تأثیر تلقیح باکتری محرک رشد *Pseudomonas putida* بر تحمل به شوری نهال‌های استبرق (*Calotropis procera* Ait.)

۱- محمد بهمنی، دانش‌آموخته دانش آموخته کارشناسی ارشد اکولوژی، دانشگاه تربیت مدرس و عضو دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران
۲- غلامعلی جلالی، استاد اکولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
jalali_g@modares.ac.ir
۳- احمد اصغرزاده، استادیار بیولوژی خاک، موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، تهران
۴- مسعود طبری کوچکسرایی، استاد جنگلداری، دانشکد منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۲۰
پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۱۲

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی تحمل به شوری نهال‌های استبرق با استفاده از تلقیح باکتری *Pseudomonas putida* در شرایط گلخانه انجام گرفت. آزمایش، با شش سطح تیمار آبیاری در سطوح مختلف شوری (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دسی‌زیمنس بر متر) و دو سطح تیمار تلقیح (شاهد و باکتری) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری کامل تصادفی با سه تکرار طراحی شد. نتایج این پژوهش نشان داد در شوری بیش از ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر، همه نهال‌های تلقیح نشده با باکتری خشک شدند. این در حالی است که در شرایط تلقیح با باکتری، بیش از نیمی از نهال‌ها در شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر و حدود ۳۸ درصد نهال‌ها در شوری ۲۵ دسی‌زیمنس بر متر زنده ماندند. در شرایط نبود شوری، ارتفاع، سطح ریشه، وزن تر و خشک نهال‌های تلقیح شده با باکتری نسبت به نهال‌های تلقیح نشده به ترتیب ۲/۶، ۴۰/۳، ۳۸ و ۳۱/۹ درصد افزایش داشتند. در نهال‌های تلقیح شده با باکتری در اغلبِ سطوح شوری تا ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر نرخ فتوسنتز و کلروفیل از نظر آماری افزایش و میزان تعرق کاهش یافت؛ اما نشت الکترولیت تفاوتی نشان نداد. همچنین، غلظت نیتروژن، پتاسیم، و پتاسیم به سدیم برگ افزایش و غلظت سدیم کاهش یافت. بر اساس نتایج این پژوهش، باکتری محرک رشد سودوموناس عملکرد و بازدهی مطلوبی را برای نهال‌های استبرق رشد یافته تا شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر فراهم کرده است. از این رو، استفاده از این باکتری به عنوان یک رهیافت نوین بیوتکنولوژیک می‌تواند برای تلقیح نهال این گونه جهت احیای اراضی شور و نیز تولید نهال آن در نهالستان‌های با خاک شور پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: استبرق؛ باکتری؛ زنده‌مانی؛ شوری؛ فتوسنتز و نشت الکترولیت.

مقدمه

شوری یک عامل محدودکننده برای رشد و تولید است؛ به‌طوری‌که گاهی اوقات رستنی‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک را از بین می‌برد. در سال‌های اخیر، روند شور شدن خاک‌ها روبه افزایش است و سطح وسیعی از زمین‌های قابل‌کشت به علت انباشت بیش از حد نمک به‌صورت غیرقابل کشت درآمده است. اراضی دارای خاک‌های با درجه‌های مختلف شوری مساحتی حدود ۵۵/۶ میلیون هکتار (۳۴ درصد مساحت کشور) را شامل می‌شوند که بیشتر آن‌ها در فلات مرکزی، دشت‌های ساحلی جنوب و دشت خوزستان قرار دارند [۲۸].

گیاهان جدای از سیستم حفاظت طبیعی، قادر هستند با همزیستی تعدادی از ریز موجودات خاک، علائم تنش را کاهش دهند. این درحالی است که در سال‌های اخیر، رهیافت‌های جدید کنترل بیولوژیکی[1] با استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاهی[2] جهت حفظ و نگهداشت گیاهان در برابر تنش محیطی از جمله شوری به‌شدت توسعه پیداکرده است [۳۸]. همچنین، نقش باکتری‌ها در فعالیت بیولوژیکی، رشد و نمو و سلامتی گیاهان از مدت‌ها

[1]. Bio Control
[2]. Plant Growth Promotion Bacteria

Archive of SID
www.SID.ir

پیش مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. باکتری‌های محرک گیاه، اغلب باکتری‌های خاکزی هستند که به طور مستقیم و غیرمستقیم رشد گیاهان را آسان‌سازی می‌کنند به طوری‌که پژوهشگران مختلف استفاده از باکتری‌های سودوموناس، آزتوباکتر و آزوسپیریلوم را با توجه به توانایی تولید هورمون‌ها و مشارکت در تثبیت زیستی نیتروژن و مبارزه با پاتوژن‌های گیاهی و غیره توصیه کرده‌اند [۲۴]. سودوموناس‌ها به گروه بزرگی از باکتری‌های گرم منفی تعلق دارند که به فراوانی در محیط‌های آبی و خاکی یافت می‌شوند. از نظر مورفولوژی، این میکروارگانیسم‌ها بدون اسپور، میله‌ای خمیده و یا صاف، متحرک با یک یا چند فلاژل قطبی هستند. باکتری‌های جنس سودوموناس، کاتالاز مثبت بوده و نیازی به مولفه‌های رشد آلی ندارند و قادر هستند به‌راحتی در محیط کشت‌های پایه King B رشد کنند [۳۵].

از این‌رو، به برخی بررسی‌هایی که به نقش و کارآیی باکتری‌ها بر رشد و فیزیولوژی نهال‌ها و گیاهان در شرایط شوری صورت گرفته است، پرداخته می‌شود. باکتری *Achromobacter piechaudii* دارای فعالیت ACC دآمیناز، به‌طور معنی‌داری وزن‌تر و خشک و از طرف دیگر بازده مصرف آب نهال‌های گوجه‌فرنگی تحت شرایط شور را افزایش می‌دهد [۲۷]. در پژوهشی مرتبط با رشد نهال‌های کتان (*Gossypium hirsutum* L.) تلقیح شده با باکتری *Pseudomonas putida* سویه Rs-198 در برابر تنش شوری مشخص شد که این باکتری می‌تواند باعث افزایش جذب عناصر منیزیم، پتاسیم و کلسیم و کاهش جذب سدیم از خاک شده و درنتیجه افزایش رشد نهال‌ها شود [۳۷]. در پژوهشی دیگر، باکتری‌های *Azospirillum brasilense* و *Pantoea dispersa* در شرایط شوری، باعث افزایش وزن خشک گیاه و همچنین بهبود نرخ فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای نهال‌های فلفل شیرین (*Capsicum annuum* L) شدند [۱۲]. در بررسی مرتبط با تلقیح باکتری‌های *Bacillus* EY30، *Staphylococcus* EY37 و *Kocuria* EY43، اثر زیان بار شوری بر کاهش شدید رشد، عملکرد و تغذیه نهال‌های توت‌فرنگی (*Fragaria ananassa*) گزارش شده است [۲۳]. همچنین در پژوهشی بر روی وضعیت فیزیولوژی گیاه *Mentha arvensis*، مشخص شد که باکتری‌های *Bacillus pumilust*، *Halomonas desiderata* و *Exiguobacterium oxidotoleran* صفات رشد، وزن تر و خشک اندام هوایی، بازده گیاه و جذب عناصر غذایی را تحت شوری به طور چشمگیری افزایش داده است [۹].

اگرچه نقش مفید ریز موجودات خاک‌زاد[1] به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد بر مقاومت به تنش‌های محیطی گیاهان زراعی مورد بررسی قرار گرفته شد، ولی پژوهشی برای بررسی تحمل به شوری گونه‌های درختی و درختچه‌ای مناطق بیابانی کشور انجام نشده است. از جمله این گونه‌ها می‌توان به استبرق (*Calotropis procera* Ait.) اشاره کرد که درختچه‌ای دائمی و چندساله از تیره استبرقیان (Asclepiadaceae) و جزء گیاهان کائوچویی است که ارتفاع آن‌ها به ۳ تا ۴ متر می‌رسد. این گونه در بسیاری از مناطق گرم بیابانی جنوب غربی آسیا و منطقه مدیترانه تا سواحل آفریقا و هم‌چنین در جنوب ایران (خوزستان تا بلوچستان) پراکنش داشته و دارای ارزش اقتصادی و دارویی منحصربه‌فردی است. این گونه نقش اکولوژیک مهمی در مناطق خشک و بیابانی جنوب کشور ایفا می‌کند [۳۲]. هر چند درختچه‌های استبرق در شرایط طبیعی و رویشگاهی خود بذرهای فراوانی تولید می‌کنند، با این وجود در طبیعت با پراکنش کمی مواجه هستند [۶]. نظر به اهمیت این گونه در احیای دشت‌های بیابانی کشور از جمله در نواحی جنوبی فلات مرکزی مانند خوزستان، کرمان، سیستان و بلوچستان و سواحل جنوبی، این پژوهش با هدف بررسی کارآیی و نقش باکتری‌های ریزوسفری *Pseudomonas putida* سویه ۱۶۷ بر تحمل به شوری نهال‌های آن در شرایط گلخانه‌ای انجام شده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آزمایش بذر

غوزه‌های تازه استبرق، در مردادماه سال ۱۳۹۰ از رویشگاه‌های طبیعی آن در شهرستان تنگستان، استان بوشهر با عرض جغرافیایی ۳۲۱۳۲۰۶ m N و طول جغرافیایی ۵۲۳۷۰۳ m E سیستم UTM[2] و ارتفاع ۵۸

[1]. Soil - Burn
[2]. Universal Transverse Mercator

Archive of SID

www.SID.ir

متر از سطح دریا جمع‌آوری شد. سپس بذرهای هم‌سان و یکنواخت انتخاب و به‌منظور ضدعفونی سطحی، به مدت دو دقیقه در محلول قارچ‌کش کربوکسین تیرام ۲ درصد قرار گرفت. به‌منظور تلقیح باکتری، تعداد کافی بذرهای همسان، یکنواخت و استریل روی پتری دیش ریخته و در شرایط فیتوترون با متوسط دمای ۲۰°C و رطوبت نسبی ۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و ۱۰۰۰ لوکس نوری نگهداری شدند تا این‌که بذرها جوانه زده و پس از یک هفته به گیاهچه تبدیل شوند [۴].

مشخصات خاک

جهت تهیه خاک گلدان سعی شد خاکی که حد امکان شبیه به خاک رویشگاه استبرق باشد، تهیه شود. به این منظور، خاکی با بافت سبک لومی و با ماده آلی ناچیز تهیه و جهت سبک شدن و استریل اولیه به ترتیب کوکوپیت و قارچ‌کش کاربندازین اضافه و به طور کامل مخلوط شد. سپس جهت استریل کامل، خاک‌ها در دمای ۱۲۱/۵°C و فشار ۱/۵ مگاپاسکال اتوکلاو شد و درون گلدان‌های استریل شده ۴ کیلویی (۲۰×۱۵×۱۵ cm) قرار گرفت (جدول ۱). مشخصات فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های خاک نیز تعیین و اندازه‌گیری شد [۱۳].

جدول۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک استفاده شده در این آزمایش

هدایت الکتریکی (µS/m)	pH (گل اشباع)	شن (٪)	رس (٪)	سیلت (٪)	کربن آلی (٪)
۰/۳۲۸	۷/۷۱	۵۰	۲۰	۳۰	۱/۳۲
نیتروژن (٪)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	آهن (ppm)	منگنز (ppm)	روی (ppm)
۱/۱۳	۰/۲	۹	۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۰۸

مشخصات و تلقیح باکتری

جمعیت باکتری *Pseudomonas putida* strain169 برابر با $۳/۶\times۱۰^{۹}$ سلول زنده در میلی‌لیتر (CFU[1])، سیدروفور تولیدی۲۴ ساعته ۳/۶ میلی‌لیتر و مقدار تولید ایندول استیک اسید IAA[2] برابر با ۵/۷۷ میلی‌گرم بر لیتر بود که در بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور شناسایی، تخلیص و تکثیر شد. جمعیت کل باکتری به روش شمارش پلیت[3]، سیدروفور تولیدی با استفاده از CAS-AGAR بر اساس روش اصلاح شده الکساندر و زوبرر [۲] و مقدار تولید ایندول استیک اسید نیز با استفاده از محیط DF[4] اندازه‌گیری و به وسیله منحنی استاندارد محاسبه شد [۳۱]. بر اساس دستور کار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، جهت تلقیح بذور با ریزموجودات، ماده چسباننده و محافظ (صمغ عربی ۲۰٪) به گیاهچه‌ها اضافه شد. سپس در ظرف حاوی محلول باکتریایی قرار داده شد و نیم ساعت بعد از تلقیح، تعداد ۱۰ عدد گیاهچه در عمق ۰/۵ تا ۱ سانتیمتری بستر کشت قرار گرفت. همچنین در بستر کشت گلدان‌ها، در اطراف گیاهچه‌ها۱۰ میلی‌لیتر مایه تلقیح باکتریایی نیز اسپری شد [۲۴].

آزمایش گلخانه‌ای

آبیاری گیاهچه‌ها به مدت شش ماه در شرایط گلخانه با در نظر گرفتن ظرفیت زراعی وزنی خاک[5] انجام شد. برای حفظ ظرفیت زراعی، گیاهچه‌ها با فاصله آبیاری سه روز به وزن مرجع ۴۲۴۲ گرم رسانده می‌شدند [۳۳]. پس از آن نهال‌های استبرق به مدت پنج ماه (از اردیبهشت تا شهریورماه ۹۲) با آب‌شور محتوی نمک کلرید سدیم مرک آلمان، خلوص ۹۹٪ در شش سطح (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دسی زیمنس بر متر) تحت تأثیر تنش واقع شدند. برای جلوگیری از وارد شدن تنش ناگهانی به نهال‌ها، آبیاری به‌تدریج در شش نوبت به فاصله زمانی سه روز با شوری ۲/۵ دسی زیمنس بر متر شروع و تا ۱۸روز پس از آن، تمام سطوح شوری تا ۲۵ دسی زیمنس بر متر اعمال شد. همچنین با سوراخ کردن ته گلدان، از انباشت نمک جلوگیری شد [۳]. به‌منظور تقویت تغذیه‌ای نهال‌ها در طول مدت تنش، هفته‌ای دو بار نهال‌ها با محلول غذایی هوگلند به مقداری که خروج آب از انتهای گلدان مشاهده گردد، آبیاری شد [۳۴]. این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی پیشرفته دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس با

[1]. Colony Forming Unit
[2]. Indol Acetic Acid
[3]. Plate Count
[4]. DF Salt minimal Medium
[5]. Weighted field capacity

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط کمینه و بیشینه دما شب و روز به ترتیب؛ ۱۸ ºC، ۳۰ و رطوبت نسبی به ترتیب ۳۲ و ۵۰ درصد انجام شد.

تجزیه گیاه

با پایان یافتن دوره تنش شوری در شهریورماه سال ۱۳۹۲، اندازه‌گیری و سنجش برخی صفات مورفولوژی و فیزیولوژی نهال‌های استبرق شد. زنده‌مانی نهال‌ها، یعنی نسبت تعداد نهال‌های باقی‌مانده در انتهای دوره به تعداد نهال‌های ابتدای دوره در هر تیمار به‌صورت درصد، محاسبه شد. ارتفاع نهال‌ها و طول ریشه با استفاده از خط کش مدرج با دقت میلی‌متر سنجیده شد. همچنین سطح ریشه نهال‌ها با استفاده از رابطه اتکینسیون برآورد شد [۱۰]. وزن تر و خشک نهال‌های استبرق با محاسبه مجموع وزن ریشه و ساقه گیاه بدست آمد. قرائت محتوی کلروفیل برگ استبرق با استفاده از دستگاه Model SPAD 502 Minolta, از برگ‌های قسمت یک‌پنجم بالایی نهال صورت گرفت [۲۶]. نرخ فتوسنتز خالص[1] (A_i) و تعرق[2] (ET) هر نهال، با دستگاه ADC Bio Scientific Ltd. مجهز به سامانه تجزیه‌کننده گاز فروسرخ و محفظه برگی تجهیز به حس‌گرهای دما و تراکم جریان فوتونی ۸۰۰ تا ۹۰۰ میکرو مول متر بر ثانیه با انتخاب سه برگ سالم و به طور کامل توسعه‌یافته نهال در شرایط هوای آزاد و تحت شرایط طبیعی از ساعت ۹ تا ۱۱ قبل از ظهر یادداشت شد [۳۶]. هم‌چنین، به‌منظور تعیین پایداری غشاء سلولی برگ در نهال‌های تحت تنش، میزان نشت الکترولیت[3] (EL) به روش لاتس[4] با استفاده از EC متر، دستگاه اتوکلاو و بن ماری یا حمام آب اندازه‌گیری شد. غلظت عنصر سدیم و پتاسیم با رسم خط استاندارد با استفاده از دستگاه جذب اتمی و غلظت نیتروژن نیز با دستگاه کجلدال اندازگیری شد.

تحلیل آماری

طرح آزمایشی این تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی، با مجموع ۱۰۸ اصله نهال انجام شد و تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون توکی در سطح آماری ۱٪ انجام شد. به علت خشک شدن و از بین رفتن نهال‌های شاهد در سطوح بالاتر شوری (۲۰ و ۲۵ دسی زیمنس بر متر)، همه اندازه‌گیری‌ها و تحلیل‌های آماری نهال‌های شاهد تا سطح شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر انجام شد.

نتایج

رشد و مورفولوژی

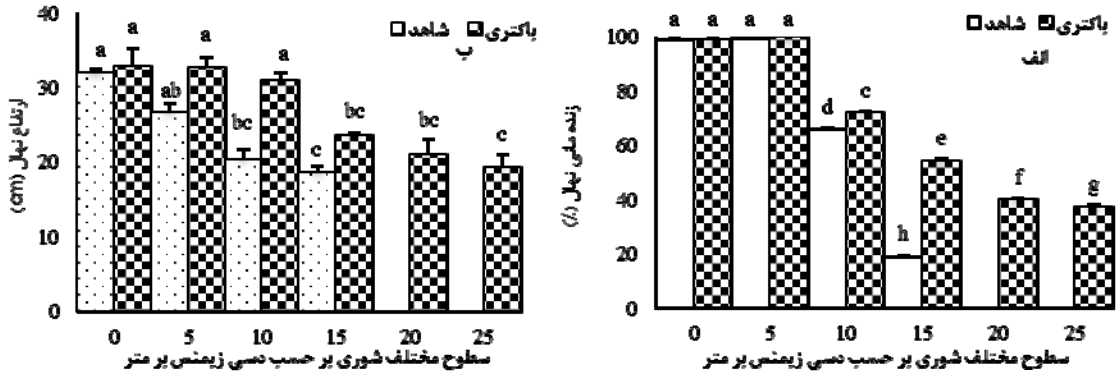
تلقیح باکتری، تنش شوری و اثرات متقابل آن تأثیر معنی‌داری بر زنده‌مانی و ارتفاع نهال‌های استبرق داشت (جدول ۲). نهال‌های تلقیح شده استبرق زنده‌مانی قابل‌توجهی را تا شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر نشان دادند. بیشترین درصد زنده‌مانی در شرایط بدون تنش شوری و سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر نهال‌های شاهد و تلقیح یافته دیده شد. با افزایش سطح و میزان شوری، درصد زنده‌مانی نهال‌های استبرق کاهش یافت. درحالی‌که نهال‌های شاهد و یا بدون تلقیح در سطوح بالاتر شوری ۲۰ و ۲۵ دسی‌زیمنس بر متر از بین رفتند. نهال‌های آلوده به باکتری تا سطوح ۲۵ دسی زیمنس بر متر به مقدار ۳۷/۵ درصد و نهال‌های شاهد تا شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر به مقدار ۱۹ درصد زنده‌مانی نشان دادند (شکل ۱ الف). در نهال‌های شاهد، بیشترین میزان ارتفاع در شرایط بدون تنش با مقدار ۳۲ سانتیمتر دیده شد. با افزایش سطوح شوری، به میزان چشمگیری ارتفاع نهال‌های شاهد کاهش یافت که کم‌ترین آن در شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر به مقدار ۱۸/۶۶ سانتیمتر دیده شد. نهال‌های تلقیح شده استبرق تا شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر بزرگ‌ترین اندازه ارتفاع را نشان دادند. در شرایط بدون تنش، و تنش‌های ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر ارتفاع نهال‌ها به ترتیب ۳۲/۸، ۳۲/۷ و ۳۱ سانتیمتر بود. در کل، تلقیح باکتریایی نهال‌ها در سطوح مختلف شوری، منجر به افزایش ارتفاع در مقایسه با نهال‌های بدون تلقیح شد (شکل ۱ ب).

---

[1]. Pure Photosynthesis
[2]. Evapor-Transpiration
[3]. Electrolyte Leakage
[4]. Letts

Archive of SID

www.SID.ir

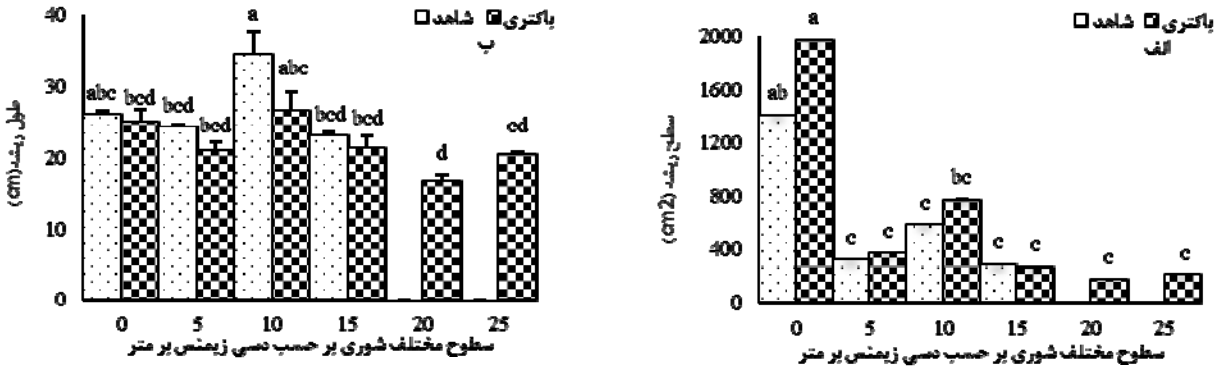


شکل ۱- مقایسه میانگین توکی تأثیر تلقیح باکتری بر زنده‌مانی (الف) و ارتفاع (ب) نهال‌های استبرق تحت تنش شوری (حروف مختلف روی هر نمودار معرف معنی‌داری میانگین‌ها در سطوح مختلف هستند).

همان‌طور که در جدول ۲ دیده می‌شود، طول و سطح ریشه نهال‌های استبرق پاسخ معنی‌داری را در سطح آماری ۱ درصد به تلقیح باکتری و تنش شوری نشان می‌دهد. درحالی‌که طول ریشه در سطح ۱ درصد به اثرات متقابل تلقیح و شوری پاسخ معنی‌داری نشان داد، ولی سطح ریشه پاسخ معنی‌داری را به اثرات متقابل نشان نداد.

در شرایط بدون تلقیح، نهال‌های بدون تنش بیشترین سطح ریشه به مقدار ۱۴۰۲/۵ سانتیمتر مربع دیده شد. با افزایش سطوح شوری، روند کاهش سطح ریشه تا شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر شد. در نهال‌های تلقیح شده با باکتری نیز بیشترین سطح ریشه نهال به مقدار ۱۹۶۸/۵ سانتیمتر مربع در شرایط بدون تنش دیده شد. بنابراین، نهال‌های تلقیح شده در مقایسه با عدم تلقیح یا شاهد در تمام سطوح شوری، مقدار بالایی از سطح ریشه را نشان دادند، این در حالی است که با افزایش غلظت شوری، مقدار سطح ریشه به شدت کاهش یافت (شکل ۲ الف).

طول ریشه نهال‌های استبرق در شرایط شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر بدون باکتری، بیشترین مقدار (۳۴/۵ سانتی‌متر) را به خود اختصاص داد. افزایش سطوح شوری منجر به کاهش و خشکیدگی کامل نهال‌های شاهد یا بدون تلقیح شد. به عبارتی، در سطوح شوری ۲۰ و ۲۵ دسی زیمنس بر متر نهال‌ها به طور کامل خشک‌شده و اندازه‌گیری طول ریشه امکان‌پذیر نبود. هرچند، نهال‌های تلقیح یافته باکتری تا سطوح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر خشک نشده و طول ریشه نیز قابل‌اندازه‌گیری بود. در نهال‌های باکتریایی، بیشترین طول ریشه در شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر به مقدار ۲۶/۷ سانتیمتر دیده شد که نسبت به نهال‌های شاهد در همان سطح شوری کمتر بود. در کل، با افزایش غلظت کلرید سدیم، از طول ریشه نهال‌ها کاسته شد (شکل ۲ ب).



شکل ۲- مقایسه میانگین توکی تأثیر تلقیح باکتری بر سطح (الف) و طول (ب) ریشه نهال‌های استبرق تحت تنش شوری (حروف مختلف روی هر نمودار معرف معنی‌داری میانگین‌ها در سطوح مختلف هستند).

Archive of SID

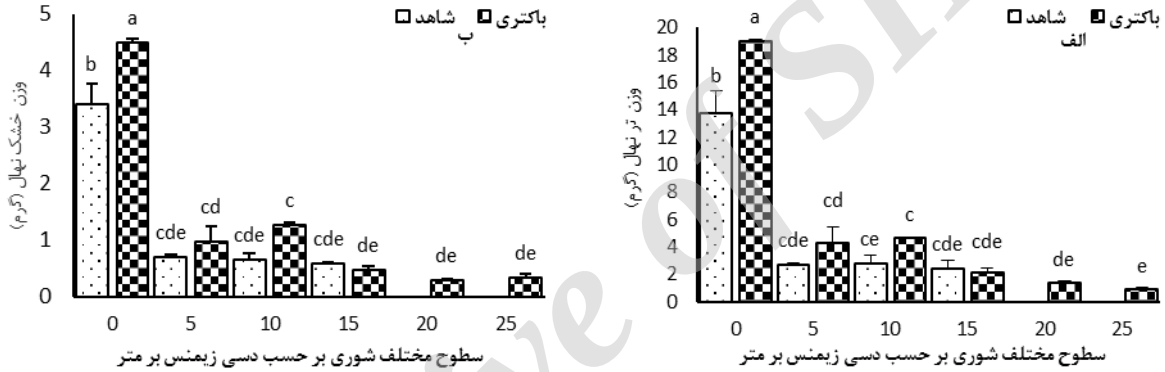
www.SID.ir

وزن تر و خشک نهال‌های استبرق در تیمارهای باکتری، شوری و اثر متقابل آن، پاسخ معنی‌داری در سطح آماری ۱ درصد نشان دادند (جدول ۲). بیشترین وزن تر و خشک نهال‌ها در تیمار تلقیح باکتری در شرایط بدون شوری به ترتیب ۱۹/۰۴ و ۴/۴۹ گرم به دست آمد، به طوری که با افزایش میزان شوری، مقدار متغییرهای وزن تر و خشک به صورت نزولی، کاهش یافت (شکل ۳).

جدول ۲- میانگین مربع اثر تلقیح باکتری بر رشد و مورفولوژی نهال‌های استبرق تحت شرایط تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	زنده مانی	ارتفاع	طول ریشه	سطح ریشه	وزن تر نهال	وزن خشک نهال
باکتری	۱	۳۴۸۱/۰۱**	۹۸۷**	۱۳۸/۰۸**	۳۳۷۸۰۹/۷**	۲۸/۴۴**	۱/۵۳**
شوری	۵	۸۴۷۵/۱۵**	۵۵۷/۲۴**	۴۶۱/۹۶**	۲۱۹۹۲۸۲/۷**	۲۱۵/۳۷**	۱۲/۳۶**
باکتری×شوری	۵	۵۷۳/۵**	۹۹/۶۷**	۲۰۴/۷**	۶۱۸۹۱/۸۲^{ns}	۵/۱۶**	۰/۲۴**
خطا	۲۴	۳/۶۱۱	۶/۱۶۷	۹/۸۳۹	۴۷۷۵۷/۹۶	۱/۲۰	۰/۰۵۹
کل	۳۶						
ضریب‌تغییرات (٪)	-	۶۴/۸۹۱۱	۳۴/۵۷۳۶	۲۱/۴۰۱۶	۹۵/۹۲۴۴	۲۷/۴۵	۲۴/۸۱

**، * و ns به ترتیب معرف معنی‌داری در سطح آماری ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری است.



شکل ۳- مقایسه میانگین توکی تأثیر تلقیح باکتری بر الف) وزن تر، و ب) وزن خشک سطح نهال‌های استبرق تحت تنش شوری (حروف مختلف روی هر نمودار معرف معنی‌داری میانگین‌ها در سطوح مختلف هستند).

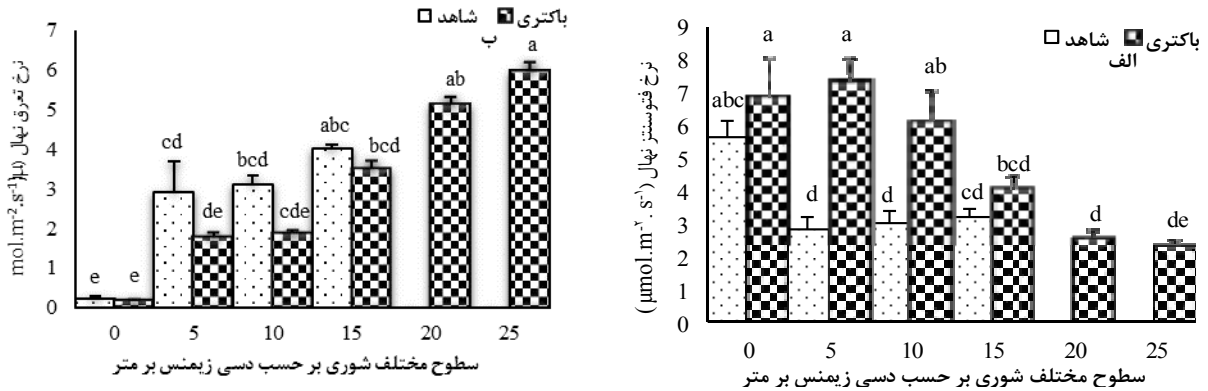
فیزیولوژی

تجزیه واریانس نتایج نشان داد که نرخ فتوسنتز و تعرق نهال‌های استبرق پاسخ معنی‌داری را در سطح آماری ۱ درصد به تیمارهای تلقیح، شوری و اثرات متقابل آن دارند (جدول ۳). در شرایط شوری نهال‌های شاهد، نرخ فتوسنتز خالص در سطح بدون شوری بالاترین مقدار (۵/۶۶ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) را نشان داد، به‌طوری‌که شوری با افزایش غلظت، تأثیر زیادی بر نرخ فتوسنتز داشت. این تأثیر بیشتر به‌صورت کاهشی بود. تلقیح نهال‌ها در شرایط شوری منجر به بهبود و افزایش نرخ فتوسنتز خالص شد، به‌طوری‌که بالاترین نرخ را در سطح بدون شوری و ۵ دسی زیمنس بر متر به ترتیب ۶/۹۶ و ۷/۴۶ میکرو مول بر مترمربع در ثانیه دیده شد. بنابراین، تلقیح با باکتری، نرخ فتوسنتز خالص را در مقایسه با نهال‌های عدم تلقیح ۲۷/۴ درصد افزایش داد. همچنین در تمام سطوح، شوری منجر به افزایش چشمگیر نرخ فتوسنتز نسبت به تیمار بدون تلقیح شد (شکل ۴ الف).

نرخ تعرق در تیمار نهال‌های تلقیح نشده در سطح شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر با میزان ۴ میکرو مول بر مترمربع در ثانیه بیشترین را نشان داد. به طوری که نهال‌ها تا این حد شوری قابلیت فیزیولوژیکی تعرق را دارا بودند. با تلقیح نهال‌ها، وضعیت نرخ تعرقی برگ بهبود پیداکرده و در قیاس با نهال‌های شاهد افزایش چشمگیری دیده شد، به‌طوری‌که بالاترین نرخ تعرق در شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر با مقدار ۵/۹۶ میکرو مول بر مترمربع و ثانیه ثبت شد (شکل ۴ ب).

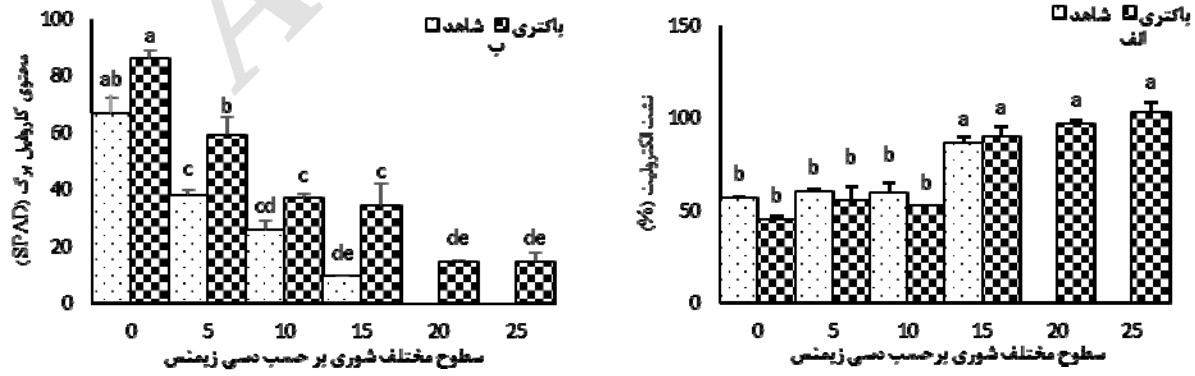
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴- مقایسه میانگین توکی تأثیر تلقیح باکتری بر نرخ فتوسنتز و تعرق نهال‌های استبرق تحت تنش شوری (حروف مختلف روی هر نمودار معرف معنی‌داری میانگین‌ها در سطوح مختلف هستند).

تلقیح و تنش شوری روی نهال‌ها، تأثیر معنی‌داری را در سطح آماری ۱ درصد بر محتوی کلروفیل و نشت الکترولیت برگ نشان داد، به‌طوری‌که اثر متقابل تیمارها بر محتوی کلروفیل نهال‌ها معنی‌دار نشد؛ درحالی‌که در نشت الکترولیت در سطح ۱ درصد معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). نشت الکترولیت در تمام نهال‌های استبرق با افزایش شوری روند افزایشی نشان داد. در نهال‌های شاهد میزان نشت الکترولیت در شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر به مقدار ۹۶/۹ درصد بیشترین بود که در مقایسه با نهال‌های تلقیح شده در همان سطح شوری ۴۱ درصد افزایش نشان داد. استفاده از تیمار تلقیح در مقایسه با تیمار بدون تلقیح، نشت الکترولیت را در تمام سطح شوری کاهش داد. درحالی‌که در سطوح مختلف شوری، تیمارهای شاهد و تلقیح شده باهم تفاوت معنی‌داری را از نظر آماری نشان ندادند (شکل ۵ الف). بیشترین میزان کلروفیل برگ در نهال‌های تلقیح شده باکتری تحت شرایط بدون تنش دیده شد. با افزایش سطح شوری در نهال‌های شاهد، کلروفیل برگ به‌شدت کاهش یافت. با تلقیح نهال‌ها، محتوی کلروفیلی برگ در مقایسه با نهال‌های تلقیح نشده در تمام سطوح شوری افزایش چشمگیری را نشان داد که بیشترین مقدار آن ۸۵ در نهال‌های بدون تنش یا شاهد رویت شد. بنابراین تیمارهای تلقیح شده با باکتری نسبت به تلقیح نشده در شرایط نبود شوری، محتوی کلروفیل برگ نهال‌های استبرق را ۲۸/۷ درصد افزایش داد (شکل ۵ ب).



شکل ۵- مقایسه میانگین توکی تأثیر تلقیح باکتری بر الف) نشت الکترولیت و ب) محتوی کلروفیل نهال‌های استبرق تحت تنش شوری (حروف مختلف روی هر نمودار معرف معنی‌داری میانگین‌ها در سطوح مختلف هستند).

Archive of SID

www.SID.ir

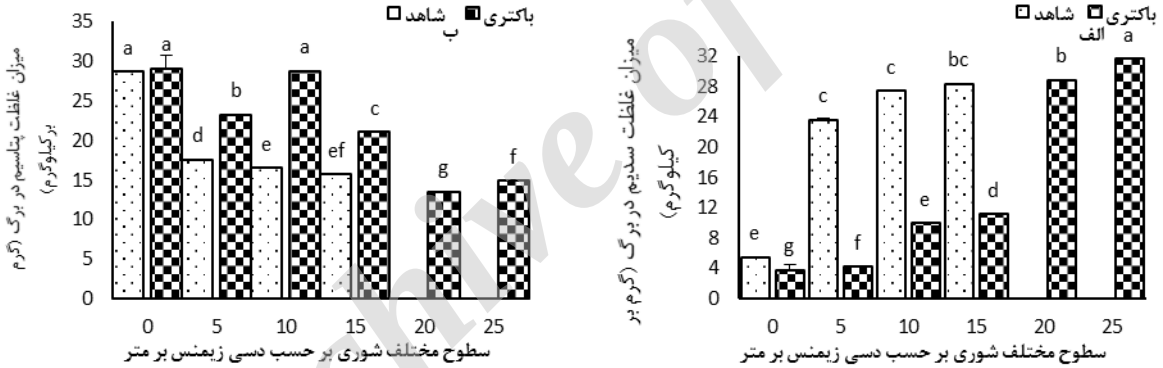
جدول ۳- میانگین مربعات اثر تلقیح باکتری بر فیزیولوژی نهال‌های استبرق تحت شرایط تنش شوری

منابع تغییر	درجه‌آزادی	فتوسنتز	تعرق	کلروفیل	نشت الکترولیت
باکتری	۱	۵۸/۰۱**	۱۶/۸۳**	۲۷۶۸/۵۱**	۹۶۸۵/۸۴**
شوری	۵	۲۵/۷۶**	۱۰/۱۶**	۴۲۸۷/۴۴**	۱۳۵۲/۱۳**
باکتری × شوری	۵	۲/۷۰**	۱۴/۴۳**	۳۸/۰۳ ^{ns}	۴۱۰۰/۷۶**
خطا	۲۴	۰/۷۹۵	۰/۵۶۴	۴۳/۴۷	۴۱/۰۷
کل	۳۶				
ضریب‌تغییرات (٪)		۳۱/۶	۴۲/۷۴	۴۱/۱۲	۲۸/۰۰

**، * و ns به ترتیب معرف معنی‌داری در سطح آماری ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری است.

عناصر تغذیه‌ای

تیمارهای باکتری، شوری و اثر متقابل آن بر میزان جذب غلظت سدیم و پتاسیم برگ اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان داد (جدول ۴). در نهال‌های تلقیح شده با باکتری، غلظت سدیم در شوری ۲۵ دسی‌زیمنس بر متر مقدار (۳۱/۴) بیشترین بود، به طوری که با افزایش سطح شوری به میزان سدیم برگ افزوده شد. در نهال‌های تلقیح نشده، بیشترین غلظت سدیم در شوری ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر با میزان ۲۸/۳ دیده شد که همواره در تمامی سطوح شوری در مقایسه با نهال‌های تلقیح شده با باکتری بیشتر بودند (شکل ۶ الف). غلظت پتاسیم در نهال‌های باکتری و شاهد در شرایط نبود شوری با مقدار ۲۹ و ۲۸/۷ بیشترین بود که افزایش شوری به صورت کاهشی موجب کاهش پتاسیم شد (شکل ۶ ب).

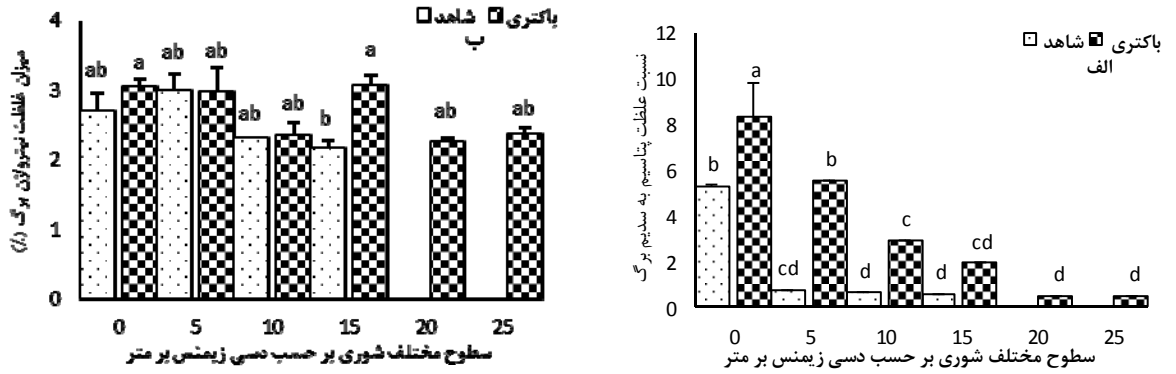


شکل ۶- مقایسه میانگین توکی تأثیر تلقیح باکتری بر الف) غلظت سدیم و ب) غلظت پتاسیم نهال‌های استبرق تحت تنش شوری (حروف مختلف روی هر نمودار معرف معنی‌داری میانگین‌ها در سطوح مختلف هستند).

تلقیح باکتری، شوری و اثر متقابل بر نسبت پتاسیم به سدیم و نیتروژن برگ در سطح آماری ۱ درصد تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ۴). نسبت غلظت پتاسیم به سدیم در نهال‌های تلقیح شده با باکتری در سطح بدون شوری با میزان ۸/۳۲ بیشترین بود که با افزایش شوری، از نسبت آن کاسته شد. (شکل ۷ الف). بیشترین غلظت نیتروژن در نهال‌های تیمار شده با باکتری تحت شوری ۵ و ۱۵ دسی زیمنس بر متر به ترتیب مقادیر۳/۰۵ و ۳/۰۸ درصد دیده شد. در حالی که سایر تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (شکل۷ ب).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۷- مقایسه میانگین توکی تأثیر تلقیح باکتری بر الف) غلظت پتاسیم به سدیم و ب) غلظت نیتروژن برگ نهال‌های استبرق تحت تنش شوری (حروف مختلف روی هر نمودار معرف معنی‌داری میانگین‌ها در سطوح مختلف هستند).

جدول ۴- میانگین مربعات اثر تلقیح باکتری بر غلظت عناصر تغذیه‌ای نهال‌های استبرق تحت شرایط تنش شوری

منابع تغییر	درجه‌آزادی	سدیم	پتاسیم	پتاسیم به سدیم	نیتروژن
		برگ			
باکتری	۱	۵/۳۹۸**	۶۷۶/۴۳**	۳۸/۲۵**	۸/۷۹۶**
شوری	۵	۱۷۴/۲۸**	۴۵۶/۶**	۳۷/۰۵**	۴/۱۳۷**
باکتری×شوری	۵	۸۴۱/۹۲**	۴۸/۸۴**	۴/۱۷**	۱/۷۵۴**
خطا	۲۴	۰/۱۲۶	۰/۱۱۱	۰/۵۵۶	۰/۰۸۴
کل	۳۶				
ضریب‌تغییرات (٪)		۴۲/۰۳	۴۱/۸	۴۱/۹۱	۲۴/۹۲

**، * و ns به ترتیب معرف معنی‌داری در سطح آماری ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری است

بحث و نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که اعمال تنش شوری منجر به کاهش برخی متغییرهای اندازه‌گیری شده نهال‌های استبرق ازجمله زنده‌مانی، ارتفاع، سطح و طول ریشه، محتوی کلروفیل و پتانسیل آبی، نرخ تعرق و فتوسنتز می‌شود، درحالی‌که در صفات نشت الکترولیت، نرخ تعرق و غلظت سدیم با شدت یافتن شوری، مقدار صفت‌های مذکور افزایش یافت. بیشتر پژوهشگران، شوری را جزء مولفه‌های مهم محیطی کاهنده رشد و بازدهی گیاهان برشمرده‌اند. با افزایش شدت شوری، بیشتر صفات اندازه‌گیری شده کاهش یافته و حتی در سطوح بالاتر شوری -به عبارتی، ۲۰ و ۲۵ دسی زیمنس بر- متر نهال‌ها خشک‌شده و از بین رفتند. بنابراین، تنش شوری از طریق اثر اسمزی که بر طیف وسیعی از فعالیت‌های متابولیکی دارد، باعث تحمیل کمبود آب و کاهش عملکرد گیاه می‌شود [۱۹]. Ibrahim و همکاران [۲۲]، روی گونه استبرق و هم‌چنین ابطحی [۱] روی نهال‌های پسته به نتایج مشابه این پژوهش دست یافتند در این پژوهش، کاهش رویش گیاه را در طول دوره تنش شوری به اثر اسمزی و یونی مرتبط دانسته‌اند که منجر به ایجاد خشکی در گیاه می‌گردد.

پژوهشگران در بررسی تنش شوری، پاسخ گیاهان از جمله طول ریشه، ارتفاع گیاه، سطح برگ، نسبت ریشه به ساقه و فیزیولوژی آن را تحت تاثیر نمک دانسته‌اند. بنابراین، می‌توان اظهار داشت که در این پژوهش، تلقیح نهال‌های استبرق با باکتری سودوموناس منجر به آسان‌سازی و کاهش اثر منفی و سمیت شوری شده و رویش و عملکرد گیاه را به‌طور چشمگیر در سطوح مختلف در مقایسه با تیمارهای بدون تلقیح بهبود می‌بخشد. نهال‌های تلقیح شده با باکتری نسبت به عدم تلقیح، زنده‌مانی و سایر صفات رویشی و هم‌چنین فیزیولوژی استبرق را تا شوری سطوح بالا (به عبارتی ۲۵ds/m) ارتقاء داد. این مقادیر با افزایش سطوح غلظت شوری، روند کاهشی را نشان داد که این یافته با نتایج پژوهش بر نهال کتان (*Gossypium hirsutum* L.)، نهال‌های فلفل

Archive of SID

www.SID.ir

(*Capsicum annuum* L) و نهال‌های توت‌فرنگی مطابقت دارد [۳۷، ۱۲ و ۲۳].

گونه های سودوموناس یکی از تحریک کننده‌های رشد گیاهی هستند که بر رشد، شکل‌گیری ریشه‌های اصلی و مویی گونه‌های جنگلی کارآمدند. درصورتی‌که اکسین باکتریایی (برون‌زاد) بتواند مقدار اکسین گیاهی (درون‌زاد) را به سطح بهینه برساند، قادر به افزایش طول ریشه گیاه میزبان خواهد بود [۱۸]. همچنین تأثیر اکسین باکتریایی بر گیاه میزبان، بسته به مقدار IAA درون بافت‌های ریشه دارد. پژوهشگران مختلف به اختصاصی بودن تأثیر مفید باکتری‌ها بر واریته و زیرگونه‌های برخی گونه‌های گیاهی تأکید کرده‌اند. افزون بر توانایی باکتری در تولید اکسین، متابولیک‌های دیگر میکروبی، غیر از IAA از قبیل اسید سوکسینیک و آنزیم ACC دآمیناز در تحریک رشد ریشه مؤثرند [۱۸].

عنصر سدیم نیز نقش مهمی در تنظیم فشار اسمزی به‌ویژه در گیاهان شورپسند از جمله درختچه‌های استبرق دارد. در بیشتر بررسی‌های فیزیولوژیکی، کاهش رشد گیاهان تحت شوری به کاهش فتوسنتز ارتباط داده شده است [۱۷]. فرآیندهای فتوسنتزی در شرایط شوری، بیشتر از طریق عوامل روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای جلوگیری می‌شوند [۲۹]. اثر نمک کلریدسدیم بر فرآیند فتوسنتز می‌تواند به‌طور مستقیم از طریق کاهش جذب و انتشار دی‌اکسیدکربن از روزنه تا سلول‌های مزوفیل باشد [۱۶]. تأثیر باکتری بر عملکرد به نوع باکتری، شرایط تغذیه‌ای خاک و نوع گونه گیاهی بستگی دارد که تفاوت در عملکرد سویه به اختلاف در پتانسیل متابولیکی آن بر می‌گردد. سویه‌های باکتریایی توانایی متفاوتی در تولید تنظیم‌کننده‌های رشد، آنزیم ACC دآمیناز و حلالیت عناصر معدنی خاک دارند، بنابراین تأثیر آن‌ها بر عملکرد گیاه نیز متفاوت است.

کاهش در محتوی کلروفیل تحت تنش به‌طور معمول در بررسی‌های زیادی دیده شده است که می‌تواند علت‌های مختلفی داشته باشد که یکی از آن‌ها با تخریب غشایی مرتبط است [۵]. عامل دیگر آن کاهش محسوس محتوی کلروفیل در غلظت‌های شوری بالا است که احتمالاً به فرآیند بیولوژیکی، توسعه گیاه و هم‌چنین نوع و غلظت نمک برمی‌گردد [۳]. الگوی معمول پاسخ گیاهان به شوری، کاهش رشد است که بستگی به غلظت، ترکیب، مرحله رشد فیزیولوژیکی و گونه گیاهی دارد. در مقادیر پایین شوری، تأثیر اسمزی شوری بر سمیت یونی غالب می‌شود، بنابراین آسیب بر فتوسنتز گیاه نسبت به تعرق آن کمتر است [۲۱]. به‌طوری‌که در شوری بالاتر، تنش حاصل از سمیت یون‌های محلول شوری در مقایسه با تنش اسمزی بیشتر می‌شود و در نتیجه موجب افزایش شدید تنفس و کاهش نرخ فتوسنتز و حتی خشک شدن گیاه می‌گردد.

در این پژوهش، با افزایش شوری به میزان نشت الکترولیت نهال‌های استبرق افزوده شد. نشت الکترولیت بافت گیاهی به‌عنوان روشی مناسب در ارزیابی تراوایی غشا در ارتباط با تنش‌های محیطی از جمله شوری است که در اثر تنش، فعالیت غشاء مختل و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج آن نشت می‌کنند [۱۴]. واکنش گیاهان و نهال‌ها به تنش‌ها از جمله شوری به ارزش فیزیولوژیکی گیاه به‌خصوص نشت الکترولیت متکی است. در این پژوهش نشت الکترولیت در نهال‌های تلقیح شده باکتری کمترین مقدار بود که نشان‌دهنده پایداری غشا، مقاومت به تنش گیاه و همچنین کنترل جامعه میکروبی ریشه است [۷ و ۸]. این در حالی است که [۳۰] در پژوهشی کاهش نشت الکترولیت در گیاه شبدر (*Trifolium repens*) تلقیح شده با سویه‌های باکتری تحت تنش را گزارش شده است. در کل، تلقیح باکتری مورد بررسی در این پژوهش موجب کاهش صدمه و خسارت به غشای سلولی در نهال‌های استبرق تحت تنش شد. گونه‌های باکتری سودوموناس یکی از تحریک‌کننده‌های رشد گیاهی است که بر تحریک جوانه‌زنی بذر، سرعت و افزایش رشد، شکل‌گیری ریشه و ریشه‌های مویی و کنترل پاتوژن در برخی گونه‌های جنگلی کارآمد است. در این پژوهش، افزایش جذب نیتروژن در نهال‌های تلقیح شده با باکتری تحت شوری دیده شد که با نتایج دیگر پژوهشگران مطابقت دارد [۲۰].

تأثیر باکتری بر کاهش تنش شوری گیاهان به‌واسطه نقشی است که در کاهش اتیلن دارند [۲۷]. امروزه، پژوهشگران، ساخت باکتریایی هورمون گیاهی IAA و

Archive of SID

www.SID.ir

تنظیم باکتریایی تولید اتیلن در گیاهان را مهم‌ترین مکانیسم باکتری‌های PGPB در تحریک رشد گیاهان می‌دانند. تنظیم باکتریایی تولید اتیلن در گیاه، از یک‌سو تحت تأثیر فعالیت آنزیم ۱- آمینو سیکلو پروپان -۱- کربوکسیلات دآمیناز (ACC دآمیناز) باکتریایی و از سوی دیگر تحت تأثیر هورمون گیاهی IAA است [۱۸]. انواع باکتری‌های محرک رشد، ترکیبات اگزوپلی ساکاریدی ترشح می‌کنند که با یون‌های سدیم پیوند برقرار کرده و مانع جذب این یون سمی در ریزوسفر شده و از طرفی جذب پتاسیم را در گیاه افزایش می‌دهند [۵]. به‌طور کلی، شوری تاثیر زیادی بر قابلیت دسترسی، رقابت در جذب و انتقال عناصر غذایی در گیاه دارد. بنابراین، کاهش در میزان جذب پتاسیم در شرایط شوری را می‌توان به دلیل رقابت سدیم بر سر مکان‌های اتصال به ناقل‌های غشای پلاسمایی دانست [۱۵].

شرایط تنش شوری تأثیر نامطلوبی بر رشد، فیزیولوژی و تغذیه نهال‌های استبرق در طول زمان مورد بررسی در این پژوهش داشت. بنابراین، با افزوده شدن نمک کلرید سدیم در غلظت‌های مختلف، کاهش زیادی در عملکرد نهال‌ها دیده شد. به‌طوری که نهال‌های استبرق در شوری بالای ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر زنده مانی خود را از دست داده و خشک شدند. همچنین نهال های تلقیح شده با باکتری سودوموناس به‌طور چشمگیری در بهبود فیزیولوژی و وضعیت تغذیه‌ای نهال‌ها تا شوری ۱۵ دسی زیمنس بر متر موثر بوده‌اند. بنابراین، با توجه به کارآیی و نقش موثر تلقیح باکتری محرک رشد در این پژوهش، می‌توان این رهیافت را به عنوان بیوتکنولوژی مقرون‌به‌صرفه و دوستدار محیط زیست در طرح‌های تحقیقاتی و اجرایی تولید نهال و جنگل‌کاری با درختچه بیابانی استبرق در عرصه‌های شور مناطق جنوبی کشور معرفی و مورد پژوهش بیشتری قرار داد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان، از همکاری کارشناسان محترم آزمایشگاه ها و گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، بخش تخصصی بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، مرکز رشد نوآوری و آینده‌پژوهی نیروی دریایی سپاه پاسداران انقلاب اسلامی، مرکز تحقیقات منابع طبیعی و کشاورزی استان بوشهر و تمامی کسانی که به نحوی در پیشبرد این طرح ملی مشارکت داشتند، تشکر می‌کنند.

References

[1]. Abtahi, A.S. (1380).Two varieties of pistachio seedlings response to the amount and type of soil in the greenhouse. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources,* 5 (1), 93-100 (in Persian).

[2]. Alexander, D.B., and Zuberer, D.A. 1991. Use and Production by rhizosphere bacteria, Biology chrome azurol S reagents to evaluate siderophore. *Fertility of Soil,* 12, 39-45

[3]. Al-Sobhi, O.A., Al-Zahrani, H.S., & Al-Ahmadi, S.B. (2006). Effect of Salinity on Chlorophyl and Carbohydrate Contents of *Calotropis procera* Seedlings. *Scientific Journal of King Faisal University,* 7(1),105-115.

[4]. AOSA, (1970). Tetrazolium Testing Handbook to the Handbook on Seed Testing, Prepared by the Tetrazolium Subcommittee of the Association of Official Seed Analysts.

[5]. Ashraf, M.Y., & Bhatti, A.S. (2000). Effect of salinity on growth and chlorophyll content of Rice. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research ,* 43 (2), 130-131.

[6]. Bahmani, M., Jalali, Gh., Asgharzadeh, A., & Tabari, M. (2014). Effect of Plant Growth Promotion Rhizobacterial on some characteristic of germination and seed vigority. *Journal of Soil Biology*, 2(1), 80 - 86. (In Persian)

[7]. Bashan, Y., Holguin, G., & de-Bashan, L.E. (2004). Azospirillum – plant relationships: physiolog-ical, molecular, agricultural, and environmental advances. *Canadian Journal of Microbiology,* 50,52–77.

[8]. Berglund, A.H., Larsson, K.E., & Liljenberg, C.S. (2004) Permeability behavior of lipid vesiclesprepared from plant plasma membranes – impact of compositional changes. *Biochimistry Biophysic Acta Molecular Cell Biolology,* 1682, 11–7.

[9]. Bharti, N., Barnawal, D., Awasthi, A., Yadav, A., & Kalra, A. (2014). Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity

Archive of SID

www.SID.ir

induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis*. *Acta Physiologiae Plantarum,* 36(1), 45-60

[10]. Bohn, W. (1979). Methods of studying root systems, Ecological Studies, Springer Verlag., Berlin, 188 pp.

[11]. Chanway, C.P., Shishido, M., Nairn, J., Jungwirth, S., Markham, J., Xiao, G., & Holl, F.B. (2000). Entophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedling after inoculation with plant growth- promoting rhizobacteria. *Forest Ecology and Management,* 133, 81-88.

[12]. Del Amor, F.M., & Cuadra - Crespo, P. (2011). Plant growth-promoting bacteria as a tool to improve salinity tolerance in sweet pepper. *Functional Plant Biology,* 39(1), 82-90

[13]. Emami, A. (1375). Methods of plant analysis (Volume I). Organization of research, education and agricultural extension, Soil and Water Research Institute, Publication No. 982. 128 pages.

[14]. Eugenia, M., Nunes, S., & Smith, G., (2003). Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in rose clover. *Crop Science,* 43: 1349-1357.

[15]. Ferreira-Silva, S.L., Silveira, J., Voigt, E., Soares, L., & Viegas, R. (2008). Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. Braz. *Journal of Plant Physiology,* 20, 51-59.

[16]. Flexas, J., Ortun, O., M.F, Ribas-Carbo, M., Di az-Espejo, A., Florez-Sarasa, I.D., & Medrano, H. (2007). Mesophyll conductance to CO *Arabidopsis thaliana*. *New Phytology,* 175, 501–511

[17]. Garcia-Sanchez, F., & Syvertsen, J.P. (2006). Salinity tolerance of *Cleopatra mandarin* and *Carrizo citrange* citrus rootstock seedlings is affected by Co_2 enrichment during growth. *Journal of the American Society for Horticultural Science,* 131, 24- 31.

[18]. Glick, B., Jacobson, R., Schwarz, C.B., & Pasternak, J.J. (1994). 1aminocycloprpane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Canadian Journal of Microbiology,* 40, 911-915.

[19]. Greenway, H., & Munns, R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, *Annual Reviews of Plant Physiology,* 31, 149-190.

[20]. Hafeez, F.Y., Safdar, M.E., Chaudhry, A.U., & Malik, K.A. (2004). Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. Australian *Journal of Experimental Agriculture,* 44, 617-622

[21]. Hester, M.W., Mendelesoln, I.A., & Mckee, K.L. (2001). Species and Population variation to salinity stress in *Panicum hemitomon*, *Spartina patens*, and *Spartina alterniflora*: morphological and physiological constrains. *Environmental and Experimental Botany,* 46, 277-297.

[22]. Ibrahim, A.H. (2013). Tolerance and avoidance responses to salinity and water stresses in *Calotropis Procera* and *Suaeda aegyptiaca*. *Turk Journal of Agricultural and Forestry,* 37, 352-360.

[23]. Karlidag, H., Esitken, A., Yildirim, E., Figen Donmez, M., & Turan, M. (2011). Effects of Plant Growth Promoting Bacteria on Yield, Growth, Leaf Water Content, Membrane Permeability, and Ionic Composition of Strawberry under Saline Conditions. *Journal of Plant Nutrition,* 34 (1) 34-45.

[24]. Khavazi, K.R.E., & malakouti, J. (2005). Necessity of Industrial production of bio-fertilizer in Iran. *Research Institute of Soil and Water,* 439 pages

[25]. Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice. *Journal of Experimental Botany,* 46 (12), 1843-1852.

[26]. Marcelo, S.M., & Bruce, S. (2010). Photosynthetic and growth responses of *Eugenia uniflora* L. seedlings to soil flooding and light intensity. *Environmental and Experimental,* 68(2), 113–121

[27]. Mayak, S., Tirosh, T., & Glick, B.R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology Biochemistry,* 42: 565-572.

[28]. Momeni, A. (2009). Geographic distribution of soil salinity levels of Iran. *Journal of Soil Science (soil and water),* 24 (3), 215-204 (in Persian)

Archive of SID

www.SID.ir

[29]. Naumann, J.C., Young, D.R., & Anderson, J.E. (2007). Linking leaf chlorophyll *fluorescence* Properties to physiological responses for detection of salt and drought stress in coastal plant Species. *Physiology Plant,* 131,422–433

[30]. Ortiz, N., Armadaa, E., Duque, E., Roldán, A., & Azcón. R. (2015). Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *Journal of Plant Physiology*, 174, 87–96.

[31]. Patten, C.L., & Glick B.R. (2002). Role of Pseudomonas putida indole acetic acid in development of host plant root system. *Apply Environment Microbiology,* 3795-3801.

[32]. Sabeti, H. (2002). Forests, Trees and Shrubs of Iran. Yazd University Press, 3nd edition. (In Farsi).

[33]. Saxton, K.E., Rawls, W.J., Romberger, J.S. & papendick, R.I. (1986). estimating generalized soil water characteristics from texture. *Soil Scientific of Social American Journal,* 50,1031-1036.

[34]. Taiz, L,. & Zeiger, E. (2002). Plant Physiology, Third Edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 690 pps.

[35]. Todar, K. (2004). *Pseudomonas* and its relatives. http://www.tex book of bacteriology. Net/pseudomonas. Etc. html.

[36]. Wang, J., Xing , D., Zhang, L., & Jia, L. (2007). A new principle photosynthesis capacity biosensor based on quantitative measurement of delayed *fluorescence* in vivo. *Biosensors and Bioelectronics,* 22, 12, 2861–2868.

[37]. Yao, L., Zhan sheng, W., & Zheng, Y. (2010). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *European Journal of Soil Biology,* 46, 49-54.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of Inoculation Growth Promotion Bacterium *Pseudomonas putida* on Tolerance to Salinity of *Calotropis procera* Ait. Seedlings

1-M. Bahmani, Master Science Graduate of Ecology in Tarbiat Modares University and Young Researchers and Elites club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran
2-Gh. A. Jalali, Professor of Ecology, Tarbiat Modares University, Tehran
jalali_g@modares.ac.ir
3-A. Asgharzadeh, Associate Professor of Soil Biology, Institute of Soil and Water Research, Tehran
4-M. Tabari Kouchaksaraei, Professor in Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University

Received: 10 Jan 2016
Accepted: 02 Aug 2016

Abstract

This study aimed to investigate the tolerance to salinity of Calotropis seedlings inoculated with the bacterium Pseudomonas Putida was conducted under greenhouse conditions. Treatments, six levels salinity stress factor with sodium chloride salt (0, 5, 10, 15, 20 and 25 ds/m) and two level inoculation factor (control and bacterium) as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications was designed. Result showed that salinity more than 15ds/m, non-inoculation bacterium seedlings were dried. However, bacterium inoculated seedlings in 15 and 25ds/m salinity level respectively more than 50% and 38% their survival maintained. In non-salinity condition, height, root area, fresh and dry weight of seedling, respectively 2.59, 40.35, 38.05 and 31.89 percentage increase in the bacterium inoculated seedlings compared to non-inoculated was observed. In most salinity level until 15 ds/m of Inoculated seedlings, rate of photosynthesis and chlorophyll significantly increased as well as transpiration rate decreased. But electrolyte leakage did not any difference. So concentration of nitrogen, potassium and potassium to sodium of leaves bacterium seedlings compared to control were increased while sodium of leaves decreased. Overall, this research revealed that Seedlings inoculated to PGPB pseudomonas until moderate level of salinity specially 15 ds/m has provided most optimal performance and efficiency. Hence, using of this bacterium as a new biotechnologic approach could be suggested for Inoculation seedlings this species in reclamation of saline lands and production of its seedlings in nurseries with salty soils.

Keywords: *Calotropis procera*; Bacterium; Survival; Salinity; Photosynthesis and electrolyte leakage.

Archive of SID

www.SID.ir