بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام گندم تلقیح یافته با قارچ *Piriformospora indica* و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به تنش کمبود روی (Zn)

پایان‌نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی

وحیداله جهاندیده مهجن‌آبادی

استاد راهنما

دکتر مژگان سپهری

۱۳۹۲

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته خاکشناسی آقای وحیداله جهاندیده مهجن‌آبادی

تحت عنوان

بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام گندم تلقیح یافته با قارچ *Piriformospora indica* و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه به تنش کمبود روی (Zn)

در تاریخ ۲۳/ ۱۰/ ۱۳۹۲ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان نامه	دکتر مژگان سپهری
۲- استاد مشاور پایان نامه	دکتر امیر حسین خوشگفتارمنش
۳- استاد مشاور پایان نامه	دکتر حمید رضا عشقی‌زاده
۴- استاد داور	دکتر فرشید نوربخش
۵- استاد داور	دکتر پرویز احسان‌زاده
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر محمد مهدی مجیدی

تشکر و قدردانی

ستایشم مخصوص خداوند بی نهایتی است که همواره پیش از آنکه بخوانمش اجابتم می کند.

خدای را شاکرم که آموزگارانی همچون پدر و مادرم که برایم زندگی کردن و انسان بودن را معنا کردند و خواهران و برادران مهربانی که یار و یاور همیشگی من در این عرصه بودند تا در سایه وجود تک تک این عزیزان همواره در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم، در کنارم قرار داد.

از استاد بزرگوار و ارجمندم سرکار خانم مژگان سپهری که در اجرای این پژوهش همواره راهنما و پشتیبان من بود و همچنین آقایان دکتر امیر حسین خوش گفتارنش و دکتر حمید رضا عشقی زاده به خاطر مشورت های ارزشمندشان کمال سپاسگزاری را دارم. از آقایان دکتر فرشید نوربخش و دکتر پرویز احسان زاده که زحمت داوری و باز خوانی این پایان نامه را عهده دار شدند صمیمانه تشکر می کنم.

از اساتید محترم گروه خاکشناسی که افتخار شاگردی شان را داشته ام کمال قدردانی را دارم.

از کارشناسان و پرسنل مرکز کشت بدون خاک و آزمایشگاه های خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان آقایان مهندس شاهسنایی، مللی، رضایی نژاد، رحمتی و صفار و سرکار خانم ها پیرزاده، شمسی و دانش بخش به سبب همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش سپاسگزاری می نمایم.

یاد و خاطره دوستان و همه همکلاسی های مهربانم آقایان رحمانی، فلاح ، شاهمرادی، اسداله زاده، مرادی نسب، مسینی، اسدالهی، شهابی نژاد، کاظمی، علی بخشی، مدرسی، فلاحتی، سلیمان زاده، حقیقی و والایی و خانم ها توانایی و محمدی و سایر دوستانی که ذکر نام یکایک ایشان در این مجال نمی گنجد جاودانه خواهد ماند و برای یکایک آنها آرزوی موفقیت و بهروزی را دارم.

وحیداله جهاندیده

دی ۹۲

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع

این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم،

خواهران و برادران مهربانم که:

دوستت دارم را دلاویزترین شعر جهان در وصفشان یافتم.

آرزویم برایشان زندگی سرشار از شادیست.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... هشت
فهرست شکل‌ها ..... یازده
فهرست جدول‌ها ..... دوازده
فهرست پیوست‌ها ..... سیزده
چکیده ۱

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- روی ۵
۱-۲-۱- نقش روی در سلامت انسان ۵
۱-۲-۲- وضعیت روی در خاک ۶
۱-۲-۳- نقش روی در گیاهان ۶
۱-۲-۴- غلظت بحرانی روی در گیاهان ۹
۱-۲-۵- کمبود روی و عوامل مؤثر بر آن ۹
۱-۳- تنش اکسیداتیو در گیاهان ۱۰
۱-۳-۱- مفهوم تنش ۱۰
۱-۲-۲- گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ۱۰
۱-۳-۳- تولید ROS در سلول‌های گیاهی ۱۰
۱-۲-۴- سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن ۱۱
۱-۴- اثرات ناشی از کمبود روی ۱۵
۱-۴-۱- تولید گونه‌های فعال اکسیژن ۱۵
۱-۴-۲- کاهش فتوسنتز ۱۷
۱-۴-۳- تخریب غشاء ۱۸
۱-۴-۴- تغییر جذب یون‌ها ۱۹
۱-۵- نقش روی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ۲۰
۱-۵-۱- سوپراکسیددیسموتاز ۲۰
۱-۵-۲- آنزیم‌های تخریب کننده H_2O_2 ..... ۲۱
۱-۶- روش‌های رفع کمبود روی ۲۲
۱-۷- روی‌کارایی ۲۲
۱-۸- ریزوسفر ۲۳
۱-۸-۱- برهمکنش میکروبی در ریزوسفر ۲۳
۱-۸-۲- باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) ۲۴
۱-۸-۳- نقش باکتری‌ها در کاهش تنش در گیاهان ۲۴

۱-۹- همزیستی میکوریزی ۲۷
۱-۹-۱- میکوریزای بیرونی ۲۷
۱-۹-۲- میکوریزای درونی ۲۷
۱-۱۰- قارچ *Piriformospora indica* ۲۸
۱-۱۰-۱- معرفی قارچ *P. indica* ۲۸
۱-۱۰-۲- طبقه‌بندی قارچ اندوفایت *P. indica* ۲۸
۱-۱۰-۳- برهمکنش قارچ *P. indica* با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد ۲۹
۱-۱۰-۴- اثرات *P. indica* بر رشد و مقاومت گیاهان به تنش‌ها ۲۹
۱-۱۰-۵- برهمکنش قارچ‌ها، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و گیاهان ۳۰
۱-۱۱- فرضیات و اهداف پژوهش ۳۱

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- کلیات ۳۴
۲-۲- تکثیر و تولید مایه تلقیح قارچ *P. indica* ۳۵
۲-۳- تهیه مایه تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه ۳۶
۲-۴- آماده‌سازی و جوانه‌دار کردن بذرهای گندم ۳۷
۲-۵- کشت گیاه و اعمال تیمارها ۳۷
۲-۶- اندازه‌گیری ویژگی‌های گیاه ۳۹
۲-۶-۱- وزن خشک شاخساره و ریشه ۳۹
۲-۶-۲- رنگ‌آمیزی و بررسی کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ *Piriformospora indica* ۳۹
۲-۶-۳- روی‌کارایی ۴۰
۲-۶-۴- غلظت عناصر غذایی ۴۰
۲-۶-۵- غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه ۴۰
۲-۶-۶- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ۴۱

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- بررسی کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ *Piriformospora indica* ۴۵
۳-۲- وزن خشک شاخساره ۴۷
۳-۳- وزن خشک ریشه ۴۹
۳-۴- روی‌کارایی ۵۰
۳-۵- غلظت و مقدار کل روی شاخساره ۵۲
۳-۶- غلظت آهن شاخساره ۵۵
۳-۷- غلظت فسفر شاخساره ۵۸
۳-۸- غلظت کلروفیل a و b ۶۰
۳-۹- غلظت کاروتنوئید ۶۴

۳-۱۰- فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز ۶۷
۳-۱۱- فعالیت آنزیم پراکسیداز ۶۹
۳-۱۲- فعالیت آنزیم کاتالاز ۷۲

فصل چهارم: نتیجه‌گیری و پیشنهادها
۴-۱- نتیجه‌گیری ۷۶
۴-۲- پیشنهادها ۷۷
پیوست‌ها ۸۰
منابع ۸۶

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- برهمکنش ریزجانداران و گیاه در شرایط تنش ۲۵
شکل ۲-۱- رشد قارچ *P. indica* بر روی محیط کشت پیچیده ۳۵
شکل ۲-۲- ازتوباکتر کروکوکوم (*Azotobacter chroococcum*) ۳۶
شکل ۲-۳- سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) ۳۶
شکل ۲-۴- نمایی از بوته‌های گندم رشد یافته در تیمارهای مختلف، پایان دوره کشت دو ماهه..... ۳۹
شکل ۳-۱- هیف‌های رشد یافته قارچ *P. indica* بر روی ریشه گندم رقم نیک‌نژاد..... ۴۵
شکل ۳-۲- اجسام کروی قارچ *P. indica* بر روی ریشه گندم رقم نیک‌نژاد ۴۶

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- ترکیب محیط کشت قارچ *P. indica* ۳۶
جدول ۲-۲- ترکیب محلول غذایی مورد استفاده ۳۸
جدول ۳-۱- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان) ارقام گندم ۴۸
جدول ۳-۲- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر وزن خشک ریشه (گرم در گلدان) ارقام گندم ۵۰
جدول ۳-۳- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها بر روی‌کارایی (درصد) ارقام گندم ۵۱
جدول ۳-۴- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر غلظت روی شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) ارقام گندم ۵۴
جدول ۳-۵- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر غلظت روی بر مقدار کل روی (میلی‌گرم در گلدان) شاخساره ارقام گندم ۵۴
جدول ۳-۶- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر غلظت آهن شاخساره (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) ارقام گندم ۵۷
جدول ۳-۷- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر غلظت فسفر شاخساره (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) ارقام گندم ۶۰
جدول ۳-۸- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر غلظت کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) ارقام گندم ۶۳
جدول ۳-۹- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) ارقام گندم ۶۴
جدول ۳-۱۰- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر غلظت کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) ارقام گندم ۶۷
جدول ۳-۱۱- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (میکرومول بر گرم وزن تر برگ در دقیقه) ارقام گندم ۶۹
جدول ۳-۱۲- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر گرم وزن تر برگ در دقیقه) ارقام گندم ۷۲
جدول ۳-۱۳- مقایسه میانگین اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت از نظر تغذیه روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز (میکرومول بر گرم وزن تر برگ در دقیقه) ارقام گندم ۷۵

فهرست پیوست‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۳-۱- تجزیه واریانس اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت روی بر صفات مورد بررسی در ارقام گندم ۸۱
جدول ۳-۲- تجزیه واریانس اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها بر روی‌کارایی ارقام گندم ۸۲
جدول ۳-۳- نتایج همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در شرایط کمبود روی..... ۸۳
جدول۳-۴- تجزیه واریانس اثر قارچ، باکتری و برهمکنش آنها در شرایط متفاوت روی بر صفات مورد بررسی در ارقام گندم ۸۴

چکیده

کمبود عنصر روی از شایع‌ترین کمبودهای عناصر غذایی در گیاهان است که به طور گسترده بر تولید غلات و به ویژه گندم تأثیر می‌گذارد. افزایش سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش کارایی سیستم‌های سمیت‌زدایی ممکن است از دلایل اصلی آسیب به عملکردهای مختلف بافت سلولی گیاهان دچار کمبود روی باشند. بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت گندم ایران در مناطق خشک و نیمه‌خشک دچار کمبود روی می‌باشند، بنابراین، افزایش توان گیاهان جهت تحمل کمبود این عنصر، از نظر کاهش افت عملکرد مهم می‌باشد. روشهای بیولوژیک مبتنی بر استفاده از پتانسیل ریزجانداران مفید خاکزی در برقراری روابط همزیستی با گیاهان، می‌تواند با تغییر ساختار ژنتیکی محصولات زراعی و سایر گیاهان، عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش دهد و امکان توسعه کشت آنها را در خاک‌های دچار کمبود روی فراهم آورد. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تلقیح انفرادی و همزمان قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*) و ازتوباکتر کروکوکوم (*Azotobacter chroococcum*) بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم گندم نیک‌نژاد و آزادی در پاسخ به تنش کمبود روی انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه مرکز کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان و با استفاده از بستر کشت مخلوط شن و پرلیت (۲:۱ v/v) انجام شد. نتایج نشان داد که رقم نیک‌نژاد نسبت به رقم آزادی از روی‌کارایی و تحمل به تنش کمبود روی کمتری برخوردار بود. بیشترین وزن خشک شاخساره ارقام گندم در شرایط کمبود و کفایت روی به ترتیب مربوط به تیمار تلقیح انفرادی باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس بود، اگرچه تأثیر این باکتری‌ها در رقم ناکارآمد نیک‌نژاد بارزتر بود. تلقیح انفرادی قارچ *P. indica* و باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس در شرایط کمبود روی، موجب افزایش مقدار کل روی شاخساره رقم نیک‌نژاد شدند اما، تأثیر آنها بر مقدار کل روی رقم شاخساره رقم آزادی قابل توجه نبود. کمبود روی موجب افزایش غلظت آهن شاخساره رقم نیک‌نژاد و غلظت فسفر هر دو رقم گندم شد. بیشترین غلظت عناصر فسفر و آهن شاخساره ارقام گندم در شرایط کمبود و کفایت روی، مربوط به تیمار تلقیح انفرادی قارچ *P. indica* بود. اما، تلقیح انفرادی باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس در هر دو سطح روی، غلظت فسفر شاخساره ارقام گندم را نسبت به عدم تلقیح باکتری، کاهش دادند. همچنین در شرایط کمبود روی، تلقیح انفرادی باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس، غلظت آهن شاخساره رقم نیک‌نژاد را نسبت به عدم تلقیح باکتری، کاهش دادند. بیشترین غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئید رقم آزادی در شرایط کمبود روی از تیمار، تلقیح انفرادی باکتری سودوموناس بدست آمد که از نظر آماری با تیمار تلقیح انفرادی قارچ *P. indica* و نیز تیمار تلقیح همزمان قارچ *P. indica* و باکتری سودوموناس در یک گروه قرار گرفت. درحالی‌که بیشترین غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئید رقم نیک‌نژاد در شرایط کمبود روی، مربوط به تلقیح انفرادی قارچ *P. indica* و تلقیح همزمان قارچ *P. indica* و باکتری سودوموناس بود. تلقیح انفرادی باکتری ازتوباکتر در شرایط کمبود و کفایت روی موجب کاهش غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئید رقم نیک‌نژاد شد. تلقیح انفرادی باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس نقش مهمی در تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز ارقام گندم در پاسخ به تنش کمبود روی ایفا کردند. اما، تلقیح انفرادی قارچ *P. indica* فقط در افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز به ترتیب در ارقام آزادی و نیک‌نژاد موفق عمل کرد. فعالیت آنزیم کاتالاز رقم نیک‌نژاد در شرایط کمبود روی، تحت تأثیر تلقیح میکروبی قرار نگرفت. به طور کلی تلقیح گیاه گندم با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد می‌تواند به عنوان روشی مفید جهت کاهش اثرات مضر تنش کمبود روی، در رقم حساس به کمبود این عنصر استفاده شود.

کلمات کلیدی: کمبود روی، گندم، *Pseudomonas putida*، *Azotobacter chroococcum* و *Piriformospora indica*

فصل اول
مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- مقدمه

عنصر ضروری و کم‌نیاز روی، جزء اصلی ساختمان و کوآنزیم تنظیمی بسیاری از آنزیم‌ها و پروتئین-های چرخه‌های بیوشیمیایی فعال در گیاهان می‌باشد. این عنصر با اتصال به فسفولیپیدها[1] و گروه‌های سولفیدریل موجود در غشاء سلولی، سبب پایداری آن در برابر آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو[2] عوامل تنش‌زا مانند شوری و خشکی می‌شود. کمبود روی در گیاه به دلیل ایجاد اختلال در فرایندهای مختلف سلولی، موجب کاهش شدید رشد و نمو آن می‌گردد. همچنین در گیاهان دارای کمبود این عنصر به دلیل افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی ریشه، ترشح یون‌ها از ریشه افزایش و در نتیجه تحمل گیاه در برابر عوامل بیماریزا کاهش می‌یابد [۴].

کمبود عناصر غذایی کم‌مصرف به ویژه روی، در اراضی زیر کشت غلات یک پدیده متداول در سطح جهانی می‌باشد. زیرا، باوجود تخلیه مقدار قابل توجهی از عناصر کم‌مصرف از خاک، توسط گیاه، به تأمین این عناصر در خاک توجه کافی مبذول نشده است. وجود عوامل متعددی نظیر pH بالا، مقدار زیاد آهک و کمبود مواد آلی در اغلب خاک‌ها به ویژه خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک، موجب

[1] - Phospholipids
[2] - Oxidative stress

کاهش مقدار قابل استفاده عنصر روی در خاک‌های این مناطق شده است [۱۲]. کمبود روی در اغلب زمین‌های زیر کشت گندم، نه تنها موجب کاهش عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای محصول تولیدی شده [۳۶]، بلکه به بروز یکسری نارسایی‌های ناشی از کمبود روی در انسان نیز منجر گردیده است. آلووی و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که حدود ۳۰ درصد از جمعیت جهان از فقر غذایی ناشی از کمبود روی رنج می‌برند [۱۲]. عدم دریافت کافی عنصر روی از طریق غذا به‌ویژه در رژیم‌های غذایی وابسته به غلات و نیز بالا بودن غلظت عوامل بازدارنده جذب این عنصر مانند اسید فیتیک، از جمله دلایل اصلی بروز کمبود روی در انسان می‌باشد.

جهت رفع کمبود عنصر روی راه‌حل‌های مختلفی پیشنهاد شده است. کوددهی، یکی از روش‌های متداول تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشد. اما در اکثر مواقع، به دلیل وجود برخی محدودیت-های زراعی، محیطی و اقتصادی مانند پایین بودن قابلیت استفاده عنصر روی، عدم تعادل عناصر غذای در خاک، کارایی پایین برخی کودها و هزینه زیاد تولید کودهای شیمیایی به ویژه در کشورهای در حال توسعه نظیر ایران، به کارگیری کودهای شیمیایی برطرف کننده کمبود روی به تنهایی، راه‌حل مناسبی جهت رفع کمبود این عنصر نمی‌باشد [۶۷]. راهبرد برنامه‌های تغذیه‌ای تغییر یافته است، به طوری‌که کاهش مصرف کودهای شیمیایی به عنوان یک اصل مهم در برنامه‌های زراعی مورد توجه ویژه قرارگرفته است [۸۳ و ۱۳۵].

امروزه، غنی‌سازی زیستی[1] با بهره‌گیری از فن‌آوری مهندسی ژنتیک و تولید ارقام گیاهی دارای توان بالا در ذخیره‌سازی و جذب عناصر کم‌نیاز از جمله روی در بخش‌های خوراکی خود، به عنوان راهکاری مؤثر و پایدار بسیار مورد توجه قرار گرفته است. همچنین یافتن ارقام گیاهی روی‌کارا که در شرایط کمبود روی از عملکرد بیشتری نسبت به سایر ارقام برخوردار می‌باشند، توجه محققان را به خود جلب نموده است [۸۴، ۸۹ و ۱۵۵].

یکی از اهداف مهم مدیریت حاصل‌خیزی خاک در جهت نیل به کشاورزی پایدار، افزایش قابلیت جذب و دسترسی عناصر غذایی گیاهان و افزایش تحمل آنها به کمبود عناصر غذایی، با بهره‌گیری از کودهای زیستی می‌باشد.

علم بیولوژی خاک با شناخت دقیق ریزجاندران مفید خاکزی و فرایندهای متابولیکی آنها، موفق به تولید کودهای زیستی مؤثر در افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی خاک، بهبود خواص فیزیکی و شیمیایی خاک و بطور کلی افزایش عملکرد شده است. تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه به روش کارآمد، کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیت‌های حیاتی خاک، بهبود کیفیت و حفظ بهداشت محیط زیست و در مجموع حفظ و حمایت از سرمایه‌های ملی(خاک، آب، منابع انرژی غیر قابل تجدید) از

[1] - Biofortification

مهمترین مزیت های کودهای زیستی محسوب می‌شوند [۱۵۵]. باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن مولکولی اتمسفر(دی آزوتروف‌ها)[1]، ریزجانداران حل‌کننده فسفات نامحلول و ریزجانداران تبدیل‌کننده مواد آلی به کمپوست از مهمترین ریزجانداران خاکزی در تهیه کودهای زیستی هستند. این ریزجانداران با انجام فرایندهای مختلف زیستی از قبیل تغییر و تحولات مربوط به چرخه عناصر غذایی در خاک، تثبیت نیتروژن اتمسفر، تجزیه مواد مختلف آلی، تولید مواد محرک رشد گیاه و حفاظت گیاه در برابر عوامل مختلف بیماریزا، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۲۱، ۲۹ و ۱۱۶].

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[2] (PGPR) از دیگر ریزجانداران مفید خاک هستند که از طرق مختلف نظیر تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها[3]، جیبرلین‌ها[4]، جلوگیری از تولید اتیلن، تثبیت بیولوژیک نیتروژن، حل کردن فسفات‌های معدنی، معدنی کردن فسفات‌های آلی و دیگر عناصر غذایی، مقابله با عوامل بیماریزای گیاهی از طریق تولید سیدروفر، ساخت آنتی‌بیوتیک، آنزیم و یا ترکیبات قارچ‌کش و رقابت با ریزجانداران مضر سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان و کیفیت محصول آنها می‌شوند. این باکتری‌ها شامل جنس‌های متعدد باکتری‌ها از جمله *Acinetobacter*، *Alcaligenes*، *Arthrobacter*، *Bacillus*، *Azospirilium*، *Beijerinckia*، *Enterobacter*، *Erwinia*، *Flavobacterium*، *Rhizobium*، *Serrotia*، *Pseudomonas* می‌باشند [۷۶].

همچنین قارچ‌های اندوفایت به عنوان یکی از مهمترین ریزجانداران مفید خاک، با ایجاد تغییرات ژنتیک، فیزیولوژیک و اکولوژیک در گیاهان میزبان خود، عملکرد آنها را در واحد سطح افزایش داده و امکان توسعه کشت آنها را در خاک‌هایی با شرایط نامساعد محیطی و تغذیه‌ای فراهم می‌آورند. قارچ-های آربوسکولار میکوریزا[5] (AMF) از مهم‌ترین قارچ‌های اندوفایت هستند که از اهمیت زیادی در رشد گیاه و پایداری بسیاری از اکوسیستم‌ها برخوردار می‌باشند. این قارچ‌ها، همزیست اجباری هستند و تولید انبوه مایه تلقیح آنها معمولاً با تکثیر قارچ در مجاورت سیستم ریشه‌ای گیاه میزبان مناسب انجام می‌شود [۹۸]. ضرورت وجود میزبان جهت تکثیر این قارچ همزیست، سبب ایجاد مشکلات متعددی در زمینه تولید مایه تلقیح شده است و چالش عظیمی در علم مایکوریزا به وجود آورده است. *Piriformospora indica* از قارچ‌های اندوفایت شبه میکوریزی[6] است که در سال ۱۹۹۸ توسط وارما و همکاران از ریزوسفر دو گیاه خشکی پسند کهور (*Zizyphus nummularia*) و گز (*Prosopis juliflora*) در صحرای تار[7] کشور هندوستان استخراج شد [۱۴۹]. این قارچ برخلاف قارچ‌های AMF به راحتی بر روی

[1] - Diazothoroph
[2] - Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)
[3] - Cytokinins
[4] - Gibberellins
[5] - Arbuscular Mycorrhiza Fungi
[6] - Mycorrhizal-lik fungi
[7] - Thar

محیط‌های کشت مصنوعی رشد می‌کند. به طور کلی، قارچ‌های اندوفایت با برقراری روابط همزیستی با طیف وسیعی از گیاهان میزبان و افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه به عنوان عوامل رشد گیاه محسوب می‌گردد و موجب تحریک و افزایش رشد گیاهان میزبان خود در شرایط طبیعی و دارای تنش می‌گردد [۱۶].

توجه به مطالب مذکور، محققان فعال در زمینه تغذیه گیاه را به استفاده از ریزجاندران مفید خاک در تولید کودهای زیستی به منظور افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی کم‌مصرف به ویژه روی و تحمل آنها در خاک‌های دچار کمبود این عنصر رهنمون می‌سازد. لذا این تحقیق با بکارگیری دو دسته از ریزجانداران مفید خاک شامل باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ اندوفایت *Piriformospora indica* در رفع کمبود نیاز گیاه گندم به عنصر روی و افزایش تحمل آن به شرایط کمبود این عنصر انجام شد.

۱-۲- روی

عناصر روی، آهن، منگنز، بر، مس و مولیبدن، به مقدار کم مورد نیاز گیاهان می‌باشند بنابراین، آنها را عناصر کم‌نیاز گویند [۱۰۴]. ضرورت وجود عنصر روی برای گیاهان حدود ۷۰ سال قبل به طور علمی مشخص شده است. روی به عنوان یک عنصر غذایی در غلظت‌های مختلف اما کم، در اکثر خاک‌ها، گیاهان و حیوانات یافت می‌شود و برای رشد طبیعی آنها لازم است. به طوریکه اگر مقدار قابل دسترس عنصر روی در این موجودات کم باشد، سبب بروز مشکلاتی نظیر کاهش عملکرد گیاه، آسیب به چندین سیستم آنزیمی و اختلال در فرایندهای متابولیکی می‌شود [۱۲].

۱-۲-۱- نقش روی در سلامت انسان

عنصر روی یکی از دو عنصر ضروری شرکت کننده در مجموعه مکانیسم‌های حفاظتی بدن و از عناصر لازم جهت جوش خوردن زخم‌ها می‌باشد. روی انرژی‌زا بوده و نقش آن در سلامت انسان محرز است. این عنصر در ساخت DNA و RNA و متابولیزه کردن کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها، دفع دی‌اکسیدکربن و استفاده بهینه از ویتامین A مورد نیاز می‌باشد. روزانه چندین سلول از بافت‌های مختلف بدن در اثر فرایند جهش‌زایی به سلول‌های سرطانی تبدیل و توسط سیستم ایمنی بدن شناسایی و درنهایت نابود می‌شوند که عنصر روی نقش مهمی را در سیستم تشخیص و رؤیت این سلول‌ها به عهده دارد لذا، پژوهشگرانی که در زمینه بیماریهای سرطانی فعالیت دارند، جهت بهبود و افزایش سیستم ایمنی بدن بیماران سرطانی از داروهای حاوی سولفات روی استفاده می‌کنند. همچنین روی، با افزایش فعالیت آنتی-اکسیدان بدن مانع بروز خستگی زودرس افراد در انجام کارهای روزانه می‌شود [۷].

۱-۲-۲- وضعیت روی در خاک

متوسط غلظت روی در پوسته جامد زمین، ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و محدوده غلظت این عنصر در خاک‌ها بین ۱۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با میانگین ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد.

روی در خاک، به شکل‌های زیر وجود دارد:

- یون آزاد آبپوشانی شده (Zn^{2+}) و کمپلکس‌های آلی روی در محلول خاک؛
- روی جذب سطحی شده و تبادلی در بخش کلوئیدی خاک شامل ذرات رس، ترکیبات هوموسی، هیدروکسیدهای آهن و آلومینیوم؛
- کانی‌های ثانویه و کمپلکس‌های نامحلول موجود در بخش جامد خاک.

منابع قابل استفاده روی در خاک عبارتند از: محلول خاک، روی موجود در محل‌های تبادل کاتیونی، ترکیبات آلی روی در فاز محلول و جامد خاک. توزیع روی در بخش‌های ذکر شده از طریق واکنش-های رسوب و انحلال، فرایندهای تشکیل و تجزیه کمپلکس‌ها، جذب سطحی و رهاسازی کنترل می‌شود. اهمیت هر یک از واکنش‌های مذکور به عوامل مختلفی نظیر غلظت یون آزاد دو ظرفیتی روی و سایر یون‌ها در محلول خاک، نوع و مقدار محل‌های جذب سطحی بخش جامد خاک، غلظت لیگاندهای تشکیل دهنده کمپلکس‌های آلی با روی، pH و وضعیت اکسایش و کاهش خاک بستگی دارد.

غلظت روی در محلول خاک و نیز قابلیت دسترسی این عنصر برای گیاه به طور عمده تحت تأثیر pH محلول خاک و مقدار جذب این عنصر در سطوح رس و مواد آلی خاک است. عنصر روی از طریق انحلال کانی‌های اولیه و ثانویه وارد محلول خاک می‌شود. روی موجود در فاز محلول با فاز تبادلی خاک در تعادل می‌باشد[۱۲].

۱-۲-۳- نقش روی در گیاهان

ریشه گیاهان، فلز روی را به شکل کاتیون آزاد دو ظرفیتی (Zn^{2+}) جذب می‌کند. این عنصر به دلیل نقش کلیدی و مهم در ساخت و فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها، پروتئین‌سازی، متابولیسم کربوهیدرات‌ها، حفظ و پایداری غشاء سلولی، اثر بر هورمون‌های گیاهی و مولکول‌های DNA و RNA، از اهمیت زیادی در فیزیولوژی گیاهان برخوردار است که در ذیل به تشریح هر یک از موارد فوق پرداخته می‌شود:

الف) آنزیم‌ها

عنصر روی، جزء تکمیل‌کننده بسیاری از آنزیم‌ها می‌باشد که در این ارتباط سه وظیفه مهم بر عهده دارد:

- کاتالیزور
- کاتالیزور مشترک
- جزء ساختمانی.

روی به عنوان کاتالیزور در آنزیم‌هایی مثل کربونیک‌آنهیدراز[۱] و کربوکسی‌پپتیداز[۲]، با چهار لیگاند شامل سه لیگاند از اسیدهای آمینه هیستیدین، گلوتامین و آسپاراژین و یک لیگاند که همان مولکول آب است، هم‌آوری می‌شود. اتم‌های روی در آنزیم‌هایی که این عنصر نقش ساختمانی دارد مثل الکل-دهیدروژناز و پروتئین‌های دخیل در تکثیر DNA، با اتصال به گروه‌های سولفور اسید آمینه سیستئین تشکیل یک چهار وجهی بسیار پایدار را می‌دهند. اغلب آنزیم‌های حاوی روی، به جزء آنزیم الکل-دهیدروژناز، تنها دارای یک اتم روی در مولکول خود هستند. تا کنون بیش از ۳۰۰ آنزیم وابسته به روی شناخته شده‌اند. آنزیم سوپراکسیددسموتاز (SOD)[۳] در سالهای اخیر بیشتر مورد توجه محققان می‌باشد که دارای نقش مهمی در حفاظت سلول‌های گیاهی در برابر رادیکال سمی سوپراکسید (O^{2-})[۴] است. اتم روی در ساختار این آنزیم به همراه اتم مس نقش کاتالیزور مشترک را ایفا می‌کند که نتایج تحقیقات نشان دهنده آن است که فعالیت این آنزیم در گیاهان دچار کمبود روی پایین می‌باشد [۱۰۴].

ب- مولکولهای DNA و RNA

روی در ساخت DNA و RNA، ساخت کروماتین و تنظیم جهش ژنی نقش بسزایی ایفا می‌کند. نقش روی در ساخت برخی پروتئین‌های مؤثر در فرایند همانندسازی DNA و نسخه‌برداری ژنی مشخص شده است [۱۰۴]. نقش روی در تنظیم جهش ژنی یکی از موضوعاتی است که در حال حاضر مورد توجه محققان می‌باشد.

ت- پروتئین‌سازی

کمبود روی سبب کاهش پروتئین‌سازی و انباشته شدن اسیدهای آمینه در گیاه می‌شود. نتایج تحقیقات مارشنر و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که در صورت اضافه کردن روی به محیط کشت گیاه، پروتئین‌سازی گیاهان دچار کمبود روی به حالت طبیعی برمی‌گردد [۱۰۴]. نتایج تحقیقات نشان دهنده آن است که در شرایط کمبود روی، غلظت اسیدهای آمینه در برگ‌های گیاه لوبیا، ۶/۵ برابر نسبت به شرایط کفایت روی بود، اما اعمال تیمار روی به مدت ۴۸ یا ۷۲ ساعت سبب کاهش مقدار اسیدهای آمینه و افزایش غلظت پروتئین شد [۱۲] . روی دارای دو نقش اساسی در پروتئین‌سازی می‌باشد بدین صورت که این عنصر جزء ساختاری مولکول‌های ریبوزوم است و در صورت نبود آن، ساختمان ریبوزوم‌ها متلاشی می‌گردد و در صورت بکارگیری روی، بار دیگر ریبوزوم‌ها ساخته می‌شوند. جهت انجام فرایند پروتئین-سازی در مریستم اندام‌های هوائی، بیش از ۱۰۰ میکروگرم روی در هر گرم ماده خشک لازم است که

---

[1] - Carbonic anhydrase
[2] - Carboxy peptidase
[3] - Superoxide dismotase
[4] - Superoxide