The University of Tehran Press

Iranian Journal of Plant Protection Science

Online ISNN: 2008-4781

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

Modulation of H2O2 produced by wheat plant using *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 under *Fusarium pseudograminearum* crown and root rot disease

Niloufar Mohammadi Fesharaki[1], Keivan Behboudi[2]✉, Majid Talebi[3]

1. Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: nilofar.mohammadi@ut.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Plant Protection, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: behbodi@ut.ac.ir
3. Department of Biotechnology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. E-mail: mtalebi@iut.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 7 October 2023

Revised: 18 December 2023

Accepted: 21 December 2023

Published online: 19 March 2024

Keywords:

Active oxygen, Biological stress, Severity of pathogenicity, Biological fertilizer.

ABSTRACT

Crown and root rot disease caused by Fusarium pseudograminearum is one of the growth-limiting factors in wheat cultivation. This disease is usually associated with the browning of the coleoptile, lower leaf sheaths, adjacent stems, and nodes. To deal with this disease, various strategies have been used, including the use of bacteria that increase plant growth. In this research, the bacterium Pseudomonas fluorescens strain EB298 was isolated and identified from the soil contaminated with this disease in Andimeshk city. This isolate was able to reduce the amount of plant ethylene from 30 nmol/g to 20 nmol/g. As a result of reducing the amount of ethylene, the amount of hydrogen peroxide, which was representative of active oxygen in this research, decreased from 45 M/gFWμ in the control sample to 27 M/gFWμ in the sample inoculated with bacteria. The damage caused by crown rot fungus (pathogenic intensity) was significantly reduced from grade 4 in the control to grade 2. The results of this research show that seed inoculation with P. fluorescens UTPf298 bacteria, in addition to controlling root rot disease, has reduced ethylene and hydrogen peroxide and ultimately the severity of pathogenicity in wheat. Also, this bacterium, by affecting the growth of the plant, strengthened the plant and the greenness of the wheat plant.

Cite this article: Mohammadi Fesharaki, N., Behboudi, K. & Talebi, M. (2024). Modulation of H2O2 produced by wheat plant using *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 under *Fusarium pseudograminearum* crown and root rot disease. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 54 (2), 237-246. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2023.365908.1007039

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2023.365908.1007039

Extended Abstract

Introduction

Fusarium crown and root rot (FCR) caused by *Fusarium pseudograminearum* reduces the yield and quality of many important plant species around the world, including cereals, especially in arid and semi-arid agricultural areas. This disease, like many different biotic and abiotic environmental stresses, induces the plant stress hormone ethylene. The increase in ethylene concentration causes plants to be unable to grow in adverse environmental conditions. Ethylene stress causes the accumulation of reactive oxygen species (ROS) in plant cells and tissues. Accumulation of ROS in cells and tissues causes lipid peroxidation, protein oxidation, nucleic acid damage, enzyme inhibition, activation of the programmed cell death pathway, and ultimately causes cell death. One of the ways to control oxidative stress is the use of Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) bacteria, including pseudomonads.

Materials and Methods

The pathogenic fungus *F. pseudograminearum* was obtained from Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research Institute. In this research, to control this disease, the bacterium *Pseudomonas fluorescens*

strain EB298 was isolated and identified from the soil infected with this disease in Andimeshk city. After the inoculation of this bacterium, the effect of fungal pathogenicity the control of the intensity of pathogenicity and growth, and the reduction of ethylene and H_2O_2 in wheat plants were investigated.

Results and Discussion

The results of this research show that the pathogenicity of this fungus was 4 under normal greenhouse conditions. Wheat seedlings face a decrease in growth and biomass during crown and root rot disease. At this time, the rate of seed germination is greatly reduced, the growth of roots and aerial parts of seedlings is reduced, and the rate of cell death and aging increases, which is due to the increase in the production of ethylene finally active oxygen, which in this research The amount of H_2O_2 was investigated as a representative of active oxygen. The obtained results indicate that plant aging and death during stress are directly related to the amount of ethylene and H_2O_2 production. After the inoculation of *P. fluorescens* strain EB298, this isolate was able to reduce the amount of plant ethylene from 30 nmol/gr to 20 nmol/gr. As a result of reducing the amount of ethylene, the amount of hydrogen peroxide, which was representative of active oxygen in this research, decreased from 45 M/gFWµ in the control sample to 27 M/gFWµ in the sample inoculated with bacteria. As a result, the damage caused by crown rot fungus (pathogenic intensity) was significantly reduced from grade 4 in the control to grade 2.

Conclusion

The results of this research also show that seed inoculation with *P. fluorescens* EB298 (UTPf298) bacteria, in addition to controlling root rot disease, has reduced ethylene and hydrogen peroxide and ultimately the severity of pathogenicity in wheat. Also, this bacterium, by affecting the growth of the plant, strengthened the plant and the greenness of the wheat plant.

نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، دوره ۵۴، شماره ۲

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۷۸۶۸-۲۴۲۳

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

تعدیل H2O2 تولید شده گیاه گندم با استفاده از *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 در شرایط بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه *Fusarium pseudograminearum*

نیلوفر محمدی فشارکی[۱] | کیوان بهبودی[۲]✉ | مجید طالبی[۳]

۱. گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: nilofar.mohammadi@ut.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: behbodi@ut.ac.ir

۳. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان. اصفهان. ایران. رایانامه: mtalebi@iut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۳۰

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۲۹

کلیدواژه‌ها:

اکسیژن فعال، تنش زیستی، شدت بیماری‌زایی، کود زیستی.

چکیده

پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از قارچ Fusarium pseudograminearum یکی از عوامل محدود کننده رشد در کشت گندم است. این بیماری معمولا با قهوه ای شدن کلئوپتیل، غلاف‌های برگ‌های تحتانی، ساقه‌های مجاور و گره‌ها همراه است. برای مقابله با این بیماری، راهکارهای مختلفی از جمله کاربرد باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه به‌کار گرفته شده است. در این پژوهش جدایه باکتری Pseudomonas fluorescens UTPf298 از خاک‌های آلوده به این بیماری در شهرستان اندیمشک جداسازی و شناسایی شد. این جدایه توانست میزان اتیلن گیاهی را از 30 nmol/g به 20 nmol/g کاهش دهد. در نتیجه کاهش میزان اتیلن، میزان پراکسید هیدروژن که نماینده‌ای از اکسیژن فعال در این پژوهش بود، از 45 µM/g FW در نمونه شاهد تا 27 µM/g FW در نمونه تلقیح شده با باکتری کاهش یافت. خسارت ناشی از عامل پوسیدگی طوقه (شدت بیماری‌زایی) به طور چشمگیری از درجه ۴ در شاهد به درجه ۲ کاهش یافت. نتایج این پژوهش بیان می کند که تلقیح بذر با جدایه باکتری یاده شده، علاوه بر کنترل بیماری سبب کاهش اتیلن و پراکسید هیدروژن و در نهایت، شدت بیماری‌زایی در گندم شده است. همچنین این باکتری با اثر گذاری بر رشد گیاه باعث تقویت گیاه گندم و افزایش سبزینگی آن شد.

استناد: محمدی فشارکی، نیلوفر؛ بهبودی، کیوان؛ و طالبی، مجید (۱۴۰۲). تعدیل H2O2 تولید شده گیاه گندم با استفاده از *Pseudomonas fluorescens UTPf298* در شرایط بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه *Fusarium pseudograminearum*. *نشریه دانش گیاهپزشکی ایران*، ۵۴ (۲)، ۲۴۶-۲۳۷. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2023.365908.1007039

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2023.365908.1007039

مقدمه

پوسیدگی فوزاریومی طوقه و ریشه ناشی از *Fusarium pseudograminearum* باعث کاهش عملکرد و کیفیت بسیاری از محصولات گیاهی مهم در سراسر جهان از جمله غلات به خصوص در مناطق زراعی خشک و نیمه خشک می شود. این بیماری باعث قهوه ای شدن کلئوپتیل، میان‌گره زیر تاج، غلاف پایین برگ و ساقه های مجاور و بافت های گره و در برخی مواقع باعث مرگ گیاه می شود. گیاهان آلوده ممکن است دارای خوشه های سفید بدون دانه یا چروکیده شوند. علائم بیماری تحت محدودیت آب تشدید می شود (Kazan and Gardiner, 2018).

این بیمارگر مانند بسیاری تنش‌های محیطی زیستی یا غیرزیستی، القاگر هورمون استرس (اتیلن) در گیاهان است. اتیلنی که تحت تنش‌های زنده و یا غیر زنده تولید می شود، در اصطلاح اتیلن تنشی نامیده می شود و افزایش غلظت آن موجب می شود که گیاهان قادر به رشد در شرایط نامساعد محیطی نباشند (Li *et al*., 2005). اتیلن تنشی باعث تجمع گونه‌های اکسیژن فعال (reactive oxygen species, ROS) در سلول‌ها و بافت های گیاهی می شود. استرس اکسیداتیو در اثر تولید و تجمع ROS در سلول ها و بافت ها به دلیل بی نظمی در زنجیره انتقال الکترون (ETC) ایجاد می شود که باعث پراکسیداسیون لیپیدی، اکسیداسیون پروتئین، آسیب اسید نوکلئیک، مهار آنزیم، فعال شدن مسیر برنامه ریزی شده مرگ سلولی و در نهایت باعث مرگ سلولی می شود (Hossain *et al*., 2021). در شرایط زیستی، گیاهان به طور کلی می توانند این محصولات واکنشی را سم زدایی کنند. در هنگام رشد طبیعی گیاه، متابولیت‌های اکسیژن سمی در حجم کم تولید می‌شوند و تعادل مطلوبی بین تولید و خاموش کردن ROS وجود دارد. با این حال، این تعادل ممکن است توسط چندین شرایط نامطلوب، از جمله بیماری فوزاریومی، مختل شود. رایج‌ترین انواع ROS رادیکال های سوپراکسید (O_2)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال های هیدروکسیل (OH) و اکسیژن منفرد (O) هستند (Navarro-Yepes *et al*., 2014). همه انواع ROS برای گیاهان در غلظت های بالا بسیار مضر هستند (Kaur *et al*., 2017).

یکی از راه های کنترل استرس های اکسیداتیو، به کار گیری باکتری های PGPR از جمله سودوموناداها است. این باکتری ها به طور غیرمستقیم با تولید ترکیبات آنتاگونیستی مانند آنتی بیوتیک ها، زهرابه ها، سیدروفورها، آنزیم های لیتیک و ترکیبات آلی فرار، باعث مهار بیمارگر و آفات گیاهی می شوند و همچنین رشد گیاهان میزبان را افزایش می دهند. برخی آنزیم های تولید شده توسط سودوموناداها، از جمله کیتیناز، سلولاز، گلوکاناز، پروتئاز و لیپاز، می توانند بخشی از دیواره سلولی بیمارگرها را لیز کنند (Ghosh *et al*., 2021). سودوموناداها همچنین می تواند مقاومت سیستمیک (ISR) را در برابر طیف وسیعی از بیمارگرها در گیاه میزبان فعال کنند (Datta *et al*., 2022). عملکرد اصلی ISR فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی گیاه و محافظت از گیاهان در برابر تهاجمات میکروب‌های بیماری‌زا و حشرات گیاه‌خوار است (Sardar *et al*., 2021). با بکارگیری سودوموناداها، در این نوع مقاومت روی مسیرهای پیام رسانی اسید جاسمونیک و اتیلن در گیاه تاثیر گذاشته و باعث تنظیم این مسیر پیام رسانی می شوند (Hossain and Chung, 2019).

نتایج پژوهشی نشان داده که باکتری محرک رشد *Pseudomonas protegens* strain MP12 می تواند ترکیبات ضد قارچی مانند ۲، ۴–دی استیل فلوروگلوسینول، پیولوتئورین و پیرولنیترین تولید کند و باعث کاهش رشد میسلیوم بیمارگر های گیاهی مختلف مانند *Fusarium* sp. می شود. همچنین نتایج به دست آمده نشان داد، این باکتری با کاهش میزان تولید اتیلن در گیاه مانع پیری و مرگ سلولی می شود (Egamberdieva *et al*., 2015). در پژوهش حاضر، از باکتری *Pseudomonas fluorescens* strain UTPf298 برای کنترل قارچ *Fusarium pseudograminearum* استفاده شده است. هدف از این پژوهش کنترل خسارت ناشی از قارچ عامل پوسیدگی طوقه و ریشه گندم و همچنین کاهش میزان تولید اتیلن گیاهی و پراکسید هیدروژن است که در اثر آلودگی به این بیمارگر افزایش می یابد.

روش شناسی پژوهش

تهیه جدایه قارچ عامل پوسیدگی طوقه و ریشه گندم

جدایه قارچ بیمارگر فوزاریم (*Fusarium pseudograminearum*) از کلکسیون قارچ شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه تهیه شد (Yunesi *et al*., 2012). سپس این جدایه روی محیط کشت PDA به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس کشت داده شد و نگهداری کوتاه مدت آن در دمای چهار درجه سلسیوس به روش فرادکین و همکاران (۱۹۸۷) انجام شد.

تهیه جدایه باکتری *Pseudomonas fluorescens* UTPf298

جدایه باکتریایی از خاک‌های آلوده به قارچ عامل پوسیدگی طوقه و ریشه در مزارع گندم استان خوزستان شهرستان اندیمشک جداسازی شد. برای جداسازی باکتری سودوموناد فلورسنت، نمونه های خاک از ریزوسفر گندم جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس ۱۰ گرم از خاک ریزوسفری همراه با ریشه به ظروف ارلن حاوی ۹۰ میلی لیتر محلول بافر سترون (کلرید سدیم ۰/۹ درصد) منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه هم زده شد. پس از آن، با تهیه سری رقت از خاک و با استفاده از محیط کشت King B باکتری جداسازی شد (Rasouli Sadaghiani *et al*., 2006). پس از شناسایی این جدایه، توالی این سـویه در بانک ژن NCBI و با شماره دسترسیOP117153 ثبت شد (mohammadi fesharaki *et., al* 2022) .

کارایی جدایه Pseudomonas fluorescens UTPf298 علیه F. pseudograminearum

در شرایط آزمایشگاه: برای ارزیابی اثرات آنتاگونیستی باکتری علیه *F. pseudograminearum* از آزمون کشت متقابل (Asha *et al*., 2011) استفاده شد. همه آزمون‌ها روی محیط کشت PDA و در دمای ۲۶ درجه سلسیوس و در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. درصد بازدارندگی از رشد با رابطه مقابل محاسبه شد:

$$\text{رشد بیمارگر} = \frac{\text{قطر پرگنه قارچ بیمارگر درتیمار شاهد} - \text{قطر پرگنه قارچ بیمارگر در تیمار } Pseudomonas\ fluorescens \text{ UTPf298}}{\text{قطر پرگنه قارچ بیمارگردرتیمارشاهد}}$$

در شرایط گلخانه: به منظور بررسی تاثیر باکتری بر رشد و نمو گیاه گندم و کنترل بیماری پوسیدگی فوزاریومی طوقه و ریشه گند،م یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش بیماری‌زایی در دو سطح فاقد بیمارگر و دارای قارچ *F. pseudograminearum*، باکتری در دو سطح شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح بذر باباکتری بودند. پس از تلقیح قارچ و باکتری با بذور گندم، بلافاصله کشت انجام شد. برای تهیه مایه تلقیح بذر گندم با باکتری، یک کلنی خالص از جدایه باکتری برداشته شد و تحت شرایط سترون به ظروف ارلن حاوی محیط LB اضافه گردید و ظرف هی ارلن روی شیکر با سرعت ۱۲۰rpm و دمای ۲۸ درجه سلسیوس هم زده شدند. پس از ۴۸ ساعت، مایه تلقیح با جمعیت تقریبی ۵×۱۰^۸ آماده شد. بذر گندم با استفاده از الکل ۹۶ درصد به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت ۱/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضد عفونی سطحی شد. سپس به منظور حذف هیپوکلریت، بذرها با آب مقطر سترون سه بار شستشو شد. سپس بذرهای ضد عفونی سطحی شده به ظروف ارلن حاوی مایه تلقیح باکتری مورد بررسی اضافه و به مدت ۴۵ دقیقه بر رویدستگاه شیکر با دور ۱۲۰ و دمای ۲۸ درجه قرار داده شد (Egamberdieva *et al*., 2015).برای تلقیح قارچ بیمارگر، بذور گندم دو بار به فاصله ۲۴ ساعت اتوکلاو شد. پس از سرد شدن، چهار قطعه‌ی پنج میلی‌متری از حاشیه کشت شش روزه قارچ بیمارگر به هر ظرف ارلن تلقیح شد و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. بعد از یک ماه، بذور کلنیزه شده با پرگنه بیمارگر در شرایط سترون کاملاً خشک شده و مایه تلقیح جدایه قارچ بیمارگر با خاک سترون مخلوط شد (Samiei *et al*., 2008). سپس به گلدان های یک

کیلو گرمی منتقل و در هر گلدان پنج بذر کشت شد و گلدان ها در دمای ۲۵ در جه سلسیوس در شرایط گلخانه نگهداری شد. پس از یک ماه بوته های گندم کاملا از خاک بر آمد و فاکتورهای رشدی شامل طول گیاه و ریشه، وزن گیاه و ریشه و شدت بیماریزایی بررسی شد. بررسی شدت بیماری‌زایی براساس روش (Shaw, 1999) باتوجه به میزان قهوه ای شدن (پوسیدگی) ریشه بر مقیاس نمره دهی ۵-۰ که در آن صفر (۰٪ آلودگی)، یک (۱۰-۱ درصد آلودگی)، دو (۲۵-۱۱ درصد آلودگی)، سه (۵۰-۲۶ درصد آلودگی)، چهار (۷۵-۵۱ درصد آلودگی) و پنج (۱۰۰-۷۶ درصد آلودگی) ارزیابی شد.

تاثیر جدایه *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 بر میزان تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

مقدار هیدروژن پراکسید براساس واکنش H_2O_2 با یدور پتاسیم (KI) و با روش الکسیو (۲۰۰۱) انجام شد. در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ گندم در۱۰ درصد TCA سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه درg× ۵۰۰۰ سانتریفوژ گردید . سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی مولار (pH ۷) و دو میلی لیتر یدور پتاسیم یک مولار اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد و بعد جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری گردید. برای محاسبه غلظت پراکسیدهیدروژن از منحنی استاندارد استفاده شد.

اثر جدایه *Pseudomonas fluorescens* (UTPf298) بر میزان تولید اتیلن

قسمت‌های هوایی گیاهچه های گندم تلقیح شده با باکتری P. fluorescens UTPf298 و بیمارگر F. pseudograminearum پس از یک ماه به دقت از ریشه گیاهچه گندم جدا شده و در لوله‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شدند. بعد از دو ساعت، یک میلی‌لیتر نمونه گاز از هر لوله برداشته شد و برای اندازه گیری میزان غلظت اتیلن تولید شده به یک کروماتوگراف گازی در دمای ۶۰ درجه سلسیوس تزریق و نرخ تولید اتیلن محاسبه شد که براساس دو ساعت انکوباسیون در واحد نانومول گرم (وزن تر) بر ساعت بیان گردید (Voesenek et al., 2003).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داد های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16.0 تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون توکی انجام شد.

یافته‌های پژوهش

کارایی جدایه Pseudomonas fluorescens UTPf298 علیه F. pseudograminearum

نتیجه کشت متقابل روی محیط غذایی در آزمایشگاه نشان داد باکتری *P. fluorescens* UTPf298 قادر به کاستن رشد قارچ *F. pseudograminearum* تا میزان ۷۰ در صد می‌باشد.

آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که جدایه باکتریایی باعث کاهش شدت بیماری از درجه ۴ به ۲ بود. مطابق جدول ۱، این جدایه باعث تحریک رشد گیاه شده و در زمان تنش بیماری میزان رشد ساقه و ریشه گندم را افزایش داده است.

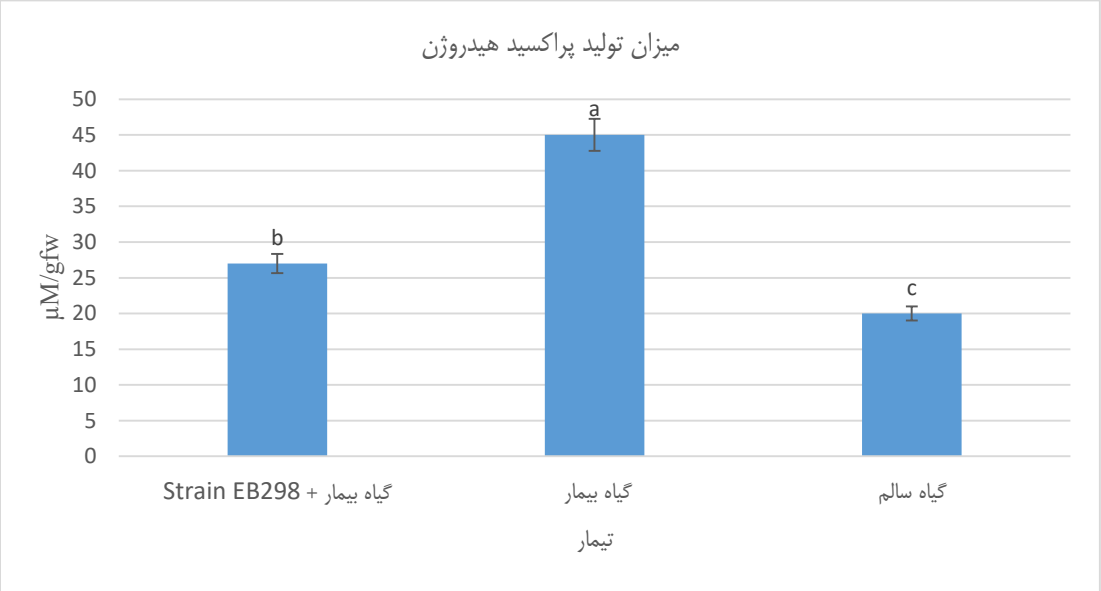
جدول ۲. مقایسه میانگین اثر جدایه باکتری *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 روی برخی صفات رشدی گندم و شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم در شرایط گلخانه.

نمونه	شدت بیماری	وزن خشک ساقه (g)	وزن خشک ریشه (g)	طول ساقه (cm)	طول ریشه (cm)
گیاه بیمار + باکتری	۲b	۰/۹b	b۰/۳۵	b۲۸	b۱۵
گیاه بیمار	۴a	۰/۴a	c۰/۱	c۱۵	c۶
گیاه سالم	۰c	۱/۵b	a۰/۵۵	a۳۵	a۲۰

اعداد میانگین پنج تکرار می باشند. $P \leq 5\%$ می باشد.

کارایی جدایه *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 بر میزان تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

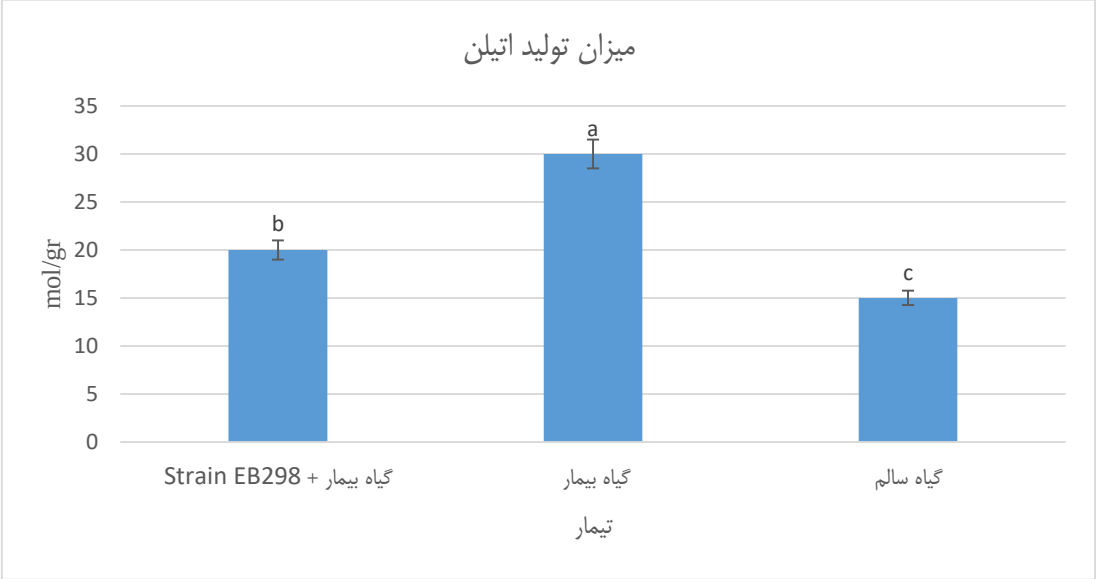
بررسی تولید پراکسید هیدروژن نشان داد زمانی که گیاهچه گندم سالم و فاقد بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه هست، میزان تولید این ماده ۲۷ µM/gFW است. با اضافه شدن قارچ بیمارگر به گیاهچه گندم میزان تولید این ماده افزایش یافته و به ۴۵ µM/gFW رسید. گیاهچه تلقیح شده با جدایه *P. fluorescens* UTPf298 تاثیر مثبتی بر کاهش تولید این ماده داشته است (شکل ۲).



شکل۲. مقایسه میانگین میزان تولید پراکسید هیدروژن تحت تاثیر جدایه باکتریایی *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 در گیاه گندم سالم و آلوده به پوسیدگی طوقه و ریشه. اعداد میانگین سه تکرار می باشند ($p \leq 5\%$).

کارایی جدایه *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 بر میزان تولید اتیلن

نتیجه بررسی تولید اتیلن گیاهی بیانگر آنست که آلودگی گیاه به بیمارگر روی میزان اتیلن گیاهی اثر گذاشته و باعث افزایش تولید آن شده است. در گیاه آلوده به بیمارگر میزان تولید تا ۳۰ nmol/gr افزایش یافت که نسبت به حالت عادی گیاه (۱۵nmol/gr) افزایش چشمگیری بود. در دانه گندم تلقیح شده با جدایه *P. fluorescens* UTPf298 میزان اتیلن تنشی به شدت کاهش یافت و این باکتری توانست تا میزان ۲۰ nmol/gr میزان اتیلن را کاهش دهد (شکل ۳). این نتایج با تولید پراکسید هیدروژن سازگاری دارد در واقع افزایش تولید اتیلن باعث افزایش تولید ROS می شود که در این پژوهش میزان پراکسید هیدروژن بررسی شد (شکل ۲ و ۳).



شکل۳. مقایسه میانگین میزان تولید اتیلن تحت تاثیر جدایه باکتریایی *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 در گیاه گندم سالم و آلوده به پوسیدگی طوقه و ریشه. اعداد میانگین سه تکرار می باشند ($p\leq 5\%$).

بحث

بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم ناشی از قارچ *F. pseudograminearum* یکی از عوامل خسارت زا گیاه گندم در مناطق خشک و نیمه خشک است. شدت بیماری‌زایی این قارچ در شرایط عادی گلخانه ۴ بود (جدول۱). گیاهچه های گندم در هنگام بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه با کاهش رشد و زیست توده رو به رو می شوند. در این زمان میزان جوانه زنی بذر به شدت کاهش می یابد، رشد ریشه و قسمت های هوایی گیاهچه ها کاهش یافته، میزان مرگ سلولی و پیری افزایش می یابد که به دلیل افزایش تولید اتیلن و در نهایت اکسیژن های فعال است که در این پژوهش میزان H_2O_2 به عنوان نماینده اکسیژن فعال بررسی شد. نتایج بدست آمده بیانگر این است که پیری و مرگ گیاه در هنگام تنش با میزان تولید اتیلن و H_2O_2 رابطه مستقیم دارد (شکل ۲ و ۳).

اتیلن یک هورمون گیاهی است که چندین جنبه از رشد و نمو گیاه را در کل چرخه زندگی گیاه مانند افزایش رشد ریشه و تشکیل تار کشنده، تحریک جوانه زنی و شکستن خواب بذر، رسیدگی میوه، پیری گل ها و ریزش برگ ها را تنظیم می کند). (Liu et al., 2019. علاوه بر این، این هورمون برای تنظیم پاسخ های استرس دیررس و ایجاد تحمل استرس ضروری است و افزایش غلظت آن موجب می شود که گیاهان قادر به رشد در شرایط نامساعد محیطی نباشند. همچنین اتیلن تنشی از طریق کاهش رشد ساقه و ریشه، به کاهش محصول منجر می‌شود. تجمع اتیلن مانع رشد ریشه شده، به محدودیت استفاده از آب و کاهش جذب عناصر غذایی منجر می شود. بنابراین هر عاملی که بتواند غلظت اتیلن گیاهان را تعدیل کند، سبب افزایش رشد و توسعه ی گیاهان می شود (Li et al., 2005). اتیلن در هنگام تنش باعث شروع گلدهی زودرس می شود و به گیاهان کمک می کند تا چرخه زندگی خود را تکمیل کنند. با این حال، این به قیمت کاهش زیست توده است. مطالعات مختلف نشان می‌دهد اتیلن در گیاه می‌تواند سبب فعال شدن ژن های پایین دستی شود که این ژن ها با تاثیر روی گونه های اکسیژن های فعال در نهایت باعث کاهش رشد گیاه، پیری و مرگ سلول گیاهی می شود (شکل ۲ و ۳) (Splivallo et al., 2020).

یکی از روش های کنترل و کاهش خسارت ناشی از اتیلن تنشی استفاده از باکتری های PGPR است. اینها، باکتری های ریزوسفری هستند که قسمت های داخلی و خارجی ریشه را کلونیزه می کنند. براساس گزارش های متعدد، باکتری متعلق به جنس های گوناگونی همچون *Microbacterium*، *Pantoea*، *Achromobacter*، *Rhizobium*، *Pseudomonas*، *Bacillus*،

Paenibacillus، *Enterobacter*، *Burkholderia*، *Methylobacterium*، *Azospirillum* و *Variovorax* مقاومت گیاهان میزبان را در زمان تولید اتیلن ناشی از تنش های غیر زنده و زنده افزایش می دهند. مطالعات متعددی گزارش داده‌اند که تحمل به بیماری در گیاهان توسط این میکروب ها از طریق مکانیسم های مختلف از جمله تولید جیبرلین ها، اسید استیک و برخی از عناصر ناشناخته انجام می شود که منجر به افزایش سطح ری شه، طول ریشه و نوک ریشه و از همه مهمتر محتوای مواد مغذی می‌شود (Akram *et al*., 2016). نتایج این پژوهش نیز بیان می کند تلقیح بذر با باکتری *Pseudomonas fluorescens* UTPf298 در زمان آلودگی گیاه به بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه باعث افزایش رشد ریشه و گیاه گندم می شود(جدول ۲).

به منظور کاهش میزان آلودگی پوسیدگی ریشه پنبه ناشی از باکتری *P. chlororaphis* R5 و *P. putida* R4 به خاک اضافه شد. بررسی ها نشان داد که باکتری به طور معنا داری باعث افزایش رشد اندام‌های هوایی، ریشه و مقدار ماده خشک شد و شیوع بیماری با تلقیح باکتری سودوموناس در خاک شور طبیعی کاهش یافت (Egamberdieva *et al*., 2015).. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که خسارت ناشی از قارچ فوزاریوم در شرایط تنش در زمانی که گیاه با باکتری *P. fluorescens* UTPf298 تلقیح شده به شدت کاهش یافت (جدول۲).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش آشکار می کند که تلقیح بذر با جدایه باکتری *P. fluorescens* UTPf298، علاوه بر کنترل بیماری پوسیدگی طوفه و ریشه، باعث کاهش اتیلن و پراکسید هیدروژن و در نهایت شدت بیماری در گندم می شود. همچنین، این باکتری با اثر گذاری روی رشد گیاه گندم، باعث تقویت آن و افزایش سبزینگی گیاه می شود (جدول۱).

منابع

سمیعی، ف.، جوان نیکخواه، م.، زمانی زاده، ح.ر. و رفیعی کوهرودی، ز. (۱۳۸۷). واکنش تعدادی از ارقام گندم به قارچ *Bipolaris sorokiniana* عامل پوسیدگی معمولی ریشه. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۲: ۲۱۱–۲۱۹.

محمدی فشارکی، ن.، بهبودی، ک. و طالبی، م. (۱۴۰۰). کارایی *Pseudomonas fluorescens* strain EB298 (UTPf298) علیه بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم *Fusarium pseudograminearum* و بهبود کارایی رنگدانه های کلروفیل. نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری های گیاهی. ۱۰: ۸۹–۹۵.

Asha, B.B., Chandra Nayaka, S., Udaya Shankar, A.C., Srinivas, C. and Niranjana, S. R. (2011). Biological control of *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens*. *Int. J. Microbiol. Res*. 3: 79-84.

Datta, D., Behera, L., Chaudhary, V. T., Kumar, S., and Bisen, K. (2022). Endophytes: rendering systemic resistance to plants. *Rhizosphere microbes*. 40: 175–195

Egamberdieva, D., Jabborova, D. and Hashem, A. (2015). *Pseudomonas* induces salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) and resistance to *Fusarium* root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22: 773-779.

Fradkin, L. G., Yoshinaga, S. K., Berk, A. J. and Dasgupta, A. (1987). Mol. Cell. Biology. 7: 3880_3887

Ghosh, B., Md, N. A., and Gantait, S. (2016). Response of rice under salinity stress: a review update. *Rice Res*. 4:167. doi: 10.4172/2375-4338.1000167

Hossain, M. T., and Chung, Y. R. (2019). Endophytic bacillus species induce systemic resistance to plant diseases" in Bacilli and Agrobiotechnology*: Phytostimulation and biocontrol*. 7: 151–160

Hossain, M. A., Hoque, T. S., Zaid, A., Wani, S. H., Mostofa, M. G., and Henry, R. (2021). Targeting the ascorbate-glutathione pathway and the glyoxalase pathway for genetic engineering of abiotic stress-tolerance in rice, in Molecular Breeding for Rice Abiotic Stress Tolerance and Nutritional Quality. *Wiley-Blackwell*. 10: 398–427. doi: 10.1002/9781119633174.ch21

Kazan, K., and Gardiner, D. M. (2018). Fusarium crown rot caused by *Fusarium*

pseudograminearum in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular Plant Pathology*. 19: 1547-1562. Doi: org/10.1111/mpp.12639.

Kaur, H., Bhardwaj, R. D., and Grewal, S. K. (2017). Mitigation of salinity-induced oxidative damage in wheat (Triticum aestivum L.) seedlings by exogenous application of phenolic acids. *Acta Physiol. Plant*. 39: 221-230. doi: 10.1007/s11738-017-2521-7.

Li, Q., Saleh-Lakha, S. and Glick, B. R. (2005). The effect of native and ACC deaminase-containing *Azospirillum brasilense* Cd1843 on the rooting of carnation cuttings. *Can J Microbiol*. 51: 511-514.

Liu, X., Chen, D., Yang, T., Huang, F., Fu, S., and Li, L. (2019). Changes in soil labile and recalcitrant carbon pools after land-use change in a semi-arid agro-pastoral ecotone in Central Asia. *Ecol. Indic*. 110:105925. doi: 10.1016/j.ecolind.2019.105925.

Mohammai fesharaki, N., Behboudi, K., and Talebi, M. (2022). The effect of *Pseudomonas fluorescens* strain EB298 (UTPf298) in the control of Fusarium pseudograminearum, the cause of crown and root rot disease and wheat chlorophyll pigments. *BIOCINTROL*. 10: 89-95. (In Persian with English summary).

Navarro-Yepes, J., Burns, M., Anandhan, A., Khalimonchuk, O., Del Razo, L. M., Quintanilla-Vega, B. (2014). Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival. *Antioxidants Redox Signal*. 21: 66–85. doi: 10.1089/ars.2014.5837.

Rasouli Sadaghiani, M.H., Kavazi, K., Rahimian, H., Malakouti, M.J., and Asadi, H. (2006). An Evaluation of the Potentials of Indigenous Fluorescent Pseudomonads of Wheat Rhizosphere for Producing Siderophore. J. *Soil Water Sci*. 20: 133-143.

Samiei, F., Javan Nikkhah, M., Zamani zade, H. R., Rafiei Kohrodi. Z. (2008). Response of some wheat cultivars to the fungus *Bipolaris sorokiniana*, which causes common root rot. *Journal of Plant Protection*. 22: 211-219. (In Persian with English summary).

Sardar, M. F., Abbas, T., Naveed, M., Siddique, S., Mustafa, A., Abbasi, B. (2021). "Biopesticides: importance and challenges" in Pesticide contamination in freshwater and soil environs. *Apple Academic Press*. 129–151.

Shaw, R. J. (1999). Soil salinity – electrical conductivity and chloride. In: Peverill KI, Sparrow LA, Reuter DJ (eds) Soil analysis: an interpretation manual. *CSIRO Publishing, Melbourne*. 20: 129–146.

Splivallo, R.; Fischer, U.; Göbel, C.; Feussner, I.; Karlovsky, P. (2020). Truffles regulate plant root morphogenesis via the production of auxin and ethylene. *Plant Physiol*. 150: 2018–2029. doi: 10.15666/aeer/1704_82918306

Voesenek, La. C.J., Jackson, M.B., Toebes A.H.W., Huibers, W., Vriezen W.H. and Colmer, T.D. (2003). De-submergence-induced ethylene production in *Rumex Palustris*: Regulation and ecophysiological significance. *The Plant J*. 33: 341-352.