نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد نهم، شماره چهارم، زمستان ۹۵
۲۰۱-۲۲۰
http://ejcp.gau.ac.ir

تاثیر همیاری باکتری سودوموناس فلورسنس در کاهش اثرات تنش شوری در کانولا

مرتضی بازیار[۱]، علی بنده‌حق[۲*] و داود فرج‌زاده[۳]

[۱]کارشناس‌ارشد اصلاح نباتات، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز،
[۲]دانشیار گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز،
[۳]استادیار گروه زیست‌شناسی- سلولی ملکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تاریخ دریافت: ۹٤/۲/۱٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: تنش کلرورسدیم از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که به همراه تنش خشکی بیش‌ترین سهم از تنش‌های غیرزیستی در کاهش تولید گیاهان زراعی مختلف را به خود اختصاص داده است. باکتری‌های محرک رشد گیاه در ریشه گیاهان تک و دولپه‌ای مستقر شده و به‌وسیله مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم باعث تقویت رشد گیاه می‌گردند. باکتری‌های محرک رشد سیستم ریشه را تغییر داده و تولید هورمون‌های گیاهی و سیگنال‌های مختلف منجر به تقویت گیاه می‌شود. تلقیح گیاهان با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به همراه استفاده از ارقام مقاوم از راهکارهای مناسب در کاهش اثرات منفی تنش کلرورسدیم به‌شمار می‌رود. این آزمایش به‌منظور بررسی اثر تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنس در تعدیل اثرات تنش شوری بر روی ارقام کانولا انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش در سیستم کشت هیدروپونیک به‌صورت طرح کرت‌های دو بار خرد شده بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور اصلی سه سطح کلرورسدیم (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار)، فاکتور فرعی دو سطح باکتری (تلقیح و عدم‌تلقیح گیاهچه‌ها با باکتری) و فاکتور فرعی فرعی شش رقم کلزا (Sarigol Hyola$_{308}$، RGS$_{003}$، Amica، Hyola$_{420}$ و Olga) بود.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل‌های آماری نشان داد که میانگین شاخص‌های رشد شامل RGR، AGR، LAR، NAR، LAD و RLGR و محتوای نسبی آب برگ (RWC) در سطوح مختلف کلرورسدیم و باکتری اختلاف

* مسئول مکاتبه: bandehhagh@tabrizu.ac.ir

معنی‌دار دارد. تنش باعث کاهش ۵۰ درصدی میانگین شاخص‌های رشد شد و تلقیح گیاهچه‌ها با باکتری به غیر از شاخص میانگین نسبت سطح برگ (LAR) در بقیه شاخص‌ها اثر مثبتی در کاهش اثرات تنش داشت. اعمال شوری باعث افزایش ۳ برابری پرولین برگ کلزا شد و این افزایش در ارقام تلقیح‌شده با باکتری در سطوح مختلف تنش بیش‌تر بود. میزان های محلول و محتوای کلروفیل a، b و کل با افزایش غلظت کلرورسدیم کاهش نشان داد. تنش کلرورسدیم باعث افزایش یون‌های سدیم و کلراید و کاهش یون پتاسیم در برگ‌های گیاه کلزا شد، ولی تلقیح باکتری با گیاهچه‌ها باعث کاهش تجمع یون‌های سدیم و کلراید و افزایش پتاسیم در ارقام کلزا شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به تجزیه‌های انجام شده در مورد میانگین شاخص‌های رشد و صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که اثر تنش شوری ناشی از کلرور سدیم با تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنس سویه ۳۲FY که مولد آنزیم ACC- دآمیناز است، تعدیل می‌یابد. حضور باکتری و همیاری آن با گیاه توانایی رشدی گیاه را به روش‌های مختلف تقویت کرده و از این‌رو می‌توان استفاده از باکتری‌های محرک رشد را در کاهش اثرات تنش شوری و سایر تنش‌های غیرزیستی معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری PGPR، تنظیم‌کننده اسمزی، شاخص‌های رشد، عناصر یونی، کلروفیل

مقدمه

افزایش کلرورسدیم در محیط رشد گیاه می‌تواند تقسیم و توسعه سلولی را در بافت‌های در حال رشد گیاه از جمله ریشه، ساقه و برگ‌ها را محدود کند، در نتیجه واضح‌ترین اثر کلرورسدیم تأخیر در رشد گیاه است (۲۵). گیاهان متحمل به کلرورسدیم قابلیت بیش‌تری برای زنده ماندن و حفظ سرعت رشد در شرایط تنش کلرورسدیم داشته و اختلاف رشد می‌تواند به‌عنوان یک شاخص تحمل به کلرورسدیم در نظر گرفته شود (۱۱).

تجمع پرولین یکی از مکانیسم‌های متابولیکی می‌باشد که در پاسخ به تنش اسمزی و یا سایر تنش‌ها توسط گیاه کلزا انجام می‌گیرد (٢٤). از وظایف پرولین می‌توان به تنظیم اسمزی، پایداری پروتئین‌ها، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها بر اثر افزایش دما و حفظ انرژی و نیتروژن برای دوره پس از تنش اشاره کرد (۱۲). تغییرات غلظت کربوهیدرات‌ها نیز در القای سازوکارهای تحمل در برابر تنش بسیار مهم است؛ زیرا این ترکیبات به‌طور مستقیم با واکنش‌های فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، انتقال مواد فتوسنتزی و تنفس در ارتباط هستند (۲۳).

کاهش در میزان کلروفیل بر اثر تنش کلرورسدیم به‌عنوان یک پدیده رایج در مطالعات می‌باشد و به دلایل مختلفی این کاهش صورت می‌گیرد که یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل کل، اثر کلرورسدیم بر روی بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد (۷). نتوندو و همکاران (٢٠٠٤) نیز گزارش کردند که کاهش رشد رویشی و به‌عبارت دیگر کاهش وزن خشک بر اثر تیمار کلرورسدیم به‌دلیل کاهش سطح فتوسنتز و همچنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل a و b، جذب خالص دی‌اکسیدکربن و بسته شدن روزنه‌ها بر اثر تنش کلرورسدیم می‌باشد (۲۹).

غلظت بالای املاح در ریزوسفر در اثر تنش شوری باعث کاهش پتانسیل آب خاک، ایجاد خشکی فیزیولوژیک، ایجاد سمیت یونی، عدم تعادل یون‌ها و در نتیجه آسیب رساندن به گیاه می‌شود (۲۷). یون‌های سدیم و کلراید عمده‌ترین عناصر سمی محدودکننده رشد گیاهان زراعی در مناطق شور هستند. این یون‌ها برخلاف بسیاری از عناصر دیگر در اثر شوری در بافت تجمع می‌یابند (۱۷). پتاسیم نقش ویژه‌ای در حیات و بقاء گیاهان تحت شرایط تنش محیطی بازی می‌کند، به‌طوری‌که تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش در گیاهان افزایش می‌یابد و وجود پتاسیم بالا در این شرایط نقش بازدارنده‌ای در تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در طی فتوسنتز دارد (٦).

باکتری‌های محرک رشد گیاه در تولید و رهاسازی متابولیت‌های مختلف مؤثر بر رشد و سلامت گیاه، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل در حاصلخیزی خاک در نظر گرفته می‌شود (۳٦). باکتری‌های محرک رشد گیاه با سنتز یک سری از مواد (مانند فیتوهورمون‌ها، سیدروفور وآنزیم ACC- دآمیناز) و کمک به سنتز برخی مواد (مثل پرولین و قندهای محلول) باعث افزایش رشد گیاه و تولید محصول در واحد سطح می‌شوند (۱۳). تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده‌های نیتروژن یکی از راه‌کارهای مهم جهت تأمین عناصر یونی مفید برای گیاه می‌باشد و در نتیجه افزایش رشد، فتوسنتز و تولید ماده خشک در گیاهان می‌باشد (۳۵). نادم و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کردند که ذرت‌های تلقیح شده با باکتری‌های PGPR مولد آنزیم ACC- دآمیناز از تجمع یون‌های سدیم و کلراید کم‌تر و میزان پتاسیم بیش‌تری نسبت به گیاهان تلقیح نشده برخوردار بودند (۲۸).

نظر به اهمیت تولید گیاهان روغنی مانند کلزا و لزوم استفاده از راه‌کارهایی جهت مقابله با تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش کلرورسدیم، استفاده از ارقام مقاوم و اصلاح گیاهان برای تحمل بیش‌تر از طریق تلقیح با باکتری‌های PGPR انتظار می‌رود بتوان از این روش‌ها در جهت افزایش تولید و مقاومت این گیاهان بهره برد. هدف از این پژوهش بررسی روند تغییر صفات مختلف مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه کلزا در اثر تلقیح با باکتری‌های PGPR در سطوح مختلف تنش کلرورسدیم است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر تلقیح باکتری *سودوموناس فلورسنس* (*P. fluorescens* FY32) بر برخی از خصوصیات ارقام کلزا در شرایط تنش کلرورسدیم، این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای (گلخانه تحقیقاتی گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز) و در قالب طرح کرت‌های دوبار خرد شده با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اصلی تنش کلرورسدیم در سه سطح (صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم)، فاکتور فرعی تلقیح با باکتری (سویه سودوموناس فلورسنس و تیمار شاهد) و فاکتور فرعی فرعی شش رقم کلزا ($Hyola_{308}$، Sarigol، RGS_{003}، Amica، $Hyola_{420}$ و Olga) بود. آزمایش در سیستم هیدروپونیک به‌دلیل کنترل بهتر شرایط محیطی انجام شد. محلول غذایی مورد استفاده هوگلند تغییریافته بود که با کمی تغییرات برای گیاه کلزا مورد استفاده قرار گرفت (٤). باکتری سودوموناس فلورسنس سویه FY32 جهت تلقیح با

ریشه گیاهچه‌ها در محلول‌های غذایی با درجات مختلف کلرورسدیم تزریق شد. مایه تلقیح باکتری با جمعیت تقریبی 10^{7} ($cfu\ ml^{-1}$)[1] به هر مخزن اضافه شد. جهت بررسی صحت تلقیح گیاهچه‌ها با باکتری مورد نظر یک هفته بعد از تلقیح باکتری به سیستم کشت، نمونه‌گیری‌هایی به‌صورت تصادفی از ریشه گیاهچه‌ها صورت گرفت (١٠).

جهت سنجش میانگین شاخص‌های رشد، وزن خشک و سطح برگ بوته‌ها در ابتدای آزمایش و قبل از اعمال تنش و تلقیح باکتری و همچنین در پایان آزمایش با استفاده از روابط مربوطه (٣٢) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول گیاه از نمونه‌های تازه برگی و با استفاده از روش فنل اسید سولفوریک (٢٢) و برای تعیین میزان غلظت پرولین در همان نمونه‌ها از روش بیتس و همکاران (٥) استفاده شد. مقدار کلروفیل a، b و کل برگ‌ها بر حسب میلی‌گرم کلروفیل در گرم برگ به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ٦٤٥، ٦٦٣ نانومتر محاسبه شد (٢):

$$\text{میلی‌گرم کلروفیل a در گرم برگ} = (١٢/٧(D٦٤٥) + ٢/٦٩(D٦٦٣)) \frac{V}{١٠٠٠ \times W}$$

$$\text{میلی‌گرم کلروفیل b در گرم برگ} = (٢٢/٩(D٦٤٥) + ٤/٦٨(D٦٦٣)) \frac{V}{١٠٠٠ \times W}$$

$$\text{میلی‌گرم کلروفیل کل در گرم برگ} = (٢٠/٢(D٦٤٥) + ٨٠/٢(D٦٦٣)) \frac{V}{١٠٠٠ \times W}$$

اندازه‌گیری غلظت یون سدیم و پتاسیم در برگ‌ها با روش هضم خشک و با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر صورت گرفت (١). اندازه‌گیری یون کلراید با استفاده از روش دیالوف و رنگل (٢٠٠١) انجام شد (٨). مقدار آب نسبی (RWC) برگ‌های توسعه‌یافته به روش ایگرت وتوینی (٢٠٠٢) تعیین شد (٩):

$$\text{درصد مقدار آب نسبی برگ} = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تازه برگ}}{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تورمی برگ}} \times ١٠٠$$

1- Colony forming units

تجزیه‌های آماری به کمک برنامه‌های آماری SPSS و MSTAT-C انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش محتوای نسبی آب برگ و میانگین شاخص‌های رشد $\overline{PGR}$، $\overline{AGR}$، $\overline{LAD}$، $\overline{NAR}$ و $\overline{RLGR}$ در سطوح مختلف تنش کلرورسدیم، ارقام و باکتری اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۱) به‌طوری‌که کلرورسدیم شدید (۳۰۰ میلی‌مولار) باعث بیش‌ترین کاهش در صفات ذکر شده گردید (جدول ۲). تلقیح باکتری با گیاهان اثر مثبتی بر کاهش اثرات کلرورسدیم در میانگین شاخص‌های رشد داشت. بر اساس مقایسه‌های میانگین (جدول ۲) برای صفات سرعت جذب خالص ($\overline{NAR}$)، دوام سطح برگ ($\overline{LAD}$)، سرعت رشد نسبی برگ ($\overline{RLGR}$) و محتوای نسبی آب برگ (RWC) ارقام RGS003 و Hyola308 و برای صفت سرعت رشد نسبی ($\overline{RGR}$) و سرعت رشد نسبی (AGR) ارقام RGS003، Hyola308 و Amica بیش‌ترین مقادیر میانگین را داشتند. برهم‌کنش کلرورسدیم، باکتری و رقم فقط برای صفت $\overline{LAR}$ معنی‌دار بود، به‌طوری‌که در سطح شاهد و تنش شدید (۳۰۰ میلی‌مولار) بیش‌ترین $\overline{LAR}$ به رقم Hyola308 تلقیح‌شده با باکتری تعلق داشت (شکل ۱).

تنش کلرورسدیم در اغلب موارد اندام‌های هوایی گیاه را بیش‌تر از ریشه تحت‌تأثیر قرار می‌دهد و اغلب گیاهان در مواجهه با تنش کلرورسدیم علائم ظاهری قابل‌توجهی از خود نشان می‌دهند (۳۱). کایا و همکاران (۲۰۰۱) بیان نمودند که شوری، رشد رویشی و زایشی گیاه را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد، بنابراین موجب کاهش وزن خشک و عملکرد گیاه می‌شود (۲۱). بنده‌حق و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که میزان وزن خشک، شاخص سطح برگ، نسبت ریشه به اندام‌های هوایی و میانگین شاخص‌های رشد (RGR، AGR، LAR، NAR، LAD و RLGR) در کلزای تحت تنش کلرورسدیم کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند. ایشان نوسان کاهش رشد و تکیه بر میزان این کاهش را اصلی‌ترین معیار گزینش ارقام متحمل و حساس به کلرورسدیم معرفی کردند (٤).

یکی از مکانیسم‌های مورد استفاده در باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه حاوی آنزیم ACC- دآمیناز تجزیه پیش ماده اتیلن گیاهی (ACC)[1] است، این باکتری‌ها غلظت اتیلن را در گیاه

1- 1-Aminocy Clopropane-1-Carboxylate

تحت تنش کاهش داده و در نتیجه گیاه را در مقابل اثرات مضر ناشی از سطوح بالای اتیلن (اتیلن تنشی) حفظ می‌کنند (١٠). تلقیح گیاه کلزا با سویه‌هایی از باکتری سودوموناس مولد ACC- دآمیناز باعث افزایش سطح برگ، وزن خشک بوته و محتوای نسبی آب برگ نسبت به گیاه شاهد شد (٢٠). حیاتی و همکاران (١٣٩٠) نشان دادند که سطح برگ گیاهان کلزا تلقیح شده با یک گونه باکتری محرک رشد اختلاف معنی‌داری با گیاه شاهد دارد. این بالا بودن شاخص سطح برگ سبب افزایش میانگین نسبت سطح برگ و سرانجام افزایش در تولید ماده خشک را به دنبال خواهد داشت (١٦). با توجه به نتایج فوق، دو رقم Hyola308 و Sarigol به‌ترتیب به‌عنوان ارقام متحمل و حساس نسبی از بین شش رقم مورد ارزیابی برای اندازه‌گیری برخی صفات فیزیولوژیک در آزمایشگاه انتخاب شد.

تجزیه واریانس بخش دوم داده‌ها (جدول ٣) نشان داد که سطوح مختلف کلرورسدیم و باکتری اثر معنی‌داری روی میزان پرولین برگ دارد. پرولین برگ در ارقام کلزا از یک روند افزایشی را در سطوح مختلف کلرورسدیم و در بین گیاهچه‌های تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با باکتری برخوردار بود، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان پرولین در سطح تنش ١٥٠ و ٣٠٠ میلی‌مولار کلرید سدیم و در گیاهچه‌های تلقیح شده با باکتری و کم‌ترین میزان مربوط به گیاهچه‌های تلقیح‌نشده بود (شکل ٢). در یک پژوهش وندروسکالو و همکاران (٢٠٠٧) نشان دادند که افزایش پرولین در شرایط تنش یکی از روش‌های ایجاد مقاومت در گیاه به‌شمار می‌رود که می‌تواند نقش حفاظتی برای پروتئین‌ها و آنزیم‌ها گیاه در شرایط وقوع تنش باشد (٣٧). بنده‌حق و همکاران (٢٠٠٨) نیز افزایش کلرورسدیم را روی میزان پرولین برگ در ارقام کلزا معنی‌داری بیان کردند (٤). حمدی و همکاران (٢٠٠٤) طی پژوهشی روی گیاه ذرت گزارش کردند که باکتری‌های PGPR باعث افزایش میزان پرولین گیاه در شرایط تنش کلرورسدیم می‌شوند که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش روی ارقام مختلف کلزا مطابقت داشت (١٤).

در رابطه با میزان قندهای محلول تجزیه واریانس (جدول ٣) نشان داد که کلرورسدیم و تلقیح با باکتری اثر معنی‌داری در میزان قندهای محلول ارقام مختلف کلزا دارد. همچنین تمام برهم‌کنش کلرورسدیم، باکتری و رقم نیز برای این صفت معنی‌دار بود. میانگین داده‌ها (شکل ٣) بیان‌کننده این مطلب است که با افزایش کلرورسدیم میزان قندهای محلول گیاه کاهش می‌یابد ولی در سطوح مختلف تنش گیاهچه‌های تلقیحی به نسبت دارای میانگین بالاتری از گیاهچه‌های تلقیح‌نشده بودند. از مقایسه تمام ترکیبات تیماری (شکل ٣) می‌توان نتیجه گرفت که رقم Sarigol تلقیح‌شده با باکتری در سطوح مختلف تنش دارای بیش‌ترین میزان قندهای محلول است.

جدول ۱- تجزیه واریانس میانگین شاخص‌های رشد در ارقام کلزا تلقیح‌شده با باکتری *P. flourescens* FY3 تحت تنش کلرورسدیم.

Table 1. Analysis of variance of the growth indices of canola cultivars under sodium chloride stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS						
		محتوای آب نسبی برگ (RWC)	میانگین سرعت رشد نسبی ($\overline{RGR}$)	میانگین سرعت رشدمطلق ($\overline{AGR}$)	میانگین نسبت سطح برگ ($\overline{LAR}$)	میانگین سرعت جذب خالص ($\overline{NAR}$)	میانگین دوام سطح برگ ($\overline{LAD}$)	میانگین سرعت رشد نسبی برگ ($\overline{RLGR}$)
تنش Stress	2	2389.697**	0.019**	0.005**	6073.470*	0.0009**	1454275.618**	0.004**
خطای اصلی Main error	6	130.164	0.0001	0.00006	800.660	0.0001	26774.068	0.0001
باکتری Bacterium	1	595.684*	0.001**	0.0009*	30609.684**	0.004**	377597.080**	0.005*
تنش × باکتری Stress × Bacterium	2	24.300	0.0005	0.00006	935.294	0.0008	14562.567	0.0015
خطای فرعی Sub error	6	110.062	0.0003	0.0003	593.080	0.0003	21963.377	0.001
رقم Cultivar	5	521.361**	0.0006*	0.0004**	1723.031	0.0005**	579184/018**	0.004**
تنش × رقم Stress × Cultivar	10	126.915	0.0003	0.00003	2580.373	0.000032	37206.252	0.0002
باکتری × رقم Bacterium × Cultivar	5	97.732	0.0004	0.00005	1085/695	0.000012	141353.356	0.0006
تنش × باکتری × رقم Stress ×Bacterium × Cultivar	10	95.148	0.0002	0.00004	4502.764**	0.00002	17817.101	0.0002
خطای فرعی فرعی Error c	60	131.189	0.0002	0.00008	1580.136	0.00006	63289.099	0.0016

* و ** به ترتیب غیرمعنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

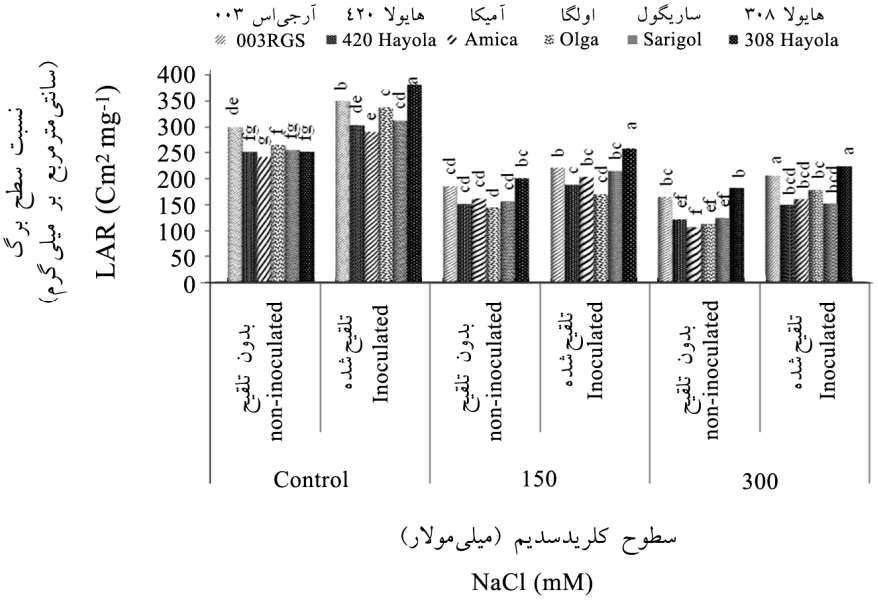
* P < 0.05; ** P < 0.01.

جدول ٢- میانگین شاخص‌های رشدی در گیاهچه‌های کلزا تلقیح‌شده با باکتری *P. fluorescens* FY32 در سطوح مختلف تنش کلرورسدیم.

Table 2. Means of the growth indices of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.

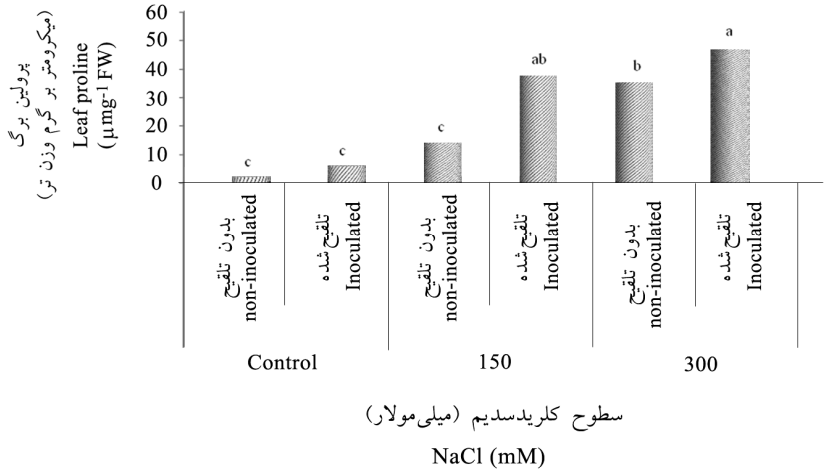
تیمارها treatment	RWC (%)	$\overline{RGR}$ (g g^{-1} day^{-1})	$\overline{AGR}$ (g^{-1} day^{-1})	$\overline{NAR}$ (g cm^{-2} day^{-1})	$\overline{LAD}$ (cm^2 day^{-1})	$\overline{RLGR}$ (cm^2 cm^{-2} day^{-1})
سطوح تنش Salinity						
شاهد Control	66.403 a	0.100 a	0.044 a	0.0027 a	2269.528 a	0.054 a
متوسط Medium	56.107 b	0.080 b	0.031 b	0.0015 b	1928.309 b	0.039 b
شدید High	50.317 c	0.054 c	0.020 c	0.0008 c	1914.893 b	0.035 b
سطوح باکتری Bacterium						
بدون تلقیح With inoculation	55.260 b	0.081 a	0.030 b	0.0008 b	1978.446 b	0.040 b
تلقیح‌شده Without inoculation	59.957 a	0.075 b	0.033 a	0.0012 a	2096.705 a	0.045 a
ارقام کلزا Canola cultivars						
آرجی‌اس ٠٠٣ RGS_{003}	64.61 a	0.0809 a	0.0368 a	0.00049 b	2376.3 a	0.04377 ab
هایولا ٤٢٠ $Hyola_{420}$	55.27 bc	0.0761 ab	0.0264 b	0.00048 b	1887.2 c	0.03845 b
آمیکا Amica	53.23 bc	0.0848 a	0.0363 a	0.00042 b	2019.1 bc	0.03789 b
اولگا Olga	59.12 ab	0.0767 ab	0.0278 b	0.00046 b	1946.4 bc	0.04931 a
ساریگول Sarigol	51.76 c	0.0694 b	0.0268 b	0.00033 c	1921.2 bc	0.03240 b
هایولا ٣٠٨ $Hyola_{308}$	63.66 a	0.0805 a	0.0351 a	0.00062 a	2076.9 b	0.04775 a

گیاهان مکانیسم‌های حفاظتی متفاوتی را در برابر تنش کلرورسدیم از خود نشان می‌دهند که از آن جمله می‌توان تجمع تنظیم‌کننده‌های اسمزی مثل قندهای محلول (۱۹). حیدری و همکاران (۱۳۸۹) نیز گزارش کردند که کلرورسدیم اثر معنی‌داری در کاهش قندهای محلول در ارقام مختلف کلزا داشت (۱۸). مونس (۱۹۹۳) طی پژوهشی اعلام کرد که ژنوتیپ‌های متحمل سویا مقدار قندهای محلول بیش‌تری را به سبب تبدیل ساکارز به قند منوساکارید در هنگام قرارگیری در معرض تنش تولید می‌کنند (۲۶).



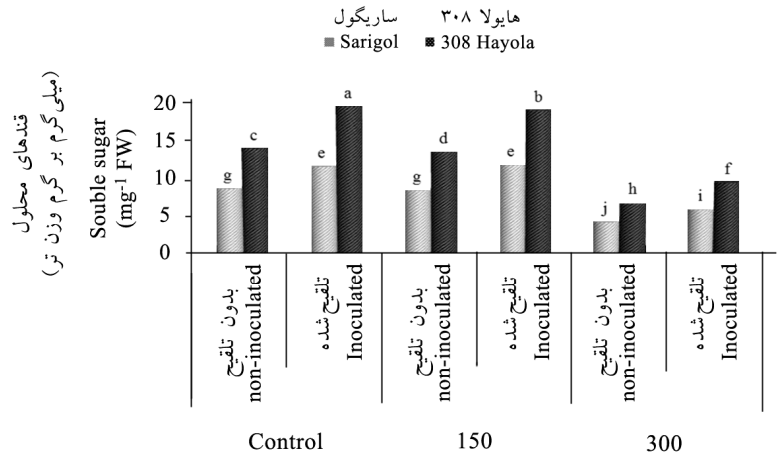
شکل ۱- میانگین نسبت سطح برگ در گیاهچه‌های کلزا تلقیح‌شده با باکتری *P. fluorescens* FY32 در سطوح مختلف تنش شوری.

Figure 1. Mean of leaf area ratio (LAR) of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.



شکل ۲- میانگین پرولین برگ در گیاهچه‌های کلزا تلقیح شده با باکتری *P. fluorescens* FY32 در سطوح مختلف تنش شوری.

Figure 2. Mean of leaf proline of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.



شکل ۳- میانگین قندهای محلول ارقام کلزا در سطوح مختلف تنش شوری و تلقیح با باکتری *P. fluorescens* FY32.

Figure 3. Mean of soluble sugar of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.

جدول ۳- تجزیه واریانس برخی از صفات فیزیولوژیک در ارقام کلزا تلقیح‌شده با باکتری *P. flourescens* FY3 تحت تنش شوری.

Table 3. Analysis of variance of some characteristics of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS							
		پرولین برگ Leaf proline	قندهای محلول soluble sugar	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	سدیم برگ Leaf sodium	پتاسیم برگ Leaf potassium	کلراید برگ Leaf chloride
تنش Stress	2	29870.261**	188.301**	0.233*	0.019	0.648*	7148.442**	2833.747**	8674.776**
خطای اصلی Error (a)	6	787.417	1.681	0.031	0.039	0.125	83.585	20.875	175.453
باکتری Bacterium	1	20900.726**	120.993**	1.433**	0.37**	4.070**	385.283**	57.644**	978.428**
تنش × باکتری Stress × Bacterium	2	6934.223**	4.732**	0.094**	0.085**	0.261**	57.363**	8.238**	65.723*
خطای فرعی Error (b)	6	359.628	0.045	0.001	0.001	0.002	1.672	0.044	6.885
رقم Cultivar	1	666.784	258.491**	1.583**	0.418**	4.458**	5487.328**	1050.797**	1258.922**
تنش × رقم Stress × Cultivar	2	600.897	11.521**	0.096**	0.019**	0.261**	1841.219**	513.743**	3816.135**
باکتری × رقم Bacterium × Cultivar	1	188.270	8.306**	0.070**	0.0001	0.183**	30.826	1.759	122.910
تنش × باکتری × رقم Stress × Bacterium × Cultivar	2	159.458	0.528**	0.032**	0.017**	0.086**	11.522	0.136	29.708
خطای فرعی فرعی Error (c)	12	327.263	0.049	0.00033	0.00033	0.001	8.404	0.435	27.127

* و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

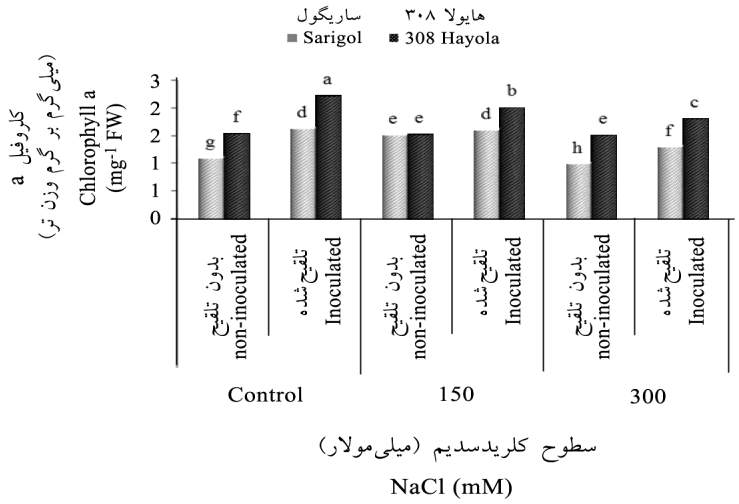
* P < 0.05 ; ** P < 0.01.

بر اساس تجزیه واریانس (جدول ٣) اثر کلرورسدیم، باکتری و رقم و نیز برهم‌کنش بین آن‌ها برای غلظت کلروفیل a و کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در مورد کلروفیل b، تمام منابع تغییر به غیر از کلرورسدیم معنی‌دار بود. مقایسه میانگین (شکل‌های ٤، ٥ و ٦) نشان داد که کلرورسدیم باعث کاهش معنی‌دار در غلظت کلروفیل گیاه شد ولی تلقیح کلزا با باکتری‌های محرک رشد در همه سطوح تنش باعث افزایش میزان کلروفیل گیاه نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده شد. همچنین رقم Hyola308 بیش‌ترین میزان کلروفیل‌های a، b و کل را در سطوح تنش و باکتری به خود اختصاص داد.

در شرایط تنش کلرورسدیم میزان کلروفیل در گیاهان کاهش می‌یابد که این کاهش می‌تواند به‌دلیل افزایش تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آن‌ها و نیز اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (١٥). بایبوردی و همکاران (٢٠١٠) گزارش کردند که افزایش کلرورسدیم باعث کاهش معنی‌دار در میزان کلروفیل a، b و کل در بین ارقام مختلف کلزا شد (٣). نادم و همکاران (٢٠٠٦) طی پژوهشی گزارش کردند که کلرورسدیم باعث کاهش میزان کلروفیل در ذرت شد ولی این کاهش در گیاهان تلقیح‌شده با باکتری‌های PGPR مولد آنزیم ACC- دآمیناز کم‌تر از گیاهان تلقیح‌نشده بود (٢٨).

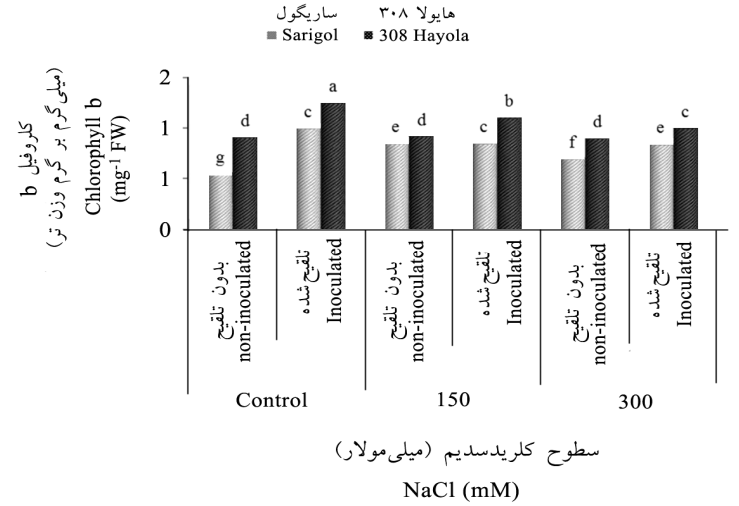
اثر کلرورسدیم، باکتری و رقم برای یون‌های سدیم و کلراید برگ کلزا معنی‌دار بود (جدول ٣). با توجه به مقایسه میانگین (شکل٧، الف و ب) سدیم و کلراید برگ با افزایش کلرورسدیم در همه تیمارها افزایش یافته ولی این افزایش هم در سطح تنش متوسط و هم در سطح تنش شدید در گیاهان تلقیح‌شده کاهش معنی‌داری را نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده داشت. بر همکنش کلرورسدیم و دو رقم کلزا نیز برای این یون‌ها معنی‌دار بود (جدول ٣)، با این که افزایش کلرورسدیم در افزایش میزان غلظت سدیم و کلراید برگ دو رقم کلزا مؤثر بود، ولی رقم Sarigol هم در سطح تنش متوسط و هم در سطح تنش شدید دارای بیش‌ترین میزان جذب سدیم و کلراید بود (شکل ٨ الف و ب)، که تحمل پایین‌تر رقم Sarigol به تنش کلرورسدیم و تجمع بیش‌تر این یون‌ها در این رقم را نشان می‌دهد.

از آن‌جایی‌که کلرورسدیم محلول‌ترین و فراوان‌ترین نمک موجود می‌باشد، شگفت‌آور نیست که تمامی گیاهان مکانیسم‌هایی را به‌منظور کنترل انباشت آن اتخاذ نمایند (٢٧). بایبوردی و همکاران (٢٠١٠) طی پژوهشی روی ارقام پاییزه کلزا نشان دادند که برهم‌کنش کلرورسدیم و رقم باعث افزایش معنی‌دار یون‌های سمی (سدیم و کلراید) شد (٣). رشد گیاه ذرت آبیاری شده با آب شور باعث کاهش یون پتاسیم و افزایش سدیم شد، ولی تلقیح ذرت با باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش یون پتاسیم و کاهش یون‌های سدیم و کلراید در طول دوره رشد گیاه و در نتیجه کاهش اثرات تنش کلرورسدیم شد (٣٨).



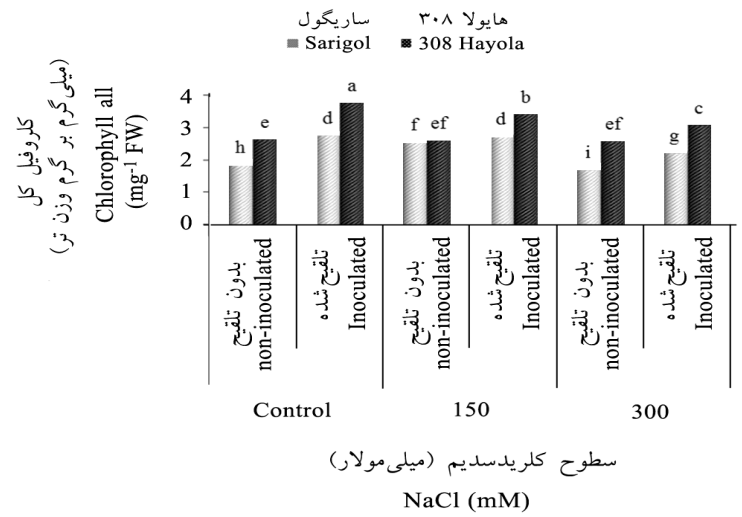
شکل ٤- میانگین کلروفیل a در گیاهچه‌های کلزا تلقیح‌شده با باکتری *P. fluorescens* FY32 در سطوح مختلف تنش شوری.

Figure 4. Mean of chlorophyll a of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.



شکل ٥- میانگین کلروفیل b در گیاهچه‌های کلزا تلقیح‌شده با باکتری *P. fluorescens* FY32 در سطوح مختلف تنش کلرورسدیم.

Figure 5. Mean of chlorophyll b of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.



شکل ٦- میانگین کلروفیل کل در گیاهچه‌های کلزا تلقیح شده با باکتری *P. fluorescens* FY32 در سطوح مختلف تنش شوری.

Figure 6. Mean of total chlorophyll of canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.

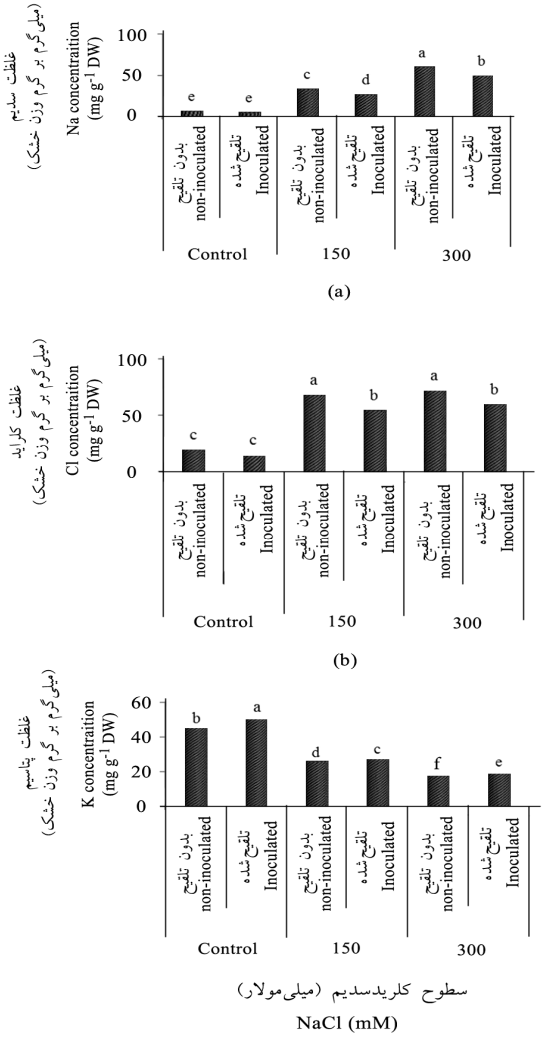
تجزیه داده‌ها برای غلظت پتاسیم برگ نشان داد که محتوای پتاسیم در سطوح تنش دارای یک روند کاهشی است و این کاهش در برگ گیاهچه‌های تلقیح‌شده با باکتری در حالت تنش شدید به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گیاهچه‌های شاهد بود (شکل ۷، ج). با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) برهم‌کنش کلرورسدیم و رقم نیز در صفت پتاسیم برگ معنی‌دار بود. در همه سطوح کلرورسدیم به‌جزء در سطح شاهد رقم Hyola308 دارای بیش‌ترین غلظت پتاسیم برگ بود (شکل ۸، ج).

در مقادیر بالای کلرورسدیم مقدار یون‌های پتاسیم کاهش یافته و با سدیم جایگزین شده که این عمل علاوه بر به هم‌زدن تعادل یونی باعث اختلال در متابولیسم سلولی نیز می‌شود (۳۳). صالحی‌اسکندری و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که افزایش تنش میزان پتاسیم را در ارقام مختلف کلزا کاهش داد، ولی میزان این کاهش در جذب و انتقال یون پتاسیم در رقم متحمل در تمام سطوح تنش بیش‌تر از رقم حساس بود (۳٤). نظارت و غلامی (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که میزان جذب عناصری مثل پتاسیم در ذرت به‌طور معنی‌داری با کاربرد باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت (۳۰).

نتیجه‌گیری کلی

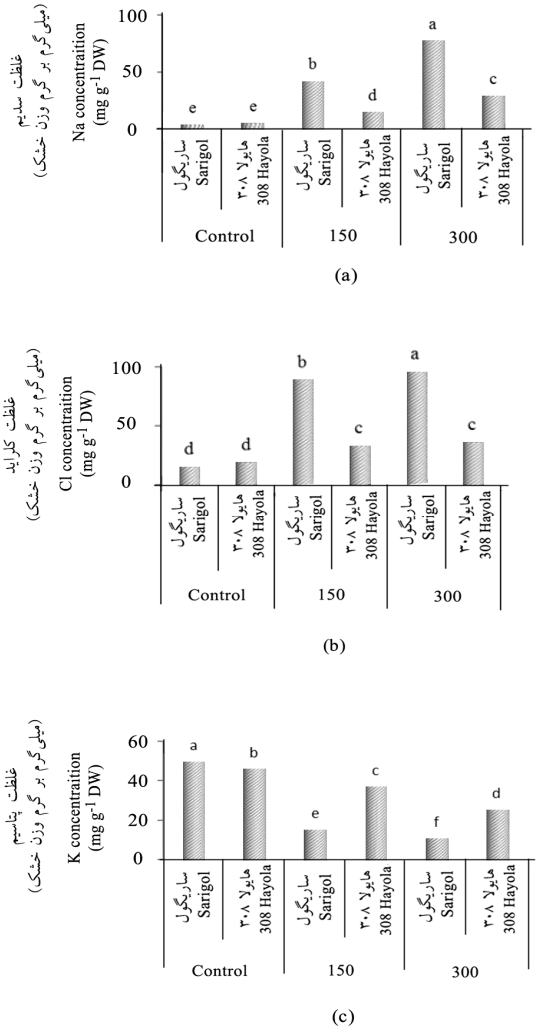
با توجه به تجزیه‌های انجام شده در مورد میانگین شاخص‌های رشد و صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که اثر تنش شوری ناشی از کلرور سدیم با تلقیح باکتری سودوموناس

فلورسنس سویه FY32 که مولد آنزیم ACC- دآمیناز است، تعدیل می‌یابد. حضور باکتری و همیاری آن با گیاه توانایی رشدی گیاه را به روش‌های مختلف تقویت کرده و از این‌رو می‌توان استفاده از باکتری‌های محرک رشد (PGPR) را در زراعت‌های تحت تنش کلرورسدیم و حتی خشکی به‌عنوان یکی از راه‌کارهای مناسب معرفی کرد.



شکل ۷- میانگین غلظت عناصر یونی برگ ارقام کلزا در سطوح مختلف تنش شوری و تلقیح با باکتری *P. fluorescens* FY32.

Figure 7. Ion concentration of canola leaves under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.



شکل ۸- میانگین غلظت عناصر یونی در سطوح مختلف تنش شوری در برگ‌های دو رقم کلزا.

Figure 8. Ion concentration in leaves of two canola cultivars under salinity stress and inoculation with *P. flourescens* FY3.

منابع

1.Ashraf, M., Nazir, N., and Mc Neilly, T. 2001. Comparative salt toler ances of amphidiploid and diploid *Brassica species*. J. Plant Sci., 160: 683-689.

2.Ashraf, M.Y., Azmi, A.R., Khan, A.H., and Ala, S.A. 1994. Effect of water stress and total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. J. Plant Physiol., 16: 185-191.

3.Baiburdi, A., Tabatabai, S.J., and Akhmedov, AS. 2010. Effect of NaCl salinity physiological characteristics, quantity and quality of winter rapeseed varieties. J. Agri Sci., 2: 346-334.
4.Bandeh-hagh, A., Toorchi, M., Mohammadi, A., Chaparzadeh, N., Salekdeh, G.H., and Kazemnia, H. 2008. Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. J. Food Agri. Environ., 6: 201-208.
5.Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
6.Cakmak, I. 2005. Alleviates detrimental effects of abiotic stresses in plants J. Plant Nutr., 168: 521-530.
7.Demiral, T., and Turkan, I. 2006. Exogenous glycine betaine affect growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environ. Exp. Bot., 56: 72-79.
8.Diatloff, E., and Rengl, Z. 2001. Compilation of simple spectophotometric techniques for the determination of element in nutrient solutions. J. Plant Nutr., 24: 75-86.
9.Egert, M., and Tevini, M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium choenoprasum*). Environ. Exp. Bot., 48: 43-49.
10.Farajzadeh, D., Yakhchali, B., Aliasgharzad, N., Sokhandan-Bashir, N., and Farajzadeh, M. 2011. Plant indigenous *Azotobacteria* isolated from soils in Iran. J. Curr. Microbiol., 64: 397-403.
11.Ferreira-Silva, S.L., Silveira, J., Voigt, E., Soares, L., and Viegas, R. 2008. Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. Braz. J. Plant Physiol., 20: 51-59.
12.Gad, N. 2005. Interactive effect of salinity and cobalt on tomato plants. II. Some physiological parameters as affected by cobalt and salinity. Res. J. Agric. Biol. Sci., 1: 270-276.
13.Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by- free- living bacteria. J. Microbiol., 41: 109-117.
14.Hamdi, M.A., Shaddad, M.A.K., and Doaa, M.M. 2004. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on *maize* cultivars grown under salt stress conditions. Plant Physiol., 44: 165-174.
15.Han, H.S., and Lee, K.D. 2005. Physiological responses of soybean - inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with PGPR in saline soil conditions. J. Agri. Biol. Sci., 1: 216-221.
16.Hayati1, M., Gholizadeh, A., Fallah, A., and Rezvani, M. 2010. Effects of *Bacillus coagulans* and different sources of phosphate rocks on canola (*Brassica napus* L.) J. Agri. Biol. Sci., 1: 127-136.
17.Hekmat Shoar, H. 1993. Plant physiology in extreme conditions. Tabriz University Press, 251p. (In Persian)

18.Heydari, M., Egyptian, P., and Keikha, G. 2010. Effect of salinity on metabolism of nucleic acids, antioxidant enzymes, chlorophyll fluorescence and osmotic adjustment KnndhHay five cultivars of canola. J. Crop Sci., 5: 502-491.
19.Iturbe-ormaetxe, I., Escuredo, P.R., Arrese-Igor, C., and Becana, M. 1998. Oxidative damage in pea plant exposed to water deficit or paraquat. Plant Physiol., 116: 173-181.
20.Jalili, F., Khavazy, K., and Asadi Rahmani, E. 2011. The effect of adenosine on Svdvmvnas·hay fluorescent enzyme activity ACC-canola growth under saline conditions. J. Soil Sci., 2: 188-175.
21.Kaya, C., Higgs, D., and Kirnak, H. 2001. The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. Bulg. J. Plant Physiol., 27: 47-59.
22.Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenolsulfuricacid method. P 95-97, In: J.A. Hellebust and J.S. Craigie (eds), Handbook of Phycological Methods, Physiol Biochem Methods, Cambridge University Press, Cambridge.
23.Mc Kersie, B.D., and Leshem, Y.Y. 1994. Stress and Stress Coping in Cultivated Plants. P 132-144, In: B.D. McKersie, and Y.Y. (eds), Leshem. Kluwer Academic Publishers, London.
24.Mingeau, M. 1974. Performance of spring rapeseed during drought. J. Agri. Plant Sci., 36: 1-11.
25.Mousavi Nick, M., and Mobser, H.R. 2007. Tensions in Crop and Deal With Them Translation. Shoara. 386p. (In Persian)
26.Munns, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. Plant Cell. Environ., 16: 15-24.
27.Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ., 22: 239-250.
28.Nadeem, S., Zahir, A., Zahir, Naveed, M., Arshad, M., and Shahzad, S.M. 2006. Variation in growth and ion uptake of maize due to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria under salt stress. J. Soil. Environ., 25: 78-84.
29.Netondo, G.W., Onyango, J.C., and Beck, E. 2004. Sorghum and salinity. II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Sci., 44: 806-811.
30.Nezarat, S., and Gholami, A. 2009. The role of double inoculation of Azospirillum and Pseudomonas bacteria in improving nutrient uptake of maize. J. Agri. Ecol., 2: 32-2.
31.Poljakoff Mayber, A., and Lerner, H.R. 1994. Plants in saline environment. P 65-96, In: M. Pessarakli (ed), Handbook of Plant and Crop Stress, Marcel Dekker, Inc., New York.
32.Radfords, P.J. 1967. Growth analysis formulae-Their use and abuse. Crop Sci., 7: 171-175.

33. Sairam, R.K., Rao, K.V., and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Sci., 163: 1037-1046.
34. Salehi Eskandari, B., Khldbryn, B., and Mradshahy, A.S., and Brhm Knsh. 2011. Drought and potassium absorption and transport of K + in both tolerant and susceptible cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.). J. Crop Sci., 3: 60-49.
35. Sundara, B., Natarajan, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane yields. Crop Sci., 77: 43-49.
36. Tipping, E.M., and Zaleska, I. 1987. Growth promotion of canolarap seed seedlings by a strain of (*pseudomonas putida*) undergnotobiotic conditions. Microbiology, 33: 390-395.
37. Vendruscolo, E.C.G., Schuster, I., Pilegg, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J., and Vieira, L.G.E. 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. J. Plant Physiol., 164: 367-376.
38. Zahir, A., Zahir, S.S., Maqshoof, A., Saifullah, A., and Nadeem, S.M. 2012. Comparative effectiveness of *Enterobacter aerogenes* and P*seudomonas fluorescens* for mitigating the depressing effect of brackish water on maize. J. Agri. Biol., 14: 337-344.