

ارزیابی تأثیر اندوفیت قارچی *Penicillium chrysogenum* و باکتریایی *Exigubacterium aurantiacum* بر بهبود صفات مورفو- فیزیولوژیک گیاهچه گوجه‌فرنگی

سهیلا آقائی درگیری^۱، داود صمصام‌پور^{۱*}، مجید عسکری سیاهویی^۲ و عبدالنبی باقری^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ^۲ گروه تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و

آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۱۰/۳۰)

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر اندوفیت قارچی *Penicillium chrysogenum* و باکتریایی *Exigubacterium aurantiacum* و برهمکنش آنها روی برخی صفات رشدی و فیزیولوژیک گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) رقم ۸۳۲۰ انجام شد. برای این کار بذور گوجه‌فرنگی توسط اندوفیت‌های قارچی *P. chrysogenum* و باکتریایی *E. aurantiacum* تلقیح و در سینی نشا در گلخانه دانشگاه هرمزگان در سال ۱۳۹۸ کشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و در آن صفاتی از قبیل وزن تر و خشک اندام هوایی، طول و عرض برگ، تعداد برگ، ارتفاع و قطر ساقه، میزان سبزیگی (SPAD)، کلروفیل فلورسانس، کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کارتنوئید، محتوای نسبی برگ، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که برهمکنش اندوفیت قارچی *P. chrysogenum* و باکتریایی *E. aurantiacum* باعث افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع و قطر ساقه، تعداد برگ، میزان سبزیگی (SPAD) و کلروفیل فلورسانس، کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کارتنوئید، محتوای نسبی برگ، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل شد و هر دو اندوفیت دارای اثر سینرژیستی معنی‌دار بر صفات یادشده در گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به کاربرد جداگانه آنها را داشت. به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که همزیستی اندوفیت‌ها به صورت ترکیب هوشمندانه با گیاه گوجه‌فرنگی، اثرات مثبت برجسته‌ای به همراه خواهد داشت. بنابراین کاربرد ترکیبی اندوفیت *P. chrysogenum* و *E. aurantiacum* برای بهبود صفات رشدی در گیاه گوجه‌فرنگی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: اندوفیت، فنل، کلروفیل، گوجه‌فرنگی

مقدمه

گزارش بدست آمده در سال ۲۰۱۸، میزان کل سطح زیرکشت گوجه‌فرنگی در ایران ۱۵۸۹۹۱ هکتار بوده که با عملکرد متوسط ۴۱/۳۶ تن در هکتار، سالانه ۶۵۷۷۱۰۹ تن محصول گوجه‌فرنگی تولید می‌شود (FAO, 2018). میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ‌ها و باکتری‌ها) یک رده

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) از سبزیجات بسیار محبوب در سراسر جهان است (Bergna et al., 2018). کشور ایران با تولید ۶/۵ میلیون تن گوجه‌فرنگی، رتبه ششم جهانی تولید این محصول را به خود اختصاص داده است. بنابر آخرین

بیوتکنولوژی گیاه نیز کمک خواهد کرد. هم‌چنین می‌تواند به‌عنوان جایگزین (GMOs) استفاده شوند. دلیل این موضوع را می‌توان تغییرات آب‌وهوایی دانست که باعث افزایش احتمال خشکسالی و (یا) تنش گرمایی در مناطق کشاورزی (Solomon *et al.*, 2007) می‌شود. باکتری‌های اندوفیت می‌توانند در فضاهای درون یا بین سلولی در بافت‌های گیاهی ساکن شوند (White *et al.*, 2018) و همزیستی آن‌ها با گیاهان، امتیازاتی از قبیل افزایش مقاومت به تنش‌ها و بهبود شرایط رشدی در گیاهان را به‌همراه خواهد داشت (Hallmann *et al.*, 1997). اندوفیت‌ها به‌واسطه تولید مواد طبیعی، ترکیبات آلكالوئیدی و نیز ترکیبات ضدباکتریایی باعث تحریک رشد گیاه، افزایش محصول (Abdulmyanova *et al.*, 2018)، افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها (Farhana *et al.*, 2019) و عوامل بیماری‌زا و آفات گیاهی (Moonjely *et al.*, 2016) می‌شوند. برقراری ارتباط و تعامل با گیاه در باکتری‌های اندوفیت بیشتر از باکتری‌های ریزوسفر است (Ali *et al.*, 2012; Coutinho *et al.*, 2015).

استقرار اندوفیت در بذور، باعث تسریع در جوانه‌زنی بذور شده و گیاهچه را در مقابل میکروارگانسیم‌های خاک محافظت می‌کند (Frank *et al.*, 2017; Nelson *et al.*, 2018). تلقیح اندوفیت به گیاهان، بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مسیر دفاعی گیاهان تأثیر مثبت می‌گذارد (Van Bael *et al.*, 2012; Estrada *et al.*, 2017; Salam *et al.*, 2013). در چندین گزارش مشخص شده است که اندوفیت‌های باکتریایی و قارچی سبب رشد گیاهچه می‌شود (Hardoim *et al.*, 2012). در نتایج پژوهش (Irizarry and White, 2018) مشخص شد که اندوفیت باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* بر گیاهچه پنبه اثرات مثبتی دارد. هم‌چنین در نتایج (Gond *et al.*, 2015) مشخص شد که اندوفیت باکتری *Bacillus Spp.* بر گیاه ذرت به‌طور قابل توجهی رشد گیاهچه را افزایش می‌دهد. بنابر آخرین گزارش بدست آمده، میزان کل سطح زیرکشت گوجه‌فرنگی در استان هرمزگان ۱۱ هزار و ۸۰۰ هکتار بوده که سالانه ۶ هزار تن محصول گوجه‌فرنگی تولید می‌شود (گزارش

مهم از موجودات زنده هستند که بدون ایجاد هر گونه علائم بیماری، در بافت‌های گیاهی زندگی کرده (Brader *et al.*, 2017)، و در سراسر زندگی گیاهان، از مرحله جوانه‌زنی بذر تا رشد میوه همراه آن‌ها هستند. اندوفیت‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع جایگزین فعال زیستی مانند آنزیم‌ها، فیتوهورمون‌ها، مواد مغذی و مواد معدنی عمل کنند و هم‌چنین در رفع تنش‌های مختلف برای گیاهان بی‌نظیر هستند (Schulz *et al.*, 2002; Khan *et al.*, 2012; Kong and Glick, 2017). در مقابل، گیاه میزبان یک پناهگاه محافظتی خوب برای ریزموجودات موجود در بافت‌های گیاهی فراهم می‌کند، که آن‌ها می‌توانند بدون تهدید منابع رشدی گیاه، در آن‌جا حضور داشته باشند (Khan *et al.*, 2015). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد برهم‌کنش اندوفیت‌ها و گیاهان میزبان نقش مهم و تعیین‌کننده‌ای در رشد گیاه و تنوع زیستی آن‌ها دارد (Gundel *et al.*, 2010; Davitt *et al.*, 2010). نشان داده شده است که حضور اندوفیت‌ها در گیاهان میزبان، در سازگاری آن‌ها در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده بسیار مؤثر است (Waller *et al.*, 2005; Bae *et al.*, 2011). فرآیند همزیستی بین گیاهان و میکروارگانسیم‌ها، سطوح مختلفی از سازگاری برای ژنوتیپ‌های گیاهی فراهم می‌کند. با توجه به نقش بذور به‌عنوان ارگان‌های تولیدی در بازسازی و پراکندگی گیاهان (Baskin and Baskin, 2004) کلونیزاسیون اندوفیت در بذر به‌عنوان یک محرک بالقوه، در بهبود کیفیت بذر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Muhlmann and Peintner, 2008; Adriaensen *et al.*, 2006; White and Torres, 2010). بنابراین، کاربرد روش‌هایی که با استفاده از آن‌ها بتوان وضعیت رشدونمو گیاهچه را تحت تنش گرما یا خشکسالی ارتقا داد، بسیار ارزشمند است. استفاده از اندوفیت‌ها یک راهکار امیدوارکننده برای بهبود جوانه‌زنی بذر (Vujanovic *et al.*, 2000) و نیز حفاظت گیاهان در برابر عوامل تنش‌زای محیطی است (Waller *et al.*, 2005). از نظر کاربردی، ارتباط بین بذر و قارچ اندوفیت، از طریق افزایش تولید مواد غذایی و کاهش خسارت محصول ناشی از تنش، به نوعی به بخش

نگهداری شد. OD سوسپانسیون در غلظت 1×10^6 میلی لیتر تنظیم شد (Shahzad et al., 2017). تیمار برهمکنش شامل تهیه مایه تلقیح اسپور قارچ *P. chrysogenum* و سوسپانسیون باکتری *E. aurantiacum* با غلظت‌های مساوی بود.

تلقیح تیمارهای اندوفیت به بذر گوجه‌فرنگی: برای شروع آزمایش ابتدا بذر گوجه‌فرنگی (رقم ۸۳۲۰) با استفاده از اتانول (۷۰ درصد) به مدت ۳۰ ثانیه و سپس با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۹۰ ثانیه استریل و پس از آن به‌طور کامل سه بار با آب مقطر دوبار تقطیر شست‌وشو شد (Soad et al., 2005). برای تماس بهتر بذور با اندوفیت‌ها، از ماده کربوکسی متیل سلولاز یک درصد استفاده شد. سپس بذور انکوبه‌شده با تیمارهای اندوفیت به مدت شش ساعت روی شیکر قرار داده شدند. بذور شاهد در آب مقطر استریل غوطه‌ور شدند. قبل از کشت بذور تیمار شده، خاک مورد استفاده (پیت ماس و پرلایت) در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. طی دوره کشت از آب اتوکلاو شده برای آبیاری بذور استفاده شد (Soad et al., 2005). آبیاری یک روز در میان انجام و صفات مورد نظر بعد از رشد گیاهچه مورد بررسی قرار گرفت.

صفات مورفولوژیک: پس از رشد گیاهچه و مرحله چهار برگی گوجه‌فرنگی (۴۵ روز پس از اعمال تیمارها)، برای اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه، از ساقه و برگ گیاهچه نمونه‌برداری شد. برای تعیین وزن خشک اندام‌های هوایی، نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، سپس با ترازوی دیجیتال با دقت 0.001 توزین شدند. طول و عرض از برگ بالغ با استفاده از خط‌کش 0.1 سانتی‌متری انجام گردید.

صفات فیزیولوژیک، اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان سبزینگی (SPAD) و کلروفیل فلورسانس: اندازه‌گیری میزان سبزینگی با دستگاه کلروفیل سنج دستی (SPAD-502) انجام شد. کلروفیل فلورسانس برگ‌های سالم و کاملاً رشد کرده با دستگاه کلروفیل فلومتر مدل (Hansatech- Pocket) (PEA) اندازه‌گیری شد (Rivero et al., 2009).

اندازه‌گیری کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کارتنوئید: نیم گرم

سالیانه عملکرد گوجه‌فرنگی سازمان جهاد کشاورزی استان هرمزگان، (۱۳۹۹). بیشتر بررسی‌ها و مطالعات موجود در مورد اندوفیت‌های بذر، بر تنوع و توزیع آن‌ها تمرکز داشته، و کمتر اثرات رشدی و نقش‌های عملکردی آن‌ها مطالعه شده است (Rosenblueth and Martinez-Romero, 2006; Ryan et al., 2008). پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر اندوفیت قارچی *Penicillium chrysogenum* و باکتریایی *Exigubacterium aurantiacum* و مطالعه اثرات احتمالی آن‌ها بر صفات مورفو-فیزیولوژیک گیاه گوجه‌فرنگی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

بذور گوجه‌فرنگی (رقم ۸۳۲۰) تلقیح‌شده با اندوفیت‌های مورد مطالعه، در سینی‌های نشا کشت گردید و در گلخانه دانشگاه هرمزگان با شرایط دمای (۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (۶۵-۷۰ درصد) نگهداری شدند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل قارچ *P. chrysogenum* و باکتری *E. aurantiacum* در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح بود.

تهیه اسپور اندوفیت قارچی: به‌منظور تلقیح به بذر گوجه‌فرنگی توسط اسپور قارچ *P. chrysogenum*، قارچ مذکور روی محیط‌کشت PDA (Potato Dextrose Agar) به مدت چهار هفته در انکوباتور با دمای 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه هرمزگان کشت و نگهداری شد. اسپورهای قارچ مورد نظر با $10^6 \times 1$ میلی‌لیتر محلول آب-توئین ۲۰ درصد در پتری‌دیش‌ها جمع‌آوری شدند. با استفاده از لام نئوبار اسپورهای موجود در هر پتری‌دیش شمارش و با غلظت حدود $10^6 \times 1$ میلی‌لیتر ($CFU ml^{-1}$) آماده استفاده شدند (Deshmukh et al., 2006).

تهیه سوسپانسیون اندوفیت باکتریایی: به‌منظور تلقیح به بذر گوجه‌فرنگی سوسپانسیون باکتری *E. aurantiacum* باکتری روی محیط‌کشت NB (Nutrient Broth) به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد با دور ۱۳۰ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه هرمزگان کشت و

مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین) به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد؛ سپس ۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۱۲ درصد به محلول اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه، جذب محلول حاصل در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS (V 9.4) و مقایسه میانگین‌ها به روش (LSD) در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک اندام هوایی: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر عامل اندوفیت قارچی، اندوفیت باکتریایی و نیز برهمکنش قارچ و باکتری بر وزن تر و خشک در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۳۱/۵۷٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۲۴/۵۶٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۴۵/۶۱٪) افزایش وزن تر در گیاهان تلقیح‌شده نسبت به گیاهان کنترل نشان دادند (شکل ۱a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۲۵/۸۴٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۳۱/۴۶٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۴۴/۹۴٪) افزایش وزن خشک نسبت به کنترل (گیاهان بدون اندوفیت) نشان دادند (شکل ۱b). نتایج این پژوهش نشان داد که اثر برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی نسبت به عدم تلقیح در گیاهچه گوجه‌فرنگی شده است. مطابق با نتایج این پژوهش Egamberdieva و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که به کارگیری باکتری‌های *Bacillus thuringiensis* و *Bacillus subtilis* روی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L. باعث افزایش زیست توده وزن خشک ۵٪، ۲۴، ۴۳ و ۴۵ نسبت به عدم تلقیح شدند. دلیل افزایش وزن خشک را می‌توان به افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاهان همزیست با اندوفیت‌ها در گیاه مرتبط دانست. هم‌چنین Barea و Brown (۱۹۷۴) نشان دادند که تلقیح بذر گیاه با اندوفیت‌ها در گیاه گوجه‌فرنگی موجب افزایش وزن خشک ریشه‌ها و برگ‌ها

از برگ تازه در یک هاون چینی با پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب عصاره در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر (مدل Cecil CE2501)، خوانده شد (Lichtenthaler and Buschmann, 2001). نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم کلرفیل بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): برای تعیین محتوای

نسبی آب برگ (RWC) از جوان‌ترین برگ بالغ در هر گیاه سه دیسک برگ‌گی تهیه و برای تعیین وزن نمونه‌ها، بلافاصله وزن شدند (FW)، سپس تمامی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و تاریکی در آب مقطر غوطه‌ور شده و وزن اشباع آن‌ها اندازه‌گیری شد (TW). بعد از آن نمونه‌ها ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و وزن خشک آن‌ها تعیین گردید (DW). محتوای نسبی آب (RWC) با استفاده از روش (Karimi et al., 2012) محاسبه شده است. داده‌های بدست آمده با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$\text{محتوای نسبی آب برگ} = \frac{FW-DW}{TW-DW} \times 100$$

تهیه عصاره آنتی‌اکسیدانی و فنل: سه میلی‌لیتر متانول ۸۵

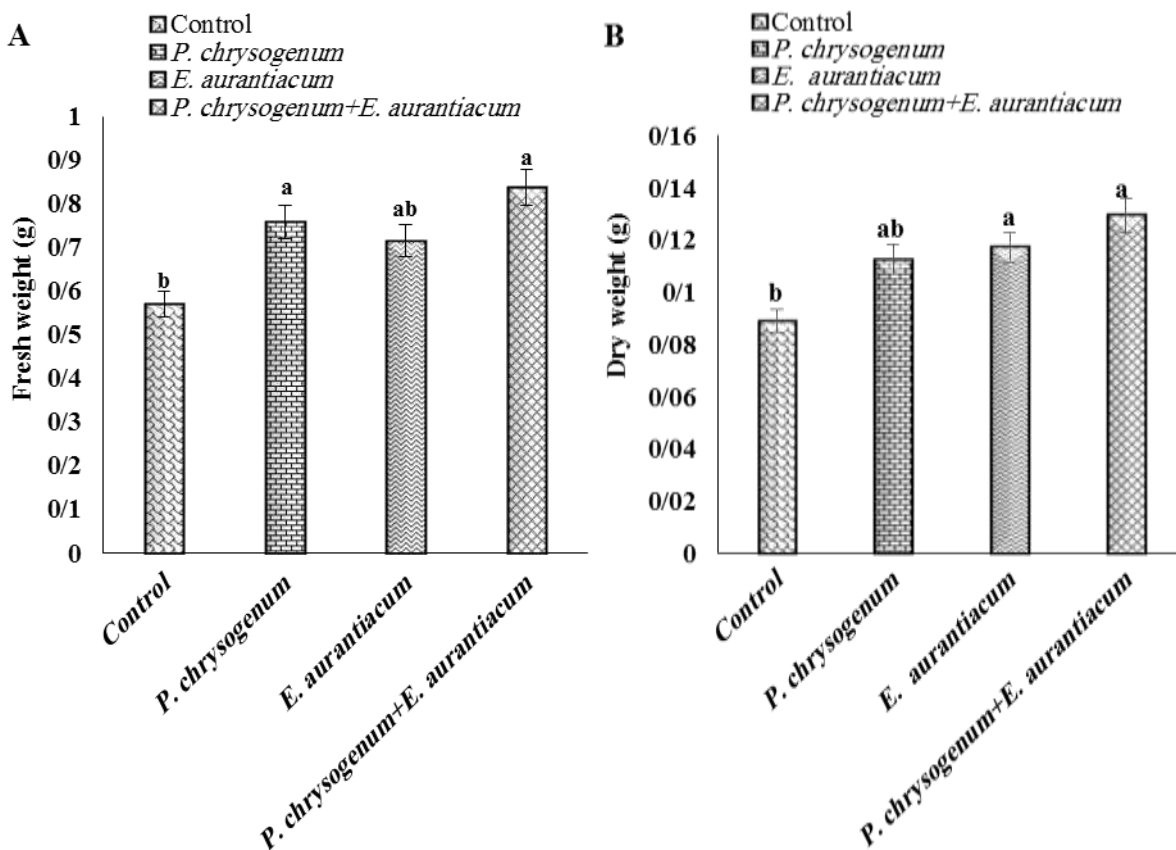
درصد به نیم گرم بافت تازه برگ کوبیده در ازت مایع اضافه کرده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ده هزار دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند (Brand-Williams et al., 1995; Singleton and Rossi, 1965).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان: این آزمایش

مطابق روش (Nanjo et al., 1996) و براساس فعالیت مهار رادیکال (DPPH) محاسبه شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت و جذب عصاره در طول موج ۵۱۷ نانومتر با اسپکتروفوتومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری فنل کل: سنجش محتوای فنل کل با معرف

فولین - سیوکالتو و روش (Singleton and Rossi, 1965) انجام شد. نیم گرم از بافت تازه برگ در متانول ۸۰ درصد همگن و سپس با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و ۱ میلی‌لیتر محلول متانول (۱/۸ میلی‌لیتر آب

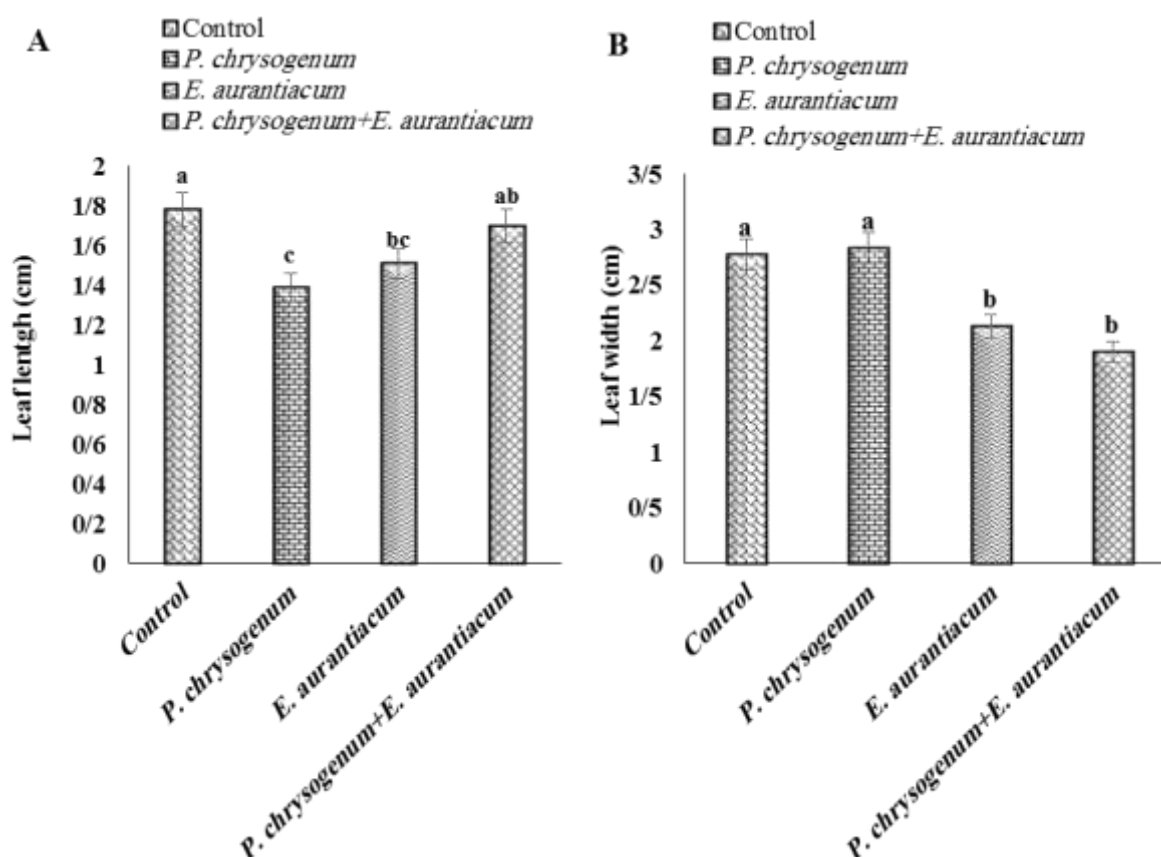


شکل ۱- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر (A) وزن تر، (B) وزن خشک گیاه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

گوجه‌فرنگی شده است. در پژوهش Silveira و همکاران (۲۰۰۶) نشان داده شده که همزیستی قارچ میکروریزا با گیاهان باعث بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه از جمله توسعه بخش‌های رویشی و افزایش وزن تر و خشک بافت‌های گیاهی می‌شود.

طول و عرض برگ: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر عامل اندوفیت قارچی، عامل اندوفیت باکتریایی و نیز برهمکنش قارچ و باکتری بر صفات طول و عرض برگ به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۱۵/۱۶٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۲۱/۹۱٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۴/۴۹٪) کاهش طول برگ نسبت به کنترل (گیاهان بدون شاهد) نشان دادند (شکل ۲a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی

می‌شود. Sadeghi و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی تأثیر برهمکنش سه قارچ (*Penicillium citrium* + *Aurobassium*) بر گیاه (*Citrus pullants* + *Dothideomycetes* sp. *reticulata* L. نشان دادند که ترکیب سه اندوفیت قارچی باعث بهبود رشد در گیاهان در معرض تنش خشکی شد و در این گیاهان وزن خشک ساقه و ریشه در مقایسه با کنترل (گیاهان بدون اندوفیت) افزایش یافت. افزایش رشد ساقه و سیستم ریشه، رایج‌ترین پاسخ گیاهان به تلقیح اندوفیت‌ها در گونه‌های مختلف گیاهان بوده است (Golparyan et al., 2018; Naveed et al., 2014). براساس اطلاعات بدست آمده از پژوهش حاضر و هم‌چنین نتایج Romero و همکاران (۲۰۱۶) می‌توان بیان داشت که احتمالاً حضور اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* سبب افزایش وزن تر و خشک در گیاه

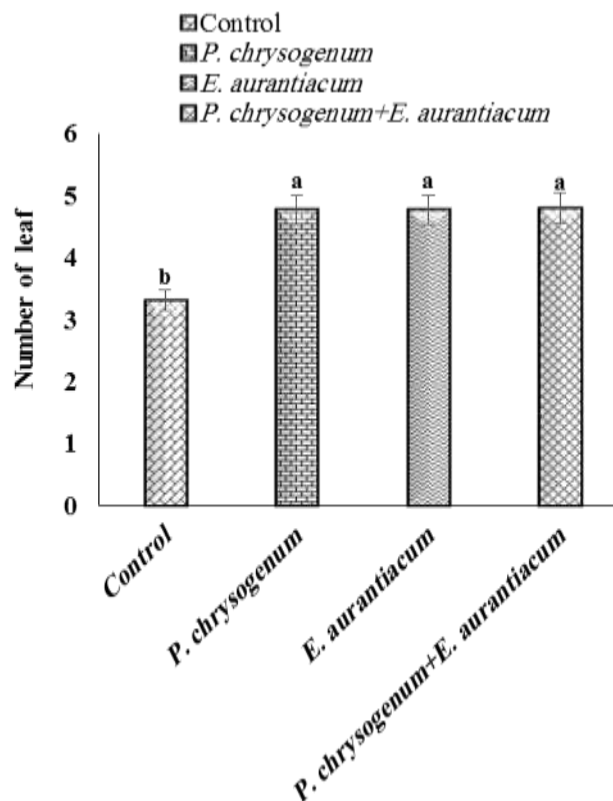


شکل ۲- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum* عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر (A) طول برگ، (B) عرض برگ گیاهچه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

برهمکنش قارچ و باکتری بر صفت تعداد برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۴۴/۱۰٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۴۴/۱۰٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۴۵/۰۱٪) باعث افزایش تعداد برگ نسبت به کنترل شدند (شکل ۳). Khalied و Elkhider (۱۹۹۳) گزارش کردند که تلقیح قارچ میکوریزی آربوسکولار در گیاه گوجه‌فرنگی، تعداد برگ‌های گیاه را افزایش داد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. مشابه این نتایج، افزایش تعداد برگ در گیاهان ذرت (Amerian *et al.*, 2001) و ریحان (Copetta *et al.*, 2006) همزیستی با قارچ‌های میکوریزا نیز گزارش شده است. آن‌ها بیان کردند که قارچ *Piriformospora indica*، با دامنه وسیعی از تشکیل کلنی در ریشه گیاهان، تحریک شدید رشد میزبان‌های خود را سبب

افزایش (۲/۱۶٪) عامل اندوفیت باکتریایی (۹/۸۸٪) و نیز اثر برهمکنش آن‌ها (۳/۴۸٪) کاهش عرض برگ نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (شکل ۲b). در این پژوهش هم‌چنین عرض برگ گیاه گوجه‌فرنگی با تلقیح عامل باکتریایی و برهمکنش آن‌ها کاهش اما با عامل قارچی افزایش نشان داد که با نتایج پورعالی و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت دارد. قارچ‌های اندوفیت، با برقراری روابط همزیستی در تعامل با گیاهان بوده و با انجام فعالیت‌هایی نظیر تولید انواع بی‌شماری از متابولیت‌ها، تجزیه ترکیبات مختلف آلی، تثبیت نیتروژن جوی، تولید مواد محرک رشد گیاه و افزایش قابلیت فراهمی عناصر معدنی برای گیاه سبب رشد گیاه می‌گردند (Oelmuller *et al.*, 2009).

تعداد برگ: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر عامل اندوفیت قارچی، عامل اندوفیت باکتریایی و نیز

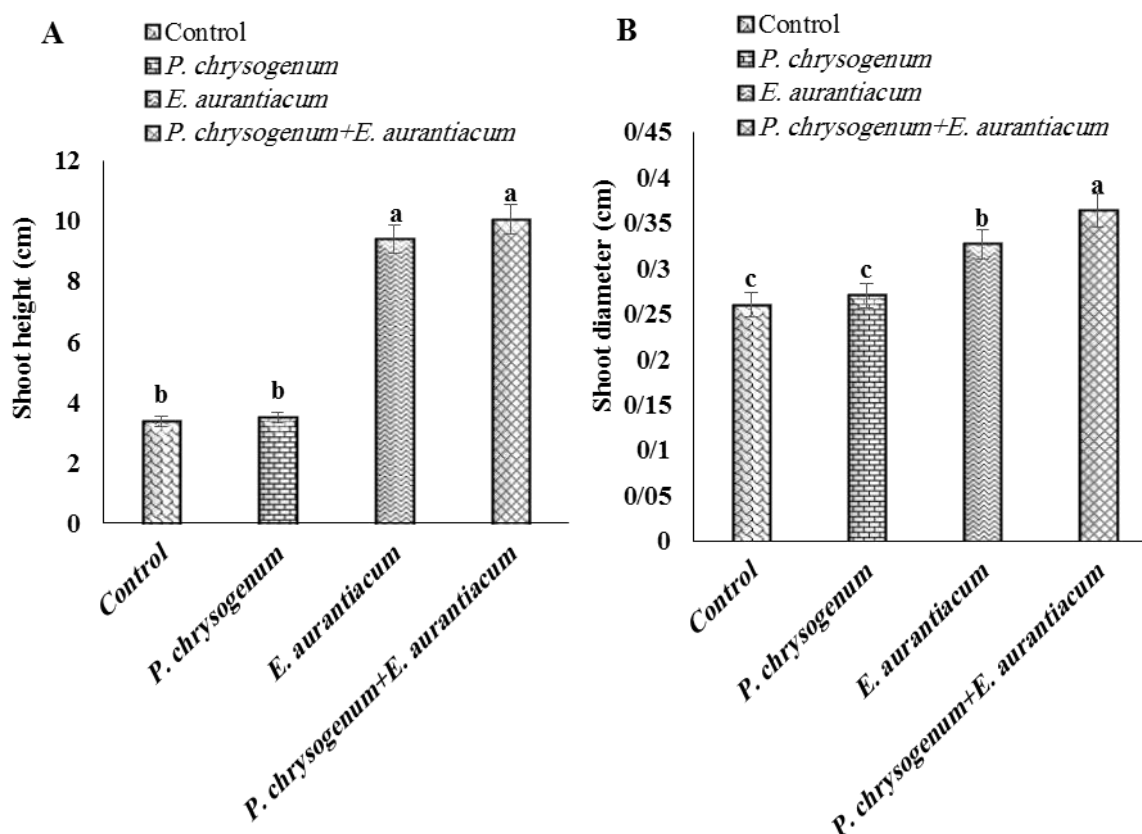


شکل ۳- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum* عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر تعداد برگ گیاه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

عدم تلقیح نشان دادند (شکل ۱b). نتایج پژوهشی نشان داد که تلقیح بذر *Nicotiana attenuata* با *Piriformospora indica* و *Serendipita vermifera* باعث تحریک جوانه‌زنی و افزایش رشد و کشیدگی ساقه شد (Barazani et al., 2005). Rai و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که طول ساقه و ریشه، زیست‌توده، سطح برگ، تعداد گل آذین و تولید بذر در *Withania somnifera* و *Spilanthes calva* در حضور *Piriformospora indica* افزایش یافت. هم‌چنین در مطالعه Shahab و همکاران (۲۰۰۹) افزایش معنی‌داری در طول ساقه گیاه ماش تیمارشده با اندوفیت *Bacillus thuringiensis* و میکوریزا از طریق افزایش سطح ریشه، موجب افزایش جذب آب و عناصر غذایی می‌شود، این شرایط می‌تواند سبب فتوسنتز بیشتر و درنهایت رشد بهتر اندام‌های گیاه شود

می‌شود. این قارچ به دو شکل درون و بین سلولی رشد می‌کند و با تولید کلامیدوسپورهای گلابی شکل در کورتکس، ریشه، کلنی تشکیل می‌دهد، اما قادر به حمله کردن به قسمت‌های داخلی بافت‌های ریشه نیست (Das et al., 2012).

ارتفاع و قطر ساقه: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی، عامل اندوفیت باکتریایی و نیز برهمکنش قارچ و باکتری بر صفات ارتفاع و قطر ساقه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۳/۵۵٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۱۷۷/۵۱٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۱۹۷/۳۳٪) افزایش ارتفاع ساقه نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (شکل ۱a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۳/۸۴٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۲۳/۰۷٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۳۷/۴۶٪) افزایش قطر ساقه نسبت به

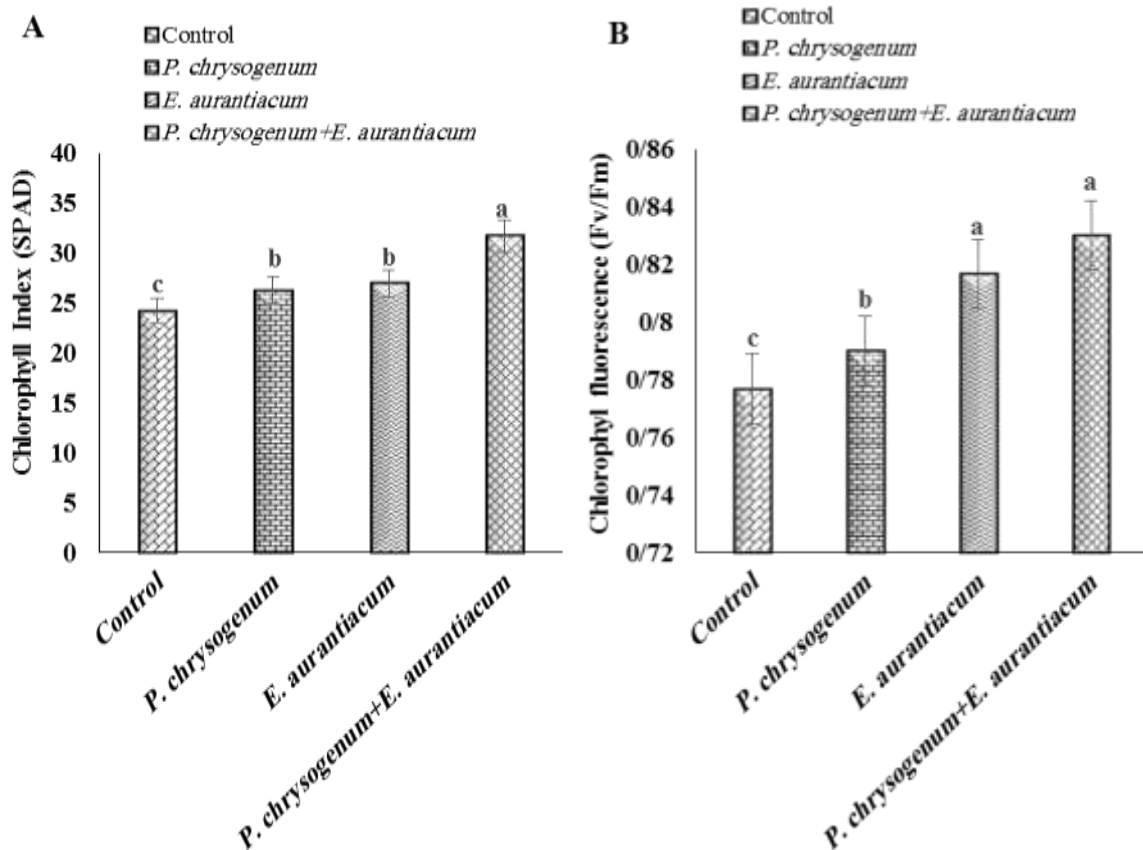


شکل ۴- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر (A) ارتفاع ساقه، (B) قطر ساقه گیاهچه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

همکاران (۱۳۹۶) نشان داده شد که همزیستی قارچ *Piriformospora indica* با گیاه گوجه‌فرنگی باعث افزایش کلروفیل در همه تیمارها نسبت به گیاهان بدون همزیست شد. این نتایج هم‌چنین با نتایج (Colla et al., 2008) همسو است. محتوای بیشتر کلروفیل در گیاهان همزیست، می‌تواند نشان‌دهنده ضرورت میزان فتوسنتز بیشتر برای تأمین کربن اندوفیت در رابطه همزیستی با گیاه باشد (Wright et al., 1998). افزایش میزان کلروفیل برگ‌ها در رابطه همزیستی میکورریزایی می‌تواند به دلیل افزایش جذب فسفر از خاک و نقش آن‌ها به عنوان حامل انرژی در طی فتوسنتز توسط اندوفیت‌ها باشد (Eissenstat et al., 1993). Sadegei و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که بهترین تیمار برای افزایش کلروفیل فلورسانس ترکیب سه قارچ اندوفیت (*Penicillium*

(Osonubi, 1994).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر عامل اندوفیت قارچی، عامل اندوفیت باکتریایی و نیز برهمکنش قارچ و باکتری بر صفات میزان سبزی‌نگی (SPAD) و کلروفیل فلورسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۸/۵۰٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۱۱/۲۷٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۳۱/۰۴٪) افزایش محتوای کلروفیل نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (شکل ۵a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۲/۵۹٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۵/۱۹٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۷/۷۹٪) افزایش محتوای کلروفیل فلورسانس نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (شکل ۵b). در نتایج پژوهش قربانی و



شکل ۵- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر میزان سبزیگی، (A) (SPAD) (B) کلروفیل فلورسانس گیاه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

به عدم تلقیح نشان دادند (جدول ۱). در نتایج این پژوهش کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئید به‌طور قابل توجهی با تلقیح اندوفیت افزایش یافت که با نتایج (Eleiwa et al., 2012) در تلقیح دانه‌های گندم با کود زیستی، *Bacillus polymyxa* یا *Azospirillum brasilense* همسو بود. کاروتنوئیدها در حال تثبیت و محافظت از فاز لیپیدی غشای تیلاکوئید هستند و به عنوان سرکوب‌کننده‌های اکسیژن و رادیکال‌های اکسیژن فعال رفتار می‌کنند (Bu et al., 2012) که محتوای بالاتر در گوجه‌فرنگی تیمار شده با اندوفیت ممکن است که گیاهان را در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده محافظت کند. در همین راستا مطالعات دیگری توسط (Dawwam et al., 2013; Sadeghi et al., 2020; Beneduzi et al., 2012; Hashem et al., 2016) انجام شد.

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر عامل اندوفیت

(*citrium + Aurobassium pullunts + Dothideomycetes sp.*) در گیاه (*Citrus reticulata* L.) بوده که در آن نسبت (Fv/Fm) به میزان ۱۰/۶ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت که با نتایج ما مطابقت داشت. در تحقیقاتی نشان داده شد که نسبت، ۰/۷ یا بالاتر Fv/Fm نشان می‌دهد که گیاه سالم است و از تنش رنج نمی‌برد (Bu et al., 2012).

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر عامل اندوفیت قارچی، عامل اندوفیت باکتریایی و نیز برهمکنش قارچ و باکتری بر صفات کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئید عامل اندوفیت قارچی به ترتیب ۱۸/۷۵، ۷/۸۹ و ۴۵/۸۳ درصد، عامل اندوفیت باکتریایی (۳۴/۳۷، ۴۴/۷۳ و ۷۵ درصد) و نیز برهمکنش آن‌ها (۲۵، ۷۳/۶۸ و ۱۶/۶۶ درصد) افزایش نسبت

جدول ۱- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر کلروفیل *a* و *b*، کارتنوئید و محتوای نسبی آب برگ گیاه گوجه‌فرنگی

تیمار	کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کارتنوئید	RWC (درصد)
شاهد (Control)	۰/۶۴±۰/۱۲ ^c	۰/۳۸±۰/۱۳ ^c	۰/۲۴±۰/۰۱۷ ^c	۶۵/۹۴±۰/۷۴ ^d
اندوفیت قارچی (<i>P. chrysogenum</i>)	۰/۷۶±۰/۱۱ ^b	۰/۴۱±۰/۲۳ ^c	۰/۳۵±۰/۰۴۰ ^b	۶۸/۶۵±۰/۴۹ ^c
اندوفیت باکتریایی (<i>E. aurantiacum</i>)	۰/۸۶±۰/۰۷ ^b	۰/۵۵±۰/۰۲۵ ^b	۰/۴۲±۰/۰۲۳ ^a	۸۷/۸۲±۰/۸۷ ^a
اندوفیت قارچی × باکتریایی (<i>P. chrysogenum</i> × <i>E. aurantiacum</i>)	۰/۸۰±۰/۰۹ ^a	۰/۵۴±۰/۰۱۰ ^a	۰/۲۸±۰/۰۱۴ ^{bc}	۷۶/۶۰±۰/۴۱ ^b

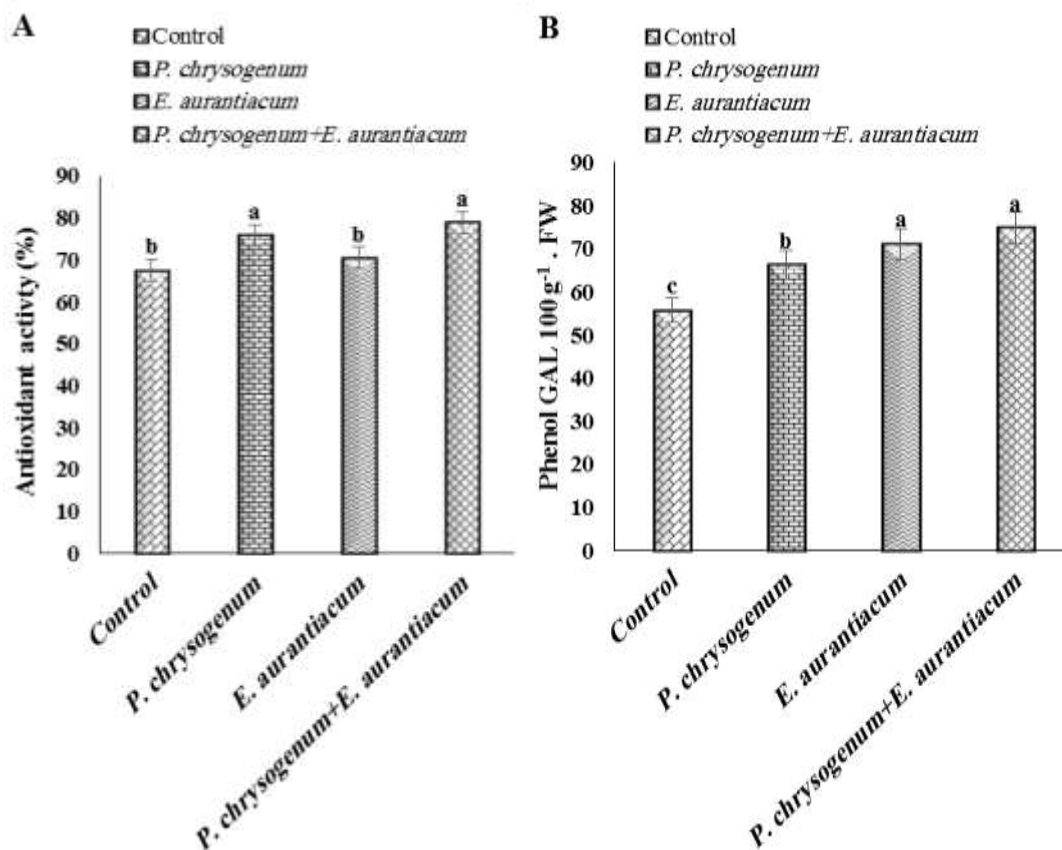
میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

(شکل ۱b). به‌منظور تداوم همزیستی پایدار، اندوفیت‌ها گیاه میزبان را وادار به تولید متابولیت‌هایی می‌کنند که رشد گیاه را تقویت کرده تا بهتر با محیط سازگار شوند (Das and Varma, 2009). اندوفیت‌ها در حفظ سلامت گیاهان نقش ضروری دارند، زیرا آن‌ها می‌توانند گیاهان را در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده محافظت و به رشد و عملکرد کمک کنند (Tanaka *et al.*, 2005; Vega *et al.*, 2008; Lugtenberg *et al.*, 2016; Das and Varma, 2009). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند نقش محوری در افزایش تحمل تنش گیاه داشته باشند (Bartosz, 1997). اندوفیت‌ها می‌توانند گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) تولید کنند که تولید آنتی‌اکسیدان را در گیاهان میزبان تحریک می‌کند و آنتی‌اکسیدان‌ها به نوبه خود مسئول محافظت از میزبان در برابر تنش اکسیداتیو هستند (White and Torres, 2010). در مطالعه‌ای روی قارچ اندوفیت *Aspergillus fumigatus* در گیاه میزبان مشخص شد که این قارچ به فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کند. نتایج نشان داد که قارچ‌های اندوفیت می‌توانند در آزمایش آنتی‌اکسیدانی به خوبی فعالیت محافظتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو DNA نشان دهند (Zhao *et al.*, 2014). فنول‌ها به‌طور گسترده‌ای توزیع می‌شوند و در روند اصلی متابولیسم و فیزیولوژیک گیاهان نقش دارند (Boudet, 2007; Kumar *et al.*, 2019). ترکیبات فنلی بر روندهای مختلف فیزیولوژیکی مربوط به رشدونمو در گیاهان از جمله جوانه‌زنی بذر، تقسیم سلولی، سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و بهبود متابولیسم گیاه تأثیر می‌گذارند (Bujor *et*

قارچی، عامل اندوفیت باکتریایی و نیز برهمکنش قارچ و باکتری بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌های محتوای نسبی آب برگ عامل اندوفیت قارچی (۴/۱۹٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۳۳/۱۸) و نیز برهمکنش آن‌ها (۱۶/۱۶) افزایش نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (جدول ۱). محتوای نسبی آب برگ (RWC) یکی از بهترین معیارها برای اندازه‌گیری وضعیت آب گیاه محسوب می‌شود، زیرا در فعالیت متابولیک در بافت‌ها نقش دارد (Jarvis and Jarvis, 1963). مطالعات نشان داده که گیاهان تلقیح‌شده با اندوفیت در مقایسه با گیاهان غیرتلقیح، محتوای آب نسبتاً بالاتری را حفظ می‌کنند (Colla *et al.*, 2008; Jahromi *et al.*, 2008; Sheng *et al.*, 2008).

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل: براساس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر عامل اندوفیت قارچی، عامل اندوفیت باکتریایی و نیز برهمکنش قارچ و باکتری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان و محتوای فنل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۱۲/۴۵٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۴/۴۹٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۱۶/۹۲٪) افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (شکل ۱a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۱۸/۹۵٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۲۷/۶۷٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۳۴/۵۰٪) افزایش محتوای کلروفیل فلورسانس نسبت به عدم تلقیح نشان دادند



شکل ۶- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum* عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر (A) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، (B) محتوای فنل گیاه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

نشان داد که مصرف توأم باکتری و قارچ دارای اثرات بهتری نسبت به کاربرد جداگانه آنها بود. در این پژوهش، برهمکنش اندوفیت‌ها سبب بهبود صفات مورفو- فیزیولوژیک در گیاه گوجه‌فرنگی شد. نتایج نشان داد که اثر عامل اندوفیت باکتریایی در بهبود صفات گیاه گوجه‌فرنگی بیشتر از عامل اندوفیت قارچی بود. به‌طورکلی با توجه به نتایج این پژوهش، می‌توان بیان کرد که اثرات پیش‌تیمار بذر توسط اندوفیت‌ها، می‌تواند اثرات مفیدی در افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی داشته باشد.

فنولیک گیاهی نقش مهمی در چندین فرایند فیزیولوژیکی برای بهبود تحمل و سازگاری گیاهان در شرایط غیربهبوده دارند (Andersen, 2003; Dixon and Paiva, 1995). استفاده از قارچ و باکتری‌های اندوفیت محرک رشد گیاه و افزایش محتوای فنل در برگ گیاهان توسط (Radi et al., 2010; Sarahi Nobar et al., 2013) گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داده که استفاده از اندوفیت‌های قارچی و باکتریایی و برهمکنش بین آنها می‌تواند در بهبود صفات رشدی گیاهان مؤثر باشد. همچنین

- پورعالی، ش.، حاتم‌زاده، ع. و احتشامی، س. م. ر. (۱۳۹۴) بررسی همزیستی میکوریزایی و باکتری‌های محرک رشد بر ویژگی‌های کمی و کیفی آلوئه‌ورا. علوم و تحقیقات بذر ایران. ۲: ۷۰-۶۱.
- قربانی، ا.، رضوی، س. م.، قاسمی عمران، و. و پیردشتی، ه. (۱۳۹۷) تأثیر همزیستی اندوفیت بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری ۱۰ روزه. فرآیند و کارکرد گیاهی ۲۷: ۲۰۸-۱۹۳.
- گزارش سالیانه عملکرد گوجه‌فرنگی سازمان جهاد کشاورزی استان هرمزگان، (۱۳۹۹).
- Abdulmyanova, L. I., Ruzieva, D. M., Sattarova, R. S. and Gulyamova, T. G. (2018) Vinca alkaloids produced by endophytic fungi isolated from vinca plants. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences (IJCMAS)* 7: 2244-2250.
- Adriaensen, K., Vangronsveld, J. and Colpaert, J. V. (2006) Zinc-tolerant *suillus bovinus* improves growth of Zn-7-exposed *Pinus sylvestris* seedlings. *Mycorrhiza* 16: 553-558.
- Ali, S., Charles, T. C. and Glick, B. R. (2012) Delay of flower senescence by bacterial endophytes expressing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Journal of Applied Microbiology* 113: 1139-1144.
- Amerian, M. R., Stewart, W. S. and Griffiths, H. (2001) Effect of two species of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, assimilation and leaf water relations in maize (*Zea mays*). *Aspects of Applied Biology* 63: 71-76.
- Andersen, C. P. (2003) Source-sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone. *New Phytologist* 157: 213-228.
- Bae, H., Roberts, D. P., Lim, H. S., Strem, M. D., Park, S. C., Ryu, C. M., Melnick, R. L. and Bailey, B. A. (2011) Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24: 336-351.
- Barazani, O., Benderoth, M., Groten, K., Kuhlemeier, C. and Baldwin, I. T. (2005) *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* increase growth performance at the expense of herbivore resistance in *Nicotiana attenuata*. *Oecologia* 146: 234-243.
- Barea, J. M. and Brown, M. E. (1974) Effects on plant growth produced by *Azotobacter paspali* related to synthesis of plant growth regulating substances. *Journal of Applied Bacteriology* 37: 583-593.
- Bartosz, G. (1997) Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 19: 47-64.
- Baskin, J. M. and Baskin, C. C. (2004) A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1-16.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A. and Passaglia, L. M. P. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Journal of Genetics and Molecular Biology* 35: 1044-1051.
- Bergna, A., Cernava, T., Randler, M., Grosch, R., Zachow, C. and Berg, G. (2018) Tomato seeds preferably transmit plant beneficial endophytes. *Phytobiomes Journal* 2: 183-193.
- Boudet, A. M. (2007) Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry* 68: 2722-2735.
- Brader, G., Compant, S., Vescio, K., Mitter, B., Trognitz, F., Ma, L. J., et al. (2017) Ecology and genomic insights into plant-pathogenic and plant-nonpathogenic endophytes. *Annual Review of Phytopathology* 55: 61-83.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 28: 25-30.
- Bu, N., Li, X., Li, Y., Ma, C., Ma, L. and Zhang, C. (2012) Effects of Na₂CO₃ stress on photosynthesis and antioxidative enzymes in endophyte infected and non-infected rice. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 78: 35-40.
- Bujor, O. C., Talmaciu, I. A., Volf, I. and Popa, V. I. (2015) Biorefining to recover aromatic compounds with biological properties. *TAPPI Journal* 14: 187-193.
- Colla, G., Roupael, Y., Cardarelli, M., Tullio, M., Rivera, C. M. and Rea, E. (2008) Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology and Fertility of Soils* 44: 501-509.
- Copetta, A., Lingua, G. and Berta, G. (2006) Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. *Mycorrhiza* 16: 485-494.
- Coutinho, B. G., Licastro, D., Mendonc, A., Previato, L., Camara, M. and Venturi, V. (2015) Plant-influenced gene expression in the rice endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. *Molec. Plant-Microbe Interact* 28: 10-21.
- Das, A. and Varma, A. (2009) "Symbiosis: The art of living," In: *Symbiotic Fungi Principles and Practice*. (eds. Varma, A. and Kharkwal, A. C.) Pp. 1-28. Springer, Berlin.
- Das, A., Kamal, S., Shakil, N. A., Sherameti, I., Oelmüller, R., Dua, M., Tuteja, N., Johri, A. K. and Varma, A. (2012) The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. *Plant Signaling and Behavior* 7: 103-112.
- Davitt, A. J., Stansberry, M. and Rudgers, J. A. (2010) Do the costs and benefits of fungal endophyte symbiosis vary with light availability. *New Phytologist* 188: 824-834.

- Dawwam, G. E., Elbeltagy, A., Emara, H. M., Abbas, I. H. and Hassan, M. M. (2013) Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant. *Annals of Agricultural Sciences* 58: 195-201.
- Deshmukh, S., Huckelhoven, R., Schafer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F. and Kogel, K. H. (2006) The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 18450-18457.
- Dixon, R. A. and Paiva, N. L. (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* 7: 1085.
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Shurigin, V. V., Hashem, A. and Abd-Allah, E. F. (2017) Endophytic bacteria improve plant growth, symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and induce suppression of root caused by *Fusarium solani* under salt stress. *Frontiers in Microbiology* 8: 1887.
- Eissenstat, D. M., Graham, J. H., Syvertsen, J. P. and Drouillard, D. L. (1993) Carbon economy of sour orange in relation to mycorrhizal colonization and phosphorus status. *Annals of Botany* 71: 1-10.
- Eleiwa, M. E., Hamed, E. R. and Shehata, H. S. (2012) The role of biofertilizers and/or some micronutrients on wheat plant (*Triticum aestivum* L.) growth in newly reclaimed soil. *Journal of Medicinal Plants Research* 6: 3359-3369.
- Estrada, C., Wcislo, W. T. and Van Bael, S. A. (2013) Symbiotic fungi alter plant chemistry that discourages leaf-cutting ants. *New Phytologist* 198: 241-251.
- FAO, F. (2018) AO of the United Nations, "Faostat database."
- Farhana, A., Wei-dong, C., Shuai, T. and Jian-guang, S. (2019) Assessment of plant growth promoting and abiotic stress tolerance properties of wheat endophytic fungi. *BioMed Research International* 2019.
- Frank, A. C., Saldierna Guzman, J. P. and Shay, J. E. (2017) Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms* 5: 70.
- Golparyan, F., Azizi, A. and Soltani, J. (2018) Endophytes of *Lippia citriodora* (Syn. *Aloysia triphylla*) enhance its growth and antioxidant activity. *European Journal of Plant Pathology* 152: 759-768.
- Gond, S. K., Bergen, M. S., Torres, M. S. and White Jr, J. F. (2015) Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. *Microbiological Research* 172: 79-87.
- Gundel, P. E., Omacini, M., Sadras, V. O. and Ghera, C. M. (2010) The interplay between the effectiveness of the grass-endophyte mutualism and the genetic variability of the host plant. *Evolutionary Applications* 3: 538-546.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F. and Kloepper, J. W. (1997) Bacterial endophytes in 1. agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 895-914.
- Hardoim, P. R., Hardoim, C. C., Van Overbeek, L. S. and Van Elsas, J. D. (2012) Dynamics of seed-borne rice 32. endophytes on early plant growth stages. *PloS One* 7: 30438.
- Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A., Al-Huqail, A. A., Wirth, S. and Egamberdieva, D. (2016) The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. *Frontiers in Plant Science* 7: 1089.
- Irizarry, I. and White, J. F. (2018) *Bacillus amyloliquefaciens* alters gene expression, ROS production and lignin synthesis in cotton seedling roots. *Journal of Applied Microbiology* 124: 1589-1603.
- Jahromi, F., Aroca, R., Porcel, R. and Ruiz-Lozano, J. M. (2008) Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. *Microbial Ecology* 55: 45.
- Jarvis, P. G. and Jarvis, M. S. (1963) The water relations of tree seedlings: IV. Some aspects of the tissue water relations and drought resistance. *Physiologia Plantarum* 16: 501-516.
- Karimi, S., Yadollahi, A., Nazari-Moghadam, R., Imani, A. and Arzani, K. (2012) In vitro screening of almond (*Prunus dulcis* (Mill.)) genotypes for drought tolerance. *Journal of Biological and Environmental Sciences (JBES)* 6: 263-270.
- Khalied, A. S. and Elkhider, R. A. (1993) *Vesicular arbuscular* mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza* 4: 45-57.
- Khan, A. L., Hamayun, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., Jung, H. Y., Lee, J. H. and Lee, I. J. (2012) Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: An example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiology* 12: 3.
- Khan, A. L., Hussain, J., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A. and Lee, I. J. (2015) Endophytic fungi: Resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. *Critical Reviews in Biotechnology* 35: 62-74.
- Kong, Z. and Glick, B. R. (2017) The role of plant growth-promoting bacteria in metal phytoremediation. *Advances in Microbial Physiology* 71: 97-132.
- Kumar, V., Sharma, A., Kohli, S. K., Bali, S., Sharma, M., Kumar, R., Bhardwaj, R. and Thukral, A. K. (2019) Differential distribution of polyphenols in plants using multivariate techniques. *Biotechnology Research and Innovation* 3: 1-21.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* 1: F4-3.
- Lugtenberg, B. J., Caradus, J. R. and Johnson, L. J. (2016) Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology* 92.

- Moonjely, S., Barelli, L. and Bidochka, M. J. (2016) Insect pathogenic fungi as endophytes. *Advances in Genetics* 94: 107-135.
- Muhlmann, O. and Peintner, U. (2008) Mycobionts of *Salix herbacea* on a glacier forefront in the Austrian Alps. *Mycorrhiza* 18: 171-180.
- Nanjo, F., Goto, K., Seto, R., Suzuki, M., Sakai, M. and Hara, Y. (1996) Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radical Biology and Medicine* 21: 895-902.
- Naveed, S. and Qamar, F. (2014) A simple assay of esomeprazole using UV spectrophotometer. *The Global Journal of Pharmaceutical Research (TGJPR)* 3: 1921-25.
- Nelson, E. B. (2018) The seed microbiome: Origins, interactions, and impacts. *Plant and Soil* 422: 7-34.
- Oelmuller, R., Sherameti, I., Tripathi, S. and Varma, A. (2009) *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis* 49: 1-17.
- Osonubi, O. (1994) Comparative effects of *vesicular-arbuscular* mycorrhizal inoculation and phosphorus fertilization on growth and phosphorus uptake of maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L.) plants under drought-stressed conditions. *Biology and Fertility of Soils* 18: 55-59.
- Radi, A. A., Farghaly, F. A. and Hamada, A. M. (2013) Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *Journal of Biology and Earth Sciences* 3: 72-88.
- Rai, M., Acharya, D., Singh, A. and Varma, A. (2001) Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza* 11: 123-128.
- Rivero, R. M., Shulaev, V. and Blumwald, E. (2009) Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit. *Plant Physiology* 150: 1530-1540.
- Romero, F. M., Marina, M. and Pieckenstein, 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: 222-233.
- Rosenblueth, M. and Martinez-Romero, E. (2006) Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 827-837.
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J. and Dowling, D. N. (2008) Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters* 278: 1-9.
- Sadeghi, F., Samsampour, D., Seyahoei, M. A., Bagheri, A. and Soltani, J. (2020) Fungal endophytes alleviate drought-induced oxidative stress in mandarin (*Citrus reticulata* L.): Toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. *Scientia Horticulturae* 261: 108991.
- Salam, N., Khieu, T. N., Liu, M. J., Vu, T. T., Chu-Ky, S., Quach, N. T., Phi, Q. T., Narsing Rao, M. P., Fontana, A., Sarter, S. and Li, W. J. (2017) Endophytic actinobacteria associated with *Dracaena cochinchinensis* Lour.: Isolation, diversity, and their cytotoxic activities. *BioMed Research International* 2017.
- Sarabi Nobar, M., Niknam, M. and Moradi, B. (2010) Effect of salinity stress on protein content, colorants, sugars and phenolic compounds in tissue culture of several species of Iranian fenugreek. *Journal of Science University of Tehran* 36: 53-59 (in persian).
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Rommert, A. K. and Krohn, K. (2002) Endophytic fungi: A source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research* 106: 996-1004.
- Shahab, S., Ahmed, N. and Khan, N. S. (2009) Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSBs. *African Journal of Agricultural Research* 4: 1312-1316.
- Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Waqas, M., Kang, S. M. and Lee, I. J. (2017) Inoculation of abscisic acid-producing endophytic bacteria enhances salinity stress tolerance in *Oryza sativa*. *Environmental and Experimental Botany* 136: 68-77.
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F. and Huang, Y. (2008) Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18: 287-296.
- Silveira, S. V., Lorscheiter, R., Barros, I. B. I., Schwarz, S. F. and Souza, P. V. D. (2006) *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 8: 91-97.
- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Soad, A., Algam, X. and Coosemans, J. (2005) Delivery methods for introducing endophytic *Bacillus* into tomato and their effect on growth promotion and suppression of tomato wilt. *Plant Pathology Journal* 4: 69-74.
- Solomon, S., Manning, M., Marquis, M. and Qin, D. (2007) Climate change 2007-the physical science basis: Working group I contribution to the fourth assessment report of the IPCC. 4th Ed. Cambridge University Press.
- Tanaka, A., Tapper, B. A., Popay, A., Parker, E. J. and Scott, B. (2005) A symbiosis expressed non-ribosomal peptide synthetase from a mutualistic fungal endophyte of perennial ryegrass confers protection to the symbiont from insect herbivory. *Molecular microbiology* 57: 1036-1050.
- Van Bael, S. A., Seid, M. A. and Weislo, W. T. (2012) Endophytic fungi increase the processing rate of leaves by leaf-cutting ants (*Atta*). *Ecological Entomology* 37: 318-321.

- Vega, F. E., Posada, F., Aime, M. C., Pava-Ripoll, M., Infante, F. and Rehner, S. A. (2008) Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control* 46: 72-82.
- Vujanovic, V., St-Arnaud, M., Barabe, D. and Thibeault, G. (2000) Viability testing of orchid seed and promotion of coloration and germination. *Annals of Botany (Lond.)* 86: 79-86.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Von Wettstein, D. and Franken, P. (2005) The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 13386-13391.
- White Jr, J. F. and Torres, M. S. (2010) Is plant endophyte-mediated defensive mutualism the result of oxidative stress protection? *Physiologia Plantarum* 138: 440-446.
- White, J. F., Kingsley, K. I., Kowalski, K. P., Irizarry, I., Micci, A., Soares, M. A. and Bergen, M. S. (2018) Disease protection and allelopathic interactions of seed-transmitted endophytic *Pseudomonads* of invasive reed grass (*Phragmites australis*). *Plant and Soil* 422: 195-208.
- Wright, D. P., Read, D. J. and Scholes, J. D. (1998) Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. *Plant, Cell and Environment* 21: 881-891.
- Zhao, J., Ma, D., Luo, M., Wang, W., Zhao, C., Zu, Y., Fu, Y. and Wink, M. (2014) In vitro antioxidant activities and antioxidant enzyme activities in HepG2 cells and main active compounds of endophytic fungus from pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. *Food Research International* 56: 243-251.

Evaluation of the effect of fungal *Penicillium chrysogenum* and bacterial *Exigubacterium aurantiacum* endophytes on improvement of the morpho-physiological characteristics of tomato seedlings

Soheila Aghaei Dargiri¹, Davood Samsampour*¹, Majeed Askari Seyahooei² and Abdoolnabei Bagheri²

¹Department of Horticulture Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

²Plant Protection Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

(Received: 21/10/2020, Accepted: 19/01/2021)

Abstract

In this study, we planned to investigate the symbiotic effects of a fungal (*Penicillium chrysogenum*) and bacterial (*Exigubacterium aurantiacum*) endophytes and their interaction on some growth and physiological traits of tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.) cultivar 8320. For this purpose, tomato seeds were inoculated by the studied endophytes *P. chrysogenum* and bacterial *E. aurantiacum* and then transplanted in seedling trays in the greenhouse of Hormozgan University in 2019. The experiment was performed as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications with inoculation of fungal endophytes and bacterial endophytes in which some traits such as fresh and dry weight aerial organs, leaf length and width, number of leaves, stem height and diameter, chlorophyll content (SPAD), fluorescence chlorophyll, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids, relative water content, as well as antioxidant activity and total phenol content were measured. The results showed that the interaction of *P. chrysogenum* and *E. aurantiacum* significantly increased fresh and dry weight aerial organs, stem height and diameter, leaf number, chlorophyll content (SPAD), chlorophyll fluorescence, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids, relative water content, antioxidant activity and total phenol content of the tomato plants. However, both endophytes significantly reduced leaf length and width of the plants compared to the symbiotic-free ones. Also, the results showed that the simultaneous application of both endophytes had a significant synergistic effect on the mentioned traits in tomato plants compared to their separate application. In general, it can be concluded that the symbiosis of endophytes in a bio-rational combination with the tomato plant Improving growth traits possesses significant positive effects. Therefore, the simultaneous application of *P. chrysogenum* and *E. aurantiacum* endophytes is strongly recommended to improve the growth traits of tomato plants.

Keywords: Endophyte, Phenol, Chlorophyll, Tomato

Corresponding author, Email: Samsampour@hormozgan.ac.ir