نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵، ص. ۷۵۶-۷۵۴

Journal of Plant Protection
Vol. 30, No. 4, Winter 2017, P. 754-756

معرفی گونه‌های باکتریایی اندوفیت *Pseudomonas rhodesiae* و *Acinetobacter* sp. مؤثر بر جوانه‌زنی بذر و شاخص‌های رشدی خیار

فرخنده امینی[۱]- عصمت مهدیخانی مقدم[۲]- ساره بقائی راوری*[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۰۲

چکیده

در تحقیق حاضر کارایی ۴۵ جدایه اندوفیت بر درصد جوانه‌زنی بذر در مرحله اولیه مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین درصد جوانه‌زنی بذر به ترتیب مربوط به جدایه‌های En3 (۹۵ درصد) و En2 (۶۶ درصد) در مقایسه با کنترل می‌باشد. جدایه‌های En1 و En2 نیز بالاترین شاخص ویگور را به خود اختصاص دادند. هفت جدایه انتخابی در مرحله اول، از نظر افزایش پارامترهای رشدی خیار در شرایط گلخانه مورد آزمون قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها در گیاهان تیمار شده با باکتری‌های اندوفیت نشان داد که جدایه En1، افزایش ۶۰٪ طول ریشه و ساقه نسبت به گیاه کنترل را موجب می‌گردد. همچنین با بکارگیری جدایه En6، میزان وزن تر ساقه و ریشه به ترتیب به صورت ۸۴/۶ و ۵۵/۸ ٪ نسبت به شاهد سالم، افزایش یافت. بر اساس نتایج مولکولی، جدایه‌های En1 و En6 منتخب در آزمون گلخانه، به ترتیب متعلق به گونه‌های *Acinetobacter sp.* و *Pseudomonas rhodesiae* می‌باشند. این اولین گزارش از جداسازی این گونه‌ها از خیار در کشور می‌باشد. بررسی‌های تکمیلی جهت کاربرد گونه‌های مذکور به صورت تکی و یا ترکیبی در شرایط گلخانه و مزرعه پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اندوفیت، پارامترهای رشدی، گلخانه

مقدمه

باکتری‌های اندوفیت، باکتری‌هایی هستند که در بافت‌های گیاهی بدون آنکه آسیبی به گیاه وارد کنند؛ زندگی کرده و بر رشد گیاه تأثیر مثبت دارند (۲). این گروه از باکتری‌ها توسط مکانیسم‌های متعدد باعث افزایش رشد گیاهان می‌گردند. گاهی افزایش رشد گیاه بخاطر افزایش جذب مواد معدنی و بهبود دسترسی به آب در گیاه می‌باشد که به واسطه کلونیزه شدن ریشه‌های گیاه توسط اندوفیت‌های باکتریایی ایجاد می‌گردد (۴). تعدادی از اندوفیت‌ها مانند جدایه‌هایی از باکتری‌های *Entrobacter,Azotobacter Azosprillium* و *Pseudomonas* با تولید هورمون رشد مانند اتیلن، اکسین، سیتوکینین و جیبرلین منجر به افزایش رشد گیاه می‌گردند (۸). تقویت گیاه، به طور غیر مستقیم در افزایش مقاومت گیاه در مقابل عوامل بیمارگر نیز مثمر ثمر خواهد بود. با توجه به فقدان تحقیقات لازم در زمینه امکان استفاده از باکتری‌های اندوفیت در القاء رشد گیاه، بررسی حاضر به منظور بررسی کارایی باکتری‌های اندوفیت ریشه خیار، بر بهبود جوانه‌زنی و افزایش شاخص‌های رشدی گیاه خیار انجام پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

جداسازی باکتری‌های اندوفیت و ارزیابی تأثیر آنها بر رشد گیاهچه خیار در شرایط آزمایشگاه

جداسازی باکتری‌های اندوفیت از گلخانه‌های خیار استان خراسان رضوی، طبق روش پارادپا و جنیفر (۲۰۱۳) انجام گرفت (۱۰). آزمون جوانه‌زنی روی بذرهای خیار رقم نگین طبق روش هاشم و الیوسر (۲۰۱۱) صورت پذیرفت (۵). شاخص ویگور با استفاده از فرمول شرح داده شده توسط عبدل باکی و اندرسون (۱۹۷۳) محاسبه شد: شاخص قدرت= (میانگین طول ساقه + میانگین طول ریشه) ×درصد جوانه‌زنی بذر (۱).

تأثیر جدایه‌های باکتریایی منتخب روی شاخص‌های رشدی خیار در شرایط گلخانه و شناسایی مولکولی آنها

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email:s.baghaee@ferdowsi.um.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.v30i4.53913

برای تهیه مایه تلقیح باکتری از روش صدیقی و همکاران (۲۰۰۶) با اندکی تغییر استفاده شد (۱۲). تجزیه و تحلیل داده‌ها در نرم افزار SPSS v.22 با استفاده از آزمون دانکن و درصد احتمال ۵ ٪ انجام گرفت. محصول 16S rDNA-PCR جدایه‌های منتخب، برای توالی‌یابی به شرکت ماکروژن در کره جنوبی ارسال گردید. گونه‌های باکتریایی پس از جستجو در برنامه BLAST در پایگاه اطلاعاتی NCBI، تعیین گردیدند.

نتایج و بحث

تأثیر باکتری‌های اندوفیت بر جوانه‌زنی بذر خیار

بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، در بذور تیمار شده با ۴۵ جدایه باکتریایی اندوفیت، هفت جدایه ذکر شده در جدول ۱ از نظر درصد جوانه‌زنی بذر، تفاوت معنی‌داری را در سطح ۱٪ نسبت به شاهد نشان دادند و نیز دارای بالاترین شاخص ویگور نسبت به سایر جدایه‌های مورد بررسی، هستند.

تأثیر جدایه‌های منتخب باکتریایی اندوفیت بر شاخص‌های رشدی خیار در شرایط گلخانه و شناسایی مولکولی آنها

مقایسه میانگین‌ها در گیاهان تیمار شده نشان داد که جدایه En1 بیشترین افزایش طول ریشه و ساقه را نسبت به شاهد سالم موجب شد. همچنین بیشترین میزان وزن ریشه و ساقه در مورد جدایه En6 نسبت به شاهد سالم ثبت گردید (جدول ۲). بر اساس نتایج توالی‌یابی ژن 16s rDNA، جدایه‌های En1 و En6 منتخب در آزمون گلخانه، با درصد شباهت ۹۹٪ به ترتیب متعلق به گونه‌های *Acinetobacter sp.* و *Pseudomonas rhodesiae* می‌باشند. شماره دسترسی KX851804 و KX851803 به ترتیب برای گونه‌های ذکر شده در بانک ژن ثبت گردید.

جدول ۱- تأثیر جدایه‌های منتخب باکتریایی اندوفیت بر درصد جوانه‌زنی بذر خیار بعد از گذشت ۷ روز در شرایط آزمایشگاه

Table 1- Effect of selective endophyte bacteria on cucumber seed germination after 7 days uder lab conditions

جدایه Isolate	میانگین طول ریشه‌چه (cm) Rootlet length median (cm)	میانگین طول ساقه‌چه (cm) Stem length median (cm)	جوانه‌زنی بذر (٪) Germination (%)	شاخص ویگور Vigor Index
En1	16.5a	14.2a	63.67b	1954.6
En2	16.72a	12.18ab	66b	1949
En3	8.7c	11.17b	95a	1887.7
En4	8.17c	12.6ab	48.67cd	1479.6
En5	5d	6c	64b	704
En6	10.4b	13.8a	56.67bc	1371.4
En7	7.71c	5c	45d	572
Control	4.8d	4.62d	42d	395.6

میانگین‌های که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ درصد می‌باشند

Means in each column followed by the same letter, are not significantly different at %5 probability level, using Duncan test

جدول ۲- تأثیر جدایه‌های منتخب باکتری‌های اندوفیت بر شاخص‌های رشدی خیار بعد از گذشت ٤٥ روز در شرایط گلخانه

جدایه Isolate	طول ریشه Root length	طول ساقه Shoot length	وزن تر ساقه Shoot wet weight	وزن تر ریشه Root wet weight	وزن خشک ساقه Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
En1	22a	17.67a	4.2c	2a	0.78b	0.28a
En2	6d	9.17c	5.87b	0.52c	1.05a	0.04c
En3	15.67b	13.67b	2.55d	0.5c	0.25c	0.04c
En4	9.67c	10bc	6.72a	1.2b	1.2a	0.1b
En5	10.33c	9.67c	3.06	1.36b	0.37c	0.1b
En6	9.67c	8.5c	6.64a	2.33a	1.08a	0.27a
En7	7.33cd	8.33c	4.5c	0.43c	0.57c	0.04c
Control	13bc	10.67bc	5.62b	1.3b	0.96ab	0.1b

میانگین‌های که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن فاقد تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵٪ درصد می‌باشند

Means in each column followed by the same letter, are not significantly different at %5 probability level, using Duncan test

جنس *Acinetobacter* با تولید هورمون، عملکرد شیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و باعث بهبود رشد آنها می‌گردد (۷). تأثیر مثبت جدایه‌های این جنس بر روی افزایش شاخص‌های رشدی گیاه سورگوم شیرین (۹) و گندم (۳) موفقیت آمیز بوده است. از آنجایی که گونه *Acinetobacter* sp. روی افزایش جذب مواد معدنی تأثیرگذار است، کاربرد آن به صورت کود بیولوژیک در کشت

خیار و گوجه فرنگی می‌تواند مفید واقع گردد. همچنین گونه *P. rhodesiae* در افزایش رشد چندین گیاه زراعی از جمله گوجه فرنگی (۱۱) و فلفل (۶) و نیز القاء مقاومت در گیاه مؤثر گزارش شده است و می‌تواند کاندیدای دیگری جهت استفاده در شرایط گلخانه باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بررسی حاضر، جدایه‌های En1 و En6 موجب تسریع در جوانه‌زنی بذر خیار و ارتقاء شاخص‌های رشدی گیاه، در مقایسه با شاهد و سایر جدایه‌ها گردیدند. بررسی‌های تکمیلی جهت کاربرد گونه‌های مذکور به صورت تکی و یا ترکیبی در شرایط گلخانه و مزرعه پیشنهاد می‌شود. این اولین گزارش از جداسازی گونه‌های اندوفیت *Pseudomonas rhodesiae* و *Acinetobacter* sp. از خیار در کشور می‌باشد.

منابع

1- Abdul Baki A.A., and Anderson J.D. 1973. Vigour determination in soybean seed by multiple criteria. Journal of Crop Science, 13: 630-633.
2- Chen C., Bauske E.M., Musson G., Rodriguez-Cabana R., and Kloepper J. 1995. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria. Biological Control, 5: 83–91.
3- Duran P., Acuna J.J., Jorquera M.A., Azcon R., Aredes C., Rengel Z., and De la Luz Mora M. 2014. Endophytic bacteria from selenium-supplemented wheat plants could be useful for plant-growth promotion, biofortification and *Gaeumannomyces graminis* biocontrol in wheat production. Biology and Fertility of Soils, 50: 983–990.
4- Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W.F., and Kloepper J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology, 43: 895-914.
5- Hashem M., and Abo-Elyousr K.A. 2011. Management of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combinations of different biocontrol organisms. Crop Protection, 30: 285-292.
6- Hoon K.S., Cho H. S., Cheong H., Min-Ryu Ch., Kim J.F., and Park S.H. 2007. Two bacterial entophytes eliciting both plant growth promotion andplant defense on pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of Microbiology and Biotechnology, 17: 96-103.
7- Kang S.M., Joo G.J., Hamayun M., Na C.I., Shin D.H., Kim Y.K., Hong J.K., and Lee I.J. 2009. Gibberellin production and phosphate solubilization by newly isolated strain of *Acinetobacter calcoaceticus* and its effect on plant growth. Biotechnology Letters, 31: 277-281.
8- Kuklinsky-Sobral K., Araujo W. L., Mendonça C., Geran L.C., Pískala A,. and Azevedo J.L. 2004. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. Environmental Microbiology, 6: 1244-1251.
9- Mareque C., Taule C., Beracochea M., and Battistoni F. 2015. Isolation, characterization and plant growth promotion effects of putative bacterial endophytes associated with sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L) Moench). Annals of Microbiology, 65:1057-1067.
10- Pradeepa V., and Jennifer M. 2013. Screening and characterization of endophytic bacteria isolated from *Tabernaemontana divaricata* plant for cytokinin production. Advanced Biotech, 13(4): 12-17.
11- Romero F.M., Marina M., and Pieckenstain F.L. 2016. Novel components of leaf bacterial communities of field-grown tomato plants and their potential for plant growth promotion and biocontrol of tomato diseases. Research in Microbiology, 167: 1-12.
12- Siddiqui I.A., Shaukat S.S., Sheikh I.H., and Khan A. 2006. Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22: 641-650.