مقاله پژوهشی

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 *Penicilliumn chrysogenum* و باکتریایی *Exigubacterium auranticum* 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 به‌صورت 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 سبزینگی (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 سبزینگی (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. به‌طورکلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که همزیستی اندوفیت‌ها به‌صورت ترکیب هوشمندانه با گیاه گوجه‌فرنگی، اثرات مثبت برجسته‌ای به‌همراه 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

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

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Samsampoor@hormozgan.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

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 میکروارگانیسم‌ها، 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 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 آلکالوئیدی 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 میکروارگانیسم‌های 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*., 2013; Salam *et al*., 2017). 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 ٦ هزار تن محصول گوجه‌فرنگی تولید می‌شود (گزارش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

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 ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه هرمزگان کشت و نگهداری شد. اسپورهای قارچ مورد نظر با ۱۰ 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 1×10^{6} 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) به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۳۰ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه هرمزگان کشت و نگهداری شد. OD سوسپانسیون در غلظت 1×10^{8} میلی‌لیتر 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) به‌مدت ۳۰ ثانیه و سپس با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۹۰ ثانیه استریل و پس از آن به‌طور کامل سه بار با آب‌مقطر 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 به‌مدت شش ساعت روی شیکر قرار داده شدند. بذور شاهد در آب‌مقطر استریل غوطه‌ور شدند. قبل از کشت بذور تیمارشده، خاک مورد استفاده (پیت ماس و پرلایت) در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. طی دوره کشت از آب اتوکلاوشده 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 ار اعمال تیمارها)، برای اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه، از ساقه و برگ گیاهچه نمونه‌برداری شد. برای تعیین وزن خشک اندام‌های هوایی، نمونه‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دستگاه آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، سپس با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ توزین شدند. طول و عرض از برگ بالغ با استفاده از خط‌کش ۰/۱ سانتی‌متری انجام گردید.

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

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

از برگ تازه در یک هاون چینی با پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب عصاره در طول‌موج‌های ٦٦۳، ٦٤۷ و ٤۷۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (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 برگی تهیه و برای تعیین وزن نمونه‌ها، بلافاصله وزن شدند (FW)، سپس تمامی نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق و تاریکی در آب‌مقطر 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:

$$\text{محتوای نسبی آب برگ} = \frac{FW-DW}{TW-DW} \times ۱۰۰$$

تهیه عصاره آنتی‌اکسیدانی و فنل: سه میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد به نیم گرم بافت تازه برگ کوبیده در ازت مایع اضافه کرده، سپس به‌مدت 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 به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت و جذب عصاره در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد.

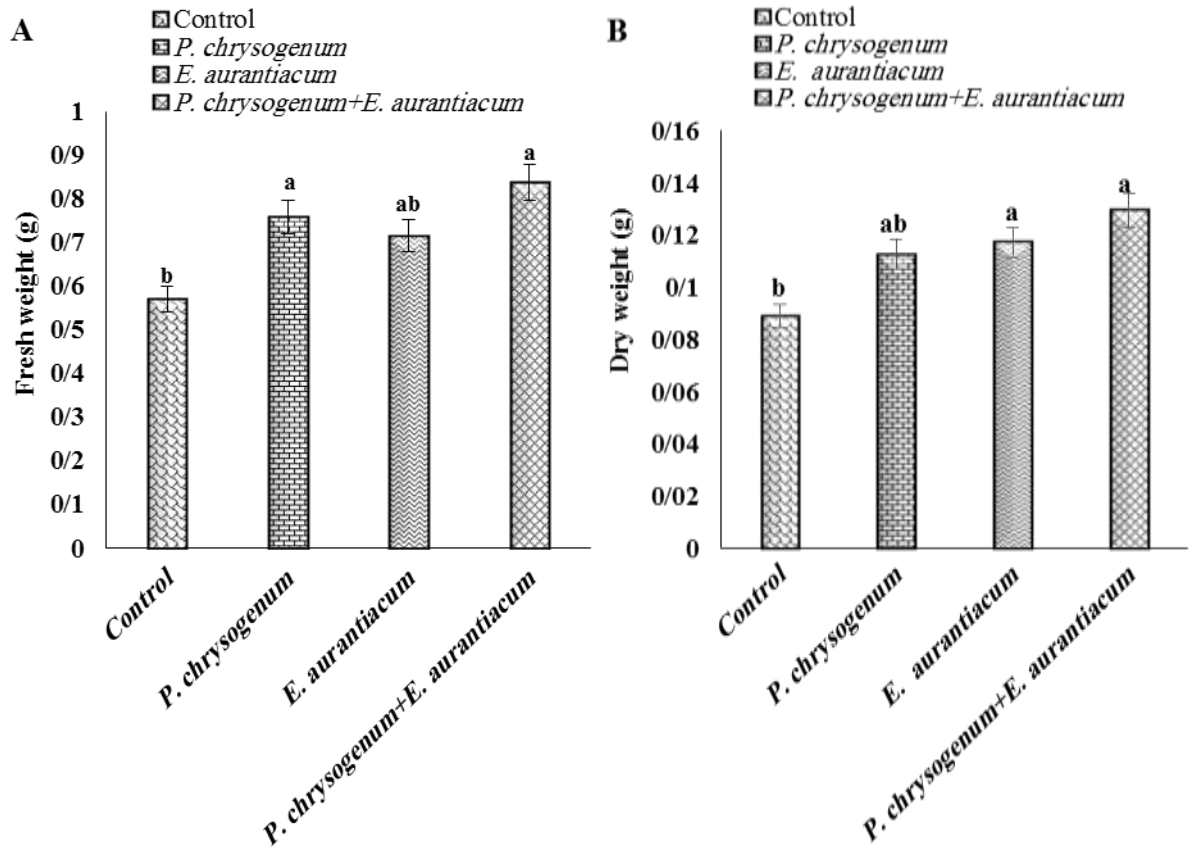
اندازه‌گیری فنل کل: سنجش محتوای فنل کل با معرف فولین- سیوکالتو و روش (Singleton and Rossi, 1965) انجام شد. نیم گرم از بافت تازه برگ در متانول ۸۰ درصد همگن و سپس با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و ۱ میلی‌لیتر محلول متانول (۱/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین) به آن اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد؛ سپس ۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۱۲ درصد به محلول اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه قرارگرفتن در دمای آزمایشگاه، جذب محلول حاصل در طول‌موج ۷٦۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر 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 (۲٤/۵٦٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (٤۵/٦۱٪) افزایش وزن تر در گیاهان تلقیح‌شده نسبت به گیاهان کنترل نشان دادند (شکل 1a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۲۵/۸٤٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۳۱/٤٦٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (٤٤/۹٤٪) افزایش وزن خشک نسبت به کنترل (گیاهان بدون اندوفیت) نشان دادند (شکل 1b). 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 cereus*، *Achromobacter xylosoxidanas*، *Bacillus thuringiensis* و *Bacillus subtilis* روی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) باعث افزایش زیست توده وزن خشک ٪۵، ۲٤، ٤۳ و ٤۵ 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 (۱۹۷٤) نشان دادند که تلقیح بذر گیاه با اندوفیت‌ها در گیاه گوجه‌فرنگی موجب افزایش وزن خشک ریشه‌ها و برگ‌ها

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

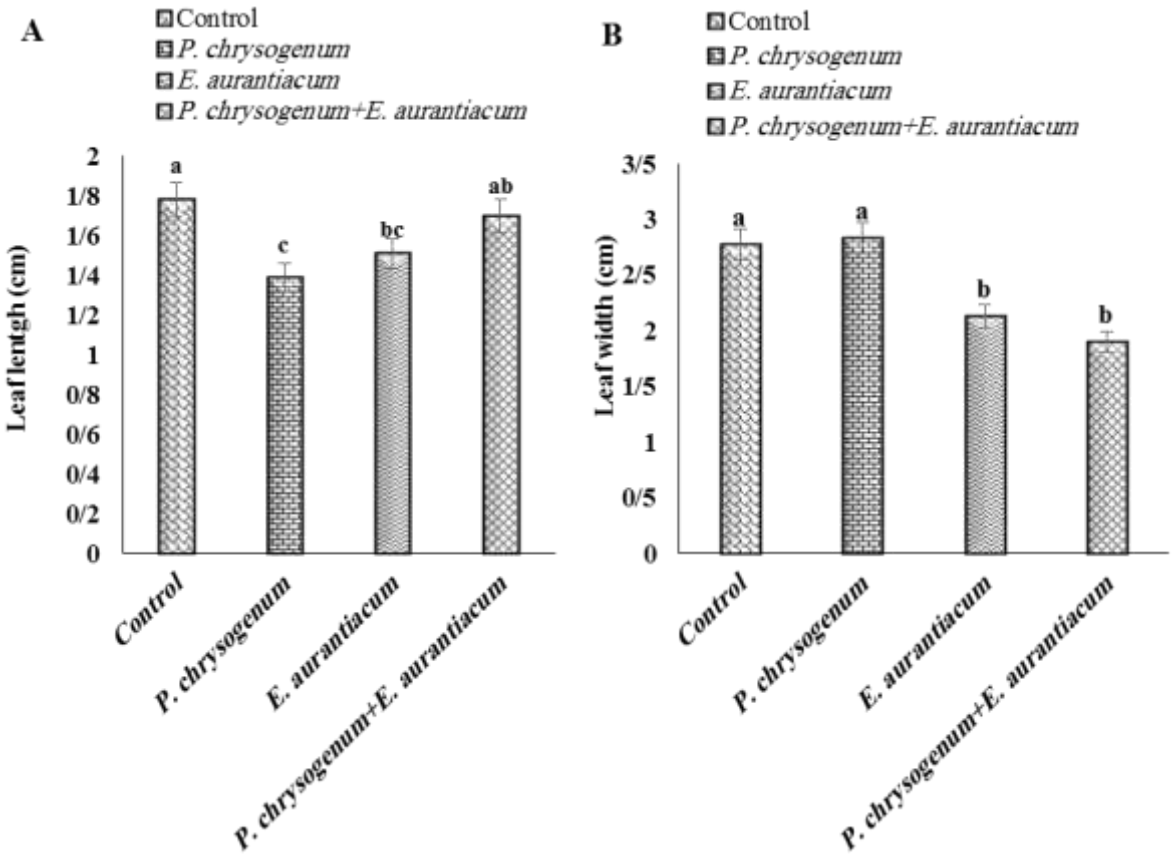


شکل ۱- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacu* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر (A) وزن تر، (B) وزن خشک گیاه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

می‌شود. Sadeghi و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی تأثیر برهمکنش سه قارچ (*Penicillium citrium* + *Aurobassium pullunts* + *Dothideomycetes* sp.) بر گیاه (*Citrus 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 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 (٤/٤۹٪) کاهش طول برگ نسبت به کنترل (گیاهان بدون شاهد) نشان دادند (شکل ۲a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

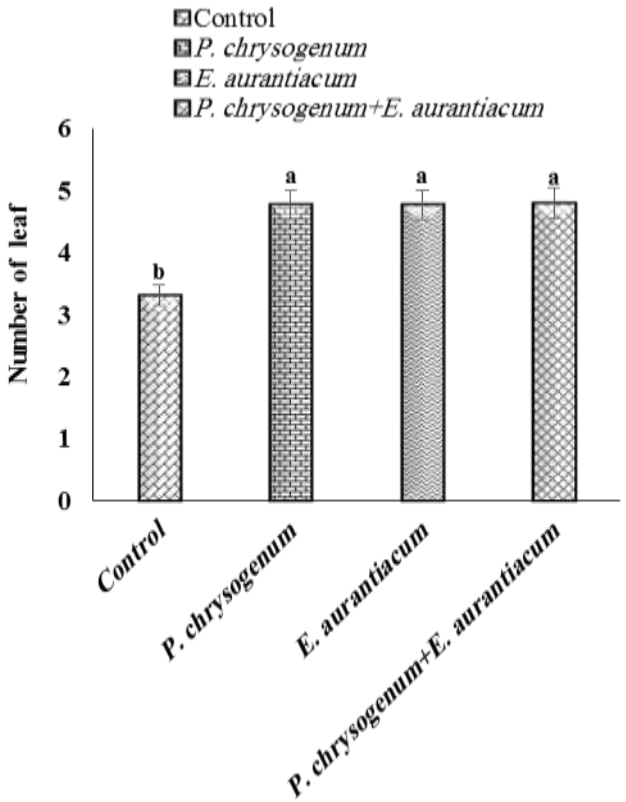


شکل ۲- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر (A) طول برگ، (B) عرض برگ گیاهچه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

(۲/۱٦٪) افزایش، عامل اندوفیت باکتریایی (۹/۸۸٪) و نیز اثر برهمکنش آن‌ها (۳/٤۸٪) کاهش عرض برگ نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (شکل 2b). 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 (۱۳۹٤) 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 برهمکنش قارچ و باکتری بر صفت تعداد برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (٤٤/۱۰٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (٤٤/۱۰٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (٤٥/۰۱٪) باعث افزایش تعداد برگ نسبت به کنترل شدند (شکل ۳). Khalied و Elkhider (۱۹۹۳) گزارش کردند که تلقیح قارچ میکوریزای 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

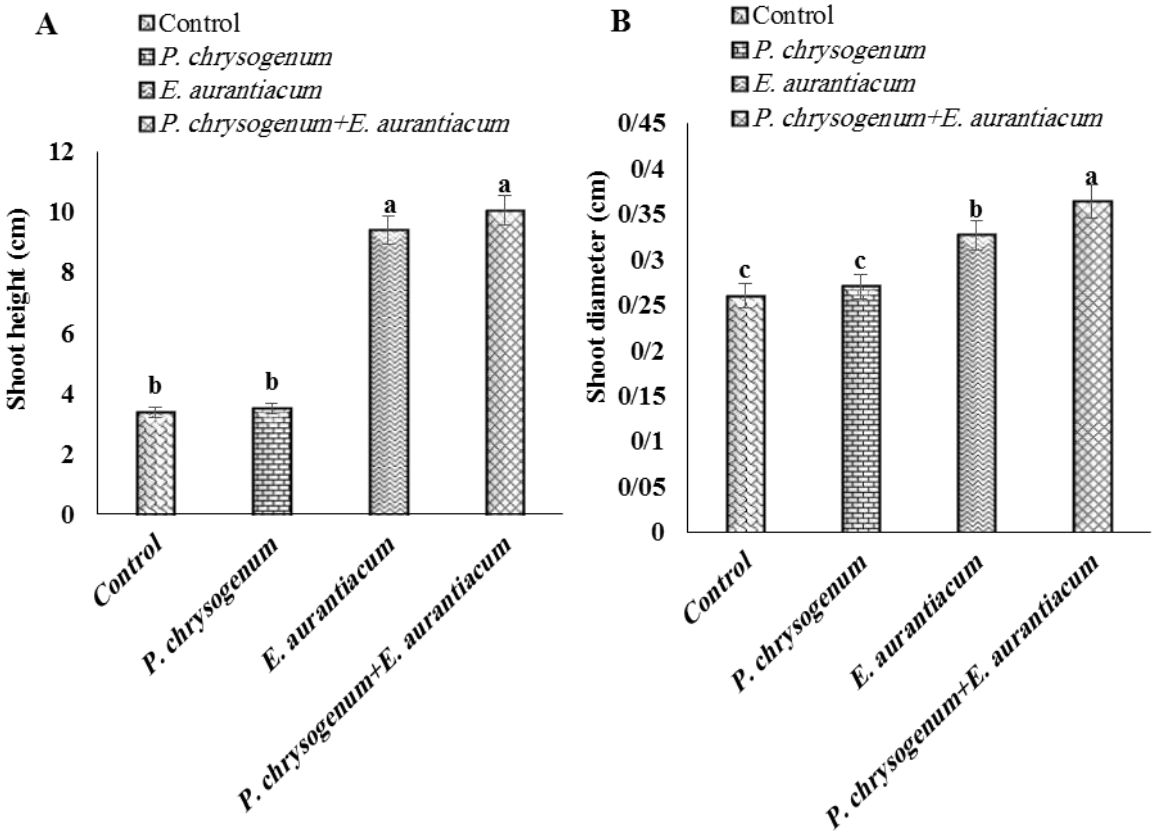


شکل ۳- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر تعداد برگ گیاه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

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 ٤a). هم‌چنین، با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، عامل اندوفیت قارچی (۳/۸٤٪)، عامل اندوفیت باکتریایی (۲۳/۰۷٪) و نیز برهمکنش آن‌ها (۳۷/٤٦٪) افزایش قطر ساقه نسبت به عدم تلقیح نشان دادند (شکل ٤b). 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 *Spilanthes calva* و *Withania somnifera* در حضور *Piriformospora indica* افزایش یافت. هم‌چنین در مطالعه Shahab و همکاران (۲۰۰۹) افزایش معنی‌داری در طول ساقه گیاه ماش تیمارشده با اندوفیت *Bacilllus thuringinsis* و *Pesudomonus aerugnsis* مشاهده شد. با توجه به اینکه قارچ 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

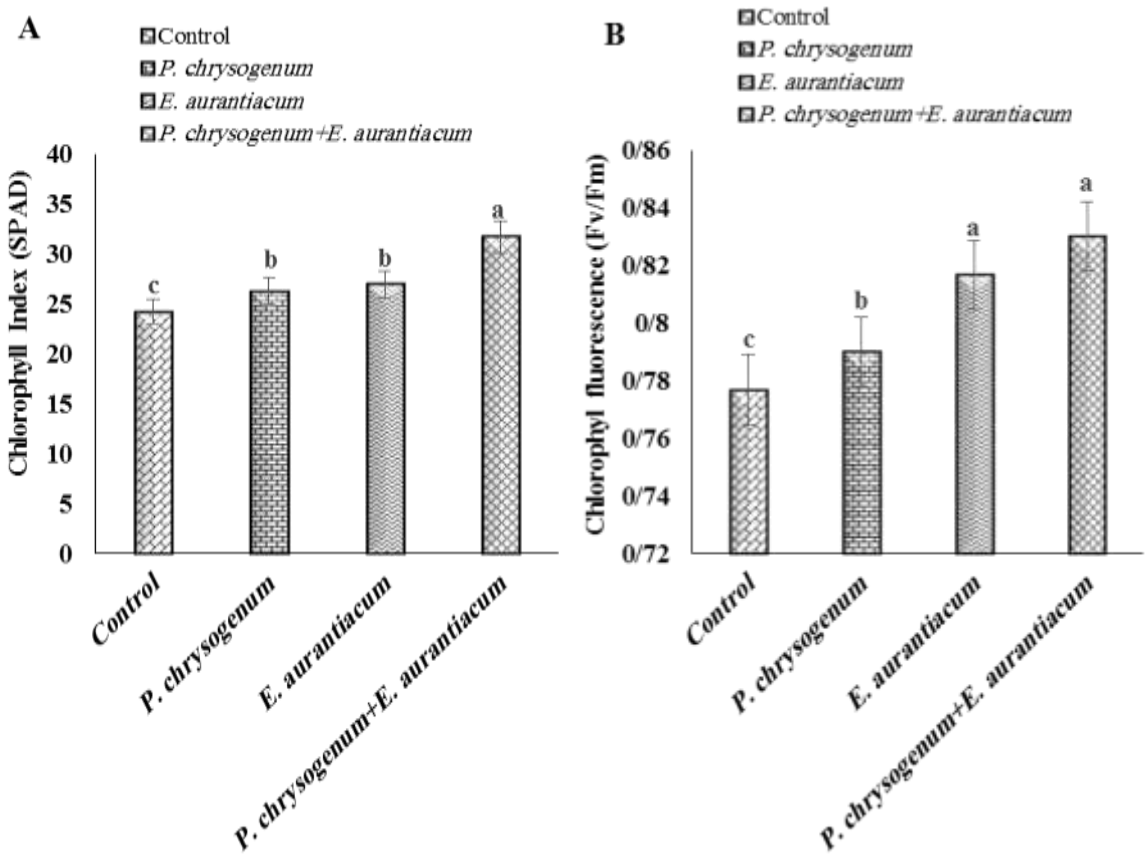


شکل ٤- تأثیر عامل اندوفیت قارچی *P. chrysogenum*، عامل اندوفیت باکتریایی *E. aurantiacum* و برهمکنش اندوفیت قارچی و باکتریایی بر (A) ارتفاع ساقه، (B) قطر ساقه گیاهچه گوجه‌فرنگی. میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

(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 (٪۳۱/۰٤) 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 همکاران (۱۳۹٦) 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 به‌دلیل افزایش جذب فسفر از خاک و نقش آن‌ها به‌عنوان 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*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]



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

(*citrium* + *Aurobassium pullunts* + *Dothideomycetes* sp. در گیاه (*Citrus reticulata* L.) بوده که در آن نسبت (Fv/Fm)، به میزان ۱۰/٦ 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 کارتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با بررسی نتایج مقایسه میانگین داده‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کارتنوئید عامل اندوفیت قارچی به‌ترتیب ۱۸/۷۵، ۷/۸۹ و ٤٥/٨٣ درصد)، عامل اندوفیت باکتریایی (۳٤/۳۷، ٤٤/۷۳ و ۷٥ درصد) و نیز برهمکنش آن‌ها (۲٥، ۷۳/٦٨ و ٦٦/ ۱٦درصد) افزایش نسبت 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 brasilinseas* 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 تیمارشده 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

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 *a*	کلروفیل *b*	کاروتنوئید	RWC
	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)			(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 (*P. chrysogenum*)	۰/۷۶±۰/۱۱^{b}	۰/۴۱±۰/۲۳^{c}	۰/۳۵±۰/۰۴۰^{b}	۶۸/۶۵±۰/۴۹^{c}
اندوفیت باکتریایی (*E. aurantiacum*)	۰/۸۶±۰/۰۷^{b}	۰/۵۵±۰/۰۲۵^{b}	۰/۴۲±۰/۰۲۳^{a}	۸۷/۸۲±۰/۸۷^{a}
اندوفیت قارچی × باکتریایی (*P. chrysogenum* × *E. aurantiacum*)	۰/۸۰±۰/۰۹^{a}	۰/۵۴±۰/۰۱۰^{a}	۰/۲۸±۰/۰۱۴^{bc}	۷۶/۶۰±۰/۴۱^{b}

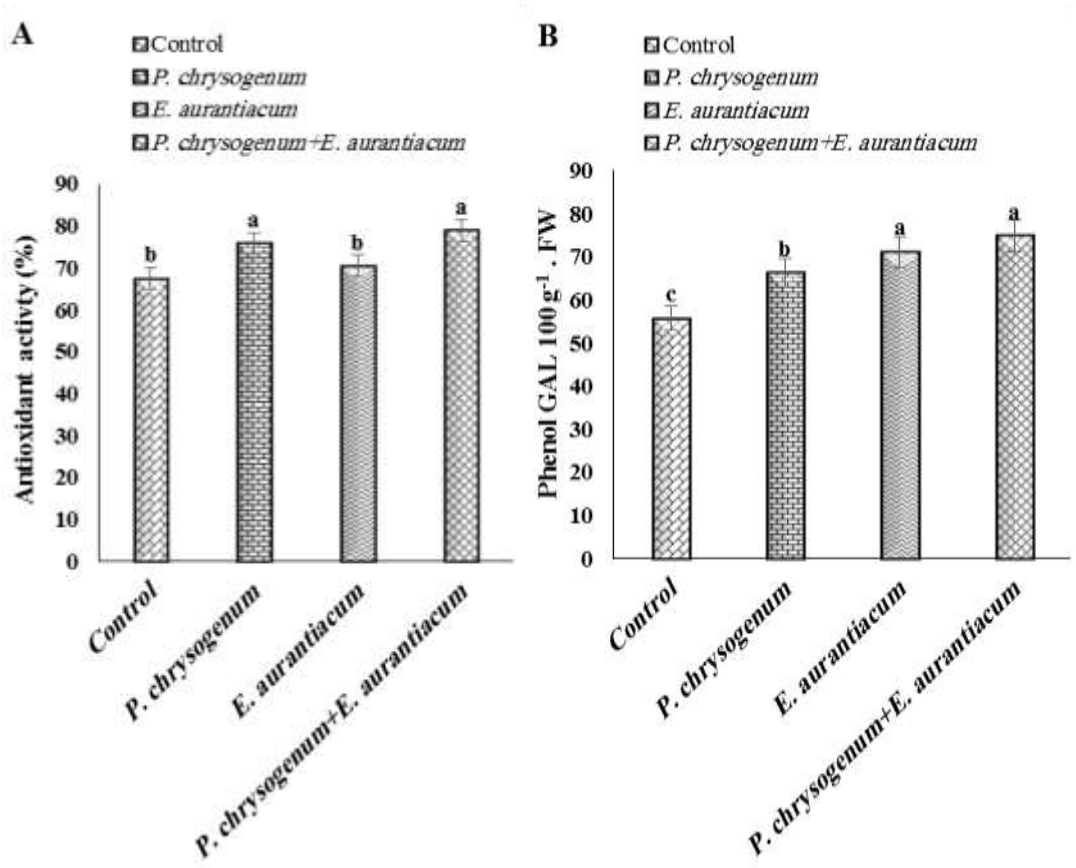
میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

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 ۶a). 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 ۶b). 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 fumigates* 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*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]



شکل ٦- 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.

al., 2015). فنولیک گیاهی نقش مهمی در چندین فرایند فیزیولوژیکی برای بهبود تحمل و سازگاری گیاهان در شرایط غیربهینه 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.*, 2013; Sarahi Nobar *et al.*, 2010) 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 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.

منابع

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

پورعالی، ش.، حاتم‌زاده، ع. و احتشامی، س. م. ر. (۱۳۹٤) بررسی همزیستی میکوریزایی و باکتری‌های محرک رشد بر ویژگی‌های کمی و کیفی آلوئه‌ورا. علوم و تحقیقات بذر ایران. ۲: ۷۰-٦۱.

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. فرایند 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 Na_2CO_3 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., Rouphael, 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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

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 Intrenational 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 Ghersa, 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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

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 Pieckenstain, F. L. (2016) Novel components of leaf bacterial communities of field-grown tomato plants and their potential for plant growth promotion and biocontrol of tomato diseases. Research in Microbiology 167: 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., Seyahooei, 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.

Sarahi 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 Medicinais 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 symbiotum from insect herbivory. Molecular microbiology 57: 1036-1050.

Van Bael, S. A., Seid, M. A. and Wcislo, W. T. (2012) Endophytic fungi increase the processing rate of leaves by leaf-cutting ants (Atta). Ecological Entomology 37: 318-321.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

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.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]

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

Soheila Aghaei Dargiri[1], Davood Samsampour*[1], Majeed Askari Seyahooei[2] and Abdoolnabei Bagheri[2]

[1] Department of Horticulture Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran
[2] Plant Protection Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extension Organiziation (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: Samsampoor@hormozgan.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-21]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.17.9]