با سویه (T) *Bacillus subtlis* susp.Inaquosorum و جدایه TP5 به میزان ۹۷/۷ ٪ با سویه SM19(T) از باکتری *Marinobacter lipolyticus* قرابت فیلوژنی دارند.

نتایج برخی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک نمونه‌برداری شده جهت استفاده در کشت گلخانه‌ای و جهت جداسازی باکتری‌ها در (جدول۲و۳) آمده است.

تعیین درصد و سرعت جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس(جدول ۴) نشان می‌دهد که فاکتورهای شوری، باکتری، آب، اثر متقابل شوری × باکتری و آب × باکتری بر درصد جوانه‌زنی اثر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵٪ توسط آزمون LSD نشان می‌دهد که با افزایش شوری درصد جوانه زنی کاهش می‌یابد. همچنین تأثیر دو جدایه باکتری به طور همزمان بیشتر از سایر سطوح جدایه باکتری می‌باشد که با جدایه باکتری TP5 اختلافی معنی‌داری نداشته است. کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار بدون جدایه باکتری مشاهده شده است. در شرایط رطوبتی ۷۵٪ آب قابل دسترس، درصد جوانه‌زنی بیشتر از شرایط رطوبتی با ۲۵٪ آب قابل دسترس می‌باشد. بیشترین درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی در تیمار با شوری ۸ دسی زیمنس بر متر و تلقیح با هردو جدایه باکتری و کمترین در تیمار شوری ۱۶ دسی زیمنس بر متر و بدون تلقیح جدایه باکتری همراه با تنش خشکی مشاهده شد. شکل‌های (۱) تا (۴) مقایسه میانگین اثرات متقابل بین سطوح شوری، آب و جدایه باکتری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی را نشان می‌دهد. در کلیه نمودارهای نشان داده شده B1 تیمار بدون جدایه باکتری، B2 جدایه باکتری TP7، B3 جدایه باکتری TP5، B4 هر دو جدایه باکتری را نشان می‌دهند. همچنین تجزیه واریانس (جدول۴) سرعت جوانه‌زنی نشان می‌دهد که همه فاکتورها بجز اثرات متقابل باکتری × آب × شوری بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار است. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین تأثیر در تیمار با شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر و هر دو سطح جدایه باکتری در تنش آبی می‌باشد.

وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی

تجزیه واریانس (جدول ۴) بیانگر آن است که شوری، جدایه باکتری و آب دارای اثر معنی‌داری در سطح ۵٪ بر وزن تر و خشک اندام هوایی می‌باشد و همچنین همه فاکتورها بجز باکتری و باکتری × آب بر وزن خشک و تر ریشه معنی‌دار بود. شکل‌های (۵) تا (۱۲) مقایسه میانگین اثرات متقابل بین سطوح شوری، آب و جدایه باکتری بر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی را نشان می‌دهد.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش شوری سبب کاهش در وزن تر و خشک اندام هوایی شده و این کاهش در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر چشمگیر تر بوده است. تلقیح هر دو جدایه باکتری سبب بیشترین افزایش در وزن‌تر و خشک اندام هوایی شده که در وزن تر اندام هوایی بین تلقیح دو جدایه باکتری با سایر سطوح باکتری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. افزایش تنش خشکی منجربه کاهش معنی‌داری وزن تر و خشک اندام هوایی شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کاهش میزان آب قابل دسترس منجربه کاهش معنی‌داری در وزن تر ریشه می‌شود. همچنین افزایش شوری سبب کاهش وزن تر ریشه می‌شود که این اثر در شوری ۱۶ دسی-زیمنس بر متر چشمگیرتر بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

تنش شوری عموماً باعث تأخیر در جوانه زنی، کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و نیز کاهش رشد گیاهچه می‌گردد. شوری علاوه بر کاهش پتانسیل آزاد آب از طریق تأثیرات سمی یون‌هایی چون Cl^- و Na^+ نیز جوانه زنی بذور را تحت تأثیر قرار می‌دهد (تمرتاش و همکاران، ۱۳۸۹; گرینوود، ۲۰۰۹). علاوه بر این حساسیت به تنش خشکی در طی مراحل مختلف جوانه زنی و خروج ریشه چه متفاوت می‌باشد. در شرایط تنش خشکی درصد و سرعت جوانه زنی بذر کاهش می‌یابد. افزایش سرعت جوانه‌زنی اهمیت بالایی در بهبود استقرار و عملکرد گیاهان زراعی دارد (حسینی و همکاران، ۱۳۸۵).

در این مطالعه با افزایش شوری و کاهش آب قابل استفاده درصد و سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت که با افزایش شوری از ۲ به ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر درصد جوانه‌زنی از ۸۶ به ۵۲٪ کاهش یافت. تیمارهای تلقیح شده با جدایه باکتری باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی در هر دو شرایط ۲۵ و ۷۵٪ آب قابل استفاده گردیدند. افزایش درصد جوانه‌زنی در خاک‌های شور ۲، ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر در تلقیح با هر دو جدایه در شرایط ۲۵٪ آب قابل دسترس به ترتیب ۲۲/۵، ۱۵،۴۰/۲ و ۵۰ درصد نسبت به خاک بدون تلقیح بوده است. این افزایش در شرایط رطوبتی ۷۵٪ در خاک‌های ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس ۴۰/۵ و ۵۰ ٪ نسبت به خاک بدون تلقیح بوده است. بیشترین مقدار سرعت جوانه‌زنی در خاک‌های با شوری ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس برمتر در تلقیح با هر دو جدایه باکتری مشاهده شده است که این مقدار در تیمار ۲۵٪ آب قابل دسترس به ترتیب ۳۶ و ۴۹/۵ ٪ و در تیمار ۷۵٪ آب قابل دسترس ۲۰ و ۴۳٪ افزایش نسبت به شاهد بوده است. این موضوع را می‌توان احتمالاً بدلیل تولید پلی ساکارید بیشتر در شوری های بالاتر و تنش رطوبتی، توسط جدایه باکتری‌ها نسبت داد که این پلی ساکارید ها با تشکیل کمپلکس با عناصر در خاک شور و کاهش اثر سمیت آنها و همچنین افزایش جذب و نگهداری آب سبب افزایش درصد وسرعت جوانه‌زنی در تیمارهای تلقیح شده با باکتری شدند. همچنین جدایه باکتری TP7 علاوه بر توانایی رشد در مقادیر بالای نمک و تولید پلی ساکارید از توانایی تولید آنزیم ACC دآمیناز پایدار در شوری بیشتری برخوردار است که سبب افزایش عملکرد آن می‌شود. جلیلی و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای تأثیر جدایه باکتری‌های سودوموناس فلورسنس مولدآنزیم ACC دآمیناز را بر کاهش تنش شوری در رشد گیاه کلزا نشان دادند. با افزایش شوری از ۸ به ۱۴دسی زیمنس بر متر درصد جوانه زنی کاهش و در تیمارهای تلقیح شده به باکتری درصد جوانه زنی در سطوح مختلف شوری به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

مطابق با این نتایج ، مطالعات آرورا[1] و همکاران (۲۰۱۰) نیز بیانگر آن است جوانه‌زنی بذر، شاخص قدرت بازده و متحرک کردن در هر سه گیاه همراه با کاربرد EPS سیانو باکتری بهبود یافت. به طوری که جوانه‌زنی به طور معنی‌داری از ۱۳ تا ۳۰٪، بازده متحرک کردن از ۱/۰ به ۱/۱ برابر و شاخص قدرت از ۱/۱ به ۲/۴ برابر در این گیاهان در واکنش به EPS افزایش یافت که بیانگر نقش EPS در کاهش تنش شوری می‌باشد.

علاوه بر این، با افزایش شوری وزن خشک ریشه کاهش می‌یابد. برخی کاهش رشد ریشه را به تنش اسمزی حاصل از شوری و یا بدلیل تولید اتیلن تنشی نسبت می‌دهند (گلیک[2] ، ۱۹۹۵). در اثر تلقیح با جدایه باکتری بدلیل کاهش اتیلن تنشی و یا تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه و همچنین تولید پلی ساکارید توسط جدایه باکتری‌های مولد پلی ساکارید و بهبود شرایط فیزیکی و تغذیه‌ای خاک، رشد گیاه افزایش یافته و بنابراین وزن اندام هوایی و ریشه افزایش می‌یابد.

مطابق این نتایج کاسی[3] و همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند تلقیح گیاه گندم با سویه مولد پلی ساکارید KYGT207 سبب افزایش معنی‌داری در رشد گیاه (۸۵٪ برای وزن خشک ساقه و ۵۶٪ برای وزن خشک ریشه) شده است. سندهیا[4] و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که تلقیح با جدایه باکتری به طور معنی‌داری باعث افزایش طول ساقه، ریشه و بیومس خشک آفتابگردان هم در شرایط تنش آبی و هم غیر تنش می‌شود. اثر تلقیح بر روی بیومس خشک ریشه (۵۳/۹ و۴۵/۱٪) به ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش خشکی بیشتر از ساقه بوده است. همچنین مطالعات اشرف و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که تلقیح سبب افزایش عملکرد ماده خشک ریشه (۵۲۷-۱۴۹٪ افزایش) و ساقه ها (۲۸۱-۸۵٪ افزایش) و وزن خاک ریزوسفر(۷۹۰-۱۷۶٪افزایش)در همه سویه‌های مولد پلی ساکاریدخارج سلولی به جز MAS617 گردید.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که بذرهای گندم تلقیح شده با جدایه‌های باکتری نمک دوست برتر در مقایسه با شاهد (عدم تلقیح) در همه سطوح شوری سبب افزایش در وزن‌تر و خشک ریشه و

1. Arora
2. Glick
3. Kaci
4. Sandhya

Archive of SID

www.SID.ir

اندام هوایی، درصد و سرعت جوانه زنی شدند که این افزایش در شوری‌های ۸ و۱۶ دسی‌زیمنس بر متر و تلقیح هر دو جدایه باکتری بیشترین مقدار بوده است. این موضوع را احتمالاً می‌توان بدلیل افزایش رشد و فعالیت این جدایه باکتری‌ها در شوری‌های بالاتر دانست که در نتیجه منجربه افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شوند.

جدول ۱- برخی صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی جدایه‌های منتخبTP7 وTP5

جدایه	گرم	کاتالاز	تولید آمیلاز	تولیداسید در محیطOF هوازی بی هوازی		اکسیداز	احیای نیترات	سیتراتاز	لیسیتیناز	تولیدآنزیم ACC دآمیناز	تولید اسید از قند گلوکز	مالتوز	آرابینوز
TP7	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	منفی	(+++)	مثبت	مثبت	منفی
TP5	منفی	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	مثبت	منفی	(+)	مثبت	مثبت	منفی

جدول۲- برخی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک جهت کشت گلخانه‌ای

بافت	OC (٪)	EC (dSm^{-1})	pwp (٪)	FC (٪)	N (٪)	K	P	Fe	Zn (mgKg)	MPN (محتمل ترین جمعیت باکتری)	تنفس ($mgCO_2gw^{-}$)
لوم رسی	۰/۹	۱/۱	۱۱/۵	۲۱	۰/۰۵	۲۳۹	۸	۶/۶	۰/۹	۰/۷*۱۰^{۵}	۰/۷

جدول۳- برخی خصوصیات خاک مورد استفاده جهت جداسازی باکتری

خاک	$EC(dSm^{-1})$	SAR	pH	(جمعیت میکروبی) MPN	تنفس ($mgCO_2g^{-1}w$)
خاک شوره زار(اشتهارد)	۶۶/۸	۸۱	۷/۵	۰/۵×۱۰^{۵}	۱/۰
خاک زراعی (کشت پنبه)	۹/۰	۷/۱	۷/۷	۱/۴×۱۰^{۵}	۰/۹
خاک زراعی (کشت گندم)	۷/۶	۸/۶	۷/۷	۲/۲×۱۰^{۵}	۰/۷
خاک زراعی	۴/۳	۷/۱	۷/۵	۱×۱۰^{۷}	۱/۹

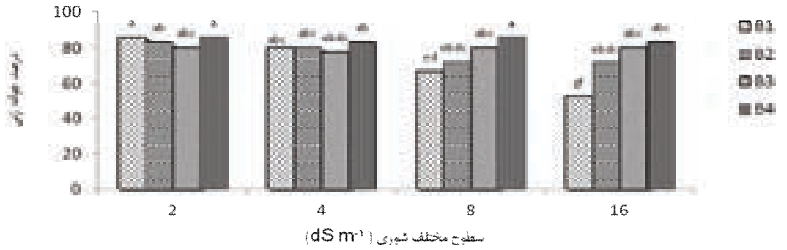
جدول۴- تجزیه واریانس اثرات شوری، جدایه باکتری و آب بر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	جوانه زنی	سرعت جوانه زنی
شوری	۳	۳/۱**	۰/۵**	۰/۳**	۰/۳**	۶۱۸/۴**	۴۱/۱**
جدایه باکتری	۳	۱/۸**	۰/۶**	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۱۸۴۹/۳**	۲۰/۴**
آب	۱	۲۱/۶**	۸/۹**	۳/۰**	۲/۰ ^{ns}	۱۵۴۹/۸**	۲۳۲/۶**
شوری×جدایه باکتری	۹	۰/۲ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۱**	۰/۱**	۳۵۳/۸**	۳/۳**
شوری×آب	۳	۰/۲*	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۱**	۰/۰۹**	۳۴/۱ ^{ns}	۹/۶**
جدایه باکتری×آب	۳	۰/۲ ^{ns}	۰/۲**	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۳۰۱/۶**	۱/۸**
شوری×جدایه باکتری×آب	۹	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۱	۰/۷**	۶۴/۷ ^{ns}	۰/۳ ^{ns}
خطا	۶۳	۰/۰۸	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۱	۵۸/۴	۰/۲
ضریب تغییرات(CV)		۱۱/۵	۱۶/۲	۱۹/۰	۲۰	۱۰/۳	۵/۵

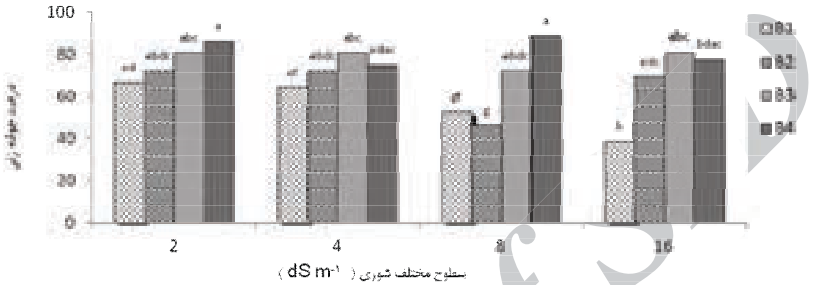
**، *، ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪، ۵٪ و غیر معنی‌دار می‌باشند.

Archive of SID

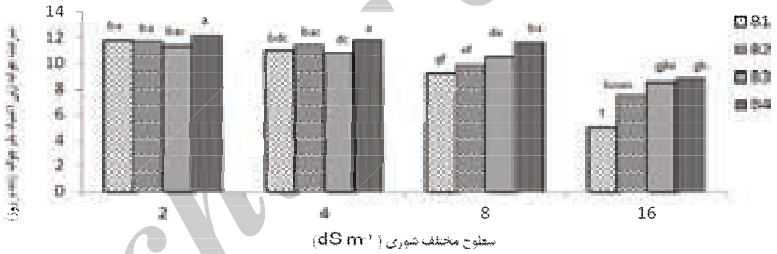
www.SID.ir



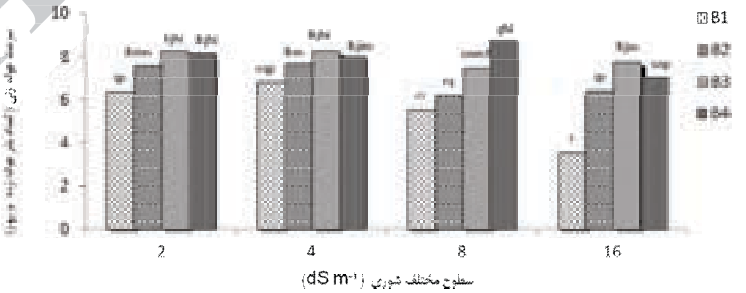
شکل ۱- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر درصد جوانه‌زنی در شرایط ۷۵٪ آب قابل استفاده (B1: تیمار بدون جدایه باکتری، B2: جدایه باکتری TP7، B3: جدایه باکتری TP5، B4: هر دو جدایه باکتری) میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند



شکل ۲-مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری وجدایه باکتری بر درصد جوانه زنی در شرایط ۲۵ ٪ آب قابل استفاده



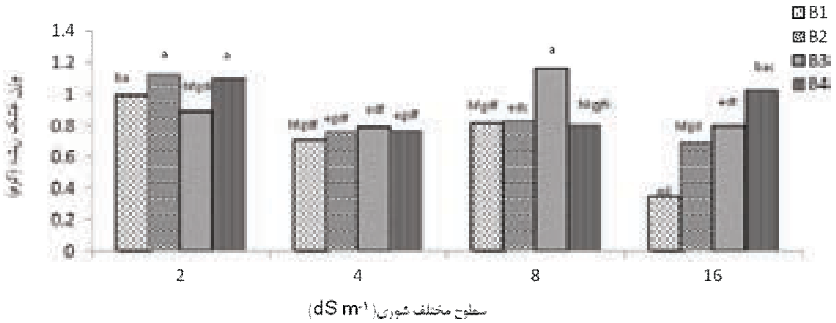
شکل۳-مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر سرعت جوانه زنی در شرایط ۷۵٪ آب قابل استفاده



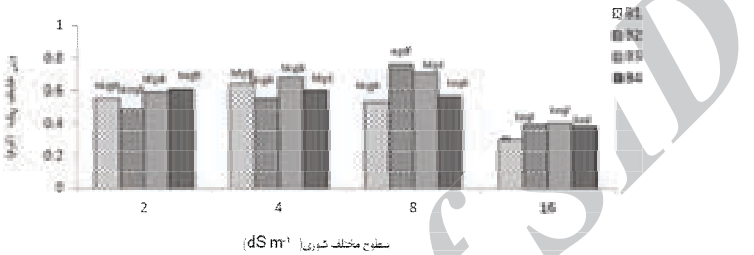
شکل۴-مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر سرعت جوانه‌زنی شرایط ۲۵٪ آب قابل استفاده میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند

Archive of SID

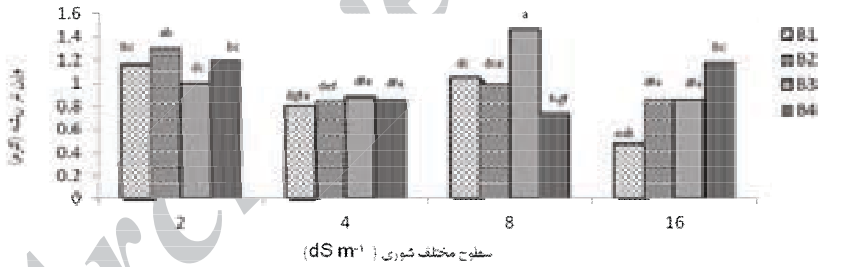
www.SID.ir



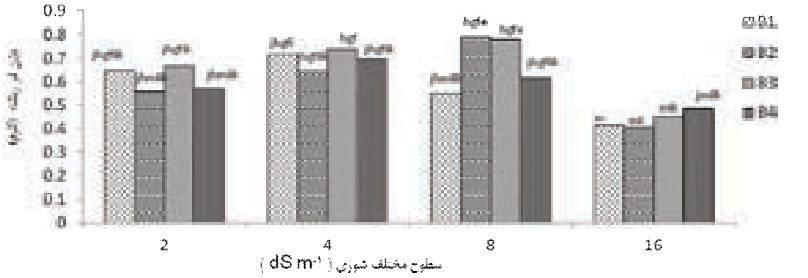
شکل ۵- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن خشک ریشه در شرایط ۷۵٪ آب قابل استفاده



شکل ۶- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن خشک ریشه در شرایط ۲۵٪ آب قابل استفاده میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند



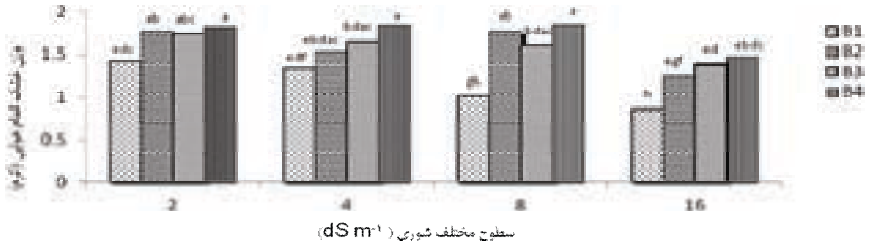
شکل ۷- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن تر ریشه در شرایط ۷۵٪ آب قابل استفاده



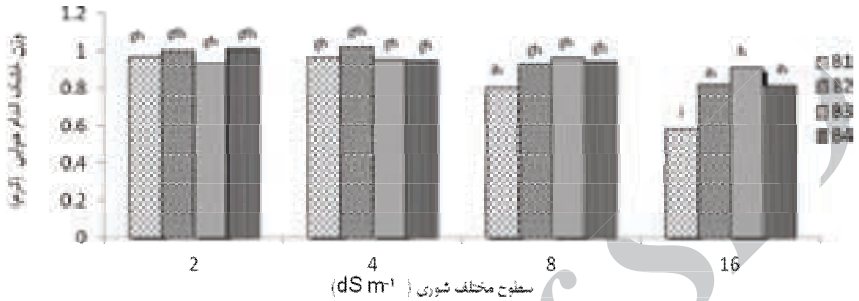
شکل ۸- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن تر ریشه در شرایط ۲۵٪ آب قابل استفاده

Archive of SID

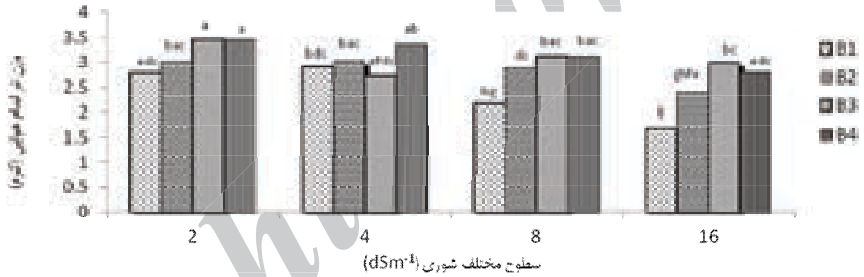
www.SID.ir



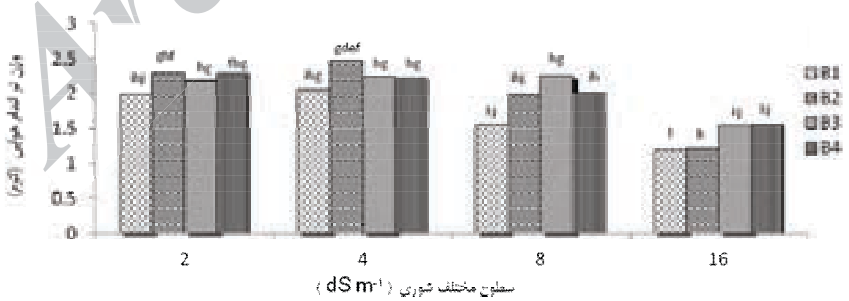
شکل ۹- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن خشک اندام هوایی در ۷۵٪ آب قابل استفاده میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند



شکل ۱۰- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن خشک اندام هوایی در شرایط ۲۵٪ آب قابل استفاده



شکل ۱۱- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن‌تر اندام هوایی در شرایط ۷۵٪ آب قابل استفاده



شکل ۱۲- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری و جدایه باکتری بر وزن تر اندام هوایی در شرایط ۲۵٪ آب قابل استفاده میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

فهرست منابع:

۱. تمرتاش، رضا. شکریان، فاطمه و منصوره کارگر. ۱۳۸۹ . بررسی تأثیر تنش شوری و خشکی بر ویژگی ای جوانه‌زنی بذر شبدر برسیم. مجلهٔ علمی پژوهشی مرتع، سال چهارم، شمارهٔ دوم. ۲۸۸-۲۹۷.

۲. حسینی، حسین و مهدی نصیری محلاتی. ۱۳۸۵ . اثر پیشتیمار بذر بر جوانه زنی ژنوتیپ‌های عدس (*Lens culinaris Medik.*) مجله پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۴، شماره. ۳۵-۴۷.

3. ALami ,Y., W. Achouak., C. Marold., and T. Heulin. 2000. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp. strain isolated from sunflower roots. Appl. Environ. Microbiol. 66(8): 3393-3398.
4. Amellal ,N., F. Bartoli., G. Villemin ., A.Talouizte and T. Heulin. 1999. Effects of inoculation of EPS-producing *Pantoea agglomerans* on wheat rhizosphere aggregation. Plant. Soil. 211: 93-101.
5. Arora, M., A Kaushik., N. Rani and C.P. Kaushik. 2010. Effect of cyanobacterial exopolysaccharides on salt stress alleviation and seed germination. J. Environ. Biol. 31(5): 701-704.
6. Ashraf, M., S. Hasnain., and O.Berge. 2004. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. Biol. Fertil. Soils. 40: 157-162.
7. Ashraf, M. 1994 . Breeding for salinity tolerance in plants. Crit. Rev. Plant Sci. 13: 17–42
8. Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by- free- living bacteria. Can. J. Microbiol. 41: 109-117.
9. Greenwood, M. E., and G. R MacFarlane. 2009. Effects of salinity on competitive interactions between two *Juncus* species. J. Aquat. Bot. 90: 23-29.
10. Hart T. D., A. H. L Chamberlain ., J. M Lynch., B Newling. and P. J McDonald . 1999. A stray field magnetic resonance study of water diffusion in bacterial exopolysaccharides. Enzyme. Microb. Technol. 24: 347-339.
11. Jalili F., K. khavazi, E. Pazira,. A. Nejati,. H. Asadi,. H. Rasuli,. and M. Miransari. 2009. Isolation and characterization of ACC deaminas-producing *fluorescent pseudomonas*, to alleviate salinity stress on canola growth. J. Plant physiol. 166: 667-674.
12. Kaci, Y ., A. Heyraud., M Barakat., and T Heulin. 2005. Isolation and identification of an EPS-producing *Rhizobium* strain from aride soil(Algeria): characterization of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure. Res. Microbiol . 156:522-531.
13. Khodair, T.A., F. Gehan Galal and T.S. El-Tayeb. 2008. Effect of inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria in saline soil. J. Appl. Sci. Res. 4 (12): 2065-2070.
14. Maguire, L.D. 1962. Speed of germination- Aid in selection and evaluation seedling emergenc and vigor. Crop. Sci. 2:176-177.
15. Margesin , R., and F.Schinner. 2001. Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. *Extremophiles* . 5:73–83 .
16. Parry, M., P.C Tarnball. and J. R Gibson.1988. A Color atlas of bacillus Species Wolf Medical Publication itd, London.
17. Rajaram, S. 2001. International wheat breading: past and present achievements and future directions. Crop. Sci. 43: 874-885.
18. Ravikumar M., Syed Ali and N Valliammal. 2011. Biofertilizer effect of halophilic *Azospirilium* on the growth of Jatropha Curcas L seedlings. Ann. Biol. Res. 2 (2): 153-157.
19. Sandhya, V., SK Ali., Z M.Grover ., G. Reddyc and B. Venkateswarlu. 2009. Alleviation of drought stress effects in sunflower seedlings by the exopolysaccharides producing Pseudomonas putida strain GAP-P45.Biol. Fertil. Soils. 46: 17-26.

Archive of SID

www.SID.ir