ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷
صفحه ۱۸۸ - ۱۸۱

مطالعه اثر مراحل نموی در شکل‌دهی جمعیت‌های میکروبی در ریشه‌گاه گندم

Effect of developmental stages on microbial community in wheat rhizosphere

ندا ملکی‌تبریزی[۱]، علی‌اکبر شاه‌نجات‌بوشهری*[۱]، قاسم حسینی‌سالکده[۲]

۱- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری، استاد، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران، گروه زراعت و اصلاح نباتات

۲- استاد، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج

Maleki Tabrizi N[1], Shahnejat Bushehri AA*[1], Hosseini Salekdeh Gh[2]

1- Graduated PhD Student, Professor, Department of Plant breeding and Agronomy, Faculty of Agricultural Science and Engineering, University of Tehran
2- Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ashah@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۳)

چکیده

همه گیاهان در انواع بافت‌هایشان تعداد زیادی ریزسازواره دارند که برروی بسیاری از اعمال میزبان خود موثر هستند. عمده‌ترین بخش حضور ریزسازواره‌ها منطقه ریشه‌گاه است که در مجاورت ریشه گیاهان قرار دارد. سازواره‌های همراه ریشه نقش مهمی در ارتقا رشد و سلامت میزبان دارند. شناسایی ترکیب جمعیتی این ژنوم مکمل، در علوم کشاورزی بسیار مهم است، چرا که می‌تواند وابستگی کشت و زرع را به استفاده از کودهای شیمیایی مضرکم‌ترکند. براساس روش‌های مرسوم آزمایشگاهی شناسایی بخش عمده‌ای از این جمعیت همچنان ناشناخته باقی‌مانده است زیرا کمتر از یک درصد جمعیت‌های باکتریایی محیط‌های خشکی امکان ایزوله‌شدن در محیط‌های کشت خالص را دارند. روش‌های توالی‌یابی نسل جدید امکان شناسایی جمعیت‌های میکروبی موجود در اکوسیستم‌های مختلف را به‌صورت مستقل از کشت و از طریق تکنیکی با نام متاژنومیکس فراهم می‌کنند. در این مقاله شناسایی باکتری‌ها منطقه ریشه‌گاه گندم در دو نقطه زمانی مرتبط با مراحل رشد رویشی و زایشی، در کشت دیم بدون تناوب، براساس توالی‌یابی ژن *16SrRNA* انجام گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده، شاخه‌های باکتریایی پروتئوباکتری‌ها، باکترویدت‌ها، اکتینوباکتری‌ها، سیانوباکتری‌ها و جنس‌های خاصی در این شاخه‌ها الگوی توزیع متفاوتی را در این دو مرحله نشان دادند. نتایج نشان داد که گیاه می‌تواند مجموعه خاصی از باکتری‌ها را متناسب با مرحله نموی خود برای انجام اعمال خاص مطلوب در آن مرحله، برگزیند که نقش مهمی در حفظ سلامت آن‌ها دارد. ازآنجایی‌که، شناخت ساختار جمعیتی باکتری‌های همراه ریشه، پیش‌نیاز اصلی برای تعیین نقش تک‌تک افراد جمعیت است، متاژنومیکس می‌تواند پاسخ‌های مهمی را در ارتباط با این بخش بزرگ غیرقابل‌کشت فراهم کند.

واژه‌های کلیدی

ریزسازواره
ریشه‌گاه
توالی‌یابی نسل جدید
متاژنومیکس

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]

مقدمه

جمعیت جهان در حال رشد است و در این میان کشاورزی نقش بسیار مهمی در تامین غذای انسان‌ها دارد. از زمان انقلاب سبز تا کنون، تولید محصولات زراعی در سرتاسر جهان متکی به استفاده از کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها بوده است (Raja et al. 2013). تاثیرات منفی این محصولات روی محیط زیست و سلامت انسان امروزه کاملا شناخته شده‌است (Conway and Pretty 2013; McGuinness 1993). از آنجایی که این ترکیبات شیمیایی در مقیاس انبوه به‌کار می‌روند و درعین‌حال کارایی اسیمیلاسیون آن‌ها در گیاه پایین است، منجر به آلودگی‌های گسترده در محیط زیست می‌شوند (Altieri and Nicholis 2005). بنابراین سیستم‌های کشاورزی نیازمند تغییرات قابل توجهی در کاهش استفاده از این ترکیبات در کنار دستیابی به عملکرد مطلوب گیاه است. در دهه‌های اخیر تولید کودهای زیستی بر پایه سویه‌های خاص باکتریایی با ویژگی ارتقا دهندگی رشد گیاه، به‌عنوان یک راه جایگزین برای کاهش استفاده از ترکیبات شیمیایی و بهبود استفاده گیاه از مواد مغذی، معرفی شده‌اند (Bhardwaj et al. 2014). این کودهای جدید، مزایایی مانند افزایش جذب مواد غذایی، جلوگیری از حمله پاتوژن و افزایش رشد گیاه تحت شرایط تنش را برای میزبان خود به‌همراه دارند (Sleator et al.2010). آن‌ها پس از به‌کارگیری باید با میکروبیوم[1] (مجموع میکروب‌های یک منطقه در زمان مشخص) خاک ریشه‌گاه[2] (خاک کاملا چسبیده به ریشه) و میکروب‌های درون[3] و روی سطح ریشه[4] برای تشکیل کلون[5] موفق و فراهم کردن مزایا برای گیاه واکنش دهند (Berendsen et al. 2012; Turner et al. 2013; Moe 2013; Laksmanan et al. 2014). به‌علاوه سویه‌های باکتریایی چنانچه در شرایطی مشابه با محیط زیست طبیعیشان به‌کار گرفته شوند به‌صورت موثرتری می‌توانند پیرامون یا درون ریشه جایابی کرده و برروی رشد گیاه تاثیر بگذارند. بنابراین ضروریست هم‌زمان با توسعه روش‌های به‌کارگیری باکتری‌ها، درک مناسبی از تنوع میکروبیوم مرتبط با ریشه انواع گیاهان در محیط‌های مختلف به‌وجود آید و شناسایی گونه‌های بومی ریشه برای گیاهان مختلف صورت بگیرد. برای دستیابی به این مهم، نخست نیازمند کسب دانش در ارتباط با پیچیدگی و تنوع جمعیت‌های میکروبی بومی منطقه ریشه‌گاه و درون ریشه گیاهان زراعی هستیم.

از آنجایی‌که بخش بسیار کمی از ریزسازواره‌ها براساس روش‌های آزمایشگاهی قابل کشت می‌باشند، بنابراین تجزیه و تحلیل میکروبیوم‌های پیچیده همراه گیاه، به‌صورت تکنیکی دارای محدودیت‌هایی است. با استفاده از روش‌های توالی‌یابی با کارایی بالا در حال حاضر این امکان وجود دارد که جوامع میکروبی همراه گیاه، به شکلی دقیق و مطالعه شوند. براین اساس اخیرا میکروبیوم خاک ریشه‌گاه و درون و روی ریشه در گیاهانی نظیر آرابیدوپسیس[6] و جو زراعی[7] مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Lundberg et al. 2012; Bulgarelli et al. 2012; Schlaeppi et al. 2014; Bulgarelli et al. 2015). هم‌چنین در مطالعاتی میکروبیوتای[8] (ژن‌های باکتریایی) ریشه گاه سویا[9] در مزارع آمازون و ذرت[10] در مزارع آمریکا نیز مورد بررسی قرارگرفته‌اند (Aira et al. 2010; Mendes et al. 2014). با این وجود در حال حاضر دانش مطلوب در ارتباط با میکروبیوم مستقر در ریشه بسیار محدود است و مطالعات بیش‌تر بر روی ریشه و میکروبیوم ریشه‌گاه محصولات زراعی تجاری و گیاهان غیر مدل، بسیار

[1] Microbiome
[2] Rhizosphere
[3] Endophytes
[4] Rhizoplane
[5] Colonization
[6] *Arabidopsis taliana*
[7] *Hordeum volgare*
[8] Microbiota
[9] *Glycine max*
[10] *Zea mays*

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]

مورد نیاز است (De-la-Pena and Loyola-Vargas 2014; Blee et al. 2013). گندم نان[1] به‌عنوان چهارمین محصول زراعی مهم در جهان است که میزان تولید آن در جهان از مرز ۷۵۰ میلیون تن گذشته است (FAO 2017). برروی میکروب‌های مرتبط با ریشه گندم مطالعات محدودی انجام شده‌است که در جامع‌ترین آن‌ها از ۱۱ مزرعه در آرژانتین نمونه‌برداری شد که در آن با استفاده از مطالعات متاژنومی نشان داده شد که pH و محتوای نیتروژن با تنوع باکتریایی تحت شرایط مزرعه‌ای متنوع مرتبط است (Rascovan et al. 2016).

در این مطالعه سعی شده‌است که برای نخستین بار، میکروبیوم مرتبط با ریشه گیاه گندم در یک رقم ایرانی و شرایط کشت دیم و تک کشتی (چندین ساله) در دو مرحله زایشی و رویشی بررسی شود تا راهی را برای مطالعات جامع در استفاده بهتر از کودهای بیولوژیک و همچنین امکان تغییر در ترکیب جمعیتی میکروب‌های همراه گندم، به‌منظور بهبود رشد و سلامت گیاه در آینده نزدیک در کشور فراهم نماید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها از مزرعه تحقیقاتی ایستگاه سرارود استان کرمانشاه در مرحله رشد رویشی و زایشی بین ماه‌های آبان و فرودین در سال ۱۳۹٤ و ۱۳۹۵جمع‌آوری شدند. میانگین دمای سالانه در منطقه مورد نظر برابر با ۱۳/۳ درجه سانتی‌گراد و متوسط بارندگی سالانه ٤۳۷ میلی‌متر بود. گندم کشت شده در ایستگاه تحقیقاتی رقم آذر۲ و کشت به‌صورت دیم و تک کشتی چندین ساله بود. در هر دو مرحله، از ۳ کرت[2] (۵*۵ مترمربع) نمونه‌برداری انجام شد که در هر کرت ۵ گیاه به‌دقت از خاک خارج شده و همراه با یخ به آزمایشگاه منتقل شد. از هر کرت مقداری از خاک بدون گیاه در فاصله ۳۰-۰ سانتی‌متری از سطح خاک، برای ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی برداشته شد (جدول۱).

جداسازی خاک ریشه‌گاه مطابق روش لاندبرگ و همکاران انجام شد (Lunberg et al. 2012). خاک‌های ۵ گیاه همسایه در هر کرت، با یکدیگر ترکیب و به‌عنوان یک نمونه در نظرگرفته شد. ۰/۲۵ گرم از خاک جدا شده، برای استخراج DNA با استفاده از دستورالعمل کیت (Omega Bio-tek Inc, Norcross, GA, USA) E.Z.N.A ® soil DNA kit مورد استفاده قرارگرفت. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به‌ترتیب با استفاده از ژل آگارز و دستگاه نانودراپ مدل (NP80, Implen Inc, Germany) مورد ارزیابی قرار گرفت.

ناحیه V3-V4 از ژن باکتریایی *16srRNA* تکثیر شد. PCR در دو مرحله بر روی کلیه نمونه‌ها انجام شد.

جدول۱- مشخصات ژئوگرافیک، متوسط دما و بارش سالانه و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی منطقه مطالعه

عرض جغرافیایی (Latitude)	″۱۲′۱۹ °۳٤		
طول جغرافیایی (Longitude)	″٤۸′۱٦ °٤۷		
ارتفاع (Altitude) (m)	۱۳۵۱		
متوسط دمای سالانه (C°) Annual mean temp	۱۳/۳		
متوسط بارندگی سالانه (mm) Annual mean precipitation	٤۳۷		
pH	۷/۱		
بافت خاک Soil texture	لومی –رسی Loam-clay	شن Sand	%۹
		سیلت Silt	%٤۷
		رس Clay	%٤٤
ویژگی‌های شیمیایی Chemical properties	کربن آلی	۰/۹	
	فسفر قابل جذب (ppm)	۸-۱۵	
	پتاسیم قابل جذب(ppm)	٤۲۰	
	نیترات(ppm)	۲۳	
	آمونیوم(ppm)	۲۰	

[1] *Triticum aestivum*
[2] Plot

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]

در ابتدا، ۳۰ نانوگرم از DNA با استفاده از جفت پرایمر هرز[1] (5′CCTACGGGNGGCWGCAG3′) 0341F و (5′GACTACHVGGGTATCTAATCC3′) 0785R در دو تکرار برای هر نمونه و حجم ۵۰ میکرولیتر، تکثیر شد.

سپس محصول PCR با استفاده از ستون (Pure-Link PCR purification kit, Termo Fisher Scientific) خالص‌سازی شده و در مرحله دوم، با استفاده از پرایمرهای بارکد شده که دارای ایندکس‌های معین قابل خوانش در پلت فرم MiSeq بودند، مجددا تکثیر شد. در این مرحله از ٦ پرایمر پیشرو در ترکیب با یک پرایمر پسرو استفاده شد که از روی ژل مطابق دستورالعمل کیت (GeneJET gel extraction kit,Termo Fisher Scientific) خالص‌سازی شدند. قطعات تکثیر شده در مرحله نهایی (طول ٥٤٠ جفت‌باز) برای توالی‌یابی pair- ends ۲۵۰*۲ جفت‌باز به شرکت ماکروژن کره‌جنوبی ارسال شدند.

آنالیز توالی‌های تکثیر شده ژن باکتریایی *16srRNA* به‌منظور کیفیت سنجی و آنالیز فیلوژنتیک با استفاده از نرم‌افزار تحت پایتون[2] (QIIME(version 1.9.1 نسخه ۱,۹,۱ انجام شد. اولین مرحله آنالیز، کنترل کیفیت توالی‌ها با استفاده از دستور، split_libraries.py که عبارت بودند از حذف توالی‌هایی که طولی بیش‌تر از ۱۰۰۰ و یا کم‌تر از ۲۰۰ نوکلئوتید داشتند، حذف توالی‌هایی با تعداد بازهای نامشخص[3] بیش‌تر از ٦ نوکلئوتید، حذف توالی با حداقل qual score کمتر از ۲۵، حذف توالی‌های هوموپلیمری طویلتر از ٦ نوکلئوتید و حذف توالی‌های دارای جفت‌شدگی اشتباه[4]. در مرحله بعد توالی‌هایی که کنترل کیفیت شدند برای شناسایی OTUها[5] مورد آنالیز قرار گرفتند. در این مرحله OTUها بر پایه کلاستر کردن توالی‌های مشابه در سطح ۹۷٪ و به روش de novo شناسایی شدند (de novo approach). این سطح از شباهت توالی امکان شناسایی باکتری تا سطح گونه[6] را فراهم می‌کند. توالی‌هایی که میزان شباهت آن‌ها بیش‌تر از ۹۷ درصد باشد با هم کلاستر می‌شوند و یک OTU را به وجود می‌آورند و توالی‌هایی که شباهت آن‌ها کمتر از ۹۷ درصد باشد در کلاسترهای جداگانه قرار می‌گیرند. از نرم‌افزار Uclust برای کلاستر کردن توالی‌ها استفاده شد. پس از کلاستر کردن، معمولاً توالی که در هر کلاستر OTU بیش‌ترین فراوانی را دارد به‌عنوان توالی نماینده[7] آن OTU انتخاب شد. برای هم‌ردیف کردن[8] توالی‌های نماینده با توالی‌های الگو موجود در پایگاه داده Greengenes از الگوریتم نرم‌افزار PyNAST استفاده شد.

تمام مراحل شناسایی و طبقه‌بندی OTUها، هم‌ردیف کردن OTUها با توالی‌های مرجع 16S rRNA موجود در بانک اطلاعاتی، به‌وسیله دستور کلی pick_de_novo_otus.py انجام گرفت. در نهایت تمام OTU های شناسایی شده به‌همراه فراوانی توالی‌های کلاستر شده در هر OTU برای هر نمونه و اطلاعات تاکسونومی منتسب به هر OTU به‌صورت یک جدول استخراج شد. برای این منظور از دستور make_otu_table.py استفاده شد.

تمامی آنالیزهای بررسی تنوع برروی جدول OTU به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار تحت وب www.microbiomeanalyst.ca و بخش Marker Data Profiling (MDP) استفاده شد (Dhariwal et al. 2017). این نرم‌افزار تمامی محاسبات را براساس پکیج‌های آنالیز میکروبی موجود در نرم‌افزار R مانند Biocunductor، Phyloseq، Vegan و سایر پکیج‌ها انجام می‌دهد. به‌منظور افزایش دقت در نشان دادن تفاوت‌های موجود بین نمونه‌ها در ابتدا آنالیز تبدیل تصادفی نمونه به نمونه‌های کوچک‌تر[9] انجام شد و تعداد ۲۰۰۰ خوانش به ازای هر زیر مجموعه از نمونه‌ها در نظر گرفته شد. تنوع آلفا[10] با استفاده از شاخص Shannon محاسبه شد. برای محاسبه تنوع بتا[11] یا فاصله بین نمونه درجه تشابه هرجفت از نمونه‌ها از طریق آنالیزهای تشابه دوبه‌دو با استفاده از ماتریس‌های فاصله فیلوژنیک و غیرفیلوژنیک محاسبه شد. برای ارزیابی تفاوت‌های جمعیت میکروبی که به‌تنهایی از حضور یا عدم حضور OTUها به‌وجود آمده بودند، عدم تشابه دوبه‌دو با استفاده از ماتریس Unweighted-UniFrac فیلوژنتیک محاسبه شد.

[1] Degenerate
[2] Python
[3] Ambiguous
[4] Mismatch
[5] Operational Taxonomic Unit
[6] Species
[7] Representative sequence
[8] Alignment
[9] Rarefy
[10] Alpha diversity
[11] Beta diversity

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]

به‌علاوه Bray-Curtis و Weighted-UniFrac به‌ترتیب به‌عنوان ماتریس‌های غیر فیلوژنتیک و فیلوژنتیک، برای اندازه‌گیری درجه تشابه نمونه‌ها بر اساس فراوانی نسبی تاکساها مورد استفاده قرار گرفتند. ماتریس‌های فیلوژنتیک، عدم تشابه دوبه‌دو نمونه‌ها را از طریق طول شاخه فیلوژنتیک منحصربه‌فرد درون هر جمعیت در مقایسه با سایرین اندازه می‌گیرد (Lozopone and Night 2005;Navas) (Molina et al. 2013). آنالیز[1] (PERMONOVA) برای اندازه‌گیری تفاوت‌های معنادار آماری بین نمونه‌ها در نرم‌افزار مذکور انجام شد.

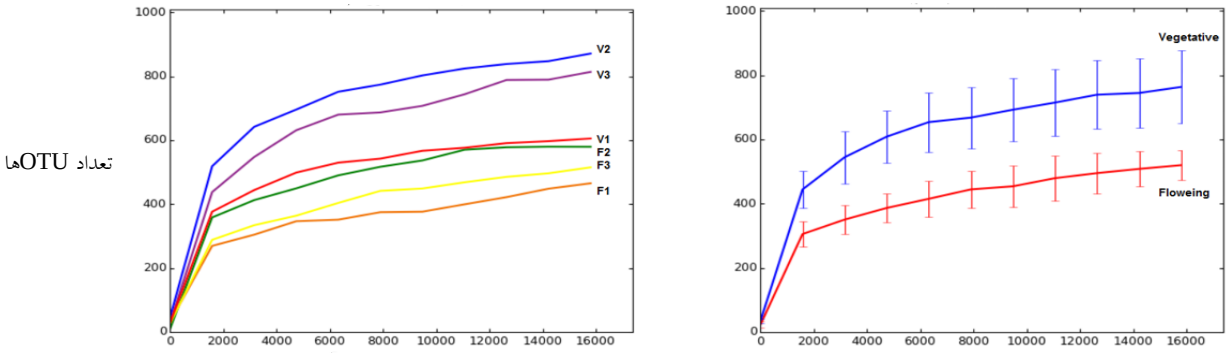
نتایج و بحث

از آنجایی‌که مرحله رشدی یک عامل بسیار مهم در شکل دهی میکروبیوم گیاه است (Edwards et al. 2015; Dombrowski et al. 2017) این مطالعه، به هدف بررسی تنوع جمعیت‌های باکتریایی ساکن در ریشه‌گاه یکی از ارقام ایرانی گندم براساس تعداد تاکسون‌های حاضر، برای ارزیابی تفاوت‌ها در دو مرحله رویشی و زایشی و شناسایی اعضای باکتریایی در این دو مرحله انجام شد. برای تکثیر ژن 16srRNA (دارای طول مناسب) برای توالی‌یابی از طریق سیستم ایلومینا MiSeq (Ram et al. 2011) انتخاب پرایمرهای اصلی به‌گونه ای صورت گرفت تا بهترین ترکیب را برای پوشش کامل فرمانرو[2] پروکاریوت‌ها فراهم کند و هم‌چنین دارای دقت بالایی در تشخیص تنوع در سطح جنس[3] باشد (Klindworth et al. 2013).

براساس نتایج در مجموع ۱۳٤۱٤٥خوانش برای ٦ نمونه (۳ تکرار در هر مرحله رشدی) به‌دست آمد. میانگین خوانش‌ها به ازای هر نمونه برابر با۲۲۳۵۷ بود. این تعداد خوانش در کل به ۱۲۷۸OTU مرتبط می‌شد، که پس از حذف OTUهای با فراوانی کم (کمتر از ۵ خوانش)، ٦۹۱ OTU برای آنالیزها مورد استفاده قرار گرفت (Coleman-Derr et al. 2016). به‌منظور ارزیابی این‌که آیا عمق توالی‌یابی در همه نمونه‌ها توانسته است کلیه OTUها درون نمونه را در بربگیرد، آنالیز rarefaction انجام شد (شکل ۱). نمودارهای به‌دست‌آمده از این بررسی نشان دادند که عمق توالی‌یابی برای دام انداختن همه گونه‌های موجود در منطقه ریشه‌گاه، کاملا مناسب است و همه منحنی‌ها به شکل مسطح[4] درآمدند (Colwell et al. 2012).

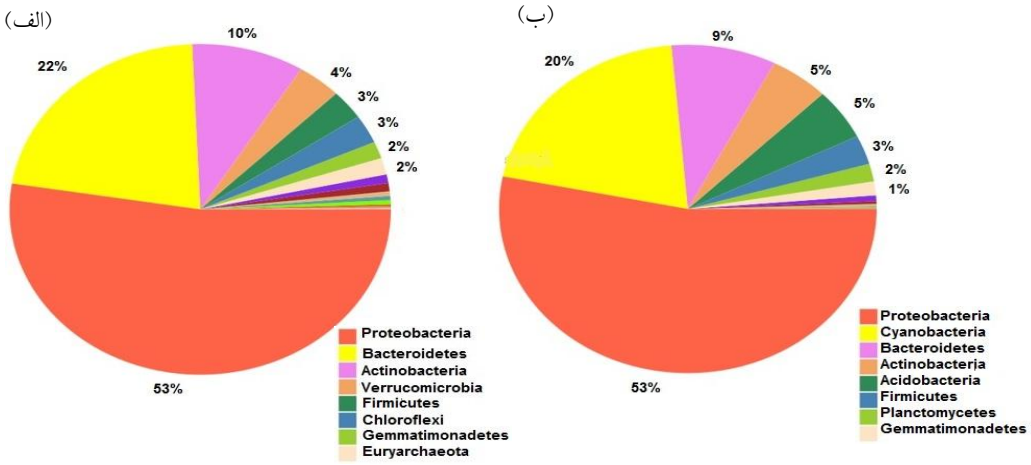
[1] Permutational MANOVA

[2] Domain
[3] Genus
[4] Plato

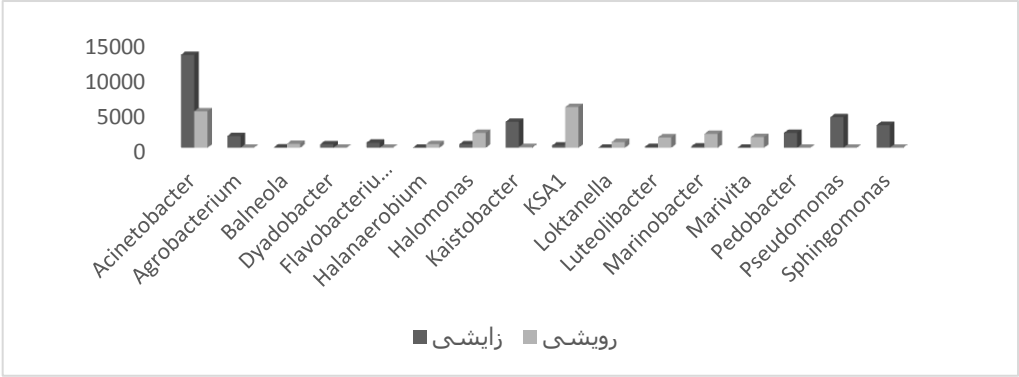


شکل۱- نمودار Rarefaction تعدادOTUهای شناسایی شده براساس تعداد خوانش‌های موجود در ریشه‌گاه گندم. الف) نمودار تعداد OTUهای شناسایی شده را با افزایش تعداد خوانش‌ها برای هر نمونه نشان می‌دهد. ب) نمودار تعدادOTUها را با افزایش تعداد خوانش به‌صورت مجزا در دو مرحله رویشی (vegetative) و زایشی (flowering) نشان می‌دهد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]



شکل ۲- درصد و ترتیب فراوانی شاخه‌های باکتریایی در دو مرحله رویشی (الف) و زایشی (ب) در ریشه‌گاه گندم



شکل ۳- فراوانی مطلق جنس‌های باکتریایی غالب موجود در دو مرحله رویشی و زایشی

میانگین good coverage نمونه‌ها، به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی پوشش تمامی شاخه‌های باکتریایی[1] موجود در نمونه‌ها استفاده شد و برابر با ۹۹ درصد بود. تفاوت قابل‌توجهی بین نمونه‌ها در تعداد OTUهای شناسایی شده براساس شاخص تنوع Shannon (۰/۹±۶۳/۶۳) مشاهده نشد. در کل ۲۱ شاخه باکتریایی و یک شاخه آرکئی شناسایی شدند. ۱۰۰۲ خوانش (مربوط به ۲۱OTU) به هیچ‌یک از شاخه‌های شناخته شده پروکاریوتی مرتبط نشدند. در کل ۲۰۲۳ خوانش (مربوط به۳۸OTU) مربوط به آرکئی‌ها و شاخه یوری آرکی‌ها[2] بودند. در مرحله رشد رویشی ۹۵ درصد از توالی‌ها به‌ترتیب به اعضای شاخه‌های پروتئوباکتری‌ها، باکتروئیدت‌ها، اکتینوباکتری‌ها، وروکومیکروب‌ها، فرمیکیوت‌ها و کلروفلکسی مربوط بودند و این درحالیست که در مرحله رشد زایشی اعضای شاخه‌های پروتئوباکتری‌ها، سیانوباکتری‌ها، باکتروئیدت‌ها، اکتینوباکتری‌ها، اسیدوباکتری‌ها و فرمیکیوت‌ها به‌ترتیب بیش‌ترین فراوانی را به خود اختصاص داده بودند (شکل ۲). شاخه پروتئوباکتری‌ها، در هردو مرحله رویشی و زایشی بیش از ۵۰ درصد فراوانی‌ها را به‌خود اختصاص داده بود. این شاخه، در سطوح رده[3] (با ۸۵ درصد تشابه توالی) و جنس (با ۹۵ درصد تشابه توالی) نیز مورد بررسی قرارگرفت. فراوانی رده گاماپروتئوباکتری‌ها در مراحل رویشی و زایشی به‌ترتیب ۴۲ درصد و ۳۵ درصد بود، درحالی‌که در این دو مرحله ۲۳ درصد و ۲۵ درصد از OTU ها مربوط به رده آلفاپروتئوباکتری‌ها و ۱۰ درصد و پنج درصد آن‌ها دلتاپروتئوباکتری‌ها را دو مرحله رویشی

[1] Phylum
[2] *Euryarchaeota*
[3] Class

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]

و زایشی دربر می‌گرفتند. در مقایسه تاکسونومی جنس‌ها در مراحل زایشی و رویشی 101 شناسایی شدند که ۷٤ جنس به‌صورت مشترک و بدون وابستگی به مرحله رشدی در ریشه‌گاه حاضر بودند.

در مقایسات بین ۷٤ جنس مشترک، تفاوت‌های قابل توجهی در میزان حضور چندین جنس وجود داشت (شکل۳). براین اساس، جنس اسینتوباکتر[1] دارای فراوانی بسیار بالاتری در مرحله زایشی نسبت به رویشی بود. اعضای این جنس به‌دلیل ویژگی متعددی نظیر تولید ACC و سیدروفور و یا رشد برروی محیط‌های فاقد نیتروژن (Huddedar et al. 2002)، به‌عنوان باکتری‌های ارتقادهنده رشد در گیاهان[2] (PGPR) محسوب می‌شود. در مطالعات گذشته که برروی ریشه‌گاه گندم انجام شده بود مشخص شده بود که گونه‌های موجود در این جنس در مراحل رشد رویشی و زایشی به میزان فراوانی حضور دارند (Sachdev et al. 2010). در جنس در ارتباط با جنس‌های کائیستوباکتر[3]، سودوموناس[4] و اسفنگوموناس[5] نیز چنین تفاوتی دیده می‌شود و این در حالی‌ست که جنس KSA1 فراوان‌ترین جنس در مرحله رشد رویشی است.

[1] *Acinetobacter*
[2] Plant Growth Promoting Bacteria
[3] *Kaeistobacter*
[4] *Psuedomonas*
[5] *Sphingomonas*

که به‌ترتیب براساس ماتریس‌های Berry-Curtis، Unweighted-UniFrac و Weighted UniFrac به‌صورت میانگین ۸۰، ۵۰ و ٦۰ درصد تشابه بین نمونه‌ها وجود داشت. آنالیز PERMANOVA نشان داد تفاوت معناداری بین دو مرحله رشدی براساس همه OTUهای موجود در ریشه‌گاه گندم مشاهده نشد (, R^2=0.42 P=0. 1) در این تحقیق به‌صورت کلی مشخص شد که در ارتباط با ارقام ایرانی گندم، جنس‌های اسینتوباکتر و KSA1 هم‌زیستی بسیار مناسبی با ریشه گندم دارند و فراوانی بالای این جنس‌ها با صفات متعد ارتقادهنده رشد در گندم، در اهمیت استفاده از آن‌ها به‌عنوان کودهای زیستی برای بهبود رشد و سلامت گندم تاکید میکند. از آنجایی که براساس مطالعات نشان داده شده‌است که جمعیت باکتریایی به‌ویژه در سطح گونه، از هر ژنوتیپ به ژنوتیپ دیگر تغییر می‌کند (Brusetti et al. 2005; Aleklett et al. 2014)، این یافته‌ها قطعا برای تعیین دقیق میکروبیوم نموی ریشه‌گاه گندم کافی نبوده و نیاز به مطالعات بیش‌تر در این زمینه وجود دارد.

این نتایج می‌تواند به‌عنوان اولین مطالعه متاژنوم پیشگام مطالعات شناسایی میکروبیوم گیاهان زراعی ایران باشد تا پنجره‌ای را برای تلاش‌های بیش‌تر در جهت توسعه عملیات کشاورزی از طریق دستورزی میکروبیوم در محیط زیست محصولات زراعی ایجاد کند.

منابع

Aira M, Gómez-Brandón M, Lazcano C, Bååth E, Domínguez J (2010) Plant genotype strongly modifies the structure and growth of maize rhizosphere microbial communities. Soil Biology and Biochemistry 42:2276-2281.

Aleklett K, Hart M, Shade A (2014) The microbial ecology of flowers: an emerging frontier in phyllosphere research. Botany 92:253-266.

Altieri MA, Nicholls CI (2005) Agroecology and the search for a truly sustainable agriculture. United Nations Environmental Programme, Environmental Training Network for Latin America and the Caribbean.

Berendsen RL, Pieterse CM, Bakker PA (2012) The rhizosphere microbiome and plant health. Trends in Plant Science 17:478-486.

Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK, Tuteja N (2014) Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microbial Cell Factories 13:66.

Bhardwaj D, Ansari M, Sahoo R and Tuteja N (2014) Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. Microbial Cell Factories13:66.

Blee K, Hein J, Wolfe GV (2013) Arabidopsis thaliana: a useful but limited model to investigate stress impacts on rhizosphere community composition and function. Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere 1:265-270.

Brusetti L, Francia P, Bertolini C, Pagliuca A, Borin S, Sorlini C, Giuntini E (2005) Bacterial communities associated with the rhizosphere of transgenic Bt 176 maize (Zea mays) and its non transgenic counterpart. Plant and Soil 266:11-21.

Bulgarelli D, Garrido-Oter R, Münch PC, Weiman A, Dröge J, Pan Y, Schulze-Lefert P (2015) Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. Cell Host and Microbe 17:392-403.

Bulgarelli D, Rott M, Schlaeppi K, van Themaat EVL, Ahmadinejad N, Assenza F, Peplies J (2012) Revealing

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]

structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. Nature 488:91.
Coleman-Derr D, Desgarennes D, Fonseca-Garcia C, Gross S, Clingenpeel S, Woyke T, Tringe SG (2016) Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native Agave species. New Phytologist 209:798-811.
Colwell RK, Chao A, Gotelli NJ, Lin SY, Mao CX, Chazdon RL, Longino JT (2012) Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. Journal of Plant Ecology 5:3-21.
Conway GR, Pretty JN (2013) Unwelcome harvest: agriculture and pollution. Routledge.
De-la-Peña C, Loyola-Vargas VM (2014) Biotic interactions in the rhizosphere: a diverse cooperative enterprise for plant productivity. Plant physiology 701-719.
Dhariwal A, Chong J, Habib S, King IL, Agellon LB, Xia J (2017) MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. Nucleic Acids Research 45:180-188.
Dombrowski N, Schlaeppi K, Agler MT, Hacquard S, Kemen E, Garrido-Oter R, Schulze-Lefert P (2017) Root microbiota dynamics of perennial Arabis alpina are dependent on soil residence time but independent of flowering time. The ISME Journal 11:43.
Edwards J, Johnson C, Santos-Medellín C, Lurie E, Podishetty NK, Bhatnagar S, Sundaresan V (2015) Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. Proceedings of the National Academy of Sciences 112:E911-E920.
FAO (2017) FAOSTAT.Food and agricultural commodities production. Available at http://faostat.fao.org/site/756/default.aspx. FAO, Rome, Italy.
Huddedar SB, Shete AM, Tilekar JN, Gore SD, Dhavale DD, Chopade BA (2002) Isolation, characterization, and plasmid pUPI126-mediated indole-3-acetic acid production in Acinetobacter strains from rhizosphere of wheat. Applied Biochemistry and Biotechnology 102:21-39.
Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. Nucleic Acids Research 41:100-113.
Laksmanan V, Selvaraj G, Bais H (2014) Functional soil microbiome: belowground solutions to an aboveground problem. Plant Physiology 132:125-138.
Lundberg DS (2012) Defining the core Arabidopsis thaliana root microbiome. Nature 488:86-90.
Lozupone C, Knight R (2005) UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. Applied and Environmental Microbiology, 71:8228-8235.
McGuinness H (1993) Living Soils: Sustainable Alternatives to Chemical Fertilizers for Developing Countries (Consumer Policy Institute, Consumers Union).
Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA, van Veen JA and Tsai SM (2014) Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. ISME Journal 8:1577-1587.
Moe LA (2013) Amino acids in the rhizosphere: From plants to microbes. American Journal of Botany 100:1692-1705.
Navas-Molina JA, Peralta-Sánchez JM, González A, McMurdie PJ, Vázquez-Baeza Y, Xu Z, Huntley J (2013) Advancing our understanding of the human microbiome using QIIME. In Methods in enzymology 531:371-444. Academic Press.
Raja N (2013) Biopesticides and biofertilizers: ecofriendly sources for sustainable agriculture. Journal of Agricultural Science and Food Research 42:17-27.
Ram JL, Karim AS, Sendler ED, KatoI (2011) Strategy for microbiome analysis using16SrRNA gene sequence analysis on the Illumina sequencing platform. Systems Biology in Reproductive Medicin 57:117-118.
Rascovan N, Carbonetto B, Perrig D, Díaz M, Canciani W, Abalo M, Alloati J, Gonzalez-Anta G, Vazquez MP (2016) Integrated analysis of root microbiomes of soybean and wheat from agricultural fields. Scientific Reports 6:28084.
Sachdev D, Nema P, Dhakephalkar P, Zinjarde S, Chopade B (2010) Assessment of 16S rRNA gene-based phylogenetic diversity and promising plant growth-promoting traits of Acinetobacter community from the rhizosphere of wheat. Microbiological Research 165:627-638.
Schlaeppi K, Dombrowski N, Oter RG, Ver Loren van Themaat E and Schulze-Lefert P (2014) Quantitative divergence of the bacterial root microbiota in Arabidopsis thaliana relatives. Proceedings of the National Academy of Sciences 111:585-592.
Sleator RD, Shortall C, Hill C (2008) Metagenomics. Letters in Applied Microbiology 47:361-6.
Tkacz A and Poole P (2015) Role of root microbiota in plant productivity. Journal of Experimental Botany 66:2167-2175.
Turner T, James E and Poole P (2013) The plant microbiome, Genome Biology 21:1-10.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.2.1.0]