ارزیابی توانایی افزایش رشد گوجه‌فرنگی با باکتری‌های اندوفیت جدا شده از بوته‌های سالم و قوی و بررسی تولید هورمون IAA در گروه‌های مهم جدا شده

Evaluation of Endophytic Bacterial Strains Isolated from Healthy Tomato for Growth Promoting and the Ability of IAA Production in Majority Isolated Groups

نسیم خداکرمیان[۱*]، وحید عبدوسی[۲] و پژمان مرادی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۰۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۱/۳۱

چکیده

امروزه برای افزایش محصول و پرهیز از کاربرد ترکیبات شیمیایی پرخطر، کاربرد باکتری‌های اندوفیت محرک رشد بسیار مهم است. پژوهش حاضر در همین راستا انجام شده و برای رسیدن به این هدف از بوته‌های قوی و شاداب گوجه‌فرنگی در مرحله گل‌دهی تعداد ۷۰ استرین باکتری اندوفیت از ساقه، برگ و گل جدا شد. غربالگری پایه روی بذر گوجه‌فرنگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار نشان داد که باکتری‌های به‌کار رفته در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌دار داشته و مؤثرترین باکتری ارتفاع نشاءها را ۱/۴۴ برابر و وزن تر را تا ۲ برابر افزایش داد. تعداد ۱۴ استرین برگزیده در گلخانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌کار رفت. پس از ۳۵ روز ارتفاع و وزن تر بوته‌ها ثبت و آنالیز شد. نتایج نشان داد که باکتری‌ها در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌دار نشان دادند. مؤثرترین استرین باکتری ارتفاع بوته‌ها را ۱/۵۴ برابر و وزن را ۱/۷۵ برابر افزایش داد. سازگاری بالایی بین نتایج دو آزمون بالا برقرار بود. تولید هورمون ایندول استیک اسید در محیط‌کشت حاوی تریپتوفان توسط باکتری‌های به‌کار رفته با روش اسپکتروفتومتری بررسی شد. نتایج نشان داد که دامنه تولید IAA توسط استرین‌های باکتریایی آزمایش شده بین صفر میکروگرم در میلی‌لیتر تا ۳۱۸ میکروگرم در میلی‌لیتر در نوسان بود. نماینده باکتری‌های مؤثر *Pseudomonas flourescens* و *Bacillus subtilis* بودند.

واژه‌های کلیدی: *Pseudomonas fluorescence, Bacillus subtilis*، ایندول استیک اسید، باکتری‌های محرک رشد

۱ و ۲. به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۳. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران

*: نویسنده مسوول Email: nassimkhodakaramian@gmail.com

مقدمه

گوجه‌فرنگی از آمریکای مرکزی و سواحل غربی آمریکای جنوبی منشاءگرفته و یکی از قدیمی‌ترین گیاهان کشت شده در کشور پرو است. محصول خوراکی این گیاه دارای انواع ویتامین‌ها C، گروه B، کاروتن (پیش‌ساز ویتامین A) و املاح معدنی نظیر پتاسیم، آهن، فسفر و کلسیم است. از آن‌جاکه این گیاه در برابر بسیاری از بیماری‌ها حساس است، کاربرد باکتری‌های اندوفیت برای افزایش رشد و القای مقاومت در برابر بیماری‌ها بسیار حیاتی و کاربردی است. گروهی از باکتری‌های همراه گیاهان به‌صورت مستقیم از طریق افزایش قابلیت جذب مواد مغذی و یا تولید هورمون‌های محرک رشد و غیرمستقیم از طریق کنترل بیولوژیکی رشد گیاه میزبان خود را افزایش می‌دهند، *پودیل* و *کیشور* (Podile and Kishore, 2006).

در بیشتر گیاهان عالی، باکتری‌های اندوفیت در یک میزبان گیاهی به یک گونه محدود نشده و چندین جنس و گونه هستند. ۴۶ گونه مختلف باکتریایی از ۲۷ گونه گیاهی جدا و نشان داده شده که جمعیت باکتری‌های اندوفیت ساقه ذرت ۱۰۰۰ سلول به ازای هر گرم از بافت تازه گیاه است، *روزنبلوث* و *مارتینز* (Rosenbleuth and Martinez, 2006).

استورز و همکاران (Sturz *et al*., 2000) در سال ۲۰۰۰، پانزده گونه باکتری از گره‌های شبدر قرمز جدا و شناسایی کردند در بررسی دیگر نیز *زینیل* و همکاران (Zinnel *et al*., 2002)، تعداد ۸۵۳ استرین اندوفیتی از بافت‌های هوایی چهار گونه محصول زراعی و ۲۷ گونه گیاهی چمن‌زار جدا کردند. بیش‌ترین میزان میکروارگانیسم‌های جدا شده (۶۸۹ استرین) از ذرت و سورگوم بودند. باکتری *Rhizobium etli* به‌عنوان اندوفیت طبیعی از گیاهان ذرت، در مزارع کشاورزی سنتی که درآن ذرت و لوبیا در رابطه باهم رشد کرده اند یافت می‌شود. *باکتری Entrobacter* به‌عنوان اندوفیت از گیاهان مختلف ازجمله گیاهان زراعی شناخته شده است، *آراجو* و همکاران؛ *زینل* و همکاران (Araujo *et al*., 2002; Zinnel *et al*, 2002).

اندوفیت‌های باکتریایی در بافت‌های زنده گیاهی ساکن بوده و قادرند همزیستی درونی با گیاه برقرار نموده و برای آن یک محیط سودمند اکولوژیکی ایجاد کنند و یا سبب بهبود و افزایش رشد گیاه شوند، *ویلسون* و *لیندو* (Wilson and Lindow, 1999) در یک پژوهش باکتری‌های اندوفیت غده‌های بذری سیب‌زمینی سالم را شناسایی نمود و نشان داد که گونه‌هایی که غده‌های سالم را به‌صورت درونی کلونیزه می‌نمایند، از فراریشه (ریزوسفر) گیاه منشاء گرفته‌اند و فراگیرترین گونه‌های جدا شده از خاک اطراف ریشه همان گونه‌هایی بودند که از داخل غده‌ها جدا شدند. در این پژوهش گونه‌های سودوموناس فلورسنت و غیرفلورسنت *Bacillus*، *Xanthomonas*، *Agrobacterium*، *Acinetobacter* و *Actinomyces* از غده‌ها جدا شدند. باکتری‌های اندوفیت و ریزوسفر بافت‌های درونی گیاه را هم‌زمان کلونیزه نموده و در واقع باکتری‌های اندوفیت قسمتی از جمعیت ریزوسفر محسوب می‌شوند.

بررسی‌های انجام شده نشان داده است که اعضای اصلی باکـتری‌های اندوفیت گیاهان شامل گونه‌هایی از جنس‌های *Bacillus*, *Curtobacter*, *Clavibacter*, *Microbacterium*, *Xanthomonas*, *Burkholderia*, Klebsiella, Agrobacterium, Seratia هستند *آراجو* و همکاران (Araujo *et al*., 2002). بررسی‌های پژوهشگران نشان داده که اندوفیت‌ها اختصاص میزبانی نداشته و در طیف گسترده‌ای از میزبان‌های گیاهی وجود دارند، *کامپنت* و همکاران (Compant *et al*., 2010). درک مکانیسم مولکولی درگیر در فرایند جاگیر شدن درونی (endophytic colonization)، به‌خوبی شناخته نشده است. گزارش‌های اخیر براساس داده‌های ژنومی و سایر گزارش‌های مشابه، بیانگر تشابه روش‌های کلونیزاسیون بین باکتری‌های پاتوژن و اندوفیت‌ها است. بیشتر این باکتری‌ها از بیرون گیاه به‌ویژه خاک اطراف ریشه سرچشمه می‌گیرند و می‌توانند از راه روزنه‌ها، عدسک‌ها، زخم‌ها، نواحی ظهور ریشه‌های فرعی و کانال‌های جوانه‌زنی (Germination radicles) وارد شوند، *هالمان* و همکاران (Hallmann *et al*., 1997) گیاهانی که تکثیر رویشی دارند می‌توانند اندوفیت‌های خود را به نسل بعد منتقل کنند.

تعداد ۲۸ استرین باکتری اندوفیت جدا شده از گره ریشه *Sophora alopecuroides* و یک استرین باکتری اندوفیت جداسازی شده همراه *Mesorhizobium* مقدار مناسبی از IAA تولید نمودند، *زو* و همکاران (Zho *et al*., 2013). تعداد ۱۶۶ استرین باکتری اندوفیت از ریشه حبوبات مختلف شامل نخود و یونجه و گندم و جو جداسازی شده که بیشتر اندوفیت‌ها برای ارتقای رشد ریشه‌ای نخود در روش ارتقاء رشد ریشه در پلیت آگار موثر بودند، *ساینی* و همکاران (Saini *et al*., 2015).

دیمکپا و همکاران (Dimkpa *et. al*., 2012) نشان دادند که استرین شماره O6 از باکتری اندوفیت *Pseudomonas chlororaphis* توانایی تولید ایندول استیک اسید داشته که این ویژگی توسط ذرات اکسید روی جلوگیری ولی توسط ذرات اکسید مس تحریک می‌شود. در پژوهش *آبامونده‌ی* و همکاران (Abbamondi *et al*., 2016) مشخص شد که در واریته‌های گوناگون گوجه‌فرنگی باکتری‌های اندوفیت محرک رشد درصد بالایی را تشکیل داده و ۸۹٪ آن‌ها توانایی تولید ایندول استیک اسید را داشتند. *هالو* و همکاران (Halo *et al*., 2015) در یک

پژوهش نتیجه گرفتند که استرین LK11 باکتری *Sphingomonas* sp. که اندوفیت گوجه‌فرنگی است به همراه هورمون جیبرلین توانایی بهبود رشد و مقاومت در برابر شرایط شوری را به گیاه گوجه‌فرنگی اهدا می‌نماید. جنبه‌های کاربردی باکتری‌های اندوفیت از دیدگاه بیوتکنولوژِی در یک مقاله مروری توسط *مرکادو بلانکو* و *لوگتنبرگ* (2014) مورد بررسی قرار گرفته است. در این بررسی تأکید شده که باکتری‌های اندوفیت با تولید هورمون‌های مختلف گیاهی و فراهم نمودن ترکیباتی تغذیه‌ای مانند نیتروژن، فسفر و یون آهن برای گیاه سبب رشد گیاها ن می‌شوند. این باکتری‌ها می‌توانند با سرکوب بیمارگرهای گیاهی آمارسان و همکاران (Amaresan *et. al.*, 2012)، کاهش اثر استرس‌های ناشی از زیاد شدن اتیلن، فلزات سنگین، کم‌آبی و شوری خاک مستقیما به بهبود رشد گیاه کمک کنند. هدف از این پژوهش ارزیابی توان بهبود رشد گوجه‌فرنگی توسط باکتری‌های اندوفیت این گیاه است تا در بررسی‌های بعدی به‌صورت کاربردی مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و نگهداری باکتری‌های اندوفیت

برای جداسازی باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی از برگ، ساقه و گل بوته‌های قوی و شاداب با حرکت در قطر مزرعه بیش از ۲۰۰ نمونه گردآوری و پس از ثبت مشخصات به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا اندام‌های گیاهی به‌طور کامل در زیر شیر آب شسته شده و سپس برای ضدعفونی سطحی از الکل ۶۰٪ درصد به‌مدت چند ثانیه استفاده شد. میزان ده گرم از اندام‌های گیاهی ضدعفونی شده، در داخل یک تشتک استریل حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل خرد شده و در دمای اتاق زیر هود میکروبیولوژی به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. از سوسپانسیون حاصل، یک تا دو لوپ روی محیط‌کشت آگار غذایی دارای ۱٪ عصاره مخمر به‌صورت مخطط و خالص‌سازی باکتری‌ها با برداشتن تک پرگنه‌ها و کشت مخطط دوباره روی محیط‌کشت آگار غذایی انجام شد. پس از رشد مناسب باکتری‌ها، از کلنی‌های متفاوت از نظر رنگ و شکل ظاهری، انتخاب و به تشتک‌های پتری محتوی محیط‌کشت آگار غذایی منتقل و خالص‌سازی شدند. برای استفاده روزمره از محیط‌کشت NA حاوی ۱٪ عصاره مخمر استفاده شد و برای استفاده میان مدت باکتری‌هایی که ۲۴ تا ۴۸ ساعت از کشت آن‌ها گذشته بود در در ویال دارای آب مقطر دوبار استریل سوسپانسیون و درون یخچال نگهداری شدند.

غربالگری اولیه باکتری‌های اندوفیت برای ویژگی تحریک‌کنندگی رشد گوجه‌فرنگی

به‌دلیل تعداد زیاد استرین‌های جدا شده، بر پایه شکل و رنگ و الگوی پروتئین محلول سلولی در مجموع تعداد ۶۵ استرین باکتریایی به‌عنوان نماینده در این آزمون به‌کار برده شدند. بذرهای جوانه زده و یکنواخت گوجه‌فرنگی رقم روت‌جرز هنگام کاشت به سوسپانسیون باکتری‌های با جذب نوری ۰/۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر آغشته و در سه تکرار در خاک کاشته شدند. خاک مورد استفاده از خاک باغچه، ماسه و کود حیوانی پوسیده به نسبت ۱:۱:۲ بود که در دمای ۵±۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت پنج ساعت پاستوریزه گردید. بیست روز پس از کاشت بذرهای جوانه‌زده دو صفت ارتفاع و وزن بوته اندازه‌گیری و ثبت و در قالب طرح مربوطه آنالیز گردید.

بررسی در شرایط گلخانه

پس از غربالگری پایه، باکتری‌های موثر در رشد گوجه‌فرنگی و آنالیز داده‌های به‌دست آمده، نماینده گروه‌های مختلف آماری در شرایط گلخانه در قالب یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با سه تکرار روی نشاهای یکنواخت گوجه‌فرنگی در مرحله چهار برگی مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع تعداد ۱۴ استرین باکتریایی به‌عنوان نماینده در این آزمون به‌کار برده شدند. نشاءهای یکنواخت که هنگام کاشت ریشه آن‌ها به سوسپانسیون باکتری‌های به‌کار رفته با جذب نوری ۰/۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر آغشته و در سه تکرار در خاک کاشته شدند. خاک مورد استفاده از خاک باغچه، ماسه و کود حیوانی پوسیده به نسبت ۱:۱:۲ در دمای ۵±۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت پنج ساعت پاستوریزه و استفاده گردید. نشاءها به‌طور مرتب آبیاری و در دمای ۳± ۲۵درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۵۵٪ و ۱۲ ساعت نور نگهداری شدند. مدت ۳۵ روز پس از کاشت نشاءهای گوجه‌فرنگی دو صفت ارتفاع و وزن بوته اندازه‌گیری و ثبت و در قالب طرح مربوطه آنالیز گردید

ارزیابی تولید هورمون گیاهی توسط استرین‌های باکتریایی

برای ارزیابی تولید هورمون اکسین از روش *بنت* و همکاران (Bent *et al.*, 2000) استفاده شد. ابتدا استرین‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت رشد داده و سپس، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر یک از استرین‌ها دوباره به ۲۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت محتوی ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محیط ال -تریپتوفان منتقل شد و برای مدت ۷۲ ساعت در ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تکان داده شد. سوسپانسیون استرین‌ها در

۱۰,۰۰۰g به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و یک میلی‌لیتر از محلول رویی با چهار میلی‌لیتر از معرف سالکوسکی (شامل ۱۵۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ، ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۷/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن نیم‌مولار ($FeCl_3.6H_2O$) مخلوط شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر، میزان جذب نور در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. مقدار تولید هورمون ایندول استیک اسید توسط استرین‌ها از طریق مقایسه جذب نور آن با منحنی استاندارد IAA محاسبه شد.

بررسی ویژگی‌های فنوتیپی استرین‌های برگزیده

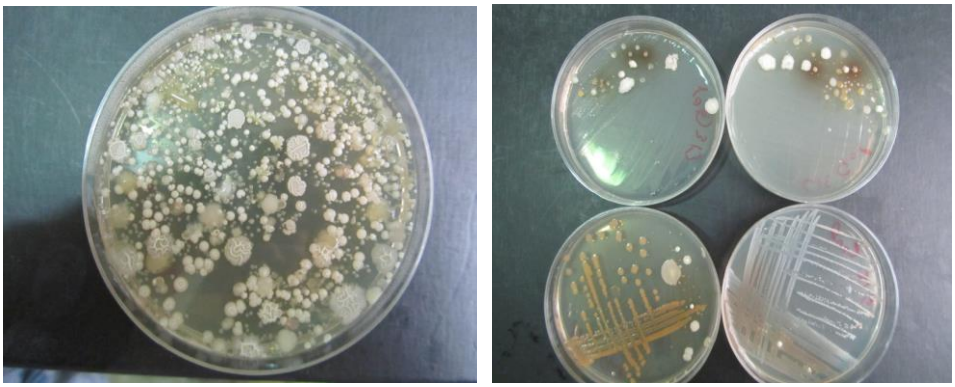
ویژگی‌های فنوتیپی و مورفولوژیکی استرین‌های باکتری‌های شامل حساسیت به هیدروکسید پتاسیم سه درصد، رنگ‌آمیزی گرم، تولید لوان در محیط آگار غذایی حاوی پنج درصد ساکارز و تولید رنگ فلورسنت در محیط کینگ‌بی، فعالیت‌های پکتولیتیکی روی برش‌های سیب‌زمینی و قابلیت رشد استرین‌ها در دماهای ۴ و ۴۱-۳۷ درجه سانتی‌گراد، اکسیداز، کاتالاز، متابولیسم تخمیری در حضور گلوکز، هیدرولیز نشاسته، ژلاتین، آرژنین دهیدرولاز، تولید مواد احیاءکننده از سوکروز، رشد در محیط دارای نمک‌طعام، احیای نیترات و استفاده از منابع کربنی مختلف در محیط پایه مایع آیر، براساس روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی انجام شد، *شاد* و همکاران (Schaad *et al*., 2001).

نتایج و بحث

جداسازی باکتری‌های اندوفیت از اندام‌های مختلف گوجه‌فرنگی در مرحله گل‌دهی

در مجموع تعداد ۷۰ استرین باکتریایی از اندام‌های مختلف گوجه‌فرنگی جدا و خالص شد. به‌همراه این استرین‌ها تعدادی هم از بوته‌های سیب‌زمینی جداسازی شد تا در صورت اشتراک با باکتری‌های گوجه‌فرنگی در بررسی‌های آینده مورد استفاده قرار گیرند چرا که سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی در یک خانواده گیاهی قرار دارند و بسیاری از ویژگی‌های آن‌ها مشابه است. باکتری‌ها جدا شده از نظر تیپ کلنی متنوع و ظاهراً ده تیپ متفاوت بودند که فراوانی چهار تیپ ار آن‌ها از سایر تیپ‌ها بیشتر بود. این تیپ‌های با فراوانی بالا بیشتر وابسته به *Pseudomonas* و *Bacillus* بودند. باکتری‌های اندوفیت اندام‌های مختلف گوجه‌فرنگی شامل برگ، ساقه و گل جمعیت بالایی را در این اندام‌ها تشکیل می‌دادند شکل یک نمونه‌ای از جداسازی تیپ‌های مختلف کلنی باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی و فراوانی این باکتری‌ها در مرحله گل‌دهی را روی محیط‌کشت آگار غذایی نشان می‌دهد.

جدول ۱ نام و محل جداسازی استرین‌های باکتریایی را نشان می‌دهد.



شکل ۱: جداسازی باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی روی محیط‌کشت آگار غذایی (سمت راست) و فراوانی آن‌ها (سمت چپ)

Fig. 1: Isolation of tomato endophytic bacteria on nutrient agar (right) and their frequency (left)

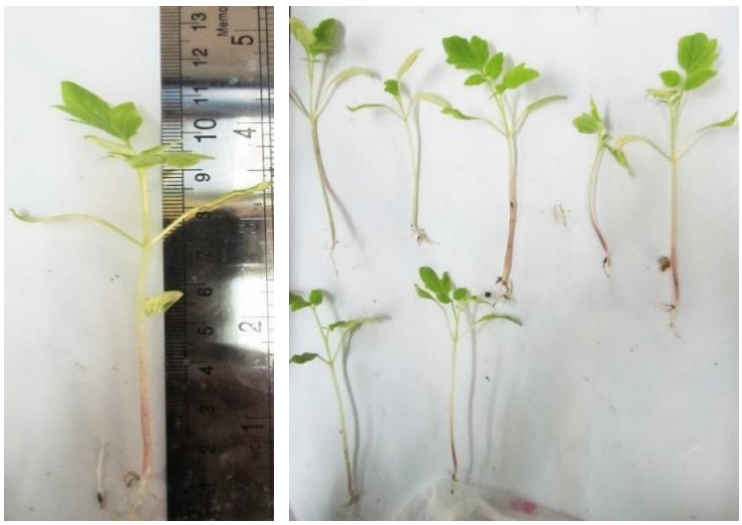
جدول ۱: نام استرین‌های باکتریایی اندوفیت گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی مزارع مختلف استان همدان و حومه
Table 1: Bacterial strains name and place of isolation from tomato fields in Hamedan province

محل جداسازی و میزبان Place of isolation and host	کد استرین‌های باکتریایی Bacterial strains code
گوجه‌فرنگی منطقه اسدآباد همدان Asada bad, Hamedan province, tomato	NKH1, NKH2, NKH3, NKH4, NKH5, NKH, NKH7, NKH8, NKH, NKH10, NKH11, NKH12, NKH13, NKH14, NKH15, NKH16, NKH17, NKH18, NKH19, NKH20, NKH21, NKH22, NKH23, NKH24, NKH25, NKH26, NKH27, NKH28, NKH29, NKH30
گوجه‌فرنگی منطقه قروه کردستان Ghorvah, Kordistan province, tomato	NKH31, NKH32, NKH33, NKH34, NKH35, NKH36, NKH37, NKH38, NKH39, NKH40
گوجه‌فرنگی منطقه لاله جین و بهار همدان Lalehjin and Bahar area, Hamedan province, tomato	NKH41, NKH42, NKH43, NKH44, NKH45, NKH46, NKH47, NKH48, NKH49, NKH50
گوجه‌فرنگی بین راه اسدآباد کنگاور Asaabad-Kangavar road, tomato	NKH51, NKH52, NKH53, NKH54, NKH55, NKH56, NKH57, NKH58, NKH59, NKH60, NKH61, NKH62, NKH63
گوجه‌فرنگی منطقه لاله جین و بهار همدان Lalehjin and Bahar area, Hamedan province, tomato	NKHB1, NKHB2, NKHB3, NKHB4, NKHB5, NKHB6, NKHB7, NKHB8, NKHB9, NKHB10, NKHB11, NKHB12, NKHB13, NKHB14, NKHB15

غربالگری پایه برای انتخاب استرین‌های باکتریایی برای انجام بررسی‌های بیشتر

از آن‌جاکه استرین‌های یک گونه باکتریایی مشخص ممکن است از نظر یک ویژگی فیزیولوژیکی خاص مثلا تأثیر روی میزان رشد گیاه میزبان متفاوت باشند لذا تمام باکتری‌های جدا شده در یک آزمون پایه برای بررسی میزان تأثیر آن‌ها روی رشد گوجه‌فرنگی مورد ارزیابی قرار گرفتند. شکل ۲ بخشی از نتایج غربالگری و شکل ۳ اندازه‌گیری ویژگی‌های رشد را نشان می‌دهد.

شکل ۲: غربالگری پایه استرین‌های باکتریایی اندوفیت گوجه‌فرنگی در سینی نشاء برای گزینش استرین‌های محرک رشد (سمت راست) و برداشت آن‌ها (سمت چپ)
Fig. 2: Screening of tomato endophytic bacterial strains on seedling (right) and their harvesting (left)



شکل ۳: رشد نشاءهای گوجه‌فرنگی تیمار شده با باکترهای اندوفیت در مقایسه با کنترل (نشاءهای با اندازه کوچک‌تر) (سمت راست) و اندازه‌گیری طول آن‌ها برای تجزیه آماری (سمت چپ)

Fig. 3: Tomato seedling growth by endophytic bacteria in compare to control (right) and their height measurement for analysis (left)

نتیجه آنالیز داده‌های غربالگری اولیه باکتری‌ها شامل ارتفاع و وزن نشاء گوجه‌فرنگی

در غربالگری اولیه تعداد ۶۵ استرین باکتریایی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار به‌کار رفت. داده‌های مربوط به ارتفاع و وزن بوته‌ها ثبت و آنالیز شد. نتایج تجزیه واریانس و گروه‌بندی تیمارها به‌ترتیب در جدول‌های شماره ۲، ۳ و ۴ نوشته شده است.

جدول ۲: تجزیه‌ی واریانس ارتفاع نشاءهای گوجه‌فرنگی آغشته شده با باکتری‌های اندوفیت جدا شده از گیاهان سالم گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی در سینی نشاء

Table 2: Tomato seedling height analysis inoculated with endophytic bacteria isolated from healthy tomato and potato plants in trays

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	Pr>F
تیمار Treatment	65	538.278	8.155**	0.0001
خطا Error	134	168.168	1.254	
کل Total	200	706.446		

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ بر اساس آزمون دانکن، ضریب تغییرات: ۱۳/۶۰

**: Significant different at 1% probability level according to Duncan Test, CV: 13.60

جدول ۳: تجزیه‌ی واریانس وزن نشاهای گوجه‌فرنگی آغشته شده با باکتری‌های اندوفیت جدا شده از گیاهان سالم گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی

Table 3: Tomato seedling weight DATA analysis in trays inoculated with endophytic bacteria isolated from healthy tomato and potato plants

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	Pr>F
تیمار Treatment	65	0.621	0.0094**	0.0001
خطا Error	134	0.295	0.0022	
کل Total	200	0.916		

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ بر اساس آزمون دانکن، ضریب تغییرات: ۲۷/۷۰

**: Significant different at 1% probability level according to Duncan Test, CV: 27.70

همان‌گونه داده‌های جدول‌های شماره ۲ و ۳ نشان می‌دهد استرین‌های باکتریایی از نظر تأثیر روی طول و وزن نشاءهای گوجه‌فرنگی در سطح ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی‌دار نشان دادند. این موضوع در شکل ۴ به روشنی نشان داده شده است.

همان‌گونه که داده‌های جدول ۴ نشان می‌دهد استرین‌های باکتریایی از نظر تأثیر روی طول و وزن تر نشاءهای گوجه‌فرنگی در سطح ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی‌دار نشان دادند. این موضوع در نمودار ۴ به روشنی نشان داده شده است.

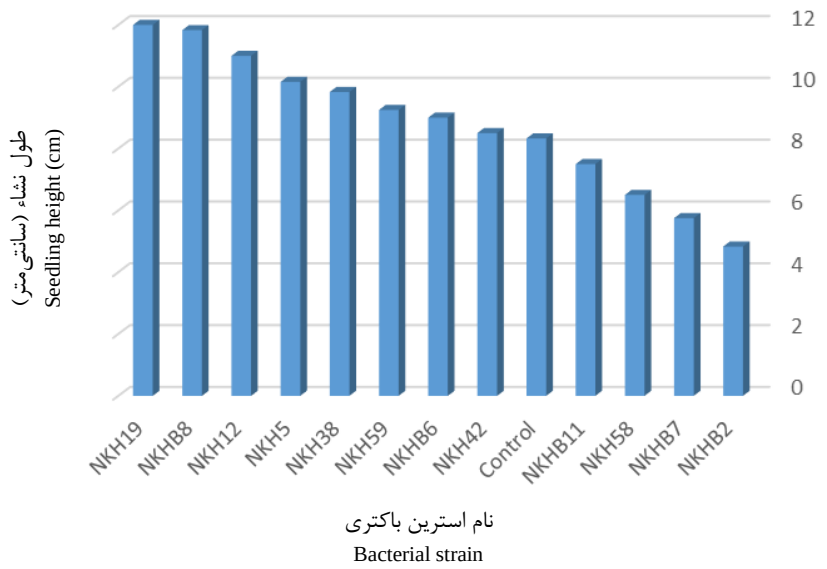
ارزیابی ویژگی تحریک رشد توسط باکتری‌های اندوفیت جدا شده از گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

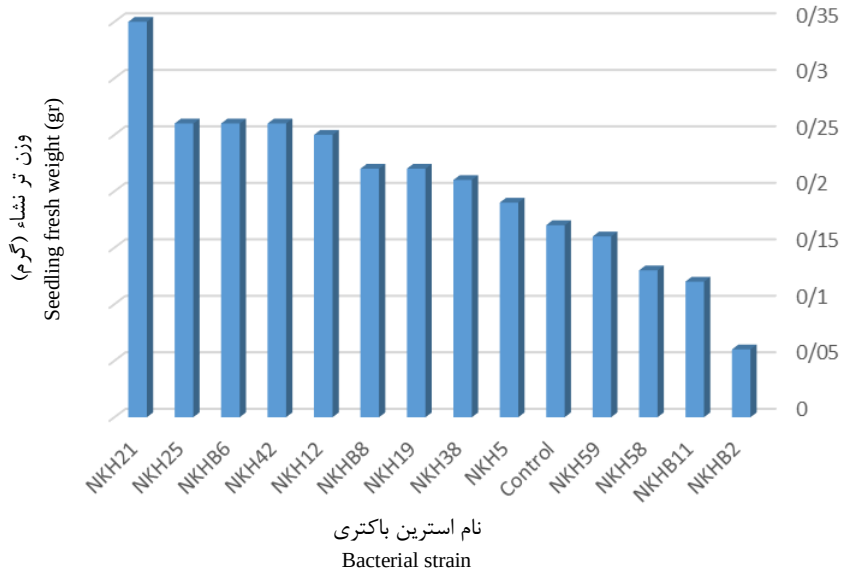
بر پایه نتایج غربالگری اولیه تعداد ۱۴ استرین به‌عنوان نماینده برای بررسی بیشتر در شرایط گلخانه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار به‌کار رفت. پس از گذشت ۳۵ روز داده‌های مربوط به ارتفاع و وزن بوته‌ها ثبت و آنالیز شد.

جدول ۴: گروه‌بندی تیمارهای تأثیر باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی روی ارتفاع و وزن نشاهای گوجه‌فرنگی در غربالگری پایه

Table 4: Grouping of tomato seedling height and weight treated by endophytic bacteria in primary screening

وزن (گرم) Weight (gr)	نام باکتری Bacteria name	وزن (گرم) Weight (gr)	نام باکتری Bacteria name	ارتفاع (سانتی‌متر) Height (cm)	نام باکتری Bacteria name	ارتفاع (سانتی‌متر) Height (cm)	نام باکتری Bacteria name
0.15^{Q-R}	NKHB3	0.35^{A}	NKH21	8.00^{P-Q}	NKH22	12^{A}	NKH19
0.15^{R-S}	NKH17	0.26^{B}	NKH25	8.00^{P-Q}	NKH28	12^{A}	NKHB17
0.15^{R-S}	NKH23	0.26^{B-C}	NKHB6	8.00^{P-Q}	NKH18	11.83^{A-B}	NKHB8
0.15^{R-S}	NKH7	0.26^{C-D}	NKH42	8.00^{P-Q}	NKH30	11.66^{B-C}	NKH2
0.14^{R-S}	NKH22	0.26^{C-D}	NKH63	7.66^{Q-R}	NKH61	11.16^{C-D}	NKHB10
0.14^{R-S}	NKH3	0.25^{D-E}	NKH12	7.66^{Q-R}	NKH17	11.00^{C-D}	NKH12
0.14^{R-S}	NKH48	0.25^{D-E}	NKH29	7.50^{Q-R}	NKHB11	10.33^{D-E}	NKH1
0.14^{R-S}	NKH9	0.23^{E-F}	NKHB8	7.50^{Q-R}	NKH45	10.16^{E-F}	NKH5
0.14^{R-S}	NKH44	0.22^{F-G}	NKHB10	7.50^{Q-R}	NKH14	10.16^{E-F}	NKH57
0.14^{R-S}	NKHB5	0.22^{G-H}	NKH13	7.33^{Q-R}	NKH40	10.00^{E-F}	NKH9
0.13^{R-S}	NKH36	0.22^{G-H}	NKH49	7.25^{Q-R}	NKH51	9.83^{F-G}	NKH38
0.13^{R-S}	NKH18	0.22^{H-I}	NKH19	7.25^{Q-R}	NKH48	9.66^{G-H}	NKH47
0.13^{R-S}	NKH58	0.21^{I-J}	NKH1	7.16^{Q-R}	NKH8	9.50^{H-I}	NKH21
0.13^{R-S}	NKH6	0.21^{J-K}	NKH38	7.16^{Q-R}	NKH60	9.50^{H-I}	NKH49
0.13^{R-S}	NKH14	0.21^{J-K}	NKH11	7.16^{Q-R}	NKH46	9.33^{I-J}	NKH6
0.12^{R-S}	NKHB11	0.21^{K-L}	NKHB17	7.16^{Q-R}	NKH27	9.33^{I-J}	NKH4
0.12^{R-S}	NKH45	0.20^{L-M}	NKH57	6.93^{Q-S}	NKH39	9.33^{I-J}	NKHB12
0.12^{R-S}	NKH50	0.20^{L-M}	NKHB13	6.83^{Q-S}	NKH26	9.25^{J-K}	NKH59
0.12^{R-S}	NKH61	0.20^{L-M}	NKH62	6.83^{Q-S}	NKH7	9.16^{K-L}	NKHB13
0.12^{R-S}	NKH16	0.20^{L-M}	NKH47	6.83^{Q-S}	NKH16	9.16^{K-L}	NKHB1
0.11^{R-S}	NKH40	0.20^{L-M}	NKH20	6.75^{Q-S}	NKH50	9.16^{K-L}	NKH43
0.11^{R-S}	NKH51	0.20^{M-N}	NKH15	6.66^{Q-S}	NKH15	9.00^{L-M}	NKHB6
0.11^{R-S}	NKH39	0.19^{N-O}	NKH5	6.66^{Q-S}	NKH44	9.00^{L-M}	NKHB3
0.11^{R-S}	NKH8	0.19^{O-P}	NKH43	6.66^{Q-S}	NKH35	8.75^{M-N}	NKH11
0.11^{R-S}	NKH60	0.19^{O-P}	NKHB1	6.50^{Q-S}	NKH58	8.66^{M-N}	NKH13
0.10^{R-S}	NKHB15	0.18^{O-P}	NKH27	6.33^{Q-S}	NKH24	8.50^{N-O}	NKH42
0.10^{R-S}	NKH26	0.17^{Q-P}	NKH30	6.25^{Q-S}	NKH36	8.50^{N-O}	NKH63
0.10^{R-S}	NKH35	0.17^{Q-P}	NKH28	6.00^{Q-S}	NKH25	8.50^{N-O}	NKH62
0.09^{R-S}	NKH24	0.17^{Q-P}	C	6.00^{Q-S}	NKHB4	8.33^{N-O}	C
0.09^{R-S}	NKHB4	0.17^{Q-P}	NKH4	6.00^{Q-S}	NKHB9	8.33^{N-O}	NKH20
0.07^{R-S}	NKHB7	0.16^{Q-R}	NKHB12	5.75^{Q-S}	NKHB7	8.33^{N-O}	NKHB14
0.07^{R-S}	NKHB9	0.16^{Q-R}	NKHB14	5.50^{S-R}	NKHB15	8.33^{N-O}	NKH23
0.06^{R-S}	NKHB2	0.16^{Q-R}	NKH59	4.83^{S}	NKHB2	8.16^{O-P}	NKHB5
		0.16^{Q-R}	NKH21			8.00^{P-Q}	NKH3





شکل ۴: تأثیر برخی نماینده‌های گروه‌های آماری استرین‌های باکتریایی محرک رشد اندوفیت گوجه‌فرنگی بر رشد طولی و وزن نشاءهای گوجه‌فرنگی در غربالگری پایه

Fig. 4: Effect of tomato endophytic representatives on seedling height and weight in primary screening

شکل ۵: تحریک رشد گوجه‌فرنگی توسط استرین‌های باکتریایی اندوفیت در شرایط گلخانه: سمت راست بوته قوی تیمار شده با باکتری اندوفیت در مقایسه با شاهد تیمار نشده و سمت چپ تأثیر روی ریشه

Fig. 5: Tomato growth promoting by endophytic bacteria in greenhouse (left) and their effects on tomato roots (right)

جدول ۵: تجزیه‌ی واریانس ارتفاع گوجه‌فرنگی آغشته شده با باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی در گلخانه

Table 5: Greenhouse height DATA analysis from tomato seedling inoculated with endophytic bacteria isolated from healthy tomato and potato plants

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	Pr>F
تیمار Treatment	14	1264.41	90.31**	0.0001
خطا Error	30	202.33	6.74	
کل Total	44	1466.74		

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ بر اساس آزمون دانکن، ضریب تغییرات: ۶/۰۴

**: Significant different at 1% probability level according to Duncan Test, CV: 6.04

جدول ۶: تجزیه‌ی واریانس وزن تر بوته‌های گوجه‌فرنگی آغشته شده با باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی در گلخانه

Table 6: Greenhouse weight DATA analysis from tomato seedling inoculated with endophytic bacteria isolated from healthy tomato and potato plants

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	Pr>F
تیمار Treatment	14	812.61	58.04**	0.0001
خطا Error	30	196.50	6.55	
کل Total	44	1009.11		

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ بر اساس آزمون دانکن، ضریب تغییرات: ۹/۳۲

**: Significant different at 1% probability level according to Duncan Test, CV: 9.32

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارتفاع و گروه‌بندی تیمارها در جدول‌های شماره ۵ و ۶ نوشته شده است.

برخی استرین‌های باکتریایی تأثیر قابل‌توجهی روی تقویت اندام‌های هوایی بوته‌ها و نیز سیستم ریشه نشان دادند (شکل ۵). آن‌گونه که داده‌های جدول‌های شماره ۵ و ۶ نشان می‌دهد استرین‌های باکتریایی از نظر تأثیر روی ارتفاع و وزن بوته‌های گوجه‌فرنگی در سطح ۱٪ با همدیگر تفاوت معنی‌دار نشان دادند. این موضوع در جدول ۷ و شکل ۶ به‌روشنی نشان داده شده است.

جدول ۷: گروه‌بندی تأثیر باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی روی طول و وزن نشاء در گلخانه

Table 7: Grouping of tomato seedling height and weight treated by endophytic bacteria in greenhouse

تیمار باکتریایی Bacterial treatment	طول (سانتی‌متر) Height (cm)	تیمار باکتریایی Bacterial treatment	وزن(گرم) Weight (gr)
NKH19	52.33^{A}	NKH21	36.33^{A}
NKH12	49.66^{AB}	NKHB6	33.00^{AB}
NKH25	48.66^{ABC}	NKH25	31.66^{BC}
NKH38	46.66^{BCD}	NKH12	30.66^{BC}
NKH21	46.66^{BCD}	NKH19	29.66^{BCD}
NKHB8	44.33^{CDE}	NKH42	29.33^{BCD}
NKH5	43.66^{ED}	NKHB8	28.00^{CDE}
NKHB6	43.33^{ED}	NKH38	27.66^{CDE}
NKH42	43.33^{ED}	NKH11	25.00^{DEF}
NKH59	42.33^{DEF}	NKH49	25.00^{DEF}
NKH49	41.00^{EF}	NKH59	25.00^{DEF}
NKH11	38.33^{GF}	NKH27	25.00^{DEF}
NKH27	36.00^{G}	NKH5	23.33^{EF}
NKH57	34.50^{G}	NKH57	21.16^{F}
Control	34.00^{G}	Control	20.83^{F}

شکل ۶: تأثیر نماینده‌های استرین‌های باکتریایی محرک رشد اندوفیت گوجه‌فرنگی بر رشد طولی و وزن نشاءهای گوجه‌فرنگی در گلخانه

Fig. 6: Effect of tomato endophytic representatives on seedling height and weight in greenhouse

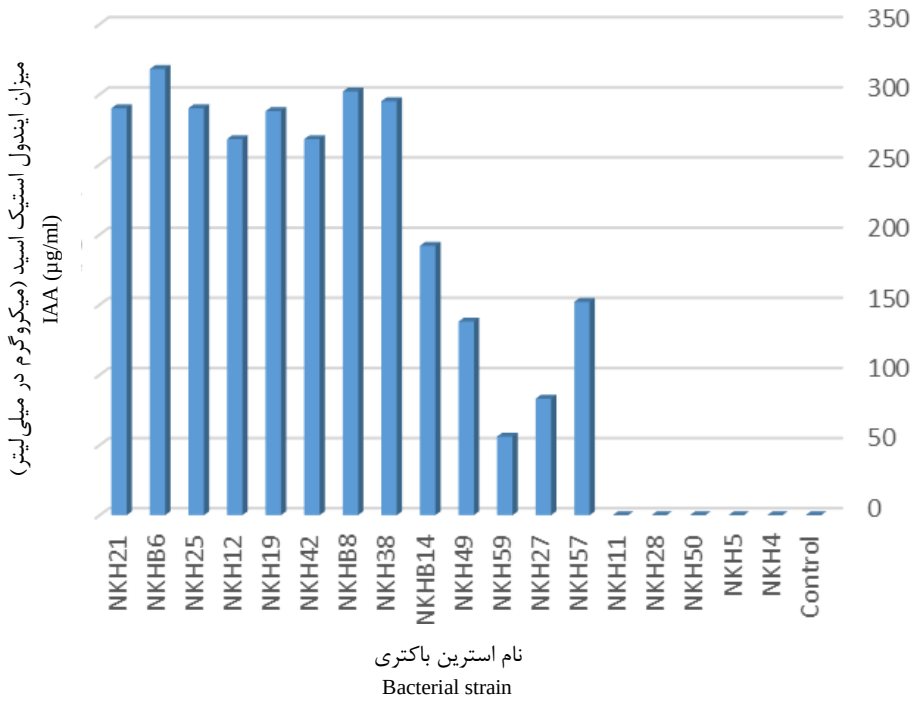
نتایج داده‌های غربالگری اولیه و بررسی‌های گلخانه‌ای نشان داد که برخی از استرین‌های باکتری‌های به‌کار رفته سبب افزایش ویژگی‌های ارتفاع و وزن تر گیاهان گوجه‌فرنگی شدند. در این پژوهش تعداد ۷۰ استرین باکتری اندوفیت از ساقه، برگ و گل گوجه‌فرنگی جداسازی و خالص شد که تعداد ۶۵ استرین در یک غربالگری پایه روی بذر گوجه‌فرنگی در سینی نشاء در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که باکتری‌های به‌کار رفته باهم در سطح ۱٪ از نظر تأثیر روی ارتفاع و وزن تر نشاءها تفاوت معنی‌دار داشتند. در غربالگری پایه مؤثرترین استرین باکتری ارتفاع نشاءها را ۱/۴۴ برابر و وزن تر را تا ۲ برابر افزایش دادند و در گلخانه مؤثرترین استرین باکتری ارتفاع بوته‌ها را ۱/۵۴ برابر و وزن را ۱/۷۵ برابر افزایش داد. با توجه به این‌که شرایط انجام آزمایش در غربالگری پایه و آزمون گلخانه تقریباً یکسان بود، سازگاری بالایی بین داده‌های این دو آزمون برقرار بود. در یک پژوهش نقش اندوفیت‌های باکتریایی شبدر و سیب‌زمینی را در افزایش رشد سیب‌زمینی آزمایش که ۲۱٪ از استرین‌ها باعث افزایش رشد گیاه شدند که به‌میزان ۶۳٪ باعث افزایش ارتفاع، ۶۶٪ افزایش وزن و ۵۵٪ باعث افزایش وزن ریشه‌ها شدند. ۲۴٪ از استرین‌ها نیز باعث کاهش رشد شده و ۵۶٪ از استرین‌ها اثری روی رشد گیاه نداشتند، *استورز* و همکاران (Sturz *et al.*, 2000) در سال‌های اخیر باکتری‌های اندوفیت

به‌دلیل توانایی مهاجرت به درون گیاهان و عدم ایجاد علائم بیماری، به‌عنوان عوامل محرک رشد و بیوکنترل اهمیت زیادی پیدا کرده‌اند. اندوفیت‌ها به‌دلیل تولید مواد ضدباکتریایی، ضدقارچی، القای مقاومت و حفاظت بهتر از بافت‌های گیاهی، در مقایسه با میکروارگانیسم‌های اپی‌فیت، مزایای بیش‌تری به‌عنوان محرک رشد و عوامل بیوکنترل دارند. بررسی‌های انجام شده روی توانایی القای رشد گیاهان توسط باکتری‌های مختلف ریزوسفر نشان داد که اثر اندوفیت‌ها روی افزایش رشد گیاه متفاوت است. برخی از استرین‌های اندوفیت که به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک بیمارگرهای گیاهی به‌کار رفته و مستقیماً توانایی کنترل بیمارگر را نداشتند، توانسته‌اند از راه بهبود گردش مواد معدنی ازجمله نیتروژن، فسفات و دیگر مواد معدنی و تـولید ایندول اسید استیک، سیدروفور و تأمین ویتامین‌های ضروری گیاهان سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند. افزون بر این شماری دیگر از اثرات مفید روی رشد گیاهان ازجمله تنظیم فشاراسمزی، تنظیم روزنه، به‌سازی مورفولوژی ریشه، افزایش جذب موادمعدنی و تغییر تجمع نیتروژن و سوخت‌وساز به اندوفیت‌ها نسبت داده می‌شود (*کامپنت* و همکاران، 2010).

کاربرد باکتری‌های اندوفیت روی گیاهان مختلف سبب افزایش رشد این گیاهان شده است. با تلقیح غده‌های سیب‌زمینی قبل از کاشت با باکتری سودوموناس رشد محصول ۶۴٪ افزایش داشته است و با آغشته کردن قطعات بذری سیب‌زمینی با باکتری سودوموناس باعث افزایش به‌ترتیب بیش از ۷۰٪ و ۹۳٪ در محصول و تعداد غده‌های تولید شده در گیاهان تیمار شده در آزمایشات گلخانه‌ای شده‌اند. با استفاده از دو باکتری *سودوموناس پوتیدا* و *سودوموناس فلوروسنس* موجب افزایش رشد در گیاهان سیب‌زمینی، چغندرقند و تربچه شده است، (*زو* و همکاران، 2013). نتایج این تحقیق با بررسی‌های دیگر که در آن تلقیح باکتری‌های اپی‌فیت و اندوفیت موجب افزایش محصول می‌شود، منطبق است.

بررسی تولید هورمون IAA توسط باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی به روش اسپکتروفتومتری

از آن‌جاکه آزمون‌های پیشین که در سینی نشاء و گلخانه انجام شد تنها تفاوت بین استرین‌های محرک و غیرمحرک رشد را نشان داد و استرین‌های با کارآیی بیشتر از استرین‌های با کارآیی کمتر متمایز ننمود میزان تولید هورمون ایندول استیک اسید در محیط‌کشت حاوی تریپتوفان توسط باکتری‌های به‌کار رفته با روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت که در شکل ۷ نشان داده شده است.



شکل ۷: نمودار تولید IAA توسط باکتری‌های اندوفیت گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی
Fig. 7: IAA production by tomato and potato endophytic bacteria

نتیجه ارزیابی میزان تولید هورمون IAA توسط استرین‌های انتخاب شده نشان داد که تمام استرین‌هایی باکتریایی که این توانایی را دارند سبب افزایش رشد گیاه و زیاد شدن طول بوته و هم‌چنین وزن تر آن می‌شوند. براساس نتایج به‌دست آمده، دامنه تولید IAA توسط استرین‌های باکتریایی آزمایش شده بین صفر تا ۳۱۸ میکروگرم در میلی‌لیتر در نوسان بود. از آن‌جاکه نتایج این بخش با نتایج آزمون‌های غربالگری پایه و گلخانه هماهنگی بیشتری داشت، این روش را می‌توان به‌عنوان یک روش آسان، با اطمینان بالا و کم هزینه برای گزینش باکتری‌های اندوفیت محرک رشد گوجه‌فرنگی بدون نیاز به کاربرد در گلخانه و روی گیاه به‌کار گرفت.

میکروب‌هایی که فیتوهورمون‌های اکسین (ایندول ۳ استیک اسید و ایندول استیک اسید) را سنتز می‌کنند، مدت‌هاست که شناخته شده‌اند. گزارش شده است که ۱۸۰ میکروارگانیسم مربوط به رایزوسفر در محصولات متنوع توانایی سنتز و آزادسازی اکسین را به‌عنوان متابولیت های ثانویه دارند. به‌طور معمول، IAA (ایندول استیک اسید)، ترشح شده به‌وسیله‌ی ریزوباکتری‌ها، در تداخل با توسعه‌ی گیاه، در تعدادی از گیاهان می‌باشد. زیرا منبع درونی IAA در گیاه ممکن است تغییر کند با استفاده از IAA که توسط باکتری‌های خاک ترشح می‌شود. ظاهراً ایندول استیک اسید، در اعمال مولکول‌های پیام دوطرفه که روی بیان ژن در چندین میکروارگانیسم تأثیر دارد، دخالت می‌کند. نتیجه این‌که، ایندول استیک اسید، نقش مهمی را در برهم‌کنش بین ریزوباکتری‌ها و گیاه ایفا می‌کند. معمولاً، اتیلن از متابولیت‌های ضروری برای رشد نرمال و توسعه گیاهان است، *گلیک*؛ *کوکلینسکی-سوبرال* و همکاران (Glick, 2012; and Kuklinsky-Sobral *et al*., 2004). در یک بررسی کلزا تیمار شده با *Enterobacter* افزایش عملکرد نشان داده و نخودهای تیمار شده با *Enterobacter* از طریق تولید هورمون‌های ایندول استیک اسید و جیبرلین باعث افزایش رشد و گره در نخود شده است. گونه‌های مختلف باکتری *Enterobacter* موجب تحریک رشد گیاهان مختلف مانند گوجه‌فرنگی، فلفل و لوبیا می‌شوند. همان‌گونه که از داده‌های غربالگری اولیه باکتری‌های اندوفیت، کاربرد این باکتری‌ها در گلخانه و هم‌چنین داده‌های مربوط به بررسی تولید هورمون بر می‌آید برخی از باکتری‌های به‌کار رفته علی‌رغم تولید هورمون سبب افزایش رشد و وزن تر گیاهان گوجه‌فرنگی نشدند و برعکس برخی که میزان تولید هورمون در آن‌ها قابل ردیابی نبود سبب افزایش ویژگی‌های بررسی شده گردیدند. گزارش شده است که برخی از استرین‌های باکتریایی اندوفیت گیاهان توانسته‌اند از راه بهبود گردش مواد معدنی ازجمله نیتروژن، فسفات و دیگر مواد معدنی سبب افزایش رشد گیاه شوند. این باکتری‌ها هم‌چنین سبب افزایش رشد گیاه توسط تعدادی از مکانیسم‌های مشابه ازجمله فعالیت حل فسفات، تولید ایندول استیک اسید و تولید سیدروفور و تأمین ویتامین‌های ضروری گیاهان شوند. افزون بر این شماری دیگر از اثرات مفید روی رشد گیاهان ازجمله تنظیم فشاراسمزی، تنظیم روزنه، به‌سازی مورفولوژی ریشه، افزایش جذب مواد معدنی و تغییر تجمع نیتروژن و سوخت‌وساز به اندوفیت‌ها نسبت داده می‌شود (*کامپنت* و همکاران، 2010).

ویژگی‌های فنوتیپی نماینده‌های استرین‌های باکتریایی اندوفیت جدا شده از اندام‌های گوناگون گوجه‌فرنگی با روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی تعیین شد. تطبیق این ویژگی‌ها با ویژگی‌های باکتری‌های شناخته شده نشان داد که این باکتری‌های وابسته به گونه‌های *Pseudomonas flourescens*، *P. chlororaphis*، *P. brenneri*، *Pantoea agglomerans*، *Erwinia tasmaniensis* و *Bacillus subtilis* هستند. بیشتر باکتری‌های جدا شده محرک رشد وابسته به دو جنس *Pseudomonas* و *Bacillus* بودند. یکی از ویژگی‌های مهم سودوموناس‌های فلورسنت توانایی آن‌ها در کلنیزاسیون ریزوسفر و بافت‌های گیاهان است.

نتایج حاصل از یک بررسی نشان داد که جمعیت باکتری *Pseudomonas fluorescens* در مرحله بلوغ گیاه میزبان افزایش می‌یابد. این بررسی مشخص کرد که این خصوصیت به‌وسیله ژن‌هایی کنترل می‌شود که در روی پلاسمید باکتری مورد بررسی وجود دارد. به‌نظر می‌رسد باکتری‌هایی که توانایی پخش بیشتری دارند، دارای فراوانی بیشتر و تنوع قابل توجه فنوتیپی هستند. *زینل* و همکاران (2002) نشان دادند که از بین ۸۵۳ استرین مختلف باکتریایی، استرین‌هایی که دارای کلنیزاسیون مؤثرتری بودند، از جمعیت باکتریایی بیشتری برخوردار بودند. لذا به‌نظر می‌رسد الگوی فراوانی و تنوع فنوتیپی باکتری‌های به‌دست آمده در این بررسی به عوامل گفته شده بستگی داشته باشد. باکتری‌های همراه یا درون بافت‌های گیاهان که روی آن‌ها تأثیر می‌گذارند از نظر ویژگی‌های ژنوتیپی، فنوتیپی و فیلوژنی متنوع هستند، (*گلیک*، 2012). اگرچه بیشتر بررسی‌های انجام شده در مورد باکتری‌های گیاهان روی باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی متمرکز شده است، با این وجود بررسی ویژگی‌های و تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی سایر باکتری‌های همراه گیاهان به‌منظور بهره‌گیری از آن‌ها در افزایش رشد گیاهان، کاهش اثرات منفی باکتری‌های بیماری‌زا، کنترل بیولوژیکی بیماری‌های گیاهی و ... نیز ضروری به‌نظر می‌رسد.

جدول ۸: برخی ویژگی‌های فنوتیپی گونه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد اندوفیت گوجه‌فرنگی

Table 8: Some features of tomato growth promoting endophytic bacteria

Bacillus subtilis	*Psudomonas chloroaphis*	*Psudomonas brenneri*	*Psudomonas fluorescence*	*Pantoea agglomerans*	*Erwinia tasmaniensis*	آزمون Test
+	–	–	–	–	–	گرم Gram
+	+	+	+	+	+	کاتالاز Catalase
+	+	–	+	+	–	اکسیداز Oxidase
nd	+	+	–	-	–	نیترات Nitrate
nd	-	–	+	nd	nd	آرژنین دی‌هیدرولاز Arginine dihydrolase
O	O	O	O	F	F	هوازی/ بی‌هوازی بودن Oxidative/Fermantative
–	+	+	+	+	+	لوان Levan
nd	nd	nd	nd	Yellow	Yellow	رنگ روی YDC
nd	+	+	+	nd	nd	رنگ فلورسنت Flourescent
nd	+	+	+	nd	nd	رشد در دمای۴°C Growth at 4°C
+	–	–	–	+	–	رشد در دمای۳۷°C Growth at 37°C
+	–	–	–	–	-	رشد در دمای۴۰°C Growth at 40°C
+	–	–	–	–	–	رشد در ۷٪ NaCl NaCl 7%
+	–	–	–	–	–	رشد در pH ۵,۷ pH 5.7
+	–	+	–	-	-	هیدرولیز نشاسته Starch hydrolysis
+	+	+	–	+		ژلاتیناز Gelatinase
–	+	+	–	+	+	سوکروز Sucrose

ادامه‌ی جدول ۸: برخی ویژگی‌های فنوتیپی گونه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد اندوفیت گوجه‌فرنگی

Table 8 continuated: Some features of tomato growth promoting endophytic bacteria

آزمون Test	*Erwinia tasmaniensis*	*Pantoea agglomerans*	*Psudomonas fluorescence*	*Psudomonas brenneri*	*Psudomonas chloroaphis*	*Bacillus subtilis*
سوربیتول Sorbitol	–	–	+	–	–	–
مانیتول Mannitol	–	+	+	–	–	+
آرابینوز Arabinose	+	+	+	+	–	+
میو اینوزیتول Myoinositol	+	–	–	+	+	
زایلوز Xylose	–	+	+	+	–	+
رامنوز Rhamnnose	–	+	+	–	–	+
آدونیتول Adonitol	–	–	–	+	–	–
ال-هیستدین l-Histidine	nd	nd	+	–	+	+
فوق‌حساسیت HR	–	–	+	–	–	–
سیترات Citrate	+	+	+	–	+	+
مالونات Malonate	–	+	+	–	+	nd

منابع

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۲۰-۲۱ متن انگلیسی مراجعه شود.