Archive of SID

نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد سوم، شماره دوم، ۱۳۹۲
http://ejsms.gau.ac.ir

اثر جنیستئین بر هم‌زیستی گیاه لوبیا و باکتری *ریزوبیوملگومینوزاروم بیوار فازئولی* در تنش شوری

***فهیمه نیک‌بین[۱]، رضا خراسانی[۲]، علیرضا آستارائی[۳] و امیر لکزیان[۳]**

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه فردوسی مشهد، [۳]دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۱/٤/۱٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۰

چکیده

جنیستئین یکی از مهم‌ترین ایزوفلاونوئیدهای تراوش شده از ریشه لوبیا است که در هم‌زیستی در نقش سیگنال ملکولی گیاه به باکتری باعث تحریک ژن‌های نود و تراوش فاکتور نود توسط ریزوبیوم شده که منجر به پاسخ‌های فیزیولوژیکی در ریشه و تشکیل گره‌های تثبیت‌کننده نیتروژن خواهد شد. تنش شوری موجب اختلال در تراوش این ترکیبات از ریشه گیاه می‌گردد. هدف از این کار پژوهشی تأثیر جنیستئین بر باکتری *ریزوبیوملگومینوزاروم بیوار فازئولی* و اثر آن بر گره‌زایی، تثبیت نیتروژن و رشد گیاه لوبیا در تنش شوری است. به این منظور آزمایشی با ۳ سطح جنیستئین (۰=G_0، ۵=G_5 و ۲۰=G_{20} میکرومولار) و آبیاری با ۳ سطح شوری (۰=S_0 صفر، ۲=S_1 و ٤=S_2 دسی‌زیمنس بر متر) با ۳ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل در گل‌خانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی انجام گرفت. پس از ۳۰ روز گیاه برداشت و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد و وزن گره‌های ریشه و نیتروژن گیاه اندازه‌گیری شد. وزن و تعداد گره نسبت به تنش شوری بسیار حساس‌تر از وزن خشک گیاه بود. هم‌چنین در خاک غیرشور (S_0) کاربرد جنیستئین با غلظت ۵ و ۲۰ میکرومولار باعث افزایش تعداد، وزن گره و جذب نیتروژن لوبیا گردید. در سطح شوری S_1 کاربرد ۲۰ میکرومولار جنیستئین میانگین وزن هر گره را افزایش داد. با افزایش شوری از S_1 به S_2 تعداد و وزن گره‌ها کاهش یافت. با وجود کاهش در گره‌زایی، در اثر کاربرد جنیستئین جذب و غلظت نیتروژن گیاه با افزایش شوری کاهش نیافت.

واژه‌های کلیدی: ایزوفلاونوئید، جنیستئین، گره‌زایی، تنش شوری، تثبیت نیتروژن

* مسئول مکاتبه: nikbinf2@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بدون شک یکی از مهم‌ترین فرآیندها در کشاورزی است که در بیش‌تر اکوسیستم‌ها رخ می‌دهد. این فرآیند به‌دست آمده از یک ارتباط متقابل بین میکروارگانیسم پروکاریوت و گیاه میزبان و در نتیجه تشکیل گره بر روی ریشه گیاه می‌باشد. سالانه مقدار زیادی از نیتروژن اتمسفری از این طریق وارد خاک می‌شود. گره‌های ایجاد شده توسط باکتری ریزوبیوم می‌توانند ۸۰-۵۰ درصد نیتروژن کل گیاه را تشکیل دهند.

فرآیند گره‌زایی با تراوش برخی ترکیبات شامل فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها از ریشه گیاه که به‌عنوان سیگنال ملکولی گیاه به باکتری محسوب می‌شوند، آغاز می‌گردد. این ترشحات باعث جذب ریزوبیوم‌ها به‌سمت ریشه گیاه، افزایش رشد و تکثیر آن‌ها در منطقه ریزوسفر در رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها و مهم‌تر از همه باعث تحریک ژن‌های نود[1] در باکتری می‌گردد که نتیجه آن بیان ژن‌های نود و ترشح یک نوع لیپوکیتوالیگوساکارید به نام فاکتور نود توسط باکتری است (پریتیویراج و همکاران، ۲۰۰۳). فاکتور نود باعث پاسخ‌های فیزیولوژیکی پیچیده‌ای در گیاه از جمله: خمیده شدن و تغییر شکل ریشه‌های موئین، تمایز سلول‌های کورتکس ریشه و تحریک مریستم‌های گره می‌شود (میرانصاری و همکاران، ۲۰۰۶). در گیاه سویا و لوبیا ایزوفلاونوئیدهای جنیستئین و دایدزئین[2] اصلی‌ترین تحریک‌کننده‌های ژن‌های گره‌زایی باکتری ریزوبیوم هستند (کسکو و همکاران، ۲۰۱۰). بر طبق نتایج به‌دست آمده غلظت ۵ میکرومولار جنیستئین اضافه شده به محیط کشت باکتری برای حداکثر تحریک ژن‌های نود باکتری کافی است (کوسلاک و همکاران، ۱۹۸۷).

گستره وسیعی از پارامترهای محیطی شناخته شده‌اند که توانایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن را به‌طور مستقیم و غیرمستقیم تحت‌تأثیر قرار می‌دهند ازجمله: شوری، pH، دما، رطوبت، میزان نیتروژن و... تأثیر معکوس شوری بر فرآیند همزیستی از طریق تأثیر سمیت یونی و فشار اسمزی روی رشد و زنده ماندن ریزوبیوم‌ها، محدودیت در ایجاد همزیستی، جلوگیری از فعالیت گره‌ها، کاهش توانایی گیاه برای انجام فتوسنتز و در نتیجه کاهش تراوش فلاونوئیدها از گیاه می‌باشد (سینگلتون و همکاران، ۱۹۸۲). تنش شوری می‌تواند تقریباً به‌طور کامل فرآیند تثبیت نیتروژن را متوقف کند. حساس‌ترین مرحله گره‌زایی به تنش‌های خاکی همان اولین مرحله یا تماس باکتری با ریشه گیاه، خمیده شدن

1- *Nod* Genes
2- Genistein and Diadzein

www.SID.ir

Archive of SID

ریشه‌های موئین و مرحله شروع تشکیل نخ آلودگی[1] می‌باشد. شوری با ایجاد محدودیت در بیوسنتز فلاونوئیدها توسط ریشه گیاه و در نتیجه کاهش تجمع این ترکیبات در ریزوسفر باعث اختلال در عملکرد سیگنال‌های ملکولی شده که احتمالاً مهم‌ترین فاکتور محدودکننده گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در لگوم‌ها خواهد بود (زهران و اسپرینت، ۱۹۸٦؛ ژانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). هم‌چنین پژوهش‌ها نشان داده که میزان فلاونوئیدهای تراوش شده از گیاه در خاک پس از گذشت ۲۸ روز در اثر تنش شوری کاهش می‌یابد (تلسینسکی و همکاران، ۲۰۰۸).

مطالعاتی در خصوص تأثیر فلاونوئیدها بر تحریک و افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در لگوم‌ها انجام شده است (پن و همکاران، ۱۹۹۸). نشان دادند که افزودن جنیستئین به محیط کشت باکتری و سپس تلقیح آن به خاک باعث افزایش گره‌زایی و عملکرد سویا به‌میزان ۲۳-۲۱ درصد در خاک شور و اسیدی گردید (میرانصاری و اسمیت، ۲۰۰۷). هم‌چنین دریافتند که افزودن عامل سیگنال‌های ملکولی از جمله جنیستئین به خاک می‌تواند اثرات تنشی مانند دمای پایین منطقه ریشه بر گره‌زایی را کاهش داده و باعث افزایش گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در گیاه سویا گردد (ژانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). پوستینی و معبود نیز با پیش‌نهفتگی باکتری *ریزوبیوملگومینوزاروم* فازئولی[2] با جنیستئین و افزودن آن به محیط کشت گیاه لوبیا باعث افزایش تعداد گره، مقدار نیتروژن گیاه و وزن خشک گیاه گردید (پوستینی و همکاران، ۲۰۰۷).

با توجه به این‌که حدود ۹۰۰ میلیون هکتار از اراضی دنیا تحت‌تأثیر تنش شوری می‌باشند انتظار می‌رود تا سال ۲۰۵۰ بیش‌تر از ۵۰ درصد زمین‌های کشاورزی دنیا با مشکل شوری روبرو شوند. در ایران نیز گستره وسیعی از زمین‌های کشاورزی زیر تأثیر شوری هستند که روش‌های اصلاح این خاک‌ها بسیار مشکل و وقت‌گیر و هزینه‌بر بوده و در برخی موارد پیامدهایی از جمله شور شدن آب‌های زیرزمینی را در بر دارد. از آن‌جا که شوری با ایجاد اختلال در عملکرد سیگنال‌های ملکولی می‌تواند مانعی بر سر راه گره‌زایی لگوم‌ها باشد (الشیخ و وود، ۱۹۹۰)، بنابراین شاید بتوان با روش کاربرد فلاونوئیدها در کشت لگوم‌ها تا حد زیادی گره‌زایی و تثبیت نیتروژن و در نتیجه عملکرد لگوم‌ها را در خاک شور افزایش داد. در این مطالعه نیز سعی بر این است که تأثیر ایزوفلاونوئید جنیستئین را بر رشد و گره‌زایی و جذب نیتروژن گیاه لوبیا در شرایط شور و غیرشور بررسی گردد.

1- Infection Thread
2- *Rhizobium Leguminosarumbv. Phaseoli*

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کاربرد جنیستئین در رشد و گره‌زایی و تثبیت نیتروژن لوبیا در شرایط شور آزمایشی در آرایش فاکتوریل شامل ۳ سطح شوری S_0= صفر، S_1= ۲ و S_2= ٤ دسی‌زیمنس بر متر (توسط آبیاری با آب شور تهیه شده با ترکیب نمک‌های سدیم‌کلراید و کلسیم‌کلراید) و ۳ سطح جنیستئین G_0=۰، G_5=۵ و G_{20}=۲۰ میکرومولار در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار روی گیاه لوبیا چیتی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت کشت در خاک انجام شد.

آزمایش ۱: در این مرحله برای تهیه باکتری هم‌زیست مناسب با لوبیا، ابتدا بذور لوبیا چیتی (common bean) تهیه شده از مرکز تحقیقات حبوبات خمین از نوع رقم محلی خمین به‌مدت ۳ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۳ درصد استریل و ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو داده شد. سپس چند عدد بذر لوبیا در شن استریل کشت و با چند سویه متفاوت از باکتری *ریزوبیوملگومینوزاروم* بیوارفازئولی تهیه شده از مرکز تحقیقات آب و خاک تهران تلقیح شد در طی این مدت گلدان‌ها ابتدا با آب مقطر استریل و پس از ۱ هفته با محلول غذایی هوگلند با نیتروژن اندک (با غلظت نیتروژن معادل ۵ درصد نیتروژن کل) و استریل آبیاری شده و بعد از گذشت ٤۰ روز گیاهان برداشت و ریشه‌ها از نظر گره‌زایی بررسی شدند. سپس باکتری انتخاب شده در تست گره‌زایی که بیش‌ترین گره را در ریشه لوبیا ایجاد نمود برای استفاده در مراحل بعد در محیط کشت YEMA[1] نگهداری شد.

روش تهیه مایه تلقیح: باکتری موردنظر (*Rhizobium leguminosarumbv. phaseoli*) در محیط کشت YEMB[2] در دمای ۲۸ درجه و سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲ روز کشت داده شد (وینسنت، ۱۹۷۰). محلول مادر جنیستئین (تهیه شده از جنیستئین سنتزی از شرکت سیگما با خلوص ۹۸ درصد) با غلظت ۱۰۰ میکرومولار تهیه و از آن ۳ سطح ۰، ۵ و ۲۰ میکرومولار ساخته شد (ژانگ و اسمیت، ۱۹۹۵). پس از گذشت ۲ روز از رشد باکتری محیط کشت به ۳ قسمت مساوی تقسیم و ۵۰ میلی‌لیتر از سطوح مختلف جنیستئین به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت باکتری اضافه و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۸ درجه بدون شیکرکردن نگهداری شد (بوانسواری و همکاران، ۱۹۸۰). سپس OD محلول‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر یکسان‌سازی و به‌حدود ۰/۰۸ در طول موج ٦۲۰ نانومتر

1- Yeast Extract Mannitol Agar
2- Yeast Extract Mannitol Broth

www.SID.ir

Archive of SID

رسانده شد که تعداد باکتری‌ها در این رقت تقریباً معادل 10^8 عدد باکتری در هر میلی‌لیتر می‌باشد (پن و همکاران، ۱۹۹۸) و در هنگام کشت ۱ میلی‌لیتر از مایه تلقیح به هر بذر تلقیح شد.

آزمایش ۲: در این مرحله ابتدا خاکی با شوری پایین (حدود ۱ دسی‌زیمنس بر متر) انتخاب و پس از انجام آزمایش‌های کامل از جمله اندازه‌گیری شوری، اسیدیته، نیتروژن، فسفر، پتاسیم و عناصر میکرو انجام شد (جدول ۱) سپس کوددهی بر حسب نیاز گیاه و با توجه به آزمایش خاک به‌میزان ٦٠ کیلوگرم در هکتار K_2O از منبع سولفات پتاسیم (۲۸/۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم گلدان) و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار P_2O_5 از منبع کلسیم دی‌هیدروژن فسفات (۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گلدان) انجام شد. کود نیتروژنه نیز داده نشد. سپس خاک (غیراستریل) موردنظر به گلدان‌های ۳ کیلویی منتقل و با آب مقطر رطوبت به حد ظرفیت مزرعه رسانده شد. برای کشت گیاه از بذور استریل شده لوبیا با مشخصات ذکر شده در آزمایش ۱ استفاده شد. برای سهولت در امر جوانه‌زنی ابتدا به‌مدت چند ساعت بذور در آب مقطر استریل خیسانده و سپس ۱۰ عدد بذر در هر گلدان کاشته و به هر بذر ۱ میلی‌لیتر مایه تلقیح آماده شده اضافه شد. ابتدا تا مرحله جوانه زدن گلدان‌ها و برای خارج نشدن مایه تلقیح از اطراف بذور آبیاری به روش اسپری کردن با آب مقطر انجام شد. پس از جوانه زدن آبیاری گلدان‌ها به روش وزنی و در حد ظرفیت مزرعه با آب مقطر و پس از رسیدن به مرحله دو برگی با تیمارهای مختلف آب با ۳ سطح شوری شامل: آب مقطر، EC=۲ و EC=٤ دسی‌زیمنس بر متر انجام شد. در ضمن سطوح شوری به‌میزان ۲ و ٤ برابر آستانه تحمل گیاه لوبیا (۱ دسی‌زیمنس بر متر) انتخاب شد. هم‌چنین آبیاری با آب شور تا ۱ هفته قبل از برداشت به روش وزنی و بر حسب نیاز گیاه در حد ظرفیت مزرعه انجام شد و به‌منظور جلوگیری از خروج مایه تلقیح از محیط اطراف بذر و ریزوسفر آبیاری بدون زه‌کشی انجام و در نهایت پس از گذشت ۳۰ روز گیاهان برداشت شد. پس از برداشت وزن تر ریشه و اندام هوایی، تعداد و وزن گره‌های ریشه اندازه‌گیری و سپس ریشه و اندام هوایی در آون در دمای ۷۰–٦٠ درجه خشک و پس از اندازه‌گیری وزن خشک آسیاب شدند. سپس نیتروژن گیاه به روش هضم تر استخراج و با دستگاه کجلدال اندازه‌گیری شد (هورنک و میلر، ۱۹۹۸).

پس از انجام محاسبه‌های داده‌های مربوطه با نرم‌افزار آماری MSTAT-C آنالیز و نمودارهای مربوطه با نرم‌افزار Sigma Plot رسم شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- برخی خصوصیات خاک مورد آزمایش.

بافت	O.M (درصد)	K	P	N	EC	pH
		(میلی‌گرم بر کیلوگرم)				
Silty loam	۰/۹٤	۱٦۱/٦٦	۱۰/۱۸	٤٤۱	۱/۳	۷/۸٤

نتایج و بحث

بر طبق نتایج به‌دست آمده در جدول ۲ شوری خاک گلدان‌ها پس از برداشت در هر سطح شوری به‌میزان در حدود ۲ برابر افزایش یافت به‌طوری‌که میزان شوری خاک از ۱/۳۰ قبل از کاشت با اعمال سطوح شوری ۲ و ٤ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب در حدود ٤ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافت. هم‌چنین میزان افزایش شوری خاک در سطح $S_۱$ بیش‌تر از سطح $S_۲$ بود به این علت که رشد و در نتیجه نیاز آبی گیاه در سطح شوری $S_۱$ بیش‌تر از $S_۲$ بود و چون آبیاری گلدان‌ها به شکل وزنی و براساس ظرفیت مزرعه انجام شد در نتیجه میزان شور شدن خاک در سطح $S_۲$ بیش‌تر بود.

جدول ۲- شوری خاک بعد از برداشت گیاه.

سطوح جنیستئین	$G_۰$			$G_۵$			$G_{۲۰}$		
سطوح شوری	$S_۰$	$S_۱$	$S_۲$	$S_۰$	$S_۱$	$S_۲$	$S_۰$	$S_۱$	$S_۲$
شوری آب آبیاری (دسی‌زیمنس بر متر)	صفر	۲	٤	صفر	۲	٤	صفر	۲	٤
شوری خاک بعد از برداشت (دسی‌زیمنس بر متر)	۱/۰۳	٤/۰۹	٦/۷۳	۰/۹٦	٤/۵٤	۸/۵۸	۱/٤٦	٤/۵۱	۹/۰۲

با توجه به جدول ۳ با شور شدن خاک تمامی فاکتورها مانند وزن خشک، جذب نیتروژن و به‌خصوص تعداد و وزن گره‌ها کاهش یافت. هم‌چنین با دقت بیش‌تر می‌توان فهمید که با افزایش شوری فاکتورهای مربوط به همزیستی یعنی تعداد و وزن گره‌ها بیش‌تر از سایر فاکتورها (وزن خشک و جذب نیتروژن گیاه) کاهش نشان داد به‌عبارت دیگر گره‌زایی نسبت به تنش شوری حساس‌تر از رشد گیاه و جذب نیتروژن می‌باشد که به‌طور دقیق منطبق بر نتایج الشیخ و وود (۱۹۹۰) می‌باشد. در خصوص اثرات ساده جنیستئین روی گیاه لوبیا نیز می‌توان گفت تحریک ریزوبیوم با جنیستئین بر تعداد و وزن هر گره، جذب و غلظت نیتروژن گیاه لوبیا اثر مثبت داشته است. به‌خصوص در سطح جنیستئین ۲۰ میکرومولار باعث افزایش جذب نیتروژن گیاه نسبت به تیمار بدون جنیستئین شده است (جدول ٤).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- اثرات ساده شوری بر وزن خشک گیاه، تعداد و وزن تر گره‌ها، وزن هر گره، جذب و درصد نیتروژن لوبیا.

سطوح شوری دسی‌زیمنس بر متر	غلظت نیتروژن درصد	جذب نیتروژن میلی‌گرم در گلدان	وزن هر گره میلی‌گرم	وزن تر گره گرم	تعداد گره	وزن خشک گیاه گرم
۰	۳/۹٦۷^{b}	۱۲٦/۲۰۰^{a}	۷/۲۸۲^{a}	۲/٦٤^{a}	۳۸٦/۱۰۰^{a}	٦/٥٦٦^{a}
۲	۳/٦٦۲^{c}	۹۱/۷۷^{b}	۵/۰۳۲^{b}	۰/۷۲۷^{b}	۱٥٤/۷۰۰^{b}	٤/۹۰۱^{b}
٤	٤/۲۸٤^{a}	۷۷/۲۷^{c}	۱/۰٤۲^{c}	۰/۰۲۰^{c}	۱۹/٦۷۰^{c}	۳/٦۳۳^{c}

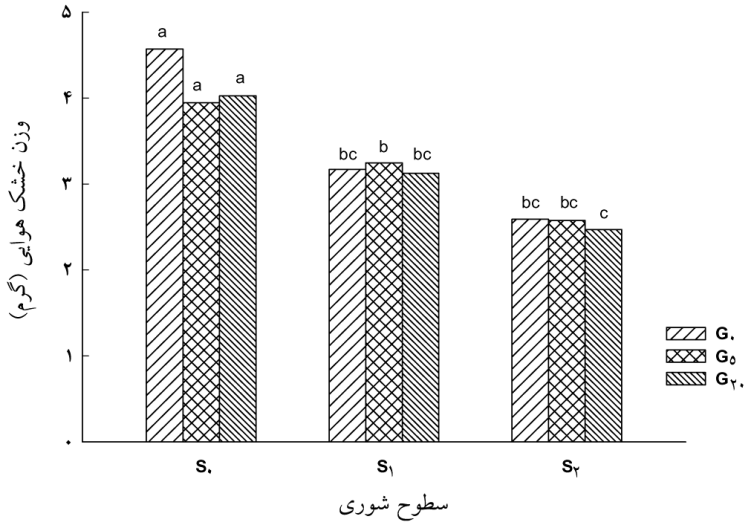
جدول ٤- اثرات ساده جنیستئین بر وزن خشک، تعداد و وزن تر گره‌ها، وزن هر گره، جذب و درصد نیتروژن لوبیا.

سطوح جنیستئین میکرومولار	غلظت نیتروژن درصد	جذب نیتروژن میلی‌گرم در گلدان	وزن هر گره میلی‌گرم	وزن تر گره گرم	تعداد گره	وزن خشک گیاه گرم
۰	۳/۷۸۳^{b}	۹۹/٥٥۰^{b}	٤/٤۲۷^{ab}	۱/۱٤۸^{a}	۱۸۹/۰۰۰^{ab}	٥/۱٥۳^{a}
۵	٤/۰٦۰^{a}	۹۹/٥۰۰^{ab}	۳/۷٦۳^{b}	۱/۱۸۳^{a}	۲۱٦/۲۰۰^{a}	٤/۹۸٦^{a}
۲۰	٤/۰۷۰^{a}	۱۰٤/۲۰۰^{a}	٥/۱٦۷^{a}	۱/۰٥٦^{a}	۱٥٥/۲۰۰^{b}	٤/۹٦۱^{a}

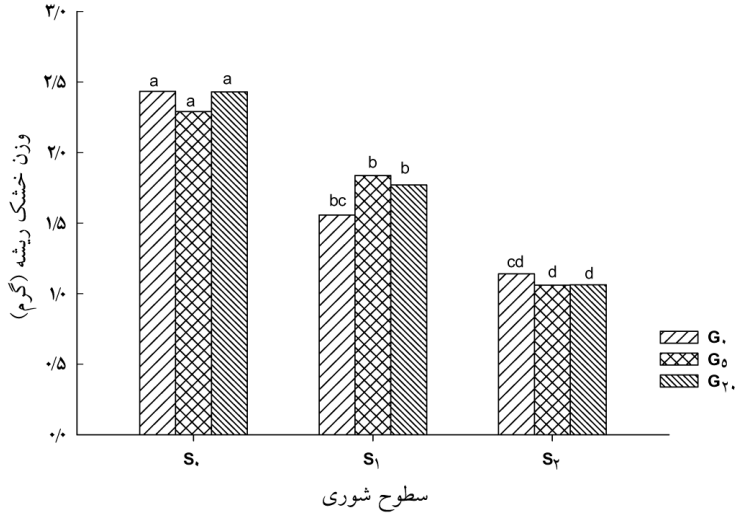
در اثر شور شدن خاک تا سطح شوری S_1 هم وزن خشک اندام هوایی (شکل ۱) و هم ریشه (شکل ۲) در تیمار بدون جنیستئین نسبت به شاهد (S_0) کاهش معنی‌دار نشان داد. با شورتر شدن خاک به‌میزان در حدود ۲ برابر (از سطح S_1 تا S_2) وزن خشک اندام هوایی کاهش معنی‌دار نداشت در حالی‌که وزن خشک ریشه (شکل ۲) کاهش معنی‌داری نشان داد. بر طبق مطالعات انجام شده ریشه نسبت به تنش شوری از اندام هوایی حساس‌تر است (الشیخ و وود، ۱۹۹۰). بین سطوح مختلف جنیستئین اختلاف معنی‌داری در وزن خشک اندام هوایی در سطح S_1 و S_2 مشاهده نشد به‌عبارت دیگر کاربرد جنیستئین نتوانسته باعث تخفیف اثر منفی شوری بر وزن خشک اندام هوایی لوبیا گردد. اما در شوری S_2 تیمار G_0 و G_{20} توانسته نسبت به شاهد (G_0) روند افزایشی در وزن خشک ریشه ایجاد کند هر چند این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نیست ولی جهش ایجاد شده شاید بتواند قابل بررسی باشد (با توجه به غالب بودن اثرات شوری و تفاوت زیاد آن بر تغییرات فاکتور رشد در مقایسه با اثر جنستیین شاید از نظر آماری تغییرات مربوط به جنستیین با توجه به ماهیت کم آن معنی‌دار نباشد ولی این تغییرات کم را هم نباید از نظر دور داشت). ولی در شوری بالاتر (S_2) تفاوتی بین سطوح مختلف جنیستئین در وزن خشک ریشه مشاهده نشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- اثر متقابل شوری و جنیستئین بر وزن خشک اندام هوایی.



شکل ۲- اثر متقابل شوری و جنیستئین بر وزن خشک ریشه.

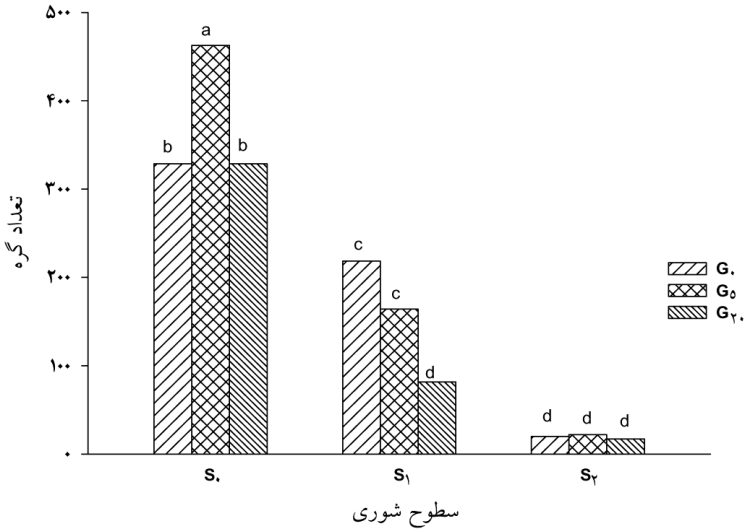
www.SID.ir

Archive of SID

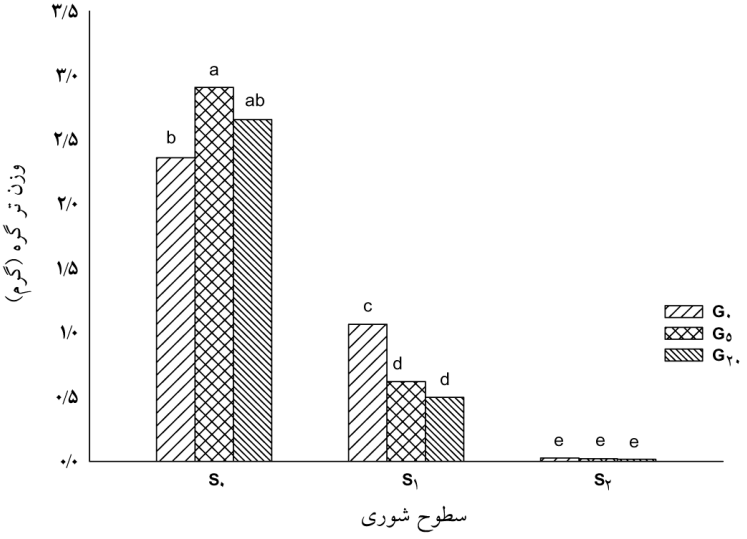
در خاک غیرشور (S_0) کاربرد جنیستئین به‌میزان ۵ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار در تعداد گره‌های ریشه (شکل ۳) و هم‌چنین افزایش در وزن تر گره‌ها (شکل ٤) شد، اما با توجه به شکل ٤ میانگین وزن هر گره کاهش داشت یعنی تیمار G_0 باعث تشکیل گره‌هایی با تعداد بیش‌تر و اندازه کوچک‌تر از G_0 شده است. در سطح شوری S_1 در اثر کاربرد G_{20} با وجود کاهش معنی‌دار در تعداد گره و وزن گره‌ها نسبت به G_0، میانگین وزن هر گره افزایش یافت (شکل ۵). به‌عبارت دیگر می‌توان گفت در اثر مصرف G_{20} گره‌هایی با تعداد کم‌تر اما اندازه درشت‌تر نسبت به G_0 تشکیل شده است که این نتیجه در هنگام شمارش گره‌ها کاملاً مشهود بود. علت این امر از دو جهت قابل بررسی است: اول این‌که طبق پژوهش‌های انجام شده بیش‌ترین تأثیر شوری در همان اولین مراحل هم‌زیستی یعنی اختلال در تغییر شکل تارهای کشنده و کلنیزاسیون تارهای کشنده توسط باکتری است، تأثیر کم‌تر شوری در مراحل بعد یعنی عملکرد سیگنال‌های ملکولی، تحریک و بیان ژن‌های نود و تولید فاکتور نود است (ونگ و استیسی، ۱۹۹۰). به همین علت تعداد گره که بیش‌تر تحت‌تأثیر اولین مراحل هم‌زیستی یعنی خمیده شدن تارهای کشنده است به‌طور محسوسی کاهش یافته است. دوم این‌که افزودن جنیستئین می‌تواند باعث افزایش تقسیم سلول‌های مریستمی گره و یا افزایش تعداد باکتری‌های درون گره شود که نتیجه آن بزرگ‌تر شدن اندازه گره می‌باشد (پن و همکاران، ۱۹۹۸). پس هر چند شوری تعداد گره را کاهش داده اما جنیستئین توانسته برای جبران این امر باعث افزایش اندازه گره‌ها شود. بر طبق پژوهش‌های انجام شده برخی فلاونوئیدها علاوه‌بر تحریک ژن نود می‌توانند به‌عنوان تلفیق‌کننده انتقال قطبی اکسین هم عمل کنند که در ظاهر به‌طور موضعی باعث بر هم زدن تعادل اکسین- سیتوکینین در گیاه شده که در نهایت باعث تحریک مریستم‌های گره می‌شوند (اشمیت و همکاران، ۱۹۹٤).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- اثر متقابل شوری و جنیستئین بر تعداد گره.

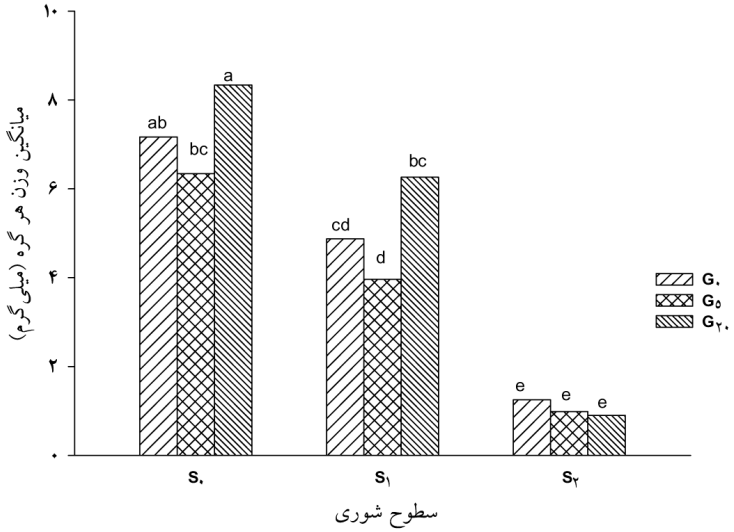


شکل ٤- اثر متقابل شوری و جنیستئین بر وزن تر گره‌ها.

www.SID.ir

Archive of SID

در سطح شوری بالاتر (S_2) در مقایسه با (S_1) کاهش معنی‌داری در تعداد گره در سطح G_{20} مشاهده نشد اما وزن تر گره‌ها به‌طور معنی‌داری در اثر افزایش شوری کاهش یافت به‌عبارتی میانگین وزن هر گره در سطح S_2 نسبت به S_1 کاهش داشت یعنی گره‌ها از نظر اندازه کوچک‌تر شدند. به بیان دیگر شوری‌های بالاتر هم باعث اختلال در مراحل اولیه گره‌زایی و هم در مراحل بعدی یعنی تکامل گره‌ها می‌شود.



شکل ۵- اثر متقابل شوری و جنیستئین بر میانگین وزن هر گره.

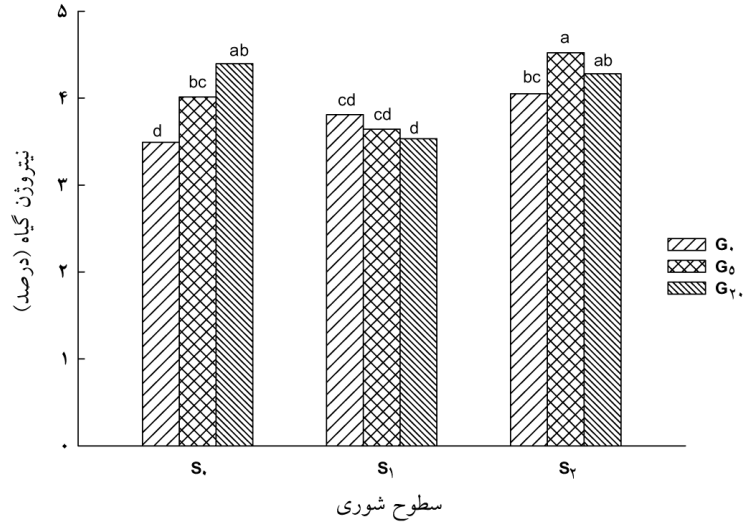
با دقت در شکل‌های ٦ و ٧ می‌توان دریافت که اولاً در تیمار بدون جنیستئین با شور شدن خاک کاهش معنی‌داری در میزان جذب نیتروژن لوبیا مشاهده می‌شود، ثانیاً با افزایش غلظت جنیستئین در خاک غیرشور جذب و غلظت نیتروژن لوبیا افزایش یافت. علت این امر افزایش تعداد گره در G_5 و وزن گره‌ها در تیمار G_{20} و در نتیجه افزایش تثبیت نیتروژن گیاه می‌باشد البته در مقایسه سطوح مختلف جنیستئین می‌توان گفت سطح ۲۰ میکرومولار در افزایش تثبیت نیتروژن گیاه موفق‌تر بوده در نتیجه با توجه به شکل‌های ۳ و ٤ می‌توان گفت تعداد گره‌های فعال در تیمار G_{20} بیش‌تر از G_5 می‌باشد چون در G_{20} تعداد گره و وزن تر گره از G_5 کم‌تر اما میانگین وزن هر گره بیش‌تر از G_5 می‌باشد پس افزایش در وزن هر گره باعث افزایش فعالیت گره‌ها شده است. اما این برعکس نتایج پوستینی و معبود (۲۰۰۷) می‌باشد که نشان دادند گره‌هایی با تعداد بیش‌تر و اندازه کوچک‌تر نیتروژن

www.SID.ir

Archive of SID

بیش‌تری در گیاه لوبیا ایجاد کردند (پوستینی و همکاران، ۲۰۰۷). اما در سطح شوری S_1 تفاوتی بین سطوح مختلف جنیستئین در جذب و غلظت نیتروژن مشاهده نشد. در شوری متوسط (S_1) با توجه به روند کاهشی غلظت، می‌توان عامل افزایش جذب را افزایش وزن خشک گیاه در اثر مصرف جنیستئین دانست (به‌رغم معنی‌دار نبودن).

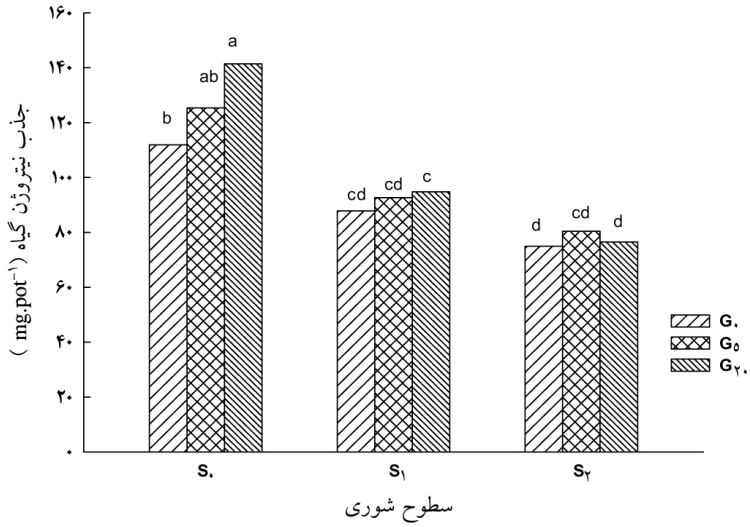
با افزایش شوری (سطح S_2) کاربرد جنیستئین توانست غلظت نیتروژن گیاه را افزایش دهد به‌طوری‌که G_0 نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار و G_{20} افزایش غیرمعنی‌دار داشت (شکل ٦) اما در جذب نیتروژن اختلافی بین سطوح مختلف جنیستئین مشاهده نشد (شکل ۷). از طرفی تیمار G_0 با شورتر شدن خاک از S_1 به S_2 به‌رغم تأثیر نداشتن بر تعداد گره و حتی کاهش در وزن گره‌ها توانسته بر فعالیت (کارایی) گره‌ها و فرآیند تثبیت آن‌ها تا حدودی تأثیرگذار باشد و مانع از کاهش بیش‌تر جذب نیتروژن گیاه در شوری‌های بالا گردد هم‌چنان که در شکل ۵ نیز در شوری بالا (S_2) کاربرد G_0 باعث افزایش غلظت نیتروژن گیاه در برابر شاهد (G_0) شده است. این مشاهده‌ها منطبق بر نتایج می‌باشد که نشان دادند در برداشت ۲۰ روز پس از تلقیح جنیستئین بدون تأثیر بر فرآیند هم‌زیستی باعث افزایش فعالیت و کارایی گره‌ها و افزایش رشد گیاه گردید (میرانصاری و اسمیت، ۲۰۰۹).



شکل ٦- اثر متقابل شوری و جنیستئین بر غلظت نیتروژن گیاه.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷- اثر متقابل شوری و جنیستئین بر جذب نیتروژن گیاه.

پس می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که در گیاه لوبیا پیش‌نهفتگی[1] *ریزوبیوملگومینوزاروم فازئولی* با جنیستئین در حد ۲۰ میکرومولار باعث افزایش جذب نیتروژن گیاه در خاک غیرشور (معنی‌دار) و هم‌چنین در شوری S_1 (غیرمعنی‌دار با توجه به ماهیت تغییرات) گردید در شوری S_2 نیز G_0 توانست مانع از کاهش بیش‌تر جذب نیتروژن گیاه در مقایسه با S_1 گردد که این احتمالاً به‌علت تأثیر بر فعالیت گره‌هاست نه تعداد و وزن هر گره. با توجه به اثر مثبت جنیستئین و افزایش جذب نیتروژن لوبیا در خاک غیرشور و تخفیف اثر شوری در شوری‌های متوسط (سطح S_1)، می‌توان در خاک‌هایی با شوری در سطوح متوسط جلوی کاهش بیش‌تر جذب نیتروژن را گرفت. اما توصیه می‌شود مطالعات بعدی در شوری‌های پایین‌تر و زمان کاشت طولانی‌تر انجام گیرد. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود در شرایط کشت در مزرعه نیز کاربرد جنیستئین مطالعه شده و نتایج با مشاهده‌های کشت در گلخانه مقایسه گردد. برای کشت در مزرعه نیز می‌توان جنیستئین را به مایه تلقیح ریزوبیوم اضافه کرد که در واقع این مایه تلقیح جدید شامل باکتری تحریک شده خواهد بود. البته توصیه می‌شود در مطالعات آینده تأثیر گذشت زمان روی کارایی این مایه تلقیح هم‌چنین شیوه و زمان افزودن این مایه تلقیح به بذر مورد بررسی قرار گیرد.

1- Preincubation

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1.Bhuvaneswari, T.V., Turgeon, B.G., and Bauer, W.D. 1980. Early events in the infection of soybean (*Glycine max*. L. Merr) by *Rhizobium japonicum*. 1. localization ofinfectibleroot cells. Plant Physiol. 66: 1027-1031.

2.Cesco, S., Neumann, G., Tomasi, N., Pinton, R., and Weisskopf, L. 2010. .Release of plant-borne flavonoids into the rhizosphere and their role in plant nutrition. Plant and Soil, 329: 1. 3-25.

3.Elsheikh, E.A.E., and Wood, M. 1990. Effect of salinity on growth,nodulation and nitrogen yield of chickpea (*Cicerarietinum L.*). J. Exp. Bot. 41: 1263-1269.

4.Horneck, D.A., and Miller, R.O. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue. P 75-83, In: Y.P. Kalra (ed.). Handbook of Methods for Plant Analysis.Soil and Plant Analysis Council, lnc.

5.Kosslak, R.M., Rookland, R., Barkei, J., Paaren, E.H., and Appelbaum, E.R. 1987. Induction of *Bradyrhizobiumjaponicum*common *nod* genes by isoflavones isolated from *Glycine max*. P 7428-7432, In: Proceedings of National Academy of Science.

6.Miransari, M., Smith, D.L., Mackenzie, A.F., Bahrami, H.A., Malakouti, M.J., and Rejali, F. 2006. Overcoming the stressful effect of low pH on soybean root hair curling using lipochitooligosaccahrides, Communications in Soil Science and Plant Analysis, 37: 1103-1110.

7.Miransari, M., and Smith, D.L. 2007. Overcoming the Stressful Effects of Salinity and Acidity on Soybean Nodulation and Yields Using Signal Molecule GenisteinUnder Field Conditions. J. Plant Nutr. 30: 1967-1992.

8.Miransari, M., and Smith, D.L. 2009. Alleviating salt stress on soybean (*Glycine max* (L.) *Merr*.)-*Bradyrhizobiumjaponicum* symbiosis, using signal molecule genistein. Euro. J. Soil Biol. 45: 146-152.

9.Pan, B., Zhang, F., and Smith, D.L. 1998. Genistein addition to the soybean rooting medium increases nodulation. J. Plant Nutr. 21: 1631-1639.

10.Poustini, K., Mabood, F., and Smith, D.L. 2007. Preincubation of *Rhizobium leguminosarum*bv. *Phaseoli* withjasmonate and Genistein Signal Molecules Increases Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Nodulation, Nitrogen Fixation and Biomass Production. J. Agric. Sci. Technol. 9: 107-117.

11.Prithiviraj, B., Zhou, X., Souleimanov, A., Kahn, W.M., and Smith, D.L. 2003. A host-specific bacteria-to-plant signal molecule (Nod factor) enhances germination and early growth of diverse crop plants. Planta. 216: 437-445.

12.Schmidt, P.E., Broughton, W.J., and Werner, D. 1994. Nod factors of *Bradyrhizobiumjaponicum*and *Rhizobium sp. NGR34* induce flavonoid accumulation in soybean root exudate. Molecular Plant-Microbe Interaction, 7: 384-390.

13.Singleton, P.W., Swaify, S.A.El., and Bohlool, B.B. 1982. The effect of salinity on *Rhizobium* growth and survival. Applied Environmental Microbiology, 44: 4. 884-890.

www.SID.ir

Archive of SID

14.Telesinski, A., Nowak, J., Smolike, B., Dubowska, A., and skrzipies, N. 2008. Effect of soil salinity on activity of antioxidant and enzymes and content of ascorbic acids and phenols in beans (*phaseolus vulgaris*) plant, J. Elementol. 13: 3. 401-409.
15.Vincent, J.M. 1970. A Manual for the Practical Study of Root NoduleBacteria, Blackwell Scientific Publication, Oxford, UK.
16.Wang, S.P., and Stacey, G. 1990. Ammonia regulation of nod genes in *Bradyrhizobiumjaponicum*. Molecular and General Genetics. 223: 329-331.
17.Zahran, H.H., and Sprent, J.I. 1986. Effects of sodium chloride and polyethylene glycol on root-hair infection and nodulation of *Viciafaba L.* plants by *Rhizobium leguminosarum*, Planta. 167: 303-309.
18.Zhang, F., and Smith, D.L. 1995. Preincubation of *Bradyrhizobiumjaponicum* with genistein accelerates nodule development of soybean (*Glycine max.* (L.) *Merr*.) at suboptimal root zone temperatures. Plant Physiology, 108: 961-968.

www.SID.ir

Archive of SID

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 3(2), 2013
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Effect of genistein on symbiosis of common bean and *Rhizobium leguminosarumb.v.phaseoli* in salinity stress

***F. Nikbin[1], R. Khorassani[2], A.R. Astaraei[3] and A. Lakzian[3]**
[1]M.Sc. Student, Dept. of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad,
[2]Assistant Prof., Dept. of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad,
[3]Associate Prof., Dept. of Soil Science, Ferdowsi University of Mashhad
Received: 07/04/2012; Accepted: 04/30/2013

Abstract

Genistein is an important isoflavonoide in bean root exudates. It is as a molecular signal in the symbiosis to induce nod genes of Rizobium, exudation of nod factor with bacteri and finally making physiological responses in root and formation of nitrogen fixator nodule. Salt stress cause a disturbance in exudation of this compounds by plant root. The objective of this study was investigating the effect of *Rhizobium leguminosarumb.v.phaseoli*pre-induced with genistein (G) on nodulation, nitrogen fixation and growth of the common bean in salinity stress. The experiment was planned in three levels of genistein (G_0=0, G_5=5, G_{20}=20 µM) and irrigation with three levels of salinity (S_0=0, S_1=2, S_2=4 ds/m) and were combined in a factorial fashion in complete randomized design with three replicates in agriculture college greenhouse of Ferdowsi University. Plants were harvested after 30 days and wet and dry weight of root and shoot, number and weight of root nodule and plant nitrogen were measured. The results showed that weight and number of nodule were more sensitive to salinity rather than dry weight of plant. Genistein application with 5 and 20 µM concentration increased number, weight of nodule and bean nitrogen uptake in non saline soil. Adding 20 µM genistein increased average weight of each nodule in S_1 level of salinity. Nodules number and weight decreased with increasing salinity from S_1 to S_2. Despite decreasing nodulation, by increasing salinity, plant nitrogen uptake and concentration was not decreased by using genistein.

Keywords: Isoflavonoids, Genistein, Nodulation, Salinity, Nitrogen fixation

* Corresponding Authors; Email: nikbinf2@gmail.com

www.SID.ir