

## استفاده از باکتری‌های مفید خاکزی در مدیریت تولید محصول در شرایط تنش شوری و خشکی از طریق کاهش اتیلن گیاه

هوشنگ خسروی<sup>۱</sup>

استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. khosravi\_1971@yahoo.com

دریافت: بهمن ۱۳۹۳ و پذیرش: شهریور ۱۳۹۴

### چکیده

ایران در یکی از مناطق خشک و نیمه خشک جهان واقع شده است و با توجه به وجود املاح زیاد و شوری موجود در منابع خاک و آب، ارائه راهکارهای مدیریتی در جهت مقابله با این شرایط محدود کننده حاکم بر کشاورزی ضروری می‌باشد. اتیلن هورمون گیاهی مهم برای رشد و نمو طبیعی گیاه است. اما در غلظت‌های زیاد از جمله در شرایط تنش همانند شوری و خشکی موجب بروز مشکل در رشد گیاه می‌شود. بعضی از باکتری‌های محرک رشد گیاه دارای آنزیمی به نام ACC دآمیناز هستند که قادر است پیش ماده اتیلن یعنی ۱-آمینوسیكلوپروپان-۱-کربوکسیلات (ACC) را به آمونیاک و آلفاکتوتوبرات تبدیل و از این طریق موجب کاهش مقدار اتیلن ایجاد شده در اثر تنش در گیاه شود. غربالگری باکتری-های بومی خاک‌های مناطق تحت تنش خشکی و شوری از نظر فعالیت آنزیم ACC دآمیناز، انتقال ژن مذکور به باکتری-هایی که دارای سایر خصوصیات منسوب به محرک رشد هستند و همچنین ایجاد گیاهان تراریخته با ژن ACC دآمیناز از مهمترین اقدامات پیشنهادی برای توسعه پژوهش در این زمینه است. وجود منابع غنی از باکتری‌ها در ریزوسفر گیاهان مناطق خشک و شور و توسعه تحصیلات تکمیلی و تعداد قابل توجه علاقه مندان به این گرایش، چشم‌انداز روشنی فرا روی تحقیقات در این زمینه قرار می‌دهد.

واژه های کلیدی: ACC دآمیناز، کود زیستی، آنزیم.

<sup>۱</sup> - آدرس نویسنده مسئول: کرج، جاده مشکین دشت، بعد از رزکان نو، بلوار امام خمینی (ره)، موسسه تحقیقات خاک و آب .

## مقدمه

حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، تولید سیدروفور، اکسایش بیولوژیک گوگرد، تجزیه سیلیکات‌ها و آزاد-سازی عناصری همچون پتاسیم، آهن و روی می‌باشد. البته در این مقاله رویکرد به سمت موضوع مهم دیگری در رابطه با نقش ریزجانداران مفید خاکزی در تحمل گیاهان به شرایط سخت و تحت تنش می‌باشد. با توجه به اینکه ایران جزء نواحی کم بارش و خشک می‌باشد و گیاه با تنش خشکی رو برو می‌باشد و همچنین با توجه به وجود املاح زیاد و شوری موجود در منابع خاک و آب، ارائه راهکارهای مبتنی بر توسعه پایدار برای تولید محصولات کشاورزی در این شرایط ضروری می‌باشد. هدف از نگارش این مقاله، مطالعه و مروری بر ساز و کار تأثیر ریزجانداران مفید خاکزی دارای توان تولید آنزیم ACC دامیناز و نقش آن در کاهش اتیلن تنشی در محصولات کشاورزی تحت تنش شوری و خشکی و امکان بهره‌مندی از پتانسیل موجود در فلور میکروبی بومی خاک برای مقابله با این شرایط است.

## اهمیت مسئله

از مجموع ۱۸ میلیون هکتار اراضی قابل کشت ایران حدود ۶/۸ میلیون هکتار آنها مبتلا به درجات مختلف شوری هستند (مؤمنی، ۱۳۸۸). بنابراین محدودیت شوری در منابع خاک و آب از جمله شرایط تنشی مهم حاکم بر کشاورزی ایران محسوب می‌شود. تنش بسیار مهم دیگر، تنش رطوبتی و خشکی است. ایران در مناطق خشک و نیمه خشک جهان واقع شده همچنین چند سال متوالی است که ایران با پدیده خشکسالی و کمبود نزولات جوی نیز مواجه شده است. افزایش دمای هوا نیز مشکلات را مضاعف نموده است. خشکسالی در حوزه کشاورزی بیشترین تأثیر را دارد زیرا بیش از ۹۰ درصد آب مصرفی در ایران در بخش کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از طرف دیگر در زمین‌های زیر کشت دیم

باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه یا اصطلاحاً PGPR به گروه وسیعی از باکتری‌های مفید خاکزی اطلاق می‌شوند که وقتی در کنار گیاه به عنوان میزبان رشد می‌کنند رشد گیاه را تحریک نمایند. از مهمترین باکتری‌های این گروه می‌توان به *Azotobacter*، *Bacillus* و *Pseudomonas* اشاره نمود. خاک دارای تنفس، تغذیه، هضم، تولید گرما، رشد و نمو و در نهایت مرگ است. بنابراین خاک یک موجود زنده در نظر گرفته می‌شود. حیات خاک، مرهون وجود تک تک جاندارانی است که در آن زندگی می‌کنند به طوریکه خاک منهای موجودات زنده را بایستی خاک مرده و فاقد حیات نامید. مطالعه ریزجانداران مفید خاک و اثرات متقابل آنها با هم و با خاک، آب و گیاه از مباحث اصلی علم میکروبیولوژی خاک است. از مهمترین اثرات ریز موجودات خاک می‌توان به نقش آنها در چرخه عناصر، حفظ تعادل اکولوژیک خاک، تجزیه سموم کشاورزی، استحکام خاک و زیست-پالایی آلاینده‌های آلی و معدنی اشاره نمود.

از طرف دیگر، یکی از مهمترین نقش‌های ریزجانداران تأثیرات بر رشد گیاهان است، در این رابطه از مهمترین گروه ریزجانداران خاک می‌توان به باکتری‌ها اشاره نمود. باکتری‌ها کوچک‌ترین و فراوان‌ترین ریزجانداران در خاک هستند باکتری‌ها از نظر تعداد در خاک بسیار زیادند، بطوریکه حدود نصف کل ریزجانداران خاک را تشکیل می‌دهند باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه یا اصطلاحاً PGPR به گروه وسیعی از باکتری‌های مفید خاکزی اطلاق می‌شوند که وقتی در کنار گیاه به عنوان میزبان رشد می‌کنند رشد گیاه را تحریک نمایند. از مهمترین باکتری‌های این گروه می‌توان به *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Azotobacter*، *Enterobacter*، *Beijerinckia*، *Azospirillum*، *Herbaspirillum* و *Klebsiella* اشاره نمود. PGPR از طریق اثر بر مورفولوژی ریشه، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این تأثیرات عمدتاً به واسطه تولید هورمون‌های محرک رشد، تثبیت نیتروژن مولکولی هوا، توانایی

بارندگی سالیانه برای رشد بهینه محصول کفایت نمی‌کند. لذا در بیشتر موارد، گیاه با تنش خشکی روبرو است.

### اتیلن تنشی و کاهش رشد گیاه

اتیلن گازی بیرنگ، با چگالی نسبی ۰/۹۷۸ و وزن مولکولی ۲۸/۰۵ با فرمول  $H_2C=CH_2$  است. اتیلن به عنوان یکی از هورمون‌های تنظیم کننده رشد گیاهی محسوب می‌شود که در مراحل رسیدگی میوه، تنظیم سرعت و مقدار ریزش برگ‌ها، فتوسنتز، تنفس، تعرق، جنین‌زایی، ریشه‌زایی، تکامل اندام‌های جنسی و بسیاری خصوصیات دیگر گیاه نقش دارد. همچنین نقش اتیلن در فرآیند گره‌زایی در همزیستی ریزوبیوم-لگوم نیز به اثبات رسیده است (فهیمی، ۱۳۷۶، گریچکو و گلیگ، ۲۰۰۱). معمولاً در شرایط طبیعی اتیلن در بافت‌های گیاه بسیار کم است ولی در شرایطی که گیاه تحت یکی از عوامل تنشی قرار می‌گیرد مقدار اتیلن در گیاه به میزان قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند. این اتیلن تولید شده، اتیلن تنشی نامیده می‌شود. اتیلن تنشی از طویل شدن ریشه و ساقه و گلدهی در گیاهان ممانعت به عمل می‌آورد (بلیکر و کند، ۲۰۰۰). اتیلن از طریق انتشار آزاد در بافت‌های گیاهی حرکت می‌کند و وقتی که غلظت آن در گیاه بسیار زیاد شود چون در شرایط طبیعی به صورت گاز است از گیاه خارج و بر روی گیاهان مجاور نیز اثر می‌گذارد (فهیمی، ۱۳۷۶، گریچکو و گلیگ، ۲۰۰۱). تولید اتیلن به مقدار اکسین موجود در گیاه نیز بستگی دارد.

بزرگ شدن ساقه تحت تأثیر اکسین صورت می‌گیرد و اتیلن از گسترش طولی ساقه جلوگیری می‌کند و باعث توسعه عرضی ساقه می‌گردد به همین سبب به نظر می‌رسد که ساقه متورم شده است. ثابت شده است که اکسین مخصوصاً در غلظت‌های ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرومولار باعث تحریک شدت تنفس و رسیدگی در میوه‌ها می‌شود زیرا به طور غیر مستقیم در تولید اتیلن مؤثر است. هورمون اکسین در غلظت‌های کمتر از ۱۰ میکرومولار باعث تأخیر در رسیدگی میوه می‌شود. مشاهده شده که ۲

و ۴- دی‌کلروفونوکسی (D-۲،۴) که یک ماده بازدارنده رشد گیاه محسوب می‌شود سبب افزایش تولید اتیلن و کندی سرعت رشد گیاه می‌گردد. اگر ساقه گیاهی را به طور افقی روی سطح خاک قرار دهیم اکسین به قسمت پایین ساقه که مجاور خاک است منتقل می‌گردد و در اثر افزایش غلظت اکسین در بخش پایینی، اتیلن تولید می‌شود که به بخش بالایی منتقل می‌گردد. اتیلن در قسمت رأسی (مریستم‌ها) باعث کند شدن رشد در طرف بالایی ساقه و اکسین موجب تحریک رشد در قسمت پایینی ساقه می‌گردد. تفاوت رشد در دو سوی ساقه خوابیده منجر به رشد در جهت بالا در ساقه می‌شود و خمیدگی ایجاد می‌گردد. اگر محل خمیدگی تحت تأثیر گاز کربنیک قرار داده شود، انحناء بوجود نمی‌آید زیرا گاز کربنیک یک ماده بازدارنده اتیلن است. در گزارشی اتیلن در حدود ۰/۰۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم موجب کاهش ۲۵ درصدی عملکرد گندم شده است. از انواع شرایط تنشی در گیاه که موجب افزایش میزان اتیلن می‌شود می‌توان به اثر شوری زیاد خاک، خشکی، غرقاب، سرما و یخبندان، گرما و عوامل بیماری‌زای گیاهی اشاره نمود (آبلس، ۱۹۹۲؛ بلیکر و کند، ۲۰۰۰؛ گلیک و باشان، ۱۹۹۷؛ کلاسن و باگبی، ۲۰۰۰).

### چرخه تولید اتیلن در گیاه

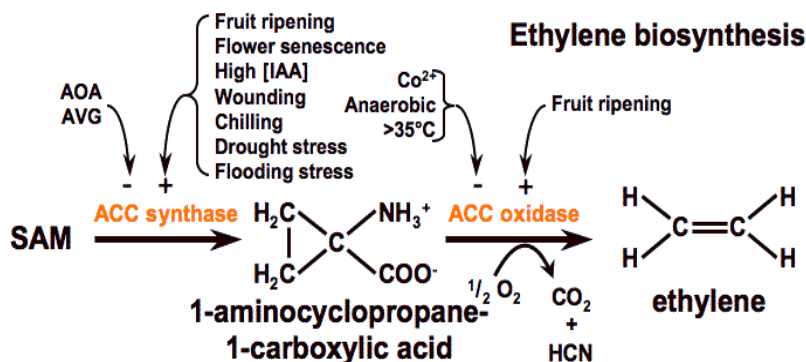
اتیلن از طریق چرخه اس-آدنوزیل-ال متیونین<sup>۲</sup> (S-AdoMet) و ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) از اسید آمینه متیونین تولید می‌شود. تقریباً ۸۰ درصد متیونین توسط آنزیم S-AdoMet سنتتاز سلولی به S-AdoMet تبدیل می‌شود. S-AdoMet عمده‌ترین دهنده گروه متیل در گیاهان است که در بسیاری از مسیرهای بیوشیمیایی گیاه نقش دارد. آنزیم‌های کاتالیزوری ACC سنتتاز و ACC اکسیداز موجب تبدیل ACC به AdoMet و برعکس می‌شوند ACC سنتتاز علاوه بر سنتز ACC موجب سنتز ۵-متیل تیوآدنوزین<sup>۳</sup>

<sup>۲</sup> S-adenosyl-L-methionine

<sup>۳</sup> 5-methylthioadenosine

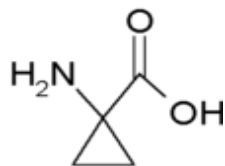
به اتیلن،  $\text{CO}_2$  و  $\text{HCN}$  می‌شود.  $\text{HCN}$  سمی تولید شده نیز به وسیله آنزیم بتا-سیانوآلانین سنتاز به بتا-سیانوآلانین غیر سمی تبدیل می‌شود. این مسئله باعث عدم تجمع  $\text{HCN}$  به هنگام تولید زیاد اتیلن در گیاه می‌شود (بلیکر و کند، ۲۰۰۰؛ جاکوبوویچ، ۲۰۰۲؛ وانگ و همکاران، ۲۰۰۲). در شکل یک چرخه و مسیر سنتز  $\text{ACC}$  و اتیلن در گیاه نشان داده شده است.

(MTA) نیز می‌شود. MTA برای سنتز متیونین جدید از طریق چرخه متیونین تغییر یافته مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مسیر مصرف مجدد، باعث حفظ گروه تیومتیل و صرفه‌جویی در مصرف یک مولکول ATP در هر چرخه می‌شود. بنابراین حتی در مواقعی که مقدار متیونین در گیاه کم است مقدار زیادی اتیلن در گیاه می‌تواند بیوسنتز شود. ACC سنتاز به کوفاکتور پیریدوکسال فسفات نیاز دارد. ACC اکسیداز آنزیمی است که باعث تبدیل ACC



شکل ۱- چرخه سنتز ACC و اتیلن در گیاه

می‌شود که به صورت کریستال‌های جامد سفید رنگ محلول در آب است. فرمول شیمیایی آن  $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_2$  با وزن مولکولی ۱۰۱/۱ گرم بر مول می‌باشد. فرمول ساختمانی ACC در شکل دو نشان داده شده است. (گلیک، ۱۹۹۵؛ گریچکو و گلیک، ۲۰۰۱؛ هونتزیس و همکاران، ۲۰۰۶).



شکل ۲- فرمول مولکولی ACC

#### مدل گلیک در تولید آنزیم ACC دامیناز

ایندول استیک اسید توسط باکتری‌های PGPR در عکس‌العمل به تریپتوفان و سایر مولکول‌های کوچک موجود در ترشحات ریشه‌ای یا بذر، سنتز و ترشح می‌-

#### آنزیم آمینو سیکلوپروپان-۱- کربوکسیلات (ACC) دامیناز

برخی از باکتری‌های PGPR حاوی آنزیمی به نام ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دامیناز می‌باشند که قادر است ACC (۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید) که پیش‌ماده مستقیم اتیلن در گیاهان است را به آمونیوم و آلفاکتوتیرات تبدیل و از این طریق موجب کاهش سطح اتیلن ایجاد شده در اثر تنش شود. در این فرآیند آمونیوم به عنوان منبع نیتروژن برای باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرد. این فرآیند به مدل گلیک معروف شده است. تاکنون وجود آنزیم ACC دامیناز در گیاهان گزارش نشده است. در حالی که ACC در بسیاری از بافت‌های گیاهی تولید شده و به عنوان پیش‌ماده بلافصل اتیلن پذیرفته شده است. افزودن ACC به بسیاری از بافت‌های گیاهی منجر به تحریک و تسریع در تولید اتیلن می‌گردد. ACC به شکل صنعتی نیز ساخته

سویه انتروباکتر به عنوان یک باکتری مؤثر در مقاومت گیاه اوکرا<sup>۴</sup> به شوری معرفی شد.

هادی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند اثر ازتوباکتر به همراه مایع تلقیح سویا در شرایط تنش خشکی موجب افزایش تعداد، وزن تر و خشک گره نسبت به حالت همراه با مایع تلقیح شد. داوودی فر و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد به همراه محلول پاشیبا اسید سیلیسک و اسیدهای آمینه باعث افزایش تحمل به تنش خشکی در گندم می‌شوند که علت آن کاهش میزان تولید بیومارکرهای بیوشیمیایی است که نتیجه آن کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن که تحت تنش خشکی ایجاد می‌گردد می‌باشد که در نتیجه گیاه انرژی کمتری را صرف تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت مقابله با بیومارکرهای بیوشیمیایی می‌نماید. نتایج آزمایش‌های خلیلی و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد که تلقیح سویه‌های برتر از لحاظ تولید ACC دآمیناز و IAA منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد و عملکرد گندم در شرایط بدون تنش نسبت به تیمار شاهد شد.

به منظور بررسی اثر تنش خشکی، کود شیمیایی و کودهای زیستی بر خصوصیات آگروفیزیولوژیک، گلرنگ استفاده از کود زیستی ازتوباکتر و آزوسپیریلوم و تلقیح همزمان موجب افزایش تعداد شاخه جانبی، وزن غوزه، قطر غوزه و عملکرد پروتئین گردید (میرزایی و همکاران، ۱۳۹۳).

در پژوهشی اثر باکتری‌های سودوموناس، باسیلوس و آزوسپیریلوم بر خصوصیات اکوفیزیولوژیک ریحان در شرایط تنش خشکی بررسی و نتیجه‌گیری شد که تلقیح موجب افزایش میزان جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم و کاهش کربوهیدرات و پرولین شد (گلپایگانی، ۱۳۹۰).

گردد که به سطح ریشه یا بذر در حال رشد متصل می‌گردد. مقداری از IAA تازه سنتز شده توسط گیاه جذب و به IAA سنتز شده در درون گیاه ملحق می‌شود که می‌تواند موجب تحریک، تکثیر و یا طولی شدن سلول گیاه گردد. از طرف دیگر IAA می‌تواند فعالیت آنزیم ACC سنتاز را تحریک و آن هم S-آدنوزیل متیونین را به ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات (ACC) تبدیل کند. S-آدنوزیل متیونین که در دیگر واکنش‌های سلولی همچون متیلاسیون و سنتز پلی‌آمین مورد مصرف دارد بطوریکه برگشت مقدار اندکی از آن به سمت ACC، وضعیت تعادلی آن را دچار نقصان نمی‌کند. بخش قابل توجهی از ACC به همراه سایر مواد معمول از دانه‌ها و ریشه‌های گیاه به بیرون ترشح شود. ACC ترشح شده توسط باکتری‌ها جذب و بوسیله آنزیم ACC دآمیناز به آمونیاک و آلفاکتوبوتیرات هیدرولیز می‌شود. جذب و هیدرولیز بعدی ACC در درون باکتری موجب کاهش غلظت ACC در خارج گیاه می‌گردد. به منظور حفظ تعادل بین مقادیر ACC در داخل و خارج گیاه، مقدار بیشتری ACC به بیرون گیاه ترشح می‌شود. در واقع باکتری موجب می‌شود که گیاه مقدار ACC بیش از نیاز معمول خود سنتز کند. در این فرآیند باکتری از آن به عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌کند این عمل موجب می‌شود که به طور مؤثری ترشح این ماده از درون گیاه به بیرون از آن تحریک گردد. کاهش مقدار ACC در درون گیاه موجب کاهش مقدار اتیلن و در نتیجه افزایش طول ریشه و احتمالاً اندام هوایی می‌گردد (گلیک، ۲۰۰۵ و گلیک و همکاران، ۱۹۹۸).

#### پژوهش‌های انجام شده در ایران و جهان

حیب و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی باکتری‌های PGPR دارای آنزیم ACC دآمیناز گزارش دادند یک

نتیجه‌گیری نمودند که ارقام کلزای تلقیح شده با سویه‌های دارای توان تولید آنزیم مذکور دارای میزان جوانه زنی بیشتر نسبت به شاهد و نیز نسبت به جدایه‌های فاقد این آنزیم بودند به طوری که این تفاوتها در شرایط شور بسیار محرز بود.

زهیر و همکاران (۲۰۰۹) تعداد ۱۰ جدایه باکتری از خاک‌های مختلف متأثر از نمک از ریزوسفر گندم جداسازی و در شرایط آزمایشگاهی در شوری‌های با EC، ۱/۵، ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر غربالگری کردند و سپس در شوری‌های مذکور در شرایط گلخانه‌ای بر روی گندم بررسی کردند. نتایج نشان داد *Pseudomonas putida* (N21) شاخص‌های ارتفاع گیاه، طول ریشه، عملکرد دانه، وزن ۱۰۰ دانه، و عملکرد کلش به ترتیب ۵۲، ۶۰، ۷۶، ۱۹ و ۶۷ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. جی و هوانگ (۲۰۰۸)، با تلقیح *Pseudomonas sp. S1* دارای توان تولید آنزیم ACC دامیناز به بذر چاودار مشاهده کردند که تحمل گیاه به تنش شوری به طور قابل توجهی افزایش و در یک دوره رشد ۵۰ روزه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی تحت شرایط تنش شوری به طور معنی‌داری نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش یافت. سراواناکومار و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که *Pseudomonas fluorescens* دارای آنزیم ACC دامیناز در شرایط شور اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد بادام‌زمینی داشته است. چنگ و همکاران، (۲۰۰۷) نشان دادند که تلقیح *Pseudomonas putida* UW4 دارای توان تولید آنزیم ACC دامیناز در حضور نمک به میزان ۱۵۰ میلی‌مول بر لیتر به طور معنی‌داری رشد کلزا را بهبود بخشیده است. سرجیوا و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی کلزای تراریخت با ACC دامیناز در شرایط تنش شوری و اندازه‌گیری وزن خشک و تر گیاه، غلظت پروتئین و مقدار کلروفیل برگ‌ها، گزارش دادند که کلزای تراریخت تحمل بیشتری نسبت به شرایط شور داشته است. گزارش شده که در اثر تلقیح باکتری *Pseudomonas spp.* به ذرت، ارتفاع گیاه، وزن

خسروی و همکاران (۱۳۸۷) اثر سویه‌های ریزوبیوم دارای آنزیم ACC دامیناز بر رشد و جذب عناصر غذایی گندم در شرایط تنش شوری ۷ و ۱۰ دسی-زیمنس بر متر را قابل توجه گزارش دادند. در پژوهشی خسروی و همکاران (۱۳۸۸) تعداد ۳۳۰ سویه باکتری ریزوبیوم بومی خاک‌های ایران از نظر توان تولید آنزیم ACC دامیناز غربالگری و طبقه‌بندی کردند. خسروی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش دادند که تلقیح گندم با ریزوبیوم دارای توان تولید این آنزیم موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی، ارتفاع بوته، محور طولی ریشه، سطح برگ و جذب پتاسیم، مس و منگنز در شرایط تنش خشکی شد. تلقیح باقلا با ریزوبیوم به تنهایی و توأم با ازتوباکتر در شرایط گلخانه‌ای مقدار نسبی آب در برگ را افزایش داد (داشدای و همکاران، ۲۰۱۱). تلقیح با ریزوبیوم و ازتوباکتر باعث افزایش کارایی مصرف آب و مقدار نسبی آب در برگ در شرایط مزرعه‌ای در منطقه بروجرد شد (خسروی و همکاران، ۱۳۹۱). خسروی و همکاران (۲۰۱۴) در یک بررسی مولکولی موفق به جداسازی، کلونینگ و توالی‌یابی ژن مولد آنزیم ACC دامیناز از باکتری‌های بومی شدند. اخگر و همکاران (۱۳۸۷) گزارش دادند که تلقیح کلزا با *Pseudomonas* دارای توان تولید آنزیم ACC دامیناز موجب کاهش اثرات تنشی حاصل از شرایط شور در این گیاه شد. پیش تلقیح نشاءهای گندم با *Bacillus thuringiensis* AZP2 موجب تحمل بیشتر به تنش شدید خشکی شد بطوریکه ۷۸٪ بیوماس بیشتر و پنج برابر بقاء بیشتری در مقایسه با نشاءهای تیمار نشده نشان دادند (عبدل دایم، ۲۰۱۵). ناز و همکاران (۲۰۱۳) اثر سودوموناس دارای آنزیم ACC دامیناز را بر رشد ذرت در دو حالت کود داده شده و بدون کود در شرایط خاک شور بررسی و گزارش دادند در دو حالت مذکور مقاومت گیاه به شرایط شور افزایش یافت. جلیلی و همکاران (۱۳۸۸) اثر سودوموناس‌های فلورسنت دارای فعالیت آنزیم ACC دامیناز در شرایط تنش شوری بر کلزا را در مرحله جوانه زنی بررسی و

انتخابی  $K^+$  و تحمل به تنش می‌شود. ۵- تولید ترکیبات اسموتیکی همانند  $K^+$ ، گلوتامات، ترهالوز ۶- تولید هورمون‌های محرک رشد همانند اکسین‌ها و جیبرلین‌ها که موجب افزایش طول و ریشه‌های موئین و در نتیجه جذب بیشتر آب و عناصر غذایی می‌شوند (گروئر و همکاران، ۲۰۱۱).

#### نتیجه‌گیری

تنش رطوبتی و تنش شوری از عوامل مهم در کاهش رشد گیاهان می‌باشند. بنابراین بررسی راهکارهای مختلف و انجام پژوهش‌های نوین برای افزایش عملکرد محصولات کشاورزی تحت این شرایط تنشی، امری لازم و ضروری است. آنزیم ACC دامیناز که در برخی باکتری‌های خاکزی کشف شده است می‌تواند به عنوان یکی دیگر از سازوکارهای مهم برای غربالگری باکتری‌ها برای مطالعه و بررسی در جهت بالا بردن کیفیت کودهای زیستی برای کاربرد در شرایط تنشی باشد. مطالعه این باکتری‌ها همچنین زمینه دستیابی به ژن *acdS* که ژن مولد این آنزیم است را میسر خواهد نمود (خسروی و همکاران، ۲۰۱۴). ژن مذکور می‌تواند برای ترانسفورم نمودن سایر باکتری‌های مفید خاکزی که خصوصیات مفید دیگری را نیز دارا هستند مورد استفاده قرار گیرد. همچنین ایجاد گیاهان تراریخته بوسیله ژن مولد این آنزیم برای مقاوم نمودن آنها در برابر شرایط نامساعد محیطی از دیگر نتایج پژوهش‌ها در این زمینه است. بنابراین استفاده از مایه تلقیح باکتری‌های دارای فعالیت آنزیم مذکور در گیاهان بویژه محصولات کشاورزی برای مقابله با این تنش‌ها دارای اهمیت است و دستیابی به سویه‌های بومی برتر از نظر توان تولید آنزیم ACC دامیناز در راستای تأمین این نیاز است. لذا چنانچه سویه یا سویه‌هایی از باکتری‌های PGPR دارای مزیت‌های مختلفی باشند می‌توانند اثرات بهتری در رشد گیاه داشته باشند. به عنوان نمونه کاهش اثرات اتیلن تنشی بر روی رشد گیاه می‌تواند

ریشه و وزن کل توده گیاهی به طور معنی‌داری افزایش یافت (شاهارونا و همکاران، ۲۰۰۶). در پژوهشی تأثیر تلقیح گوجه فرنگی و فلفل با باکتری *Achromobacter piechaudii* ARV8 تحت شرایط تنش خشکی بررسی و مشاهده شد که تلقیح، وزن خشک و تر هر دو گیاه را به طور قابل ملاحظه‌ای در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش داد (مایاک و همکاران، ۲۰۰۴). دود و همکاران (۲۰۰۴)، در تحقیقی عکس العمل فیزیولوژیک *Variovorax paradoxus* 5C-2 به تلقیح ۲- گزارش دادند که تلقیح اثرات مثبتی بر عملکرد دانه، بیوماس ریشه و اندام هوایی و سطح برگ و تعرق داشته است.

#### دیگر ساز و کارهای تأثیر ریزجانداران خاک در حمایت از گیاه برای مقابله با تنش خشکی

ریزجانداران خاک علاوه بر استفاده از مزیت آنزیم ACC دامیناز با استفاده از ساز و کارهای دیگری شامل موارد زیر موجب کاهش اثرات تنش بویژه تنش خشکی در گیاهان می‌شوند. ۱- تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی (EPS)<sup>۵</sup> که موجب خاصیت نگه‌دارندگی آب و حالت سیمانی شدن و همچنین نقش حیاتی در تشکیل و پایداری خاکدانه‌ها و تنظیم جریان آب و عناصر غذایی به ریشه گیاه از طریق تشکیل بیوفیلم می‌باشند. ۲- تولید سیتوکینین که موجب افزایش تولید آبسزیک اسید در گیاه شده و در نتیجه روزنه‌ها بسته شده و تبخیر و تعرق گیاه کاهش می‌یابد. ۳- تولید آنتی اکسیدان‌ها که سبب تجزیه اکسیژن‌های غیر واکنشی همانند رادیکال‌های سوپر اکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و پروکسید هیدروژن می‌شود. این رادیکال‌ها موجب تخریب اندام‌های فتوسنتزی و کاهش رشد گیاه می‌شوند. ۴- افزایش تولید پرولین در اثر کاهش خروج الکترولیت‌ها باعث افزایش میزان نسبی آب برگ و جذب

<sup>5</sup> Exopolysaccharides

ایجاد گیاهان تراریخته با ژن مولد ACC دآمیناز برای کشت محصول در شرایط تنشی. بررسی دیگر ساز و کارهای PGPR متناسب به مقاومت به عوامل تنشی.

از طریق استفاده از باکتری‌های دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز حاصل شود.

توصیه برای اقدامات عملی مقابله با تنش شوری و خشکی

### رهیافت ترویجی - تحقیقی

وجود گیاهان شور پسند و گیاهان خودروی رشد یافته در خاک‌های متأثر از شوری و خشکی، به عنوان یک پتانسیل خوب در نظر گرفته می‌شود. بدیهی است خاک ریزوسفری این گیاهان می‌تواند یک منبع غنی برای جداسازی باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه دارای آنزیم ACC دآمیناز باشند. با توجه به توسعه تحصیلات تکمیلی در گرایش بیولوژی خاک و تعداد قابل توجه علاقه‌مندان به ادامه تحصیل در این گرایش، برنامه‌ریزی مناسب پژوهشی در دانشگاه‌ها و مراکز پژوهشی در جهت سوق دادن تحقیقات برای حل معضلات کشاورزی از جمله مقابله با اثرات خشکی و شوری می‌تواند افق روشنی را پیش رو قرار دهد.

بررسی خاک‌های مناطق تحت تنش خشکی و شوری اعم از کشاورزی، مرتعی و جنگلی برای جداسازی باکتری‌های دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز. غربالگری باکتری‌های بومی از نظر وجود و فعالیت آنزیم ACC دآمیناز. مقایسه اثر بخشی سویه‌های برتر از نظر توان آنزیم مذکور بر روی محصولات مختلف در شرایط تنشی عمده از جمله شوری و خشکی. انجام پژوهش‌ها در زمینه بیوتکنولوژی به منظور دستیابی به ژن‌های بومی ACC دآمیناز. ترانسفورم نمودن باکتری‌های بومی دارای سایر خصوصیات منسوب به محرک رشد با ژن‌های استخراج شده.

### فهرست منابع

۱. اخگر، ع. ۱۳۸۷. جداسازی، شناسایی و بررسی باکتری‌های ریزوسفری دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز در کاهش اثرات تنش شوری بر رشد کلزا. رساله دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران. ۱۵۸ صفحه.
۲. جلیلی ف.، ک. خواوازی، ا. پذیرا، ع. شعرای نجاتی، ه. اسدی رحمانی. ۱۳۸۸. تاثیر سودوموناس‌های فلورسنت دارای فعالیت آنزیم ACC دآمیناز در تعدیل اثرات مضر شوری بر کلزا در مرحله جوانه زنی. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، ۲۳(۱): ۹۱-۱۰۶.
۳. خسروی، ه.، ح. علیخانی، ب. یخچالی. ۱۳۸۹. اثر تلقیح سویه‌های *Sinorhizobium meliloti* بومی دارای توان تولید آنزیم ACC دآمیناز بر رشد گندم در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش آب در کشاورزی، ۲۴(۲): ۱۳۱-۱۲۳.
۴. خسروی، ه.، ب. یخچالی و ح. علیخانی. ۱۳۸۸. تعیین پتانسیل تعدادی از ریزوبیوم‌های بومی به عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاه و نقش آنها در کاهش اتیلن تنشی. مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۲(۴): ۶۷۰-۶۶۱.
۵. خسروی، ه.، ح. علیخانی و ب. یخچالی. ۱۳۸۷. بررسی اثر سویه‌های ریزوبیوم دارای آنزیم ACC دآمیناز بر رشد گندم در شرایط تنش شوری. مجله تحقیقات آب و خاک ایران (مجله علوم کشاورزی ایران)، ۳۹(۱): ۹۳-۱۰۳.



۶. خسروی، ه.، م. داشادی، م. شاهوردی، ع. معزی، ح. نادیان، و م. حیدری. ۱۳۹۱ (۱). مطالعه اثر تلقیح باکتری *Rhizobium* و *Azotobacter* بر شاخص‌های رشد باقلا در شرایط تنش آبی. اولین همایش ملی مدیریت آب در مزرعه، ۹-۱۱ خرداد ۱۳۹۱، مؤسسه تحقیقات خاک و آب-کرج.
۷. خسروی، ه.، م. داشادی، م.، م. کوشکی، پ احمدی، ق. الهی، ع. معزی، ح. نادیان و م. حیدری. ۱۳۹۱ (۲). تاثیر تلقیح ریزوبیوم و ازتوباکتر بر رشد و عملکرد باقلا تحت شرایط کم آبیاری در بروجرد. اولین همایش ملی مدیریت آب در مزرعه، ۹-۱۱ خرداد ۱۳۹۱، مؤسسه تحقیقات خاک و آب-کرج.
۸. خلیلی ر. علیخانی، ح.، زارعی م. و رحمت پور س. ۱۳۸۹. بررسی برخی از صفات محرک رشد جدایه‌های بومی باکتری *Pseudomonas fluorescens* متحمل به خشکی و تأثیر آن بر شاخص‌های رشد و عملکرد گندم. تحقیقات آب و خاک ایران، (۱) ۴۳: ۷۴-۶۷.
۹. داوودی فرد م، د. حبیبی، ف. پاکنژاد، ف. فاضلی و پ. فرهان‌پاد. ۱۳۸۹. بررسی تاثیر باکتری محرک رشد و محلول پاشی اسید سالیسیک و اسید آمینه بر روی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان تحت شرایط تنش خشکی در گیاه گندم. زراعت و اصلاح نباتات. (۴) ۱۱: ۳۶-۳۷.
۱۰. فهیمی، ح. ۱۳۷۶. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۷۲ صفحه.
۱۱. گلپایگانی، ا. ۱۳۹۰. اثر تنش خشکی و باکتریهای افزاینده رشد گیاه بر ویژگیهای اکوفیزیولوژیکی ریحان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۱۲. مؤمنی ع. ۱۳۸۸. پراکنش جغرافیایی و سطوح شوری منابع خاک ایران. مجله پژوهش‌های خاک، ۲۴(۳): ۲۱۵-۲۰۳.
۱۳. میرزایی ا.، ر. ناصری، غ. طهماسبی و م. تراب میری. ۱۳۹۳. بررسی اثر تنش خشکی، کودهای شیمیایی و زیستی بر خصوصیات آگروفیزیولوژیک و فنولوژیک در گلرنگ. سیزدهمین همایش علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران و سومین همایش علوم و تکنولوژی بذر ایران. ۴ تا ۶ شهریور ۱۳۹۳، کرج.
۱۴. هادی ح. ا. اصغرزاده، ج.، دانشیان و آ. حمیدی. ۱۳۸۹. تاثیر مایه تلقیح سویا و ازتوباکتر بر گیاهان حاصل از بذرهای سویای تولید شده در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش‌های خاک، ۲۴(۲): ۱۷۷-۱۶۵.
15. Abd El-Daim I.A.M. 2015. Use of Rhizobacteria for the alleviation of plant stress. Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
16. Abeles F.B., P.W. Morgan, M.E. Saltveit. 1992. The biosynthesis of ethylene. In: ethylene in plant biology, 2nd edition, Academic Press, San Diego, 414 pp.
17. Bleeker, A.B. and H. Kende. 2000. Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 16:1-18.
18. Cheng, Z., E. Park and B.R. Glick. 2007. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonaseputida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. Canadian Journal of Microbiology, 53: 912-918.
19. Dashadi, M., Khosravi, H., Moezzi, A. Nadian, H. 2011. Co-Inoculation of *Rhizobium* and *Azotobacter* on Growth Indices of Fababean under Water Stress in the Green House Condition. Advanced Studies in Biology, 3(8): 373-385.
20. Dodd I.C., A.A. Belimov, W.Y. Sobeih, V.I. Safronova, D. Grierson, W.J. Davies 2005. Will modifying plant ethylene status improve plant productivity in water-limited environments? 4th International Crop Science Congress. [http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/1/3/4/510\\_doddicref.htm](http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/1/3/4/510_doddicref.htm) (Accessed at June 17,

21. Glick B.R. and Y. Bashan .1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*. 15:353-378.
22. Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 41:109–117.
23. Glick, B.R., D.M. Penrose, and J. Li. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190: 63–68.
24. Glick, B.R. 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACCdeaminase. *FEMS Microbiology Letters*, 251: 1–7.
25. Grichko, V.P. and B.R. Glick, 2001. Ethylene and flooding stress in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 39: 1-9.
26. Grover, M., Sk.Z. Ali, V. Sandhya, Rasul A., B.Venkateswarlu. 2011. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27:1231–1240.
27. Habib S.H., Kausar H., Saudi H.M. 2016. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in Okra through ROS-Scavenging enzymes. Publishing Corporation BioMed Research International, Article ID 6284547, 10 pages.
28. Hontzeas, N., C.E., Hontzeas, and B.R. Glick. 2006. Reaction mechanisms of the bacterial enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Biochemistry Advances*, 24:420-426.
29. Jakubowicz, M. 2002. Structure, catalytic activity and evolutionary relationships of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, the key enzyme of ethylene synthesis in higher plants. *Acta Biochimica Polonica*. 49(3): 757-774.
30. Ji, Y.X., and X.D. Huang. 2008. Amelioration of salt stress on annual Ryegrass by ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. The 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, 16-18 May 2008. Shanghai. Pp: 4104-4107.
31. Khosravi, H., H.A. Alikhani, B. Yakhchali, A.A. Kharkhane. 2014. Isolation, cloning and sequence analysis of ACC deaminase gene from two native *Sinorhizobium meliloti*. *Iranian Journal of Biotechnology*, 12(3): 51-57.
32. Klassen, S. and B. Bugbi. 2000. Differential sensitivity of crops to ethylene and interactions with elevated CO<sub>2</sub>. *Life Support and Biosphere Science*, 7: 23-83.
33. Mayak, S., T. Tirosh, , and B.R. Glick. 2004. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and pepper. *Plant Science*, 166: 525-530.
34. Naz I., A. Rehim, M. Zafar-ul-Hye, Z. Ahmad Zahir, M. Abid, M. Arif Aliand M. Hussain. 2013. Effectiveness of ACC-deaminase containing *Pseudomonas* strains to induce salinity tolerance in maize under fertilized and unfertilized field conditions. *Soil Environment*. 32(2): 167-172.
35. Saravanakumar, D. and R. Samiyappan. 2007. ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. *Journal of Applied Microbiology*, 102: 1283-1292.
36. Sergeeva, E., S. Shah and B.R. Glick. 2006. Growth of transgenic canola (*Brassica napus* cv. Wester) expressing a bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene on high concentration of salt. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22: 277-282.

37. Shaharoon, B., M. Arshad, Z.A. Zahir, and A. Khalid. 2006. Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 2971-2975.
38. Zahir Wang, K.L.C., H. Li and J.R. Ecker. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *The Plant Cell*, 14 (supplemented): s131-s151.
39. A., Z.U. Ghani, M. Naveed, S.M. Nadeem, H.N. Asghar. 2009. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Arch Microbiol.* 191:415-424.