مطالعه اثر باکتری‌های دارای آنزیم ACC – دآمیناز بر اجزای عملکرد برنج (*Oryza sativa* L.) در شرایط شور

ساره رجبی اگره[1]، محمدعلی بهمنیار[2]، محمودرضا رمضانپور[3]، کاظم خاوازی[4]

*۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران

۴- استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور

*r.sareh@gmail.com

چکیده

گیاهان در طول رشد و نمو خود در معرض عوامل تنش‌زای محیطی قرار دارند. یکی از مهم‌ترین این تنش‌ها، تنش شوری است که می‌تواند رشد و نمو محصول را در گیاه محدود سازد. اما برخی از باکتری‌های مفید خاک‌زی از جمله باکتری‌های دارای آنزیم ACC – دآمیناز می‌توانند بر این عمل تأثیر بگذارند. در این تحقیق توان چهار سویه ازسودوموناس‌های فلورسنت بر شاخص‌های رشد برنج در شرایط شور مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل بر اساس طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل عامل اول پنج سطح شوری آب (۷۰۰، ۱۴۰۰، ۲۸۰۰، ۴۲۰۰، ۵۶۰۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر) و عامل دوم شامل پنج سطح سویه باکتری چهار مایه تلقیح سودوموناس فلورسنت (۴، ۱۱، ۱۰۸، ۱۶۹) و یک سطح بدون تلقیح (شاهد) بود. ریشه‌های نشاءهای برنج رقم طارم دیلمانی پس از تلقیح با سویه‌های مورد نظر در گلدان‌ها کاشته شدند. آبیاری با تیمارهای مختلف آب شور در دوره رشد گیاه انجام شد. قبل از برداشت، شاخص‌های رشد گیاه شامل ارتفاع گیاه، طول برگ پرچم، تعداد خوشه بارور، خوشه نابارور و در مرحله برداشت بیوماس کل، طول ریشه، وزن ریشه و شاخص برداشت تعیین شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش شوری کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری به طور معنی‌داری ($P<0.01$) کاهش یافت. تلقیح برنج با سویه‌های مورد نظر در تمامی سطوح شوری باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های یاد شده به جزء خوشه نابارور گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که در شرایط شور می‌توان از کلیه سویه‌های باکتری‌های مورد آزمایش به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاه استفاده نمود.

کلمات کلیدی: سودوموناس فلورسنت، تنش شوری، برنج، عملکرد

مقدمه

شوری از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید در اراضی کشاورزی بسیاری از مناطق دنیاست. شوری آب آبیاری علاوه بر افزایش شوری خاک، موجب کاهش آب قابل استفاده گیاه، کاهش و یا عدم جذب عناصر غذایی شده و در نهایت کاهش رشد و عملکرد گیاه را در پی دارد (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۲). برنج به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا به شمار می‌رود که غذای ۴۰-۵۰ درصد از مردم جهان را تشکیل می‌دهد (صبوری و همکاران، ۱۳۸۷). در بعضی از اراضی برنج‌کاری مازندران، شور بودن خاک و یا استفاده از آب زیرزمینی شور یکی از مشکلات قابل توجه بوده و در کاهش عملکرد برنج بسیار مؤثر می‌باشد (قربانی و همکاران، ۱۳۸۷).

شناسایی مکانیسم‌های تحمل به شوری در گیاهان، غربال‌گری و اصلاح واریته‌های جدید، از مهم‌ترین راهکارها برای کاهش اثرات مضر شوری در کشاورزی محسوب می‌شوند (Poustini & Siosemardeh, 2004). با شناخت هر چه بیشتر مکانیسم‌های تحمل به شوری در گیاهان و همچنین نحوه تأثیر شوری بر عملکرد و اجزاء آن، امکان دست‌یابی به روش‌های جدیدتر برای مقابله با این تنش غیرزنده بیشتر فراهم می‌گردد. یکی از دلایل کاهش یا عدم رشد گیاه در شرایط تنش‌های غیرزنده‌ای چون شوری، تجمع اتیلن در گیاه می‌باشد (Mayak *et al.*, 2004a). در این شرایط مقدار ACC (پیش ماده ساخت اتیلن) در گیاه افزایش می‌یابد که پیامد آن، افزایش سنتز اتیلن در بافت‌های گیاهی می‌باشد (Lynch & Brown, 1997; Glick *et al.*, 1997,1998; Mayak *et al.*, 2004a,b). اگر چه اتیلن در رشد و توسعه گیاه و رسیدگی میوه اهمیت زیادی دارد، با این حال افزایش غلظت اتیلن درون‌زاد در گونه‌های گیاهی، به‌ویژه در بیشتر دولپه‌ای‌ها، می‌تواند باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد ریشه گردد (Belimov *et al.*, 2001). در مدل ارائه شده توسط گلیک و همکاران (۱۹۹۸) پیشنهاد شده است که باکتری‌های ریزوسفری با توانایی تولید آنزیم ACC - دآمیناز می‌توانند میزان اتیلن گیاه را کاهش دهند و در نتیجه اثرات سوء شوری را تعدیل نمایند. محققان زیادی اثرات مثبت باکتری‌های ریزوسفری دارای آنزیم ACC - دآمیناز و در نتیجه افزایش رشد گیاه در شرایط تنش‌زا مثل غرقاب (Grichko & Glick, 2001)، آلودگی به فلزات سنگین (Grichko *et al.*,2000; Burd *et al.*,1998)، حضور بیمارگرهای گیاهی (Wang *et al.*, 2000)، شوری و خشکی را گزارش کرده‌اند (Mayak *et al.*, 2004 a,b). در نتیجه، گیاهانی که با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد دارای فعالیت آنزیم ACC -دآمیناز تلقیح شده‌اند دارای ریشه‌های بلندتر و نیز بخش هوایی بیشتری هستند (Glick *et al* ., 1997). تلقیح گیاهان کلزا، کاهو، گوجه‌فرنگی و گندم با *Pseudomonas putida* GR12- 2 که دارای آنزیم ACC -دآمیناز موجب طویل شدن ریشه‌ها و افزایش رشد آن‌ها شده است (Belimov*etal*.,2001; Hall *et al*.,1996).

در سال‌های اخیر با توجه به پیشرفت علم میکروبیولوژی، کاربرد ریزموجودات مفید خاک‌زی از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه حاوی آنزیم ACC -دآمیناز برای بهبود تغذیه گیاهان در شرایط شور اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. در این تحقیق سعی شده است تأثیر کاربرد مایع تلقیح باکتریایی دارای آنزیم ACC -دآمیناز بر اجزای عملکرد برنج در شرایط شور بررسی شود.

مواد و روش‌ها

آزمایش در شرایط گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در سال زراعی ۱۳۸۸ انجام شد. تیمارها شامل پنج سطح شوری آب (۷۰۰، ۱۴۰۰، ۲۸۰۰، ۴۲۰۰، ۵۶۰۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر) و چهار سطح باکتری سودوموناس فلورسنت‌دار (۴، ۱۱، ۱۰۸، ۱۶۹) و یک سطح بدون تلقیح (شاهد) بود. باکتری‌های فوق از بانک میکروبی بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تأمین شد. برای تلقیح، در خرداد ماه نشاءها ۴ – ۵ برگی از خزانه جدا شده و ریشه آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در مایه تلقیح قرار داده شد. سپس در هر گلدان به تعداد ۱۵ نشاء کشت و قبل از پنجه‌زنی به تعداد ۳ بوته در هر گلدان تنک گردید. عملیات داشت (آبیاری روزانه با تیمارهای مختلف شوری، و مبارزه با آفات) صورت گرفت. قبل از برداشت، شاخص‌های رشد گیاه شامل ارتفاع گیاه، طول برگ پرچم، تعداد خوشه بارور، خوشه نابارور و در مرحله برداشت بیوماس کل، طول ریشه، وزن ریشه و شاخص برداشت تعیین شدند. داده‌های بدست آمده با استفاده از برنامه کامپیوتری MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. سپس گروه‌بندی میانگین‌ها به روش آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای شوری و تیمارهای تلقیح با سویه‌های مورد نظر بر ارتفاع گیاه، تعداد خوشه بارور و نابارور، طول برگ پرچم، طول ریشه، وزن ریشه و شاخص برداشت معنی‌دار ($P<0.01$) بوده (شکل شماره ۱ و ۲) اما تنها اثر متقابل شوری و باکتری در تعداد خوشه نابارور معنی‌دار نبود.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها بیشترین ارتفاع در شوری کم و باکتری سویه ۱۶۹ می‌باشد. با افزایش شوری آب آبیاری از ۷۰۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر به ۵۶۰۰ میکروزیمنس بر سانتی‌متر ارتفاع گیاه ۳۰٪ کاهش یافت. در صورتی‌که با تلقیح باکتری سویه ۱۱ ارتفاع بوته حدود ۱۵٪ کاهش یافت. در شوری پایین، بیشترین وزن اندام هوایی (بیوماس) مربوط به باکتری سویه ۱۶۹ می‌باشد که نسبت به سطح کنترل ۱۶ ٪ افزایش نشان داد. با افزایش شوری وزن اندام هوایی کاهش یافته به‌طوری‌که در شوری بالا نسبت به شاهد در تیمار بدون باکتری ۳۳/۷ ٪ کاهش مشاهده شد. با

تلقیح باکتری سویه ۱۰۸ این کاهش به ۱۹/۵ درصد تقلیل یافت. رمضانیان (۱۳۸۴) ضمن بررسی نقش باکتری‌های ریزوبیومی مولد آنزیم ACC -دآمیناز در گیاه گندم نشان داد که گندم تلقیح شده با سویه‌های ریزوبیومی مولد آنزیم ACC -دآمیناز دارای طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک ریشه و ساقه بیشتری نسبت به شاهد بود که این افزایش در مورد طول ریشه معنی‌دار بود. واگار و همکاران (۲۰۰۴) با بررسی اثر تلقیح باکتری‌های حاوی آنزیم ACC -دآمیناز بر رشد و عملکرد گندم دریافتند که باکتری‌های دارای این آنزیم عملکرد دانه، کاه، وزن ریشه، طول ریشه، تعداد پنجه و جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم در کاه و دانه را نسبت به شاهد به طور معنی‌دار افزایش دادند. آن‌ها تمامی این اثرات را به دلیل کاهش ACC سطح اتیلن در گیاه دانستند.

شهرونا و همکاران (۲۰۰۷) ضمن مطالعه نقش باکتری‌های مولد آنزیم ACC - دآمیناز بر رشد گندم دریافتند که *P.fluorescens*ACC50 مؤثرین جدایه در بین ۵ جدایه مورد مطالعه بود و بیشترین عملکرد، طول و وزن ریشه در گلدان را تولید نمود، آن‌ها اعلام نمودند که وجود آنزیم ACC -دآمیناز پارامتر کارایی برای انتخاب باکتری محرک رشد گیاه می‌باشد. در این تحقیق تلقیح برنج با سویه‌های سودوموناس فلورسنت در شرایط تنش شوری باعث افزایش تحمل گیاه نسبت به شوری شده و آهنگ کاهش رشد در پارامترهای مورد مطالعه در اثر تلقیح با باکتری‌های منتخب کاهش داشت و برخی از سویه‌های منتخب باعث بهبود شاخص‌های فوق گردید

منابع

۱- رمضانیان، ع. ۱۳۸۴. نقش باکتری‌های ریزوبیومی مولد آنزیم - ACC د آمین از در تعدیل اثرات سوء اتیلن استرسی در گیاه گندم. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد خاک‌شناسی دانشگاه تهران .دانشکده مهندسی آب و خاک. ۱۵۲ صفحه.

۲- صبوری، ح.، ع. رضایی، و ع. مؤمنی، ۱۳۸۷. ارزیابی تحمل به شوری در ارقام بومی و اصلاح شده برنج ایرانی. مجله علوم و فنون کشاورزی. ۴۵:۶۳-۴۷.

۳- قربانی، م.، ر. حسینی و م. زاهدی، ۱۳۸۷. واکنش رویشی ده رقم برنج به تنش شوری. مجله علوم و فنون کشاورزی. شماره ۵.

۴- ملکوتی، م. ج.، کشاورز، پ.، سعادت، س. و خلدبرین، ب.، ۱۳۸۲. تغذیه گیاهان در شرایط شور. چاپ اول. انتشارات سنا، ۲۳۳ ص . تهران، ایران.

5- Belimov, A. A., N, Hontzeas., V. I, Safronova., S. V, Demechinskaya., G, Piluzza., S, Bullita., and B. R. Glick. 2005. Cadmium-tolerant plant growth promoting bacteria associatedwith roots of Indian mustard (*Brassica juncea* .Czem). *Soil Biology* and *Biochemistry*. 37: 241-250.

6- Burd, G. I., D. G, Dixon., and B. R, Glick. 1998. A plant growth promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Applied* and *Environmental Microbiology*. 64: 3663–3668.

7- Glick, B. R., C, Liu., S, Ghosh., and E. B, Dumbroff. 1997. Early development of canola seedlings rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Journal of Soil Biology* and *Biochemistry*. 29: 1233-1239.

8- Glick, B. R., D.M, Penrose., and J, Li. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*. 190: 63-68.

9- Grichko.V.P., B, Filby., and B.R, Glick. 2000. Increased of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC Deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb, and Zn. *Journal of Biotechnology*. 81: 45-53.

10- Grichko, V. P., and B.R, Glick .2001. Amelioration of flooding stress by ACC Deaminase containing plant growth promoting bacteria. *Plant Physiology* and *Biochemistry*. 39: 11-17.

11- Lynch, J., and K.M, Brown. 1997. Ethylene and plant responses to nutritional stress. *Plant Physiology*. 100: 613–619.

12- Mayak, S., T, Tirosh., and B.R, Glick. 2004a. Plant Growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants salt stress. *Plant Physiology* and *Biochemistry*. 42:565-572.

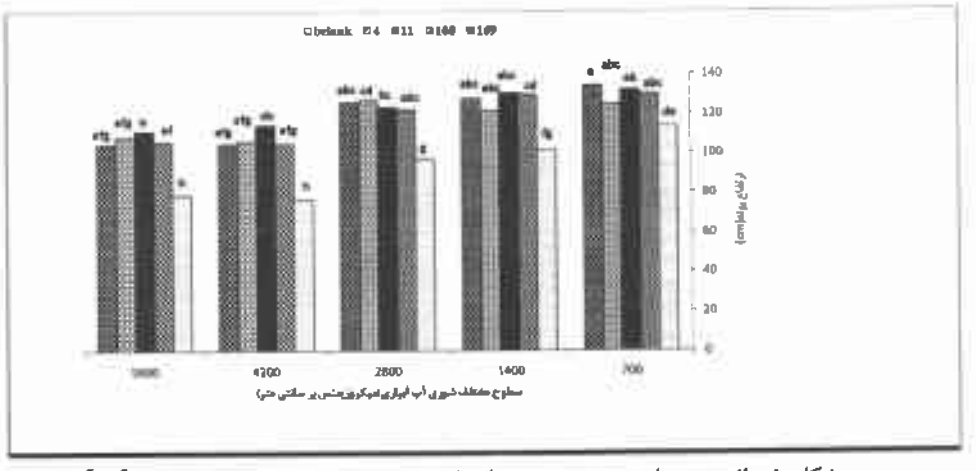
13- Mayak, S., T, Tirosh., and B.R, Glick. 2004b. Plant growth promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Journal of Plant Sciences*. 166: 524-530.

14- Poustini, K.and A, Siosemardeh. 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Research*. 85: 125-133.

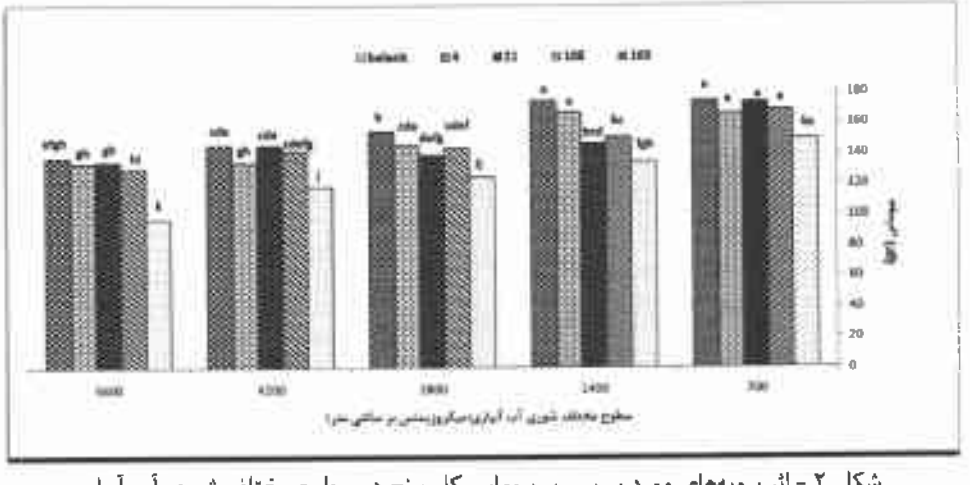
15- Shaharoona, B., G. M, Jamro., Z. A, Zahir., M, Arshad and K. S, Memon. 2007. Effectiveness of various *Pseudomonas Sp* and Burkholderia improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivam* L.). *Journal of Microbiology & Biotechnology*. 17 (8): 1300-1307.

16- Wagar, A., B. Shahroona, Z. A, Zahir and M. Arshad. 2004. Inoculation with ACC deaminase containing rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Pakistan Journal of Agriculture*. 41: 119-124.

17- Wang, C., E, Knill., B.R, Glick and G, Defago. 2000. Effect of transfering 1-amino cyclopropane -1- carboxylic acid (ACC) Deaminase genes into *Pseudomonase fluorescens* strain CHAO and its *gac*A derivative CHA96 on their growth promoting and disease-suppressive capacities. *Canadian Journal of Microbiology*. 46:898-907.



شکل ۱ - اثر سویه‌های مورد بررسی بر ارتفاع بوته برنج در سطوح مختلف شوری آب آبیاری



شکل ۲ - اثر سویه‌های مورد بررسی بر بیوماس کل برنج در سطوح مختلف شوری آب آبیاری