نشریه دانش آب و خاک / جلد ۲۶ شماره ۴/۲ صفحه‌های ۱۴۹ تا ۱۵۸ / سال ۱۳۹۵

مقایسه اثر سویه وحشی *سودوموناس مندوسینا* و سویه تراریخت با قابلیت تولید ACCدآمیناز بالا بر تحریک جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهان گوجه‌فرنگی و گندم

مریم صدرنیا*[1]، ناتالیا ماکسیماوا[2]

تاریخ دریافت: ۹٤/۰۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۷/۲۷

۱.استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور

۲. پروفسور گروه ژنتیک، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دولتی بلاروس، مینسک، بلاروس

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: msadrnia@yahoo.com

چکیده

آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دآمیناز با کاهش تولید اتیلن در گیاه، سبب افزایش رشد می‌گردد. دراین تحقیق، اثر یک سویه تراریخت *سودوموناس مندوسینا* با توانایی افزایش یافته تولید این آنزیم، بر جوانه‌زنی بذر دو گیاه تکلپه و دولپه در پتری و نیز تحریک رشد در گلدان بررسی شد. ظروف پتری حاوی بذور گیاهان گوجه‌فرنگی و گندم به ۳ گروه ۵ تایی تقسیم شدند.عمق آبیاری کاربردی روزانه ۱۰ میلی لیتر برای هر ظرف و شامل سه تیمار آبیاری با آب مقطر، آب حاوی باکتری وحشی و آب حاوی باکتری تراریخت بوده و به‌تدریج طی ۵ روز صورت گرفت. جهت ارزیابی اثر باکتری روی تحریک رشد گندم و گوجه‌فرنگی، جوانه‌های هم‌اندازه انتخاب و در سه گروه گلدان شامل شاهد، تیمار با باکتری وحشی و تراریخت کاشته شدند. پس از گذشت ۵ هفته از رشد، سه شاخص طول ساقه، طول ریشه و بیومس بررسی گردیدند. در تیمار بذر، طول ساقه جوانه گوجه‌فرنگی تلقیح شده با باکتری تراریخت (تست) ۲±۵۰٪ بیش از طول ساقه شاهد و ۳±۳۱/۲٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی بود. طول ریشه نمونه تست۱±۲۸/٦٪ بیش از شاهد و بیومس تست۳±۳٤/۱٪ بیش از شاهد بود ($p<0.05$). در تلقیح جوانه، طول ساقه گوجه‌فرنگی تست در گلدان۲±۵۰٪ بیش از طول ساقه شاهد و۱±۳۱/۲٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی بود. طول ریشه تست،٤±۲۸/٦٪ بیش از شاهد و بیومس تست نیز۳±۳٤/۱٪ بیش ازشاهد بود($p<۰/۰۵$). باکتری *سودوموناس مندوسینا* تراریخت به‌صورت معنی‌داری سبب تحریک و افزایش رشد بذر و گیاه از نظر طول ساقه، طول ریشه و بیومس گردید. تمام شاخص‌ها اندازه گیری شده در بذر و گیاه گوجه‌فرنگی بیش از گندم بود.

واژه های کلیدی: آمینوسیکلو پروپان کربوکسیلات دآمیناز، تراریخت، *سودوموناس مندوسینا*، گندم، گوجه‌فرنگی

A Comparative Study on the Effects of Wild form and Transformant *Pseudomonas mendocina* With Enhanced ACC Deaminase Production on Seed Germination and Growth of Tomato and Wheat Plants

M Sadrnia[1*], N Maksimava[2]

Received: 31 May 2015 Accepted: 18 October 2016
1-Assistant Prof., Dept. of Biology, Payame noor Univ., I.R. of Iran
2-Prof., Dept. of Genetic, Faculty of Biol., B.S.Univ., Minsk, Belarus
* Corresponding Author, Email: msadrnia@yahoo.com

Abstract

Amino cyclopropane carboxylate (ACC) deaminase enzyme can increase plant growth by reducing the ethylene production in plants. In this study the effect of genetically modified strain of *Pseudomonas mendocina* with enhanced enzyme production property was evaluated on the seed germination of monocots and dicot plants in petries and also on the stimulation of plant growth in pots. Petries containing tomato and wheat seeds were divided into 3 groups of 5. All petries were irrigated with 10 ml of any distilled water, water containing wild and transgenic strains for 5 days, gradually. In stimulating growth study by the bacterium on the growth of tomato and wheat plants, the same-sized plants were selected and divided into three pots groups consisting of control, wild and transgenic. After 5 weeks of growth, stem length, root length and biomass content were assessed. Results of the tests showed that, stem lengths of tomato seedlings inoculated with genetically modified bacteria (test) were 50±2% more than stem lengths of control and 31.2±3% more than the samples inoculated with wild bacteria. Root lengths of the test samples were 28.6±1% more than those of the control and biomass quantities of the test were 34.1±3% more than those of the control ($p<0.05$). Results of the experiments revealed that shoot lengths of test tomatoes in pots were 50±2% more than stem lengths of the control and were 31.2±1% more than stem lengths of the sample inoculated by wild bacteria. The root lengths of the test tomatoes were 28.6±4% more than those of the control and biomass quantities of the test tomatoes were 34.1±3% more than those of the control ($p<0.05$). The results of experiments on seeds and wheat plant inoculated by genetically modified *P. mendocina* revealed that the bacterium significantly promoted the growth and biomass in comparison with the wild samples. All the properties measured on tomato seeds and plants were higher than those of wheat.

Keywords: Amino cyclopropane carboxylate deaminase, *Pseudomonas mendocina*, Transformant, Tomato, Wheat

مقدمه

آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دامیناز (ACC دآمیناز) در سال ۱۹۷۸ در سویه‌های *سودوموناس* کشف شد. در ریزوسفر گیاهان، باکتری‌های گرم منفی مانند *اسینتوباکتر*، *آگروباکتریوم*، *آزوسپیریلوم*، *برادی‌ریزوبیوم*، *بورخولدریا* و غیره فعالیت دارند که از این میان *سودوموناس‌ها* مانند

سودوموناس پوتیدا و *سودوموناس فلورسنس* مطرح می باشند (مارتینز- ویوروز و همکاران ۲۰۱۰، ساهاران و نهرا ۲۰۱۱). این سویه‌ها دارای توانایی بالایی در بهبود رشد و تکامل گیاهان بوده و به همین دلیل هم جزء میکروبهای گروه PGPR (ریزوباکترهای محرک رشد گیاه) محسوب می‌شوند (مواشاشا و همکاران ۲۰۱۳، بلیمُو ۲۰۰۷، شرو و هانکوک ۱۹۸۲).

باکتری‌های محرک رشد گیاهان به روش‌های مستقیم شامل حل کردن فسفر نامحلول، افزایش جذب آهن به کمک ترکیبات سیدروفوری، تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های گیاهی مثل اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها، کاهش اتیلن و روش‌های غیرمستقیم مانند تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیکی، تولید آنزیم‌های لیزکننده دیواره سلولی قارچها و ترکیبات ضدقارچی سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند (ولس چاور و همکاران ۲۰۱٤، احمد و همکاران ۲۰۱۱).

باکتریهای جنس *سودوموناس* قادر به سنتز بیش از ۳۰۰ ترکیب مختلف دارای ویژگی‌های ضدمیکروبی، فیتوهورمون‌ها، رنگدانه‌ها، آنزیم‌ها و ترکیبات تحریک‌کننده سیستم ایمنی گیاهان و افزایش دهنده مقاومت آنان نسبت به عوامل محیطی می‌باشند. توانایی تولید آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دامیناز توسط *سودوموناس‌ها* اثبات شده است (دوبلائر و همکاران ۲۰۰۳، گلیک ۲۰۱۲، وانگ ۲۰۰۰، گلیک و همکاران ۱۹۹۵، پنروز و گلیک ۲۰۰۳، ما ۲۰۰۳). میزان سنتز این آنزیم فاکتور کلیدی در توانایی تحریک رشد گیاهان توسط این باکتری می باشد.

باکتری‌های ریزوسفری آنزیم ACC دآمیناز را که سبب تجزیه آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات می‌شود، تولید می‌نمایند. آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات پیش‌ماده مورد نیاز برای تولید هورمون اتیلن در گیاهان است. با تجزیه آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات، آمونیاک و آلفاکتوبوتیرات تولید می‌شود که به‌عنوان سوبسترا مورد استفاده باکتری قرار می‌گیرد. بنابراین آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلاتی که می‌تواند برای تولید اتیلن مورد استفاده قرار گیرد، تجزیه شده و تولید اتیلن کاهش می‌یابد. محصولات حاصل از تجزیه نیز، مورد استفاده باکتری قرار می‌گیرند که این بیانگر نوعی همکاری بین گیاه و باکتری است.

سودوموناس‌ها با تولید آنزیم آمینوسیکلوپروپان 1- کربوکسیلات دآمیناز ماده آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات را تجزیه می‌کنند (کلی و همکاران۱۹۹۱، هونما و شیمومورا ۱۹۷۸). افت مقدار آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات در گیاه سبب کاهش مقدار اتیلن تولیدی و افزایش شاخص رشدی طول ریشه می‌شود (کارتیاکس و همکاران۲۰۰۳، پتن و گلیک ۱۹۹٦). لذا آنزیم ACC دآمیناز حلقه ارتباطی بین باکتری و گیاه بوده و باعث کاهش تولید اتیلن در گیاه می‌شود. افزایش تولید اتیلن سبب زرد شدن برگها، ریزش گل، پیری زودرس گیاه و غیره می‌گردد (استال ۲۰۱۱، هونتزیس و همکاران ۲۰۰٤ الف و ب).

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهان در ریزوسفر و اطراف ریشه گیاهان قرار گرفته، رابطه‌ای پایدار با آنان برقرار نموده و سبب افزایش بیومس و تحریک رشد ریشه می‌گردند. این باکتری‌ها به‌کمک مکانیسم‌هایی مانند افزایش جذب موادغذایی، تولید مواد محرک رشد مانند آنزیم‌ها، هورمون‌ها، کاهش اتیلن و غیره به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم باعث افزایش رشد شوند (کیم و همکاران ۲۰۱۲، یائو و همکاران۲۰۱۰).

باکتری‌های جنس *سودوموناس* از جمله باکتریهای محرک رشد بوده که تلقیح گیاهان با آنها ضروری و مفید به نظر می رسد(خان 2006). این باکتری‌ها به‌کمک تولید فاکتورهای رشد، بر رشد گیاهان (پتن و گلیک 1996) اثر مثبت می گذارند. طی آزمایشی با تیمار بذر گیاه نخود با باکتری *سودوموناس فلورسنس* و ریزوبیوم به صورت همزمان، افزایش طول ساقه، وزن خشک و طول ریشه

گیاه نسبت به نمونه شاهد، مشاهده شد (دیلیپ کومار و همکاران ۲۰۰۱).

باکتری *سودوموناس فلورسنس* ترکیبات ضدمیکروبی نیز تولید نموده و بدین وسیله می‌تواند عوامل بیماریزای موجود در خاک را کنترل کند. این باکتری همچنین تولید ۲و٤ دی استیل فلوروگلوسینول (دلانی و همکاران ۲۰۰۰) و ماده پیولوتئورین (نواک -تامسون و همکاران۱۹۹۹) کرده و سبب افزایش قدرت جوانه‌زنی و کاهش پوسیدگی بذر می‌شود (هرناندز و همکاران ۱۹۹۵، احمدزاده و همکاران ۲۰۰٤).

اثبات شده است که غیرفعال شدن ژن *acdS* کدکننده آنزیم ACC دآمیناز در باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا* سویه GR12-2 سبب کاهش شدید توانایی تحریک رشد طولی ریشه گیاه یونجه توسط این باکتری می‌شود. گلیک و همکاران طی حدود دو دهه فعالیت در این رابطه اثبات نمودند که این آنزیم در تحریک رشد و تکامل فیزیولوژیکی گیاهان موثر است. آنها افزایش رشد طولی ریشه و تارهای کشنده آن در یونجه در حضور باکتریهای ریزوسفری مولد این آنزیم را اثبات کردند (گلیک ۱۹۹٤، لی ۲۰۰۰).

هدف از این تحقیق ارزیابی اثر سویه تراریخت *سودوموناس مندوسینا* با قابلیت تولید بالای ACC دآمیناز بر جوانه‌زنی بذر و نیز افزایش رشد یک گیاه تک‌لپه‌ای (گندم) و یک گیاه دولپه‌ای (گوجه فرنگی) در مقایسه با سویه وحشی این باکتری می باشد.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های مورد استفاده شامل یک سویه تراریخت از باکتری *سودوموناس مندوسینا* (دارای کپی‌های ژن کلون شده *acdS* انتقال یافته با واسطه ناقل پلاسمیدی) با میزان تولید آنزیم ACCدآمیناز افزایش یافته و نیز سویه وحشی همین باکتری بودند. مشخصات تولید این باکتری تراریخت در جای دیگری (صدرنیا و همکاران ۲۰۱۲) تشریح شده است. برای تهیه مایه تلقیح، از محیط کشت مایع نوترینت براث ۲٤ ساعته هر باکتری که در دمای ۲۸ درجه سلسیوس کشت داده شده بود، استفاده شد.

جهت مطالعه تحریک جوانه‌زنی، بذور گیاهان گوجه فرنگی و گندم، درون محلول $KMnO_4$ نیم درصد به مدت ۳۰ دقیقه استریل شده و سپس توسط آب مقطر استریل شستشو شدند (تپلیتسکایا و همکاران ۲۰۱۱) پس از آن بذرها در پتری دیش‌های استریل روی کاغذ صافی استریل مرطوب قرار گرفتند. جهت خیساندن بذرها، پتری‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند.

در مرحله بعد، پتری‌های حاوی بذر گیاهان گوجه‌فرنگی و گندم به ۳ بخش (هر بخش حاوی ٥ پتری‌دیش) تقسیم شدند. بخش اول به عنوان شاهد با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر (شاهد)، بخش دوم با ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری وحشی *سودوموناس مندوسینا* و بخش سوم با ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری *سودوموناس مندوسینا* تراریخت تلقیح شدند.

سوسپانسیون باکتریایی با استفاده از باکتری‌های وحشی و تراریخت گروه زیست شناسی دانشگاه دولتی بلاروس تهیه شد. برای این کار ابتدا باکتری‌ها در محیط کشت مایع نوترینت براث به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس درون انکوباتور شیکردار همراه با هوادهی کشت شدند. دانسیته محیط کشت حاوی باکتری‌ها مرتبا توسط اسپکتروفتومتر چک شد. وقتی دانسیته باکتری‌ها به $۱/٥\times۱۰^{۸}$ سلول در میلی‌لیتر رسید، محیط کشت را سانتریفوژ نموده، مایع رویی را که حاوی محیط کشت مایع بود، دور ریخته و به همان حجم آب مقطر استریل به باکتری اضافه نموده و باکتری در آب مقطر سوسپانسیون شد. از این سوسپانسیون باکتریایی جهت تیمار بذرها استفاده گردید.

پتری‌ها بمدت ٥ روز در نور طبیعی و دمای اتاق نگهداری شده و پس از این مدت نتایج مورد مطالعه

قرار گرفتند. برای خواندن نتایج، باقیمانده بذر از جوانه و ریشه جدا گشته و سپس طول ریشه و طول ساقه به کمک خطکش و بیومس گیاه به کمک ترازوی AND با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد (صدرنیا و همکاران ۲۰۱۲).

در ادامه تحقیق تحریک رشد گیاهان توسط باکتری، مورد مطالعه قرار گرفت. برای این کار بذرهای گیاه گندم و گوجه‌فرنگی در خاک مرطوب استریل کاشته شدند. پس از گذشت یک هفته از جوانه زدن بذرها، جوانه‌های هم‌اندازه انتخاب شده و در گلدان‌های با حجم ۱۵۰ میلی لیتر که هر کدام حاوی ۱۰۰ گرم خاک بود کاشته شدند.

سه روز پس از کشت، گلدان‌ها به ۳ بخش (هر بخش حاوی ۵ گلدان) تقسیم شدند. بخش اول توسط ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، بخش دوم با ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری وحشی *سودوموناس مندوسینا* با دانسیته $۱/۵\times۱۰^{۸}$ سلول در میلی‌لیتر و بخش سوم توسط ۱۰ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری *سودوموناس مندوسینا* تراریخت با همان دانسیته تیمار شدند.

املاح معدنی خاک مورد استفاده عبارت از N – ۰/۱۵ درصد، P_2O_5 – ۰/۱ درصد، K_2O – ۰/۳ درصد بوده و مقدار مواد آلی آن نیز حدود ۵۰ درصد بود. مقدار رطوبت خاک برابر با ۶۰٪ و pH آن بین ۷- ۵/۶ بود.

پس از گذشت ۵ هفته از رشد گیاهان گندم و گوجه‌فرنگی در شرایط نور طبیعی و دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس)، اثر تلقیح باکتری بر گیاهان مورد مطالعه، بررسی شد. پارامترهای مورد ارزیابی شامل سه شاخص طول ساقه، طول ریشه و بیومس تر نسبت به نمونه شاهد (گیاهان تیمار شده با آب) بودند.

نتایج و بحث

بررسی مقایسه‌ای نتایج جوانه‌زنی بذور گندم و گوجه‌فرنگی در مجاورت باکتری تراریخت و وحشی نشان داد که تیمار بذر گوجه‌فرنگی توسط باکتری *سودوموناس مندوسینا* سبب تحریک و افزایش رشد بذر می‌شود. این افزایش در بذوری که توسط *سودوموناس مندوسینا* تراریخت تیمار شده اند به صورت معنی‌داری بیشتر بود ($p<0.05$). لازم به ذکر است که میزان تولید آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دآمیناز در باکتری تراریخت دو برابر تولید این آنزیم در سویه وحشی است. به‌عبارتی ارتباط مستقیمی بین تحریک رشد جوانه‌ها و میزان تولید آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دآمیناز وجود دارد.

جدول ۱- اثر باکتری وحشی و تراریخت *سودوموناس مندوسینا* تولیدکننده آنزیم ACC دامیناز بر شاخص‌های رشد جوانه بذر گوجه فرنگی.

پارامترهای مورد ارزیابی	تیمار		
	سودوموناس مندوسینا تراریخت	*سودوموناس مندوسینا* وحشی	شاهد
طول ساقه (cm)	۲/۱±۰/۳	۱/۶±۰/۲	۱/۴±۰/۳
طول ریشه (cm)	۳/۶±۰/۳	۳/۱±۰/۳	۲/۸±۰/۳
بیومس (g)	۰/۵۹±۰/۰۷	۰/۵۱±۰/۰۷	۰/۴۴±۰/۰۵

همان‌طور که از نتایج حاصل از اثر باکتری بر بذر گیاه گوجه‌فرنگی در جدول ۱ مشخص است، طول ساقه نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۵۰٪ بیش از طول ساقه نمونه شاهد و حدود ۳۱/۲٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی می‌باشد. طول ریشه نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۲۸/٦٪ بیش از نمونه شاهد و حدود ۱۳/۹٪ بیش از نمونه وحشی است. بیومس نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۳٤/۱٪ بیش از نمونه شاهد و حدود ۱۵/۷٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی می‌باشد.

مشابه آزمایش فوق، آزمایش دیگری بر روی بذر گیاه گندم تکرار شد. همان‌طور که از نتایج جدول ۲ مشخص است طول ساقه جوانه گندم نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۲۷/۵٪ بیش از نمونه شاهد و ۱٦/۵٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی است. طول ریشه نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۲۸٪ بیش از نمونه شاهد و حدود ۸/۰٤٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی است. و بالاخره بیومس نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۲۷/۷٪ بیش از نمونه شاهد و مقدار ۲۰٪ بیش از تلقیح شده با باکتری وحشی می‌باشد.

جدول ۲- اثر باکتری وحشی و تراریخت *سودوموناس مندوسینا* تولیدکننده آنزیم ACC دامیناز بر شاخص‌های رشد جوانه بذر گیاه گندم.

پارامترهای مورد ارزیابی	تیمار		
	سودوموناس مندوسینا تراریخت	*سودوموناس مندوسینا* وحشی	شاهد
طول ساقه (cm)	۳/۳۸±۰/۳	۲/۹۰±۰/۲	۲/٦۵±۰/۳
طول ریشه (cm)	۴/۳±۰/۳	۳/۹۸±۰/۳	۳/۳٦±۰/۳
بیومس (g)	۰/۰۶±۰/۰۷	۰/۰۵±۰/۰۷	۰/۰٤۷±۰/۰۵

اثر دو باکتری با میزان تولید متفاوت آنزیم روی تحریک و افزایش رشد گیاه گوجه نشان داد که طول ساقه نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۵۰٪ بیش از طول ساقه نمونه شاهد و حدود ۳۱/۲٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی می‌باشد. طول ریشه نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۲۸/٦٪ بیش از نمونه شاهد و حدود ۱٦/۱٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی است. بیومس نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۳٤/۱٪ بیش از نمونه شاهد و حدود ۱۵/۷٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت می‌باشد (جدول ۳). در نتیجه بررسی اثر محرک رشدی باکتری *سودوموناس مندوسینا* بر گیاه گوجه در شرایط آزمایشگاهی مشخص شد که گیاهان تلقیح شده توسط باکتری تراریخت از نظر هر سه شاخص طول ساقه، طول ریشه و بیومس نسبت به نمونه‌های کنترل (گیاهان تلقیح شده با باکتری وحشی و گیاهان تلقیح شده با آب) برتری دارند. این امر بیانگر توانایی بالای سویه تراریخت در تحریک رشد گیاه گوجه فرنگی می‌باشد.

جدول ۳- اثر باکتری وحشی و تراریخت *سودوموناس مندوسینا* تولیدکننده آنزیم ACC دامیناز بر شاخص‌های رشد گیاه گوجه فرنگی.

پارامترهای مورد ارزیابی	تیمار		
	سودوموناس مندوسینا تراریخت	*سودوموناس مندوسینا* وحشی	شاهد
طول ساقه (cm)	۱۳/۵±۰/۳	۸/۹±۲/۷	۷/٤±۲/٤
طول ریشه (cm)	۵/۳±۰/٦	٤/۸±۰/۷	۳/۳±۰/۵
بیومس (g)	۰/٦±۰/۰۸	۰/۳±۰/۰۵	۰/۳±۰/۰۵

در مورد گیاه گندم همان‌طور که در جدول ٤ مشاهده می‌شود گیاهان تلقیح شده توسط باکتری تراریخت از نظر هر سه شاخص نسبت به گیاهان تلقیح شده توسط باکتری وحشی و شاهد برتری داشتند. این تفاوت به گونه‌ای است که طول ساقه نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۲۶/۱٪ بیش از نمونه شاهد و حدود ۱٦٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی می‌باشد. طول ریشه نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۱/٦ برابر بیش از نمونه شاهد و ۱/٤ برابر بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی بود. ضمنا بیومس نمونه تلقیح شده با باکتری تراریخت حدود ۲۳/۵٪ بیش از نمونه شاهد و ۱٦/۷٪ بیش از نمونه تلقیح شده با باکتری وحشی است.

جدول ۴- اثر باکتری وحشی و تراریخت *سودوموناس مندوسینا* تولیدکننده آنزیم ACC دامیناز بر شاخص‌های رشد گیاه گندم.

پارامترهای مورد ارزیابی	تیمار		
	سودوموناس مندوسینا تراریخت	سودوموناس مندوسینا وحشی	شاهد
طول ساقه (cm)	۲۹±۰/٦	۲۵±۰/۵	۲۳ ±۰/٤
طول ریشه (cm)	۱۱±۰/۵	۸±۰/۳	۷±۰/۳
بیومس (g)	۰/۲۱±۰/۰۱	۰/۱۸±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/۰۱

نتایج به‌دست آمده نشان می دهند که سویه تراریخت باکتری *سودوموناس مندوسینا* دارای اثر تحریک رشدی روی گیاه گوجه‌فرنگی و به مقدار کمتر بر گیاه گندم می‌باشد. در مقایسه گیاهان تلقیح شده توسط باکتری تراریخت با گیاهان شاهد (تیمار شده توسط آب) درمی‌یابیم که طول ساقه این گیاهان ۱/۸ برابر، طول ریشه آنان ۱/٦ برابر و بیومس آنها ۲ برابر شاهد می‌باشد. اگر گیاهان تلقیح شده با باکتری تراریخت را با گیاهان تلقیح شده توسط باکتری وحشی مقایسه نماییم متوجه می‌شویم که طول ساقه ۱/۵ برابر، طول ریشه ۱/۱ برابر و بیومس ۲ برابر افزایش پیدا کرده است.

اثر تحریک رشدی باکتری تراریخت روی گیاه گندم کمتر از اثر آن روی گیاه گوجه‌فرنگی بوده است. همین نتایج در مورد تأثیر روی بذر هر دو گیاه نیز مشاهده گردید. این تفاوت به گونه‌ای است که وقتی گیاه گوجه‌فرنگی توسط باکتری تراریخت تیمار شد، طول ساقه آن به ۱/۸ برابر افزایش یافت این در حالی است که در همین شرایط طول ساقه گندم فقط ۱/۳ برابر افزایش یافت. این اختلاف به‌خصوص وقتی بیومس این

گیاهان با هم مقایسه می‌گردد خودنمایی می‌کند. بدین ترتیب که در گوجه‌فرنگی بیومس ۱۰۰٪ و در گندم تنها ۱۶/۷٪ افزایش یافت.

میزان تولید آنزیم ACC دامیناز در باکتری تراریخت بیشتر از باکتری وحشی است (نتایج چاپ نشده). تفاوت اثر تحریک رشدی باکتری‌های تراریخت و وحشی نشانگر وابستگی این اثر به میزان ترشح آنزیم ACC دامیناز و میزان فعالیت این آنزیم می‌باشد. این شواهد نشان می‌دهند که آنزیم ACC دامیناز تولید شده توسط باکتری *سودوموناس مندوسینا* سطح هورمون اتیلن را در ناحیه ریشه‌ای گیاهان کاهش داده و در نتیجه از اثر منفی آن بر گیاه کاسته و سبب تحریک رشد و تکامل گیاهان می‌گردد.

بررسی دیگری توسط جلیلی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در خصوص تأثیر *سودوموناس فلورسنت* دارای فعالیت آنزیمACC دآمیناز بر شاخص‌های رشد کلزا در سطوح مختلف شوری انجام گرفت. نتایج نشان داد که تلقیح گیاه با *سودوموناس* در تعدیل اثرات مضر شوری در دوره رشد رویشی و زایشی کلزا موثر بوده است.با افزایش میزان شوری، شاخص‌های مختلف حیاتی گیاه کاهش ولی مقاومت روزنه‌ای افزایش یافت. مقایسه میانگین نتایج حاصل نشان می‌دهد که باکتری‌ها، شاخص‌های رشد گیاه را در شرایط شوری به طور معنی‌داری بهبود داده‌اند. نتایج جلیلی با نتایج تحقیق حاضر در تأثیر باکتری مولد آنزیم ACC دآمیناز هم‌خوانی دارد.

یاداو و همکاران (۲۰۱۰) با آزمایشاتی روی گیاه نخود در شرایط in vitro متوجه شدند که بیشترین طول ریشه و ساقه در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا* و *سودوموناس ائروجینوزا* و بیشترین وزن خشک ریشه و ساقه در گیاه تلقیح شده با باکتری *سودوموناس ائروجینوزا* مشاهده می‌شود.

نوماوو و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی جوانه‌زنی بذر ذرت، بیشترین درصد جوانه‌زنی را هنگام تلقیح توام بذور با *سودوموناس پوتیدا* و *سودوموناس فلوروسنس* مشاهده نمودند. تیمار توام گیاه با *سودوموناس فلوروسنس* و *سودوموناس پوتیدا* وزن خشک اندامهای هوایی را نیز افزایش می دهد.

معین زاده و همکاران (۲۰۱۰) حین تحقیق روی بذور گیاه آفتابگردان دریافتند که *سودوموناس فلوروسنس سویه UTPf76* و *سودوموناس فلوروسنس* سویه *UTPf86* باکتریهای مناسبی جهت افزایش رشد گیاهچه می‌باشند. دادسون و همکاران (۱۹۸٤) و غلامی و همکاران (۲۰۰۹) دریافتند که تلقیح سویا با باکتری *ریزوبیوم جاپونیکوم* و ذرت با *سودوموناس پوتیدا* موجب افزایش ارتفاع گیاه، وزن دانه و وزن خشک کل نسبت به همین شاخص‌ها در گیاه شاهد می گردد.

رمضانیان (۱۳۸٤) طی تحقیق روی اثر آنزیم ACC دآمیناز بر گیاه گندم دریافت که گندم تیمار شده با باکتری‌های ریزوبیومی تولیدکننده آنزیم ACC دامیناز دارای طول ساقه، طول ریشه و وزن خشک بیشتری نسبت به شاهد می‌باشد.

واگار و همکاران (۲۰۰٤) با تحقیق روی اثر باکتری‌های مولد ACC دآمیناز بر گیاه گندم دریافتند که باکتریهای ریزوسفری تولیدکننده ACC دآمیناز مقدار کاه، دانه، طول و وزن ریشه در گیاه و جذب املاحی مانند پتاسیم، نیتروژن و فسفر را در دانه نسبت به نمونه های کنترل به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهند. به نظر می‌رسد که این اثرات مثبت در نتیجه تیمار گیاه با باکتری مولد ACC دآمیناز و در نتیجه کاهش مقدار هورمون اتیلن می‌باشد.

اثر متفاوت تحریک رشدی باکتری بر گیاهان گندم و گوجه‌فرنگی موید نتایج منتشر شده در مقالات دیگر درباره حساسیت بیشتر گیاهان دو لپه مانند گوجه

فرنگی و تنباکو نسبت به هورمون اتیلن در مقایسه با گیاهان تک‌لپه مانند برنج و گندم می‌باشد.

سویه *سودوموناس مندوسینا* تراریخت سبب افزایش اندازه و بیومس جوانه بذر گوجه‌فرنگی به میزان ۱/۵-۱/۳ برابر و اندازه و بیومس گیاه گوجه‌فرنگی به میزان ۲-۱/٦ برابر شده است. اثر این باکتری از نظر همین شاخص‌ها بر جوانه بذر گندم به میزان ۱/۳ برابر و بر گیاه ٥ هفته‌ای به میزان ۱/۵-۱/۲ برابر می‌باشد که میزان تأثیر کمتری را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری کلی: با توجه به نتایج این تحقیق، اثبات گردید که تحریک رشد بذر گندم توسط *سودوموناس مندوسینا* تراریخت کمتر از اثر تحریک رشدی آن بر بذر گوجه‌فرنگی می‌باشد. این باکتری سبب افزایش طول ساقه گوجه به مقدار ۵۰٪ شده درحالیکه افزایش رشد ساقه گیاه گندم تحت تأثیر این باکتری فقط حدود ۲۷/۵٪ است.

نتایج مشخص نمودند که تیمار بذر و گیاه گوجه‌فرنگی و گندم توسط باکتری تراریخت *سودوموناس مندوسینا* به‌صورت معنی‌داری سبب تحریک و افزایش رشد بذر و گیاه می‌گردد.

منابع مورد استفاده

رمضانیان ع، ۱۳۸٤. نقش باکتر ی‌های ریزوبیومی مولد آنزیم ACC دآمیناز در تعدیل اثرات سوء اتیلن استرسی در گیاه گندم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد خاکشناسی دانشگاه تهران. دانشکده مهندسی آب و خاک.

جلیلی ف، خاوازانی ک و اسدی رحمانی ه، ۱۳۹۰. تأثیر سودوموناس فلورسنت با فعالیت آنزیم ACCدامیناز بر شاخص‌های رشد کلزا در شرایط شوری. مجله دانش آب و خاک جلد ۲۱ شماره ۲ صفحه های ۱۷۵ تا ۱۸۸.

Ahemad M and Khan MS, 2011. Functional aspects of plant growth promoting rhizobacteria. Recent advancements. Insight Microbial. (3): 39-54.

Ahmadzadeh M, Sharifi Tehrani A and Talebi Jahromi Kh, 2004. Study on production of some antimicrobial metabolites by *fluorescent pseudomonads*. Iranian Journal of Agricultural Sciences 35: 731-739.

Belimov AA, 2007. *Pseudomonas brassicacearum* strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-l-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato. Journal of Experimental Botany 58: 1485–1495.

Cartieaux FP, Nussaume L and Robaglia C, 2003. Tales from the underground: molecular plantrhizobacteria interactions. Plant Cell and Environment 26: 189-199.

Dadson RB and Acquaah G, 1984. *Rhizobium japonicum*, nitrogen and phosphorus effects on nodulation, symbiotic nitrogen fixation and yield of soybean (Glycine max (L.) Merrill) in the Southern Savanna of Ghana. Field Crops Research 9: 101-108.

Delany I, Sheehan MM, Fenton A, Bardin S, Aarons S and O'Gara F, 2000. Regulation of production of the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol in *Pseudomonas fluorescens* F113 genetic analysis of *phlF* as a transcriptional repressor. Microbiology 146: 537-546.

Dileep Kumar SB, Berggren I and Martensson AM, 2001. Potential for improving pea production by coinoculation with Fluorescent *Pseudomonas* and Rhizobium. Plant and Soil 229: 25-34.

Dobbelaere S, Vanderleyden J and Okon Y, 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences 22: 107-149.

Gholami A, Shahsavani S and Nezarat S, 2009. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of Maize.World Academy of Science, Engineering and Technology 49: 1924.

Glick BR, 1994. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhyzobacterium *Pseudomonas putida* GR 12-2 do not stimulate canola root elongation. Canadian Journal of Microbiology 40: 911–915.

Glick BR, 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica (Cairo). Epub 1-15.

Glick BR, Karaturović A, Newell DN and Novel PC, 1995. Procedure for rapid isolation of plant growth-promoting pseudomonads. Canadian Journal of Microbiology 41: 533–536.

Hernandez AN, Hernandez A and Heydrich, M, 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. Cultivos Tropicales 6: 5-8.

Honma M and Shimomura, T, 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Agricultural Biology and Chemistry 42: 1825-1831.

Hontzeas N, Hontzeas CE and Glick BR, 2004a. Reaction mechanisms of the bacterial enzyme 1-aminocyclopropane-1- carboxylate deaminase. Biotechnology Advances 24: 420–426.

Hontzeas N, Saleh S and Glick BR, 2004b. Changes in gene expression in canola roots induced by ACC-deaminase-containing plant-growth-promoting bacteria. Molecular Plant-Microbe Interactions 17: 865–871.

Li J, 2000. An ACC deaminase minus mutant of *Enterobacter cloacae* UW4 no longer promotes root elongation. Current Microbiology 41: 101–105.

Ma W, 2003. Prevalence of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase in *Rhizobium spp*. Antonie Van Leeuwenhoek 83: 285–291.

Martinez-Viveros O, Jorquera MA, Crowley DE, Gajardo G and Mora ML, 2010. Mechanisms and practical considerationsinvolved in plant growth promotion by rhizobacteria. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 10: 293 –319.

Moeinzadeh A, Sharif-Zadeh F, Ahmadzadeh M and Heidari Tajabadi F, 2010. Biopriming of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed with *Pseudomonas fluorescens* for improvement of seed invigoration and seedling growth. Australian Journal of Crop Science 4(7): 564-570.

Mwashasha RM, Hunja M, Akio T and Esther MK, 2013. Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters. Springerplus 2: 606.

Noumavo PA, Kochoni E, Didagbé YO, Adjanohoun A, Allagbé M, Sikirou R, Gachomo EW, Kotchoni SO and Baba-Moussa L, 2013. Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development. American Journal of Plant Sciences 4: 1013-1021.

Nowak-Thompson B, Chaney N, Wing JS, Gould SJ and LoperB JE, 1999. Characterization of the pyoluteorin biosynthetic gene cluster of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. Journal of Bacteriology 181: 2166-2174.

Patten C, and Glick BR, 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Canadian Journal of Microbiology 42: 207-220.

Penrose DM, Glick BR, 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing PGPR. Physiologia Plantarum, 118: 10–15.

Kim J, Rebecca L, Wilson J, Case B, Brad M, Binder A, 2012. Comparative Study of Ethylene Growth Response Kinetics in Eudicots and Monocots Reveals a Role for Gibberellin in Growth Inhibition and Recovery. Plant Physiology 160: 1567-1580.

Khan AG, 2006. Mycorrhizoremediation-an enhanced form of phytoremediation. J Zhejiang Univercity Science Biology 7 (7): 503-514.

Klee HJ, Hayford MB, Kretzmer KA, Barry GF, and Krishore GM, 1991. Control of ethylene sysnthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. Plant Cell 3: 1187-1193.

Sadrnia M, Maksimava N, Khromsova E, Stanislavich S, Owlia P and Arjomandzadegan M, 2012. Cloning of the gene encoding the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase to *E.coli* and study of its expression. Minerva Biotecnologica 24(4): 123-8.

Saharan BSa and Nehra V, 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. Life Sciences and Medicine Research 19-21.

Schroth MN and Hancock JD, 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. Science 216: 1376–1381.

Staal M, 2011. Apoplastic alkalinization is instrumental for the inhibition of cell elongation in the *Arabidopsis* root by the ethylene precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Plant Physiology, 155(4): 2049–2055.

Teplitskaya L, Yurkova I, Sidyakin A and Zhupanov I, 2011. Receipt of callus cultures of M. officinalis and them cytomorphological features. Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University 2: 284-290.

Vleesschauwer DD, Jing Xu and HofteMaking M, 2014. Sense of hormone-mediated defense networking: from rice to *Arabidopsis* Front. Plant Science 5.

Wagar A, Shahroona B, Zahir ZA and Arshad M, 2004. Inoculation with Acc deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat. Pakistan Journal of Agricultural Sciences 41: 119-124.

Wang C, 2000. Effect of transferring 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 and its *gac*A derivative CHA96 on their growth-promoting and disease-suppressive capacities. Canadian Journal of Microbiology 46: 898–907.

Yadav J, Verma JP and Tiwari, KN, 2010. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Seed Germination and Plant Growth Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under in Vitro Conditions. In Biological Forum-Annual of International Journal 2: 15-18.

Yao L, Wu Z, Zheng Y, Kaleem I and Li C, 2010. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. European Journal of Soil Biology 46: 49-54.