نهمین کنفرانس ملی و اولین کنفرانس بین‌المللی فیزیولوژی گیاهی
9th National and 1st International Conference of Plant Physiology
11-13 بهمن 1404، دانشگاه گیلان

اثرات بهبود دهندگی باکتری‌های محرک رشد در گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) مواجه با تنش کروم

عاطفه پراینده داد[1]*، علی گنجعلی[1]، منصور مشرقی[1]
1* گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- رایانامه: atefehp.rad@gmail.com
1 گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- رایانامه: ganjeali@um.ac.ir
1 گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- رایانامه: mashrghi@um.ac.ir

چکیده

آلودگی خاک به کروم شش‌ظرفیتی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان محسوب می‌شود و با اختلال در جذب عناصر غذایی و کاهش فعالیت میکروبی ریزوسفر، موجب افت شدید رشد و نمو گیاه می‌گردد. این پژوهش با هدف بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه *Pseudomonas putida* KT2440 و *Pseudomonas fluorescens* PFG5 در تعدیل اثرات سمی کروم بر گیاه *Silybum marianum* انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح کروم (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و سه سطح تلقیح باکتریایی اجرا گردید. نتایج نشان داد که افزایش غلظت Cr (VI) موجب کاهش وزن تر و خشک اندام‌ها، محتوای نسبی آب برگ (RWC) و شاخص پایداری غشاء (MSI) شد. تلقیح باکتریایی اغلب توانست اثرات منفی ناشی از تنش کروم را کاهش دهد. کاربرد باکتری *P. fluorescens* رشد گیاه را هم در شرایط بدون تنش و هم در تنش خفیف بهبود بخشید. این در حالی است که در تنش‌های متوسط و شدید، کاربرد *P. putida* نقش حفاظتی برجسته‌ای داشت. نتایج نشان می‌دهد که PGPR می‌توانند سلامت سلولی و بقای گیاه را حتی تحت تنش شدید کروم حفظ کنند و ظرفیت رشد و تحمل گیاهان را ارتقا دهند.

مقدمه

صنعتی شدن جوامع بشری باعث شده است که منابع طبیعی با نرخ بی‌رویه ای تخریب شده و محیط زیست آلوده شود (Zulfiqar *et al.*, 2023). فلزات سنگین، به دلیل غیرقابل‌تجزیه بودن، خطرات عمده ای ایجاد می‌کنند. این عناصر پس از ورود به خاک، می‌توانند خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک را تغییر داده، فعالیت موجودات زنده خاک را کاهش دهند و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار دهند. در میان فلزات سنگین، کروم به‌طور گسترده‌ای در صنایع مختلف از جمله دباغی، آبکاری فلزات، رنگ‌سازی، نساجی، معادن، تولید فولاد و صنایع شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. شکل شش‌ظرفیتی آن Cr (VI) به‌عنوان سمی‌ترین و خطرناک‌ترین شکل شناخته می‌شود (Zulfiqar *et al.*, 2023). گیاهان دارویی به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه، اغلب دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری هستند که امکان تحمل بهتر تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین را فراهم می‌کند (Andrzejewska *et al.*, 2015). یکی از گیاهان دارویی مهم خانواده کاسنیان (Asteraceae)، گیاه خارمریم با نام علمی *Silybum marianum* L. Gaertn است که علاوه بر خواص دارویی و سیلی مارین، ویژگی‌هایی مانند رشد نسبی مناسب، سازگاری بالا، آن را به گزینه‌ای عالی برای مطالعات تبدیل کرده است (Andrzejewska *et al.*, 2015). از سوی دیگر، حضور باکتری‌های محرک رشد گیاه در ریزوسفر می‌تواند رشد را به‌طور چشمگیری افزایش دهد. گونه‌های مختلف جنس *Pseudomonas* مانند *Pseudomonas putida* KT2440 و *Pseudomonas fluorescens* PFG5 از مهم‌ترین باکتری‌های مرتبط با گیاه هستند که توانایی‌هایی همچون کاهش Cr (VI) به فرم کم‌خطرتر Cr (III)، تولید اسیدهای آلی، ترشح سیدروفورها، تولید IAA، فعالیت ACCدامیناز و افزایش دسترسی عناصر غذایی را دارند (Ahemad, 2015). در مجموع، بررسی برهم‌کنش میان گیاه خارمریم، تنش کروم شش‌ظرفیتی و باکتری‌های *P. putida* KT2440 و *P. fluorescens* PFG5 می‌تواند منجر به درک بهتر سازوکارهای تحمل گیاه شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی خارمریم (*Silybum marianum*) در خاک آلوده به کروم، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح تلقیح باکتریایی (بدون تلقیح، *Pseudomonas putida* KT2440 و *Pseudomonas fluorescens* PFG5) و چهار سطح آلودگی خاک به کروم (VI)، (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بودند. بذرهای خارمریم جمع‌آوری‌شده از منطقه گرگان پس از استریل و کشت در سینی نشاء حاوی پیت‌ماس، به گلدان‌های پلاستیکی استریل با ظرفیت تقریبی دو کیلوگرم حاوی مخلوط استریل‌شده خاک باغچه و ماسه (۲:۱) منتقل شدند. تلقیح باکتریایی با غلظت معادل یک مک‌فارلند، یک هفته پس از انتقال گیاهچه، در حجم ۱۰ میلی‌لیتر برای هر گیاهچه و در ناحیه ریشه انجام شد. آلودگی کروم دو ماه پس از کشت، با آبیاری گلدان‌ها با محلول پتاسیم دی‌کرومات در غلظت‌های مورد نظر اعمال گردید. گلدان‌ها تا پایان مرحله رویشی در شرایط گلخانه‌ای (دمای ۲۵ ± ۲ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. پس از اتمام دوره رشد رویشی صفات زیر سنجیده شد:

۱.۲.تعیین صفات مورفولوژیکی گیاه شامل وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه

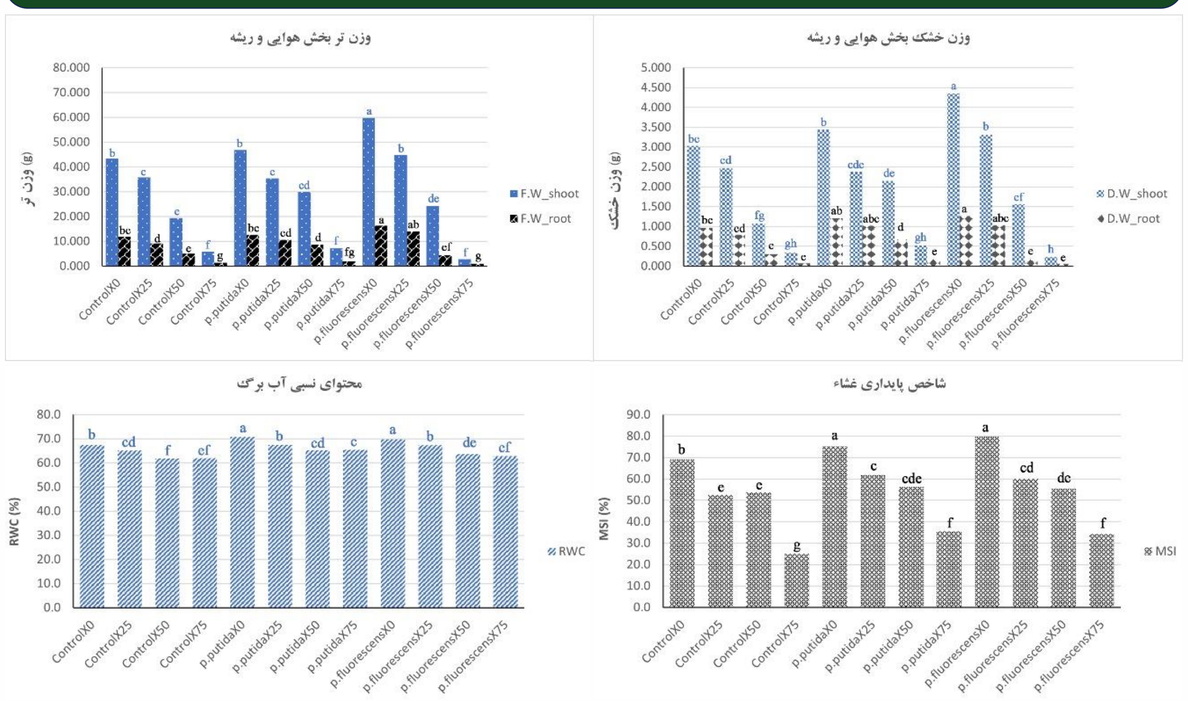
۲.۲. سنجش محتوای نسبی آب برگ (RWC)

۳.۲. سنجش شاخص پایداری غشاء (MSI)

۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 27 و رسم نمودارها به وسیله Excel انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای Duncan در سطح احتمال خطای P≤۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث



وزن تر بخش هوایی:F.W_shoot، وزن تر ریشه:F.W_root، وزن خشک بخش هوایی:D.W_shoot، وزن خشک ریشه :D.W_root
ستون‌های هر صفت که دارای حروف مشترک با سایر ستون‌های همان صفت هستند، در سطح احتمال (P <۰۵/۰) تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

تحلیل واریانس نشان داد که تنش کروم، تلقیح باکتریایی و اثر متقابل آن‌ها تأثیر بسیار معنی‌داری بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه داشت (P <۰/۰۱). به‌طور کلی، نتایج این بخش از آزمایش نشان می دهد که کاربرد باکتری *P. fluorescens* در شرایط بدون تنش و تنش‌های خفیف کروم اثرات بهبود دهندگی مؤثرتری دارد، در حالی‌که باکتری *P. putida* در تنش‌های متوسط و شدید کروم این نقش را ایفا می کند. کاهش چشمگیر زیست‌توده بخش هوایی و ریشه تحت تنش کروم با گزارش‌های پیشین درباره اثرات فیتوتوکسیک Cr (VI) بر رشد و نمو گیاهان هم‌راستا است. تنش کروم فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه، از جمله تعادل آبی، تغذیه معدنی، فعالیت فتوسنتزی و آنزیمی را مختل می‌کند. بهبود رشد تحت تنش کروم توسط هر دو گونه *Pseudomonas* نشان‌دهنده ظرفیت چندوجهی PGPR در ارتقای عملکرد گیاه است. یکی از مکانیسم‌های اصلی، تولید آنزیم ACC دآمیناز است که با تجزیه ACC و کاهش اتیلن ناشی از تنش، مانع مهار رشد ریشه و بخش هوایی می‌شود. PGPR همچنین فیتوهورمون‌هایی مانند IAA را تولید می‌کنند که مستقیماً رشد گیاه را تحریک می‌کنند. تولید IAA موجب طویل شدن ریشه، افزایش ریشه‌های جانبی و بهبود جذب مواد غذایی می‌شود (Ahemad, 2015). کروم و تلقیح باکتریایی، اثرات بسیار معنی داری بر محتوای نسبی آب برگ (RWC) و شاخص پایداری غشاء (MSI) داشتند (P < ۰/۰۰۱). با افزایش غلظت Cr (VI)، RWC و MSI به‌طور تدریجی کاهش یافت؛ تلقیح باکتریایی توانست اثرات منفی ناشی از کروم را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشد، به‌طوریکه گیاهان تلقیح‌شده با *P. putida* و *P. fluorescens* بیشترین مقدار RWC و MSI را داشتند. کاهش RWC و MSI با افزایش غلظت کروم، نشان‌دهنده آسیب گسترده غشایی و اختلال در جذب و انتقال آب است. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، دناتوره شدن پروتئین‌های غشایی، کاهش فشار تورژسانس و اختلال در عملکرد آکواپورین‌ها و هدایت هیدرولیکی ریشه است(Saud *et al.*, 2022). این باکتری‌ها از طریق تقویت سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی و حذف ROS، افزایش اسمولیت‌های سازگار، کاهش دسترسی زیستی Cr (VI) از طریق احیا آن به Cr (III) و تشکیل کمپلکس با EPS، موجب حفاظت از غشاء سلولی می‌شوند(Ahemad, 2015).

منابع

Ahemad, M. (2015). Enhancing phytoremediation of chromium-stressed soils through plant-growth-promoting bacteria. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, *13*(1), 51-58.
Andrzejewska, J., Martinelli, T., and Sadowska, K. (2015). Silybum marianum: non-medical exploitation of the species. *Annals of Applied Biology*, *167*(3), 285-297.
Saud, S., Wang, D., Fahad, S., Javed, T., Jaremko, M., Abdelsalam, N. R., and Ghareeb, R. Y. (2022). The impact of chromium ion stress on plant growth, developmental physiology, and molecular regulation. *Frontiers in plant science*, *13*, 994785.
Zulfiqar, U., Haider, F. U., Ahmad, M., Hussain, S., Maqsood, M. F., Ishfaq, M., Shahzad, B., Waqas, M. M., Ali, B., and Tayyab, M. N. (2023). Chromium toxicity, speciation, and remediation strategies in soil-plant interface: A critical review. *Frontiers in plant science*, *13*, 1081624.