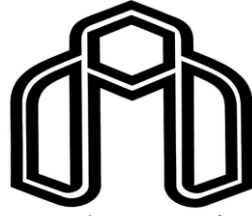


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی

ارزیابی تاثیر استرپتومایسس های محرک رشد بر برخی صفات فیزیولوژیک و مولکولی مرتبط با عملکرد در گیاهان گلخانه ای خیار، گوجه فرنگی

نگارنده

الهام عروجی

اساتید راهنما

دکتر شاهرخ قرنچیک

دکتر پریسا کوباز

استاد مشاور

دکتر اکرم صادقی

شهریور ۱۳۹۸

شماره: ۱۸۹
تاریخ: ۱۳۹۸/۷/۲۷

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره (۳) صورتجلسه نهایی دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم الهام عروجی با شماره دانشجویی ۹۴۳۶۲۳۴ رشته مهندسی کشاورزی گرایش بیوتکنولوژی گیاهی تحت عنوان ارزیابی تاثیر استرپتومایسس های محرک رشد بر برخی صفات فیزیولوژیک و مولکولی مرتبط با عملکرد در گیاهان گلخانه ای خیار، گوجه فرنگی که در تاریخ ۱۳۹۸/۰۶/۱۷ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می گردد:

قبول (با درجه: ...): مردود:

نوع تحقیق: نظری عملی

عضو هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اول	دکتر شاهرخ قرنجیک	استادیار	
۲- استاد راهنمای دوم	دکتر پریسا کوباز	استادیار	
۳- استاد مشاور	دکتر اکرم صادقی	استادیار	
۴- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر پرویز حیدری	استادیار	
۵- استاد ممتحن اول	دکتر مهدیه پارسایان	استادیار	
۶- استاد ممتحن دوم	دکتر شیده موجولو	استادیار	

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده:

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

تبصره: در صورتی که کسی فرودود شود حداکثر یکبار دیگر (در مدت مجاز تحصیل) می تواند از پایان نامه خود دفاع نماید (دفاع مجدد نباید زودتر از ۴ ماه برگزار شود).

تقدیم اثر

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پر مهر پدرم

و

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان پاک مادرم

و

برادرو خواهر عزیزتر از جانم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار، محبت و فداکاری

مُسکرو قدردانی

سپاس بی‌کران پروردگاریگناراکه، مستی مان بتشیدوبه طریق علم ودانش رهنمونان شدوبه، همیشینی هرودان علم ودانش منقرمان نمودونخوشه چینی از علم ومعرفت راروزی مان ساخت. سپاس خدای بزرگ راکه مرایاری رساند تا توانم این مقطع تحصیلی رابه پایان رسانده وگامی در راستای اعتلای علم بردارم. سپاس از پدر و مادر عزیزم که همواره در طول تحصیل، متکل زحاتم و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات بوده اند، و وجودشان تا ابد مایه دلگرمی من خواهد بود.

از اساتید گرامی و فریخته جناب آقای دکتر شاهرخ قریبیک و سرکار خانم دکتر پریسا کوباز که راهنمایی پایان نامه اینجناب راعده دار بودند و در سایه توجهات ایشان و راهنمایی های دلسوزانه و سودمندشان توانستم گامی در جهت کسب علم ودانش بردارم کامل مسکرو رادارم. در این میان و در امر مشاوره از استاد گرانقدر سرکار خانم دکتر اکرم صادقی از پژوهشگاه یوتکنولوژی کشاورزی ایران که زحمت مشاوره پایان نامه اینجناب راقبول فرمودند، قدردانی نموده و برای ایشان آرزوی طول عمر و سر بلندی دارم. اکنون که به یاری پروردگار و راهنمایی اساتید بزرگ موفق به اتمام این پایان نامه شده ام و طیفه خود دانسته که نهایت پاسکزاری را از تمامی عزیزانی که در این راه به من ملگ کرده اند، به عل آورم. همچنین از دوستان عزیزم که همراهن، همیشگی من بوده اند و اوقات خوشی را در کنار هم سپری کرده ایم، تقدیر و مسکرو دارم و برایشان آرزوی توفیق و سلامتی دارم.

الهام عروجی - شهریور ۱۳۹۸

تعهد نامه

اینجانب الهام عروجی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی گرایش بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه با ارزیابی تاثیر استرپتومایسس های محرک رشد بر برخی صفات فیزیولوژیک و مولکولی مرتبط با عملکرد در گیاهان گلخانه ای خیار، گوجه فرنگی تحت راهنمایی دکتر شاهرخ قرنچیک و دکتر پریسا کوباز و مشاوره دکتر اکرم صادقی متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ:

امضا دانشجو:

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود . استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

امروزه در پی مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی و آلودگی‌های زیست محیطی، بسیاری از محققان و کشاورزان به دنبال یافتن راهکاری برای کاهش مصرف کودهای شیمیایی در تولید محصولات سالم هستند. استفاده از موجودات مفید خاکزی مانند باکتری‌های محرک رشد، جایگزینی مناسب برای بهبود حاصلخیزی خاک، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی توسط گیاه و تأمین سلامت گیاه از مهم‌ترین شیوه‌های علمی برای کمک به پایداری خاک و جلوگیری از خطر آلاینده‌های شیمیایی در محیط زیست است. در این پروژه از سویه‌های استرپتومایسس جداسازی شده مناسب به عنوان کود زیستی برای گیاه خیار و گوجه فرنگی، در فاز رویشی و سپس سویه‌های برتر بر رشد زایشی در گلخانه پژوهشگاه بیوتکنولوژی ایران در شهر کرج استفاده شد. آزمایش به صورت طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح کودی (صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) سه تکرار اجرا شد. بر اساس صفات مهمی مانند عملکرد، درصد ماده خشک و وزن خشک ریشه سویه‌های ss12 و ss14 با کود ۷۵ درصد در خیار و سویه‌ی ty17 با سطح کودی ۷۵ درصد بر گوجه فرنگی بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. بررسی صفات دیگر مانند آزمون قندکل و جزء، کلروفیل، کارتنوئید، عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، و صفات مولکولی نیز نتایج قبلی را تایید کردند. بنابراین استفاده از این سویه‌ها می‌تواند با کاهش حداقل ۲۵ درصد کود موجب افزایش عملکرد گیاه شود.

واژه‌های کلیدی: استرپتومایسس، عملکرد، گوجه فرنگی، خیار

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

۱- عروجی الهام^۱، قرنجیک شاهرخ^۱، کوباز پریسا^۲، فتحی قره بابا^۳، صادقی اکرم^۳ (۱۳۹۶). ارزیابی برخی از باکتری های محرک رشد بر رشد رویشی برخی از صیفی جات. دومین همایش بین المللی و دهمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران. ۷ تا ۹ شهریور ۱۳۹۶. کرج سالن همایش های موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

فهرست مطالب

۱	فصل اول مقدمه
۲	۱- مقدمه
۳	۱-۱- سوالات طرح حاضر
۳	۲-۱- اهداف طرح مورد پژوهش
۵	فصل دوم کلیات و مرور منابع
۶	۱-۲- کود
۶	۲-۲- کود شیمیایی
۸	۳-۲- کود زیستی
۸	۳-۲-۱- انواع کودهای زیستی
۹	۴-۲- اکتینومیست‌ها
۹	۵-۲- استرپتومایسس‌ها
۱۱	۶-۲- تاثیر استرپتومایسس‌ها بر رشد و سلامت گیاهان
۱۲	۷-۲- بررسی سطح محصولات گلخانه‌ای (خیار، گوجه فرنگی) کشور
۱۳	۸-۲- میزان تولید محصولات گلخانه‌ای
۱۴	۹-۲- گیاه شناسی گوجه فرنگی
۱۵	۱۰-۲- گیاه شناسی خیار
۱۵	۱۱-۲- کود NPK و طریقه مصرف آن
۱۶	۱۲-۲- اهمیت نیتروژن برای گیاه
۱۷	۱۳-۲- اهمیت فسفر برای گیاه
۱۷	۱۴-۲- اهمیت پتاسیم برای گیاه
۱۸	۱۵-۲- آنزیم پلی فنل اکسیداز
۱۹	۱۶-۲- آنزیم پراکسیداز
۲۰	۱۷-۲- هورمون‌های گیاهی

- ۲۱-۱۷-۲-هورمون آبسیزیک اسید.....
- ۲۲-۱۷-۲-هورمون اکسین.....
- ۲۳-۱۷-۲-هورمون سالیسیلیک اسید.....
- ۲۳-۱۸-۲-مطالعه ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتز برخی از هورمون ها و آنزیم های ذکر شده.....
- ۲۴-۱۸-۲-ژن ACS.....
- ۲۵-۱۸-۲-ژن NCED.....
- ۲۶-۱۸-۲-ژنهای مسیر آنزیمهای مقاومتی TPX و یا POX, PPO.....
- ۲۷-۱۸-۲-ژن WRKY.....
- ۲۸-۱۸-۲-ژن PAL.....
- ۳۰-۱۸-۲-ژنهای خانه دار اکتین و توبولین.....
- ۳۱-۱۹-۲-اصول طراحی آغازگرها.....
- ۳۵ فصل سوم مواد و روشها**
- ۳۶-۱-۳-نمونه برداری و استخراج سویه‌های باکتری استرپتوماپسس.....
- ۳۷-۲-۳-نگهداری باکتری‌ها.....
- ۳۷-۳-۳-کشت رویشی خیار و گوجه فرنگی.....
- ۳۸-۴-۳-کشت زایشی گیاه خیار و گوجه فرنگی.....
- ۳۸-۵-۳-زمان و نحوه کوددهی به گیاهان.....
- ۳۹-۶-۳-اندازه گیری صفات مورفولوژی و فیزیولوژی خیار و گوجه فرنگی.....
- ۳۹-۱-۶-۳-وزن تک میوه.....
- ۳۹-۲-۶-۳-ماده خشک ریشه، برگ و میوه.....
- ۴۰-۳-۶-۳-استخراج کلروفیل برگی.....
- ۴۰-۴-۶-۳-سنجش عنصر فسفر.....

۴۱۳-۶-۵-سنجش عنصر پتاسیم.....
۴۱۳-۶-۶-سنجش نیترات.....
۴۲۳-۶-۷-سنجش قند کل و جزء.....
۴۳۳-۷-۷-کشت بیان ژن خیار و گوجه فرنگی.....
۴۳۳-۷-۱-استخراج، خالص سازی و آنالیز هورمون‌های اکسین و آبسزیک اسید.....
۴۶۳-۷-۲-استخراج، خالص سازی و آنالیز تنظیم کننده‌ی رشدی سالیسیلیک اسید.....
۴۶۳-۷-۳-استخراج پروتئین و آنزیم پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز.....
۴۷۳-۷-۴-استخراج پروتئین.....
۴۸۳-۷-۵-سنجش آنزیم پراکسیداز.....
۴۹۳-۷-۶-سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز.....
۴۹۳-۷-۷-آماده سازی مواد و وسایل لازم برای استخراج RNA.....
۵۰۳-۷-۸-استخراج RNA گیاهی.....
۵۱۳-۷-۹-بررسی کمی و کیفی RNA استخراج شده.....
۵۱۳-۷-۱۰-تیمار RNA استخراج شده با آنزیم DNase1.....
۵۲۳-۷-۱۱-حصول اطمینان از حذف آلودگی DNA و RNA استخراج شده با انجام واکنش PCR.....
۵۳۳-۷-۱۲-سنتز cDNA.....
۵۴۳-۷-۱۳-طراحی جفت آغازگرهای ژن‌های مورد بررسی بیان ژن.....
۵۵۳-۷-۱۴-بررسی نسبی بیان ژن با روش Real time PCR.....
۵۶۳-۷-۱۵-تجزیه آماری داده های حاصل از Real time PCR.....
۵۷	فصل چهارم نتیجه گیری و بحث
۵۸۴-۱-بررسی نتایج و بحث حاصل از آزمایش کشت رویشی خیار و گوجه فرنگی.....

- ۴-۱-۱- اثر استرپتومایسیس بر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی در خیار و گوجه فرنگی..... ۵۸
- ۴-۲- بررسی نتایج و بحث حاصل از آزمایش کشت زایشی خیار و گوجه فرنگی..... ۶۴
- ۴-۲-۱- اثر استرپتومایسیس بر عملکرد خیار و گوجه فرنگی..... ۶۴
- ۴-۲-۲- اثر استرپتومایسیس بر میانگین وزن ترمیوه خیار و گوجه فرنگی..... ۶۶
- ۴-۲-۳- اثر استرپتومایسیس بر تعداد میوه‌های هر بوته خیار و گوجه فرنگی..... ۶۸
- ۴-۲-۴- اثر استرپتومایسیس بر میزان کلروفیل a در خیار و گوجه فرنگی..... ۷۰
- ۴-۲-۵- اثر استرپتومایسیس محرک رشد بر میزان کلروفیل b در خیار و گوجه فرنگی..... ۷۲
- ۴-۲-۶- اثر استرپتومایسیس محرک رشد بر میزان کلروفیل کل خیار..... ۷۴
- ۴-۲-۷- اثر استرپتومایسیس محرک رشد بر میزان کارتنوئید خیار و گوجه فرنگی..... ۷۶
- ۴-۲-۸- اثر استرپتومایسیس بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b خیار و گوجه فرنگی..... ۷۸
- ۸۰- بحث اثر استرپتومایسیس بر کلروفیل، کارتنوئید و جذب نور.....
- ۴-۲-۹- اثر استرپتومایسیس بر میزان ماده خشک ریشه خیار و گوجه فرنگی..... ۸۱
- ۴-۲-۱۰- اثر استرپتومایسیس بر میزان ماده خشک میوه خیار و گوجه فرنگی..... ۸۳
- ۴-۲-۱۱- اثر استرپتومایسیس بر میزان ماده خشک برگ خیار و گوجه فرنگی..... ۸۵
- ۸۷- اثر سویه‌های استرپتومایسیس بر میزان ماده خشک ریشه، میوه و برگ خیار و گوجه فرنگی.....
- ۴-۲-۱۲- اثر استرپتومایسیس بر میزان عنصر نیتروژن در میوه خیار و گوجه فرنگی..... ۸۸
- ۴-۲-۱۳- اثر استرپتومایسیس بر میزان عنصر فسفر موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی..... ۹۰
- ۴-۲-۱۴- اثر استرپتومایسیس بر میزان عنصر پتاسیم موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی..... ۹۲
- ۹۴- بحث اثر استرپتومایسیس بر عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم موجود در خیار و گوجه فرنگی.....
- ۴-۲-۱۵- اثر استرپتومایسیس بر میزان قند کل موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی..... ۹۶
- ۴-۲-۱۶- اثر استرپتومایسیس بر میزان قند ساکارز موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی..... ۹۸

- ۱۰۰-۲-۴-۱۷ اثر استرپتومایسس بر میزان قند گلوکز موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۰۲-۲-۴-۱۸ اثر استرپتومایسس بر میزان قند فروکتوز موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۰۵-۳-۴-۳ بررسی نتایج و بحث حاصل از کشت بیان ژن در خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۰۵-۳-۴-۱ اثر استرپتومایسس بر میزان پروتئین محلول در برگ خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۰۷-۳-۴-۲ اثر استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۰۸-۳-۴-۳ اثر استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۱۰-۳-۴-۳ بحث اثر استرپتومایسس بر میزان پروتئین و فعالیت آنزیمی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز.....
- ۱۱۱-۳-۴-۴ اثر استرپتومایسس بر تولید سالیسیلیک اسید در برگ خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۱۳-۳-۴-۵ اثر استرپتومایسس بر میزان هورمون اکسین در برگ خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۱۵-۳-۴-۶ اثر استرپتومایسس بر میزان هورمون آبسزیک اسید در برگ خیار و گوجه فرنگی.....
- ۱۱۷-۳-۴-۶ بحث اثر استرپتومایسس بر میزان تولید هورمون سالیسیلیک اسید، اکسین و آبسزیک اسید.....
- ۱۱۸-۴-۴-۴ بررسی الگوی بیان ژن‌ها در خیار.....
- ۱۱۸-۴-۴-۱ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن NCED3.2 در خیار.....
- ۱۱۹-۴-۴-۲ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن NCED1.1 در خیار.....
- ۱۱۹-۴-۴-۳ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن ACS در خیار.....
- ۱۲۰-۴-۴-۴ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن POX.....
- ۱۲۱-۴-۴-۵ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن PPO در خیار.....
- ۱۲۲-۴-۴-۵ بررسی الگوی بیان ژن‌ها در گوجه فرنگی.....
- ۱۲۲-۴-۴-۱ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن NCED در گوجه فرنگی.....
- ۱۲۳-۴-۴-۲ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن WRKY.....
- ۱۲۴-۴-۴-۳ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن TPX در گوجه فرنگی.....

۴-۵-۴- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن PAL در گوجه فرنگی..... ۱۲۵

۴-۶- بحث و نتیجه گیری کلی..... ۱۲۶

۴-۷- پیشنهادات..... ۱۳۲

پیوست ۱۳۴

منابع ۱۴۲

فهرست جداول

- جدول ۳-۱- میزان، زمان و نوع کود مصرفی گیاه خیار و گوجه فرنگی در مرحله کشت زایشی..... ۳۹
- جدول ۳-۲- مخلوط واکنش جهت انجام تیمار DNase1 ۵۱
- جدول ۳-۳- مخلوط واکنش PCR حذف آلودگی DNA و RNA استخراج شده..... ۵۲
- جدول ۳-۴- مخلوط واکنش سنتز cDNA..... ۵۳
- جدول ۳-۵- توالی جفت آغازگرهای ژن‌های مورد بررسی..... ۵۴
- جدول ۳-۶- مخلوط واکنش Real time PCR ۵۵
- جدول ۴-۱- مقایسه میانگین اثر استرپتومایسس بر وزن تروخشک ریشه و اندام‌هوایی در خیار با غلظت^{۱۰^۸} و^{۱۰^۷}..... ۵۹
- جدول ۴-۲- مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر وزن تر و خشک ساقه و ریشه گوجه فرنگی ۶۲
- جدول پیوست ۱- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر برخی صفات فیزیولوژی خیار در سطوح کودی مختلف..... ۱۳۵
- جدول پیوست ۲- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر قند جزء میوه خیار در سطوح کودی مختلف..... ۱۳۵
- جدول پیوست ۳- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر پروتئین و فعالیت آنزیمی خیار..... ۱۳۶
- جدول پیوست ۴- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر برخی صفات فیزیولوژی گیاه خیار در سطوح کودی مختلف ۱۳۶
- جدول پیوست ۵- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر هورمون‌های برگ خیار..... ۱۳۷
- جدول پیوست ۶- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر کلروفیل خیار در سطوح کودی مختلف..... ۱۳۷
- جدول پیوست ۷- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر صفات فیزیولوژی گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف..... ۱۳۷
- جدول پیوست ۸- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر صفات فیزیولوژی گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف..... ۱۳۸
- جدول پیوست ۹- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر صفات فیزیولوژی گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف..... ۱۳۸
- جدول پیوست ۱۰- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر قند جزء گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف..... ۱۳۹
- جدول پیوست ۱۱- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر کلروفیل و جذب نور گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف ۱۴۰
- جدول پیوست ۱۲- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر هورمون‌های گوجه فرنگی..... ۱۴۰
- جدول پیوست ۱۳- مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر پروتئین و فعالیت آنزیمی گوجه فرنگی..... ۱۴۱

فهرست اشکال

- شکل ۱-۲- درصد توزیع سطح محصولات گلخانه ای در سال ۱۳۹۶..... ۱۳
- شکل ۲-۲- درصد توزیع میزان تولید محصولات گلخانه ای در سال ۱۳۹۶..... ۱۴
- شکل ۳-۲- مسیر بیوسنتز اتیلن..... ۲۴
- شکل ۴-۲- مسیر بیوسنتز ABA..... ۲۶
- شکل ۵-۲- مسیر سنتز SA..... ۳۰
- شکل ۶-۲- قابلیت اتصال رنگهای فلورسنت به DNA..... ۳۲
- شکل ۷-۲- عملکرد رنگهای فلورسنت در اتصال به DNA دو رشته‌های در روش Real Time PCR..... ۳۳
- شکل ۱-۳- تصویر ژل مربوط به تیمار DNase1 در خیار..... ۵۲
- شکل ۱-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر عملکرد میوه هر بوته خیار..... ۶۴
- شکل ۲-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر عملکرد میوه هر بوته گوجه فرنگی..... ۶۵
- شکل ۳-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین وزن تر میوه‌های یک بوته خیار..... ۶۷
- شکل ۴-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین وزن تر میوه‌های هر بوته گوجه فرنگی..... ۶۸
- شکل ۵-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین تعداد میوه در هر بوته خیار..... ۶۹
- شکل ۶-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین تعداد میوه هر بوته گوجه فرنگی..... ۷۰
- شکل ۷-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل a در برگ خیار..... ۷۱
- شکل ۸-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل a موجود در برگ گوجه فرنگی..... ۷۲
- شکل ۹-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل b در برگ خیار..... ۷۳
- شکل ۱۰-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل b موجود در برگ گوجه فرنگی..... ۷۴
- شکل ۱۱-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل کل در برگ خیار..... ۷۵
- شکل ۱۲-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل کل موجود در برگ گوجه فرنگی..... ۷۶
- شکل ۱۳-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کارتنوئید در برگ خیار..... ۷۷
- شکل ۱۴-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کارتنوئید موجود در برگ گوجه فرنگی..... ۷۸
- شکل ۱۵-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در برگ خیار..... ۷۹

- شکل ۴-۱۶- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در برگ گوجه فرنگی..... ۸۰
- شکل ۴-۱۷- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک ریشه خیار..... ۸۲
- شکل ۴-۱۸- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک ریشه گوجه فرنگی..... ۸۳
- شکل ۴-۱۹- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک میوه خیار..... ۸۴
- شکل ۴-۲۰- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک میوه گوجه فرنگی..... ۸۵
- شکل ۴-۲۱- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک برگ خیار..... ۸۶
- شکل ۴-۲۲- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک برگ گوجه فرنگی..... ۸۷
- شکل ۴-۲۳- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان نیتروژن در میوه خیار..... ۸۹
- شکل ۴-۲۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان عنصر نیتروژن در میوه گوجه فرنگی..... ۹۰
- شکل ۴-۲۵- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فسفر موجود در میوه خیار..... ۹۱
- شکل ۴-۲۶- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فسفر موجود در میوه گوجه فرنگی..... ۹۲
- شکل ۴-۲۷- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان پتاسیم موجود در میوه خیار..... ۹۳
- شکل ۴-۲۸- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان پتاسیم موجود در میوه گوجه فرنگی..... ۹۴
- شکل ۴-۲۹- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند کل موجود در میوه خیار..... ۹۷
- شکل ۴-۳۰- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند کل در میوه گوجه فرنگی..... ۹۸
- شکل ۴-۳۱- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند ساکارز موجود در میوه خیار..... ۹۹
- شکل ۴-۳۲- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند ساکارز میوه گوجه فرنگی..... ۱۰۰
- شکل ۴-۳۳- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند گلوکز موجود در میوه خیار..... ۱۰۱
- شکل ۴-۳۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند گلوکز موجود در میوه گوجه فرنگی..... ۱۰۲
- شکل ۴-۳۵- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند فروکتوز موجود در میوه خیار..... ۱۰۳
- شکل ۴-۳۶- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند فروکتوز در میوه گوجه فرنگی..... ۱۰۴
- شکل ۴-۳۷- اثر سویه‌های استرپتومایسس پس از یک هفته تلقیح بر میزان پروتئین محلول در برگ خیار..... ۱۰۶
- شکل ۴-۳۸- اثر سویه‌های استرپتومایسس پس از یک هفته تلقیح بر میزان پروتئین محلول در برگ گوجه فرنگی..... ۱۰۶
- شکل ۴-۳۹- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار..... ۱۰۷
- شکل ۴-۴۰- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ گوجه فرنگی..... ۱۰۸
- شکل ۴-۴۱- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ خیار..... ۱۰۹

- شکل ۴-۴۲- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ گوجه فرنگی ۱۱۰
- شکل ۴-۴۳- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید سالیسیلیک اسید در برگ خیار ۱۱۲
- شکل ۴-۴۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون سالیسیلیک اسید در برگ گوجه فرنگی ۱۱۳
- شکل ۴-۴۵- مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون اکسین در برگ خیار ۱۱۴
- شکل ۴-۴۶- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون اکسین در برگ گوجه فرنگی ۱۱۵
- شکل ۴-۴۷- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون آبسزیک اسید در برگ خیار ۱۱۶
- شکل ۴-۴۸- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون آبسزیک اسید در برگ گوجه فرنگی ۱۱۷
- شکل ۴-۴۹- میزان بیان ژن NCED3.2 در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح ۱۱۸
- شکل ۴-۵۰- میزان بیان ژن NCED1.1 در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح ۱۱۹
- شکل ۴-۵۱- میزان بیان ژن ACS در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح ۱۲۰
- شکل ۴-۵۲- میزان بیان ژن POX در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح ۱۲۱
- شکل ۴-۵۳- میزان بیان ژن PPO در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح ۱۲۲
- شکل ۴-۵۴- میزان بیان ژن NCED در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح ۱۲۳
- شکل ۴-۵۵- میزان بیان ژن WRKY در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح ۱۲۴
- شکل ۴-۵۶- میزان بیان ژن TPX در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح ۱۲۴
- شکل ۴-۵۷- میزان بیان ژن PAL در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح ۱۲۵

فصل اول مقدمه

۱- مقدمه

کشور ایران با داشتن تنوع اقلیمی، وجود آفتاب فراوان، اراضی وسیع، نیروی انسانی در دسترس و نیروی کارگری ارزان، داشتن پیشینه کشاورزی و باغبانی و سایر مزیت ها جزو کشورهای رده اول در سطح زیر کشت و میزان تولید محصولات کشاورزی است. با توجه به واقع شدن پهنه وسیعی از اراضی کشور در منطقه خشک، نیمه خشک، کمبود نزولات آسمانی، تبخیر و تعرق شدید، بهره برداری های بی رویه از منابع آب های سطحی و زیر سطحی امکان افزایش سطوح زیر کشت فراهم نبوده و باید از سیاست افزایش تراکم بوته در واحد سطح و افزایش تولید در سطوح کمتر استفاده نمود. ایران با تولید ۵/۸ میلیون تن گوجه فرنگی در سال دارای رتبه هفتم در دنیاست. میزان تولید گوجه ۳۹ تن در هکتار می باشد در حالی که متوسط آن در دنیا ۲۷ تن در هکتار میباشد. ایران همچنین حایز رتبه دوم خیار در دنیاست. میزان بالای تولید می تواند نقش موثری در صادرات و ارزآوری این محصولات به کشور را به دنبال داشته باشد. از طرف دیگر این افزایش مرهون استفاده زیاد از کود های شیمیایی است به طوری که متوسط مصرف کودهای ازته و فسفر ۴۰۰ کیلوگرم به ازای هر هکتار در ایران است که در مقایسه با اغلب کشورهای اروپایی و آمریکایی (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) کشور ما جزء کشورهای پر مصرف است (امیرآبادی و همکاران ۱۳۸۹).

مصرف بیش از اندازه نهاده های کشاورزی مانند کودهای شیمیایی و سموم کشاورزی موجب خسارت های جبران ناپذیری در زمینه سلامت انسان، منابع آبی و محیط زیست می گردد. به طور کلی باید گفت اگر چه کاربرد کودهای شیمیایی می تواند تاثیر به سزائی در افزایش عملکرد داشته باشد، اما استفاده بیش از اندازه این نهاده ها منجر به کاهش حاصلخیزی خاک شده، سلامت انسان را تهدید می کند و تخریب محیط زیست را در پی دارد. در حال حاضر در ایران سالیانه بیش از ۳ میلیون تن کود شیمیایی مصرف می شود. بخشی از کودهای مصرفی در داخل کشور تولید و مابقی از کشورهای دیگر وارد می گردد این در حالی است که هر ساله بین ۷۵ تا ۹۰ درصد فسفر افزوده شده به خاک به دلیل آهکی بودن بیشتر خاک ها، وجود pH بالا، تنش خشکی، وجود بیکربنات در آب آبیاری و کمبود مواد آلی موجود در خاک و همچنین در اثر ترکیب با یونهای کلسیم، آلومینیم

و آهن در خاک به صورت رسوب در می‌آید و از دسترس گیاه خارج می‌گردد. ادامه چنین روندی برای مصرف کودهای فسفره علاوه بر هدر رفت هزینه، تخریب و آلودگی منابع پایه (خاک و آب) را در پی دارد (رجالی و همکاران ۱۳۹۳).

مطالعات زیادی در زمینه کاهش مصرف کودهای شیمیایی و جایگزین کردن آن با انواع کودهای آلی و زیستی انجام شده است. بهترین عامل برای افزایش حاصلخیزی خاک و افزایش کیفی و کمی محصولات کشاورزی استفاده از کودهای زیستی می‌باشد. اختصاصی بودن کودهای زیستی و تعیین دستور العمل مناسب استفاده از آنها می‌تواند در ترویج کودهای زیستی و جایگزینی مناسب آن‌ها با کودهای شیمیایی نقش موثری داشته باشد. لذا مطالعه همه جانبه جهت جداسازی انواع کارآمد کودهای زیستی مخصوص شرایط نا مساعد محیطی و ارزیابی آن‌ها در شرایط گلخانه و مزرعه جهت حرکت سریعتر در مسیر توسعه پایدار ضروری می‌باشد.

۱-۱- سوالات طرح حاضر

اهداف این تحقیق با توجه به برخی سوالات به شرح ذیل است:

- ۱- چگونه میتوان میزان مصرف کودهای شیمیایی را در تولید محصول کاهش داد؟
- ۲- آیا کودهای زیستی به تنهایی می‌توانند تاثیری برابر با کودهای شیمیایی در افزایش تولید محصول سالم داشته باشند؟
- ۳- کدام سویه استرپتومایسس و با چه نسبتی به همراه کود شیمیایی باید استفاده کرد تا میزان مصرف کود شیمیایی با حفظ کارایی به حداقل برسد؟

۱-۲- اهداف طرح مورد پژوهش

- تهیه استرپتومایسس‌های محرک رشد ویژه صیفی‌جات جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی
- افزایش کمی و کیفی عملکرد و کاهش هزینه تولید

- تهیه دستورالعمل استفاده از استرپتومایسس های محرک رشد برای صیفی جات (گوجه فرنگی و خیار) در شرایط گلخانه و مقایسه کارایی باکتری های محرک رشد به همراه کود شیمیایی
- بررسی اثر برخی سویه های استرپتومایسس بر صفات فیزیولوژیکی و مولکولی خیار و گوجه فرنگی

فصل دوم کلیات و مرور منابع

انواع محصولات کشاورزی و باغبانی برای رشد نیاز به عناصر غذایی دارند و این عناصر را از خاک تامین می‌کنند، ولی امروزه به دلیل افزایش جمعیت و سابقه کشت طولانی محصولات کشاورزی و باغبانی، خاک به تنهایی قادر به تامین نیازهای غذایی گیاه نیست و استفاده از انواع کود ضروری است. یکی از مهمترین و رایجترین انواع کودها، کود شیمیایی است. با این وجود لازم به ذکر است، امروزه نگرانی‌ها در مورد اثرات نامطلوب کودها بر محیط‌زیست و امنیت غذایی انسان به دلیل مصرف بی‌رویه، افزایش یافته است (Sujanya and Chandra 2011).

۲-۱- کود

به طور کلی هر ماده‌ای که به تقویت و حاصلخیزی بستر کاشت گیاه کمک کند، کود نامیده می‌شود. کودها به چند دسته کلی تقسیم می‌شوند که عبارتند از: کود شیمیایی، کود آلی یا ارگانیک، کود بیولوژیک یا زیستی و نانو کودها. (Timothy, J. and P.B. Eyzaguirre. 2007).

۲-۲- کود شیمیایی

کود شیمیایی یکی از انواع کودها است و معمولاً در انواع مختلف و در عناصر مشخص عرضه می‌شود. انواع کودهای شیمیایی موجب تقویت رشد گیاه می‌شوند و از طریق فرآیندهای شیمیایی تولید می‌گردند. این کودها به دلیل معدنی بودن بلافاصله تجزیه شده و در اختیار گیاه قرار می‌گیرند و از همین رو باعث افزایش سرعت رشد و عملکرد کمی و کیفی گیاه در زمان کمتر می‌شوند. به طور کلی کودهای شیمیایی در مقایسه با کود های آلی حجم کمتری دارند و قیمت ارزانتر، مصرف راحت‌تر و در دسترس بودن این نوع کود باعث افزایش مصرف آن‌ها نسبت به سایر انواع کود شده است. ولی بایستی در نظر داشت استفاده بی‌رویه از مواد شیمیایی می‌تواند خطراتی را برای محیط زیست، آلودگی آب و خاک و در نهایت ورود به زنجیره غذایی انسان و کاهش امنیت غذایی به همراه داشته باشد. (بای بوردی ، م . ۱۳۸۵).

انواع زیادی کودهای شیمیایی وجود دارند که به شکل‌های پودی، گرانوله، مایع و گاز تولید می‌شوند و مورد مصرف کشاورزان قرار می‌گیرند. کودهای شیمیایی در دو دسته کلی ماکرو (عناصر پرمصرف) و میکرو (عناصر کم مصرف) طبقه بندی می‌شوند. کودهای ماکرو شامل عناصر پرمصرف مورد نیاز گیاهان: ازت، فسفات، پتاس، گوگرد، کلسیم و منیزیم و کودهای میکرو شامل عناصر کم مصرف مورد نیاز گیاهان: آهن، منگنز، روی، مس، بر، مولیبدن است. به منظور استفاده از کود شیمیایی، توجه به مقدار و بهترین زمان مصرف، نوع کود مصرف و روش کوددهی بسیار مهم است و تاثیر بسزایی در تولید محصول خواهد داشت. همچنین بایستی به نحوی از آن استفاده شود که که بخش اعظم کود بصورت قابل جذب گیاه در خاک باقی بماند و باعث آلودگی محیط زیست و تلفات کود و سرمایه نشود. این کودها معمولا دارای تعداد معدودی عنصر هستند و از سرعت عمل بالایی برخوردار می‌باشند و بلافاصله پس از ورود به خاک یونیزه شده و بتدریج جذب گیاه می‌شوند. برخی از کودها که از حلالیت بیشتری برخوردار هستند در صورت عدم رعایت مسائل فنی بسرعت تحت تاثیر شرایط محیطی مثل آبشویی، تجزیه و تثبیت قرار گرفته و از دسترس گیاهان خارج می‌شوند. سرنوشت کوتاه مدت و بلند مدت کود در خاک به ترکیب شیمیایی کود، شرایط آب و هوایی ناحیه، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، گونه و رقم گیاه، مقدار کود داده شده به خاک و بالاخره زمان بستگی دارد. تحقیقات پژوهشگران در سال‌های اخیر نشان داده است، استفاده از انواع کود شیمیایی، آفت کش‌ها و سموم در تولید محصولات باغبانی و کشاورزی باعث ورود بی‌رویه عناصر سمی همراه کودها به زنجیره غذایی انسان شده است و به مرور در بدن تجمع یافته و باعث افزایش بیماری‌های ناشناخته، انواع سرطان‌ها و ناهنجاری‌های ژنتیکی در بشر شده است. در حقیقت مصرف زیاد مواد شیمیایی، مورد انتقاد دانشمندان و متخصصین قرار گرفته است و بدین ترتیب استفاده گسترده از کودهای شیمیایی را زیر سوال می‌برد. مسلما مصرف علمی انواع کودها و سموم کشاورزی، مهمترین راه بهبود حاصلخیزی خاک، افزایش تولید محصولات کشاورزی و باغبانی با کمترین پیامدهای جانبی می‌باشد. (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۵).

در دهه‌های اخیر، تولید محصولات کشاورزی عمدتاً متکی بر مصرف نهاده‌های شیمیایی بوده که این امر منجر به بروز مشکلات زیست محیطی شده است. یکی از راه‌های رفع این مشکل، اعمال راهکارهایی مبتنی بر استفاده از اصول درازمدت کشاورزی اکولوژیک در بوم‌نظام‌های زراعی می‌باشد. به منظور افزایش حاصلخیزی خاک و در نتیجه افزایش عملکرد گیاهان در کشاورزی اکولوژیک، استفاده از کودهای بیولوژیکی به عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی، مطرح می‌باشد (وو و همکاران، ۲۰۰۵).

۲-۳- کود زیستی

کودهای زیستی به مواد حاصلخیز کننده‌ای گفته می‌شود که شامل تعداد کافی از یک یا چند گونه از ارگانسیم‌های مفید خاکزی هستند که در بستری از مواد نگهدارنده قرار دارند. به عبارت دیگر این نوع کودها که حاوی گونه‌های میکروبی مؤثر برای تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه هستند، بازده تولید در واحد سطح را افزایش می‌دهند. میکروارگانسیم‌های موجود در کودهای زیستی عناصر غذایی را به مواد غذایی قابل استفاده برای گیاه تبدیل می‌کنند. تبدیل این عناصر به مواد غذایی مورد نیاز گیاه فرآیند بیولوژیکی است که توسط این میکروارگانسیم‌ها انجام می‌شود. اگرچه تنش‌های محیطی بلند مدت همچون خشکی، افزایش دما، یخبندان و غرقاب بودن زمین برای مدت زمان طولانی و همچنین استفاده بی‌رویه از سموم شیمیایی و عدم حضور گیاه میزبان مناسب به مدت طولانی سبب کاهش جمعیت میکروارگانسیم‌های مفید در خاک آن منطقه می‌شود، اما می‌توان شرایط را به گونه‌ای تحت کنترل قرار داد که جمعیت این گروه از میکروارگانسیم‌ها در خاک افزایش یافته و بتوان از آن‌ها برای تولید کودهای زیستی استفاده کرد. (Vessey 2003; Bardi and Malusa 2012; Malusa and Vassilev 2014).

۲-۳-۱- انواع کودهای زیستی

دسته بندی کودهای زیستی با توجه به نوع میکروارگانسیم‌ها شامل پنج گروه زیر است: ۱- ریزاندامگان کارآ (میکروارگانسیم‌های سودمند) ۲- کودهای زیستی باکتریایی (ریزوبیوم- ازتوباکتر- آزوسپریلیوم- ...) ۳-

کودهای زیستی قارچی (میکوریزا) ۴- کودهای زیستی جلبکی (جلبک‌های سبز-آبی و آزولا) ۵- کودهای زیستی اکتینومیست‌ها (فرانکیا و استریپتومایسس) (Raynaud, X.; Nunan, N. 2014)

۲-۴- اکتینومیست‌ها

اکتینومیست‌ها ارگانیس‌های گرم مثبت پروکاریوت هستند که در راسته اکتینومیستال^۱ قرار می‌گیرند و وابسته به باکتری‌های گروه کورینه فرم می‌باشند. اکتینومیست‌ها در بافت و یا محیط کشت ایجاد سلول‌های کشیده و رشته مانند صاف یا موج می‌کنند که ممکن است یک شاخه یا دو شاخه‌ای باشند. این ارگانیس‌ها دارای چند جنس می‌باشند که به شرح زیر است: اکتینومیسیس^۲، اراکینیا^۳، اکتینومادورا^۴، نوکاردیا^۵، استریپتومایسس، میکرومونوسپورا^۶ (فاقد هرگونه میسلیوم هوایی است). (M. Oskay, A. Same, C. Azeri. 2004)

۲-۵- استریپتومایسس‌ها

جنس *Streptomyces* برای اولین بار توسط Waksman and Henrici (1943) پیشنهاد شده است. در حال حاضر این جنس بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی و خصوصیات شیمیایی دیواره در خانواده‌ی *Streptomycetaceae* قرار گرفته است. کلیه اعضای جنس *Streptomyces* باکتری‌های گرم مثبت، هوازی و اکسید کننده‌های قوی هستند. این باکتری از رده *Actinobacteria* و راسته *Actinomycetales* و میزان G+C آن ۶۹ تا ۷۸ درصد مول است. استریپتومایسس‌ها دارای کروموزوم خطی (linear chromosome) هستند. این باکتری تولید پرگنه‌هایی^۷ با متشکل از میسلیوم‌های هوایی می‌کند. هیف‌های رویشی حدوداً ۰/۵ تا ۰/۱ میکرومتر قطر دارند و به صورت منشعب هستند (Korn-Wendisch and Kutzner, 1992 ; Loria et al., 1997). پرگنه‌های تشکیل شده باکتری به صورت پودری و مجزا، گل سنگی، چرمی و کره‌ای به قطر یک تا ده

¹ *Actinomycetales*

² *Actinomyces*

³ *Arachnia*

⁴ *Actinomadura*

⁵ *Nocardia*

⁶ *Micromonospora*

⁷ Colony

میلی متر بر روی محیط کشت تشکیل شده و دارای رنگ متغیر هستند. با مسن شدن پرگنه‌ها میسلیوم‌های هوایی تشکیل شده و زنجیر اسپور با تشکیل دیواره‌های عرضی در رشته‌های چند هسته‌ای تشکیل می‌شود. در نهایت هر سلول میسلیومی به یک اسپور تبدیل می‌شود. ویژگی‌های ظاهری میسلیوم‌های هوایی در رده‌بندی گونه‌های جنس *Streptomyces* اهمیت زیادی دارد. این خصوصیات شامل نحوه شاخه شاخه شدن آن‌ها بوده که به صورت مستقیم، منشعب، چرخشی، یا موجی است. استرپتومایسس‌ها در چرخه زندگی خود دارای دو نوع میسلیوم^۸ شامل میسلیوم رویشی (سوبسترای) و میسلیوم هوایی هستند. زنجیره آرتروسپور^۹ بر روی میسلیوم‌های هوایی تشکیل می‌شوند (Kutzner, 1981). شکل زنجیره اسپور یا اسپورفور نیز نقش مهمی در شناسایی گونه‌های *Streptomyces* ایفا می‌کند. رنگ توده اسپور با تغییر شرایط محیط کشت تغییر می‌کند. رنگ توده اسپوری گونه‌های *Streptomyces*، در ابتدا هفت سری رنگ‌های آبی، خاکستری، سبز، قرمز، بنفش، سفید و زرد تقسیم بندی شد هر چند پس از آن رنگ‌های دیگری به آن اضافه و در طبقه بندی مورد استفاده قرار گرفت. گاهی نیز رنگ‌های میسلیوم رویشی با پیگمان‌های محلول در هم ادغام و سری رنگ جدیدی بدست می‌آید (Kutzner, 1981). اعضای این جنس از مواد آلی خاک استفاده می‌کنند و برای استفاده از ترکیبات آلی تولید آنزیم‌های هیدرولیز کننده خارج سلولی می‌کنند (Loria, et al., 1997).

کشف تولید آنتی بیوتیک توسط گونه‌های *Streptomyces* در سال ۱۹۴۰ منجر به انجام مطالعات زیادی روی این جنس شد، به طوری که تعداد گونه‌های آن از ۴۰ به ۳۰۰ گونه رسید. در سال ۱۹۶۴ پروژه بین المللی *Streptomyces* به منظور ایجاد یا تعیین ویژگی‌هایی برای شناخت گونه‌های این جنس شروع به فعالیت کرد (Williams et al., 1983). در حال حاضر از روش‌های مورفولوژیکی، شیمیایی و مولکولی (بر اساس مقایسه توالی 16S rRNA) برای شناسایی و طبقه بندی این باکتری‌ها استفاده می‌شود. استرپتومایسس‌ها به طور گسترده در محیط‌های آبی و خاکی طبیعی وجود دارند. اغلب گند روی (ساپروفیت) هستند و قادرند برای

⁸mycelium

⁹ Arthrospores chain

مدت‌های طولانی به صورت اسپوردر خاک باقی بمانند. با وجود آنکه در دسترس بودن مواد غذایی عامل مهمی جهت پخش و فعالیت استرپتومایسس‌ها در خاک است، حرارت، pH، رطوبت، نوع خاک، آب و هوا و فصل نیز بر آن تاثیر دارد (Locci, 1984). کلا خاک‌های قلیایی و خنثی برای گسترش استرپتومایسس‌ها مناسب تر از خاک‌های اسیدی هستند (Brock and Madigan, 1991). استرپتومایسس‌ها از طریق تجزیه مواد آلی و کمک به حاصلخیزی خاک نقش مهمی را در اکولوژی خاک بازی می‌کنند.

۲-۶- تاثیر استرپتومایسس‌ها بر رشد و سلامت گیاهان

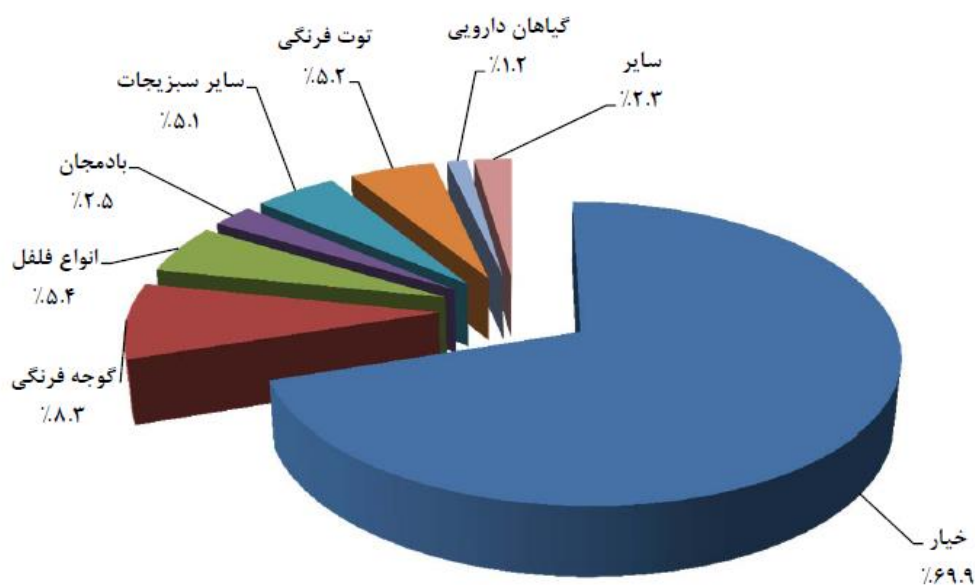
بر اساس مطالعات اخیر، کاربرد استرپتومایسس و یا کشت صاف شده آن برای کنترل بیماری‌های قارچی گیاهان موثر است. کنترل بیولوژیک مرگ گیاهچه رایزوکتونایی کلم چینی^{۱۰} (Chunga *et al.*, 2005) و مرگ گیاهچه رایزوکتونایی گوجه فرنگی (Sabaratnam and Traquair, 2002) با استفاده از *Streptomyces* گزارش شده است. علاوه بر این برخی از گونه‌های این جنس تحریک کننده رشد گیاه هستند که علت آن ممکن است تولید سیدروفورهای نوع هیدروکسامات (Tokala *et al.*, 2002) و یا تولید سایر متابولیت‌های تحریک کننده رشد گیاه باشد (Nassar *et al.*, 2003). عمده‌ترین ساز و کار اثر آنتاگونیستی *Streptomyces*، تولید آنتی بیوتیک‌های ضد قارچی (Smith *et al.*, 1990; Gupte and Naik, 1999) ، رقابت برای جذب آهن از طریق تولید سیدروفور و تولید آنزیم‌های تخریب کننده مانند کیتیناز و گلوکاناز (El-Tarabily *et al.*, 2000) است. ترگو-استرادا و همکاران اثرات آنتاگونیستی *S. violaceusniger* را روی بیمارگرهای گیاهی گزارش کردند (Trejo-Estrada *et al.*, 1998). این محققین نشان دادند که فعالیت بیوکنترلی این باکتری مربوط به سه ترکیب ضد قارچی آن است. همچنین این باکتری قادر به تولید کیتیناز و گلوکاناز بود. نتایج دبور و همکاران روشن کرد که آنتی بیوتیک‌ها در فعالیتهای ضد قارچی باکتری‌های تجزیه کننده کیتین درگیر بودند (De Boer *et al.*, 1998). ال تربیلی و همکاران مشخص کردند که تولید کیتیناز و گلوکاناز سازوکار اصلی

¹⁰ Brassica rapa

مرتبط با فعالیت بیوکنترلی *S. violaceusniger* است (El-Tarabily *et al.*, 2000). با وجود مطالعات متعدد در زمینه موفقیت کنترل بیولوژیک بیمارگرهای گیاهی، تنها تعداد معدودی محصول تجاری برای کاربرد در کشاورزی در بازار موجود است. علاوه بر این اغلب این محصولات جهت کنترل بیماری‌های گیاهان گلخانه‌ای و تنها تعداد انگشت شماری برای استفاده در مزرعه معرفی شده‌اند (Stewart, 2001; Paulitz and B'elanger, 2001). اغلب محصولات کنترل بیولوژیک تجاری و مناسب به منظور استفاده علیه بیمارگرهای خاک‌زاد حاوی یکی از سه جنس سودوموناس *Pseudomonas*، باسیلوس *Bacillus* و استرپتومایسس *Streptomyces* هستند.

۲-۷- بررسی سطح محصولات گلخانه‌ای (خیار، گوجه فرنگی) کشور

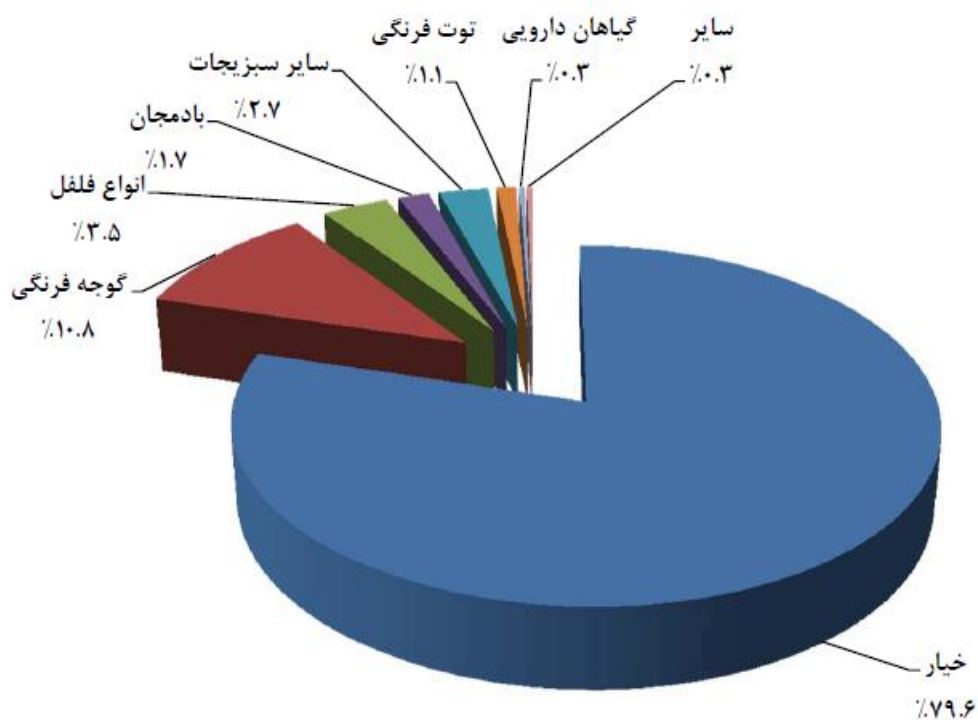
در سال ۱۳۹۶، از حدود ۲/۸۵ میلیون هکتار سطح باغ‌های کشور (اعم از غیر بارور و بارور) حدود ۹ هزار هکتار معادل ۰/۳ درصد به محصولات گلخانه‌ای اختصاص داشته که از این مقدار ۱۰۰ درصد آن مربوط به سطح بارور بوده است. سطح خیار ۶۹/۹، گوجه فرنگی ۸/۳، انواع فلفل ۵/۴، بادمجان ۲/۵، سایر سبزیجات ۵/۱، توت فرنگی ۵/۲، گیاهان دارویی ۱/۲ و سایر ۲/۳ درصد از کل سطح گلخانه‌ها می‌باشد. بیشترین سطح محصولات گلخانه‌ای در کشور متعلق به استان‌های تهران با ۲۲/۹، جنوب استان کرمان با ۱۹/۷ و یزد با ۱۶/۵ درصد است (شکل ۱-۲). این سه استان جمعاً ۵۹/۱ درصد از سطح گلخانه‌ها را به خود اختصاص داده‌اند (آمارنامه کشاورزی ۹۶).



شکل ۲-۱- درصد توزیع سطح محصولات گلخانه‌ای در سال ۱۳۹۶ (آمارنامه کشاورزی ۹۶)

۲-۸- میزان تولید محصولات گلخانه‌ای

از مجموع حدود ۲۱ میلیون تن تولید محصولات باغبانی در سال ۱۳۹۶، حدود ۲ میلیون تن معادل ۹/۶ درصد مربوط به محصولات گلخانه‌ای بوده است. از تولید ۲ میلیون تن محصولات گلخانه‌ای در سال یاد شده، میزان تولید خیار ۷۹/۶، گوجه فرنگی ۱۰/۸، انواع فلفل ۳/۵، بادمجان ۱/۷، سایر سبزیجات ۲/۷، توت فرنگی ۱/۱، گیاهان دارویی ۰/۳ و سایر ۰/۳ درصد از کل میزان تولید محصولات گلخانه‌ای را تشکیل داده بودند. بیشترین تولید محصولات گلخانه‌ای کشور متعلق به استانهای تهران با ۲۸/۵، یزد با ۲۲/۱ و جنوب استان کرمان با ۱۵/۲ درصد است (شکل ۲-۲). این سه استان جمعاً ۶۵/۸ درصد از تولید محصولات گلخانه‌ای را به خود اختصاص داده اند (آمارنامه کشاورزی ۹۶).



شکل ۲-۲- درصد توزیع میزان تولید محصولات گلخانه ای در سال ۱۳۹۶ (آمارنامه کشاورزی ۹۶)

۹-۲- گیاه شناسی گوجه فرنگی

گوجه فرنگی *Lycopersicon esculentum* از خانواده Solanaceae گیاهی است یک ساله و بومی آمریکا، با ساقه ضخیم، نیمه چوبی، کرک دار و شاخه شاخه. برگ‌های آن مرکب از برگچه‌های بریده بریده و با میوه چروک دار و رنگ سبز مایل به خاکستری، گلها به رنگ زرد هستند که بعدا به میوه قرمز گوشتی تبدیل می‌شوند. بوته گوجه فرنگی به سرما و یخبندان حساس است. به همین دلیل تا مواقعی که خطر سرما و یخبندان در منطقه وجود دارد آن را در زیر پلاستیک نگهداری می‌کنند. گوجه فرنگی طالب هوای گرم است و از سرما آسیب می‌بیند. خاک لومی شنی که حاوی مقادیر کافی از مواد آلی پوسیده باشد برای کشت مناسب است. برای هر صد متر مربع ۲۰ کیلو کود حیوانی، ۲ کیلو کود نیترات، ۳ کیلو کود فسفات، ۱ کیلو کود پتاس کفایت می‌کند. بهتر است کود حیوانی را در فصل پائیز به همراه شخم با خاک مخلوط کرد که تا فصل بهار برسد. کودهای فسفاته و پتاسه را هم کمی قبل از کاشت به خاک اضافه می‌کنند. ولی از آنجا که تجزیه کود

حیوانی تا حدی ازت خاک را تأمین می‌کند، کود ازته را پس از کاشت و زمانی که گیاه به مرحله گل دهی میرسد به صورت سرک به خاک اضافه می‌کنند. (Pattison RJ, Catalá C. 2012)

۲-۱۰- گیاه شناسی خیار

خیار *Cucumis sativus* از خانواده Cucurbitaceae گیاه بومی جنوب و شرق آسیا است. گیاهی یک ساله از خانواده کدوئیان است. برگها سبز تیره و نسبتا بزرگ هستند. گل‌های نر و ماده بروی یک پایه قرار می‌گیرند. گل‌های کوچک و زرد رنگ بر روی ساقه رونده آن به میوه تبدیل می‌شوند. خیار طالب آب و هوای معتدل است و در هوای خنک نسبت به هوای گرم محصول بیشتری می‌دهد. با این وجود به سرما حساس است و سرمای اوایل پاییز باعث سیاه شدن برگ‌ها و خشک شدن بوته می‌شود. درجه حرارت ۲۴-۱۸ درجه سانتیگراد برای رشد خیار مناسب است. خیار نسبت به شرایط خاک چندان سخت گیر نیست و در خاک‌های سبک شنی تا خاک‌های لومی رسی رشد می‌کند. به هر شکل خاک بستر باید حاوی مقادیر زیادی هوموس و مواد آلی باشد. (N. Guner and T. C. Wehner 2004).

۲-۱۱- کود NPK و طریقه مصرف آن

به کودهایی که دارای هر سه عنصر نیتروژن (N)، فسفر (P)، و پتاسیم (K) باشند کودهای کامل گفته میشود. این کودها اغلب با فرمول‌های پیچیده تری تولید می‌شوند و حاوی تعداد بیشتری عنصر (در ترکیب‌های شیمیایی مختلف) هستند و سعی می‌کنند از تمام تقریبا ۱۶ عنصر شناخته شده موثر در تغذیه گیاهان در ترکیب خودشان داشته باشند اما سه عنصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم به عنوان عناصر کلیدی در تغذیه گیاهان مطرح می‌شوند. کود NPK یکی از پر مصرف ترین نوع کودها در دنیا است که برای افزایش رشد گیاهان درختان استفاده می‌شود. عناصر پرمصرف (ماکرو) شامل: ازت، فسفر، پتاس، کلسیم، منیزیم و عناصر کم مصرف (میکرو) شامل: آهن، روی، منگنز، مس، بر می‌شود. گیاهان بیشتر از هرچیز دیگر به سه عنصر نیتروژن (N)، فسفر (P) و پتاسیم (K) نیاز دارند. (Asghar et al., 2010).

۲-۱۲- اهمیت نیتروژن برای گیاه

عنصری مهم در گیاه است و جزء سازنده‌ی مولکول‌های کلروفیل بوده و بنابراین نقش مهمی در فتوسنتز ایفا می‌کند. نیتروژن در خاک کاملاً متحرک است بنابراین علائم کمبود آن در برگ‌های پیر مشاهده می‌شود. در تولید پروتئین‌ها، نوکلئیک اسیدها و کوآنزیم‌ها نقش اساسی دارد. نیتروژن به صورت یون‌های آمونیوم و نترات توسط ریشه‌ها جذب می‌شود. نیتروژن جذب شده توسط گیاه به صورت آمید در می‌آید و آمید با اسید ترکیب شده و تولید اسید آمینه می‌کند. نیتروژن مانند سایر عناصر، توسط آوندهای چوب به برگ‌ها منتقل و در آنجا از طریق یک واکنش متابولیکی به ترکیبات آلی (آمینو اسیدها) تبدیل شده و در نهایت این ترکیبات از طریق آوندهای آبکش در سایر بخش‌های گیاه (همچنین در ریشه) توزیع می‌گردند. نیتروژن در اصل به رشد سریع شاخ و برگ کمک می‌کند. همچنین در تولید بذر گیاه و افزایش میوه موثر است. کمک به فتوسنتز و کیفیت بهتر محصول از مزایای استفاده از نیتروژن است. مصرف بیش از حد کودهای نیتروژنه باعث افزایش غلظت نترات در اندام‌های قابل مصرف محصولات زراعی بخصوص سبزی‌ها می‌شود. بسیاری از سبزی‌ها نیتروژن نیتراته را در خود تجمع می‌نمایند. نیتروژن نیتراته برای گیاهان سمی نبوده ولی برای اشخاصی که این گونه سبزی‌ها را مصرف می‌کنند مضر می‌باشد. عموماً آلودگی نیتراتی بر اثر استفاده بی‌رویه و غیر عملی نیتروژن به وجود می‌آید. نبود شیوه علمی تغذیه گیاهان کشاورزی و فقدان تمهیدات استفاده کودها بر اثر تحقیقات علمی باعث سو تغذیه گیاهان می‌شود. طباطبایی س.ج. و ملکوتی م.ج. (۱۳۷۶) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که بین مقدار نترات در میوه خیار با میزان کودهای نیتروژنه مصرف شده رابطه مستقیم وجود دارد و اثرات متقابل بین مقادیر و منابع کود نیتروژنی نیز معنی دار است و مهمترین عامل محیطی که تجمع نترات را تحت تاثیر قرار می‌دهد میزان نترات در دسترس گیاه است. تجمع نترات در خیار تاثیر بسیار منفی در کیفیت آن می‌گذارد و مقدار مواد سمی را در آن به مقدار قابل توجهی افزایش می‌دهد. زمردی ش.، منتظری ع.ز. و خسرو شاهی اصل ا. (۱۳۸۳) در تحقیقی به بررسی وضعیت تجمع نترات در سبزی وصیفی شهرستان‌های سرعین و نیر پرداختند. نتایج نشان داد که میانگین غلظت نترات در نمونه‌های شهرستان‌های

مورد نظر در میوه محصولات گوجه فرنگی، خیار، بادمجان، هندوانه، فلفل سبز و فلفل قرمز به ترتیب ۱۶، ۸، ۱۵، ۶، ۳۶، ۲، میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک بود. که همگی از حد بحرانی پایین تر است. یزداندوست همدانی م. (۱۳۸۲) با انجام تحقیقی تحت عنوان بررسی ارتباط مقدار مصرف نیتروژن با تجمع نیترات در ارقام سیب زمینی نتیجه گرفت که مقدار نیترات تجمع یافته تحت تاثیر رقم قرار نگرفت اما در مقادیر مختلف نیتروژن تفاوت معنی داری را نشان داد.

۲-۱۳- اهمیت فسفر برای گیاه

فسفر مهمترین عامل در روند صحیح فتوسنتز برای گیاه است. به روند تبدیل انرژی خورشید به انرژی شیمیایی قابل استفاده برای گیاهان کمک می کند و در کربن گیری گیاه نقش دارد. فسفر توانایی گیاه برای مقابله با استرس را بالا می برد. باعث گلدهی گیاه و جلوگیری از انداختن بلوغ در گیاه می شود. از دیگر مزیت های فسفر، ریشه زایی بهتر و زیاد شدن شکوفه در گیاهان را می توان نام برد. فسفر یکی از عناصر ضروری و پرمصرف است که نقش های مهمی را در گیاه بر عهده دارد. زاهدیفر و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که افزایش فسفر به میزان ۶۰ میلی گرم در هر کیلوگرم خاک، عملکرد گیاه اسفناج را افزایش داد.

۲-۱۴- اهمیت پتاسیم برای گیاه

پتاس به کیفیت میوه و تشکیل پروتئین در میوه کمک میکند. کاهش بیماری ها در گیاه از دیگر فواید پروتئین است. در گیاهان زینتی برای گل دهی و در درختان میوه به درشت شدن میوه و رنگ انداختن میوه کمک می کند. پتاسیم در رشد و توسعه سلول های گیاهی، ایجاد تورژسانس^{۱۱} سلولی، باز و بسته شدن روزنه ها، و سنتز انواع کربوهیدرات ها نقش دارد و از این رو تأثیر مهمی بر رشد و نمو، عملکرد و کیفیت محصول دارد (گنجه ای و گلچین، ۱۳۹۰).

¹¹ Torgesans

کاربرد فراوان نهاده‌های شیمیایی در مزارع و گلخانه‌های تولید سبزی و صیفی و عرضه سریع این محصولات به بازار (بدون در نظر گرفتن مدت زمان لازم برای کاهش غلظت یا تجزیه مواد شیمیایی)، ضرورت گسترش تولید ارگانیک این محصولات را بیش از پیش آشکار می‌سازد.

۲-۱۵- آنزیم پلی فنل اکسیداز

پلی فنل اکسیدازها^{۱۲} در بخش‌های مختلف گیاهان از جمله برگ‌ها، ساقه‌ها، گل‌ها، دانه‌ها، لاتکس بعضی از گیاهان، بافت‌های کرون گال، کرک‌های سطح برگ‌ها و سلول‌های محافظ روزنه مشاهده می‌شوند. در مراحل مختلف نمو و نیز در بافت‌ها و اندام‌های متفاوت، انواع متفاوتی از اشکال آنزیم معرفی می‌شوند که احتمالاً از عملکرد خاص آنزیم ناشی شده‌اند. کرک‌ها هنگام شکسته شدن توسط حشرات موادی را ترشح می‌کنند که به وسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز محلول پلیمریزه می‌شوند (Mayer AM, Harel E. 1991). پلی فنل اکسیداز ۷۰٪ کل پروتئین‌ها را در این کرک‌ها تشکیل می‌دهند. به طور کلی نقش پراکسیدازها و پلی فنل اکسیدازها در تمایز سلول گیاه در ارتباط با اثر آن‌ها در بیوسنتز لیگنین است. پلی فنل اکسیداز به طور غیر مستقیم قادر به تنظیم ساخت ترکیب‌های فنلی‌ای است که در اندام زایی و نمو پریموردیوم^{۱۳} ریشه نقش دارند (Mayer AM. 1987). گونزالس و همکاران (۱۹۹۱) با اثر مواد بازدارنده و آزاد کننده اتیلن دریافتند که ریشه زایی در فندق با افزایش مقدار اتیلن (روی سیستم القایی اکسین-سیتوکینین اثر دارد)، پراکسیدازها و پلی فنل اکسیدازها همراه است. افزایش این دو آنزیم به چوب سازی سلول‌های پریموردیومی ریشه در لپه‌های فندق مربوط بوده است. در سال‌های اخیر نقش آنزیم در نمو گل بررسی گردید. با جداسازی ژنی که مسئول ساخت پلی فنل اکسیداز در مریستم زایشی گیاه گوجه فرنگی است (مقدار زیادی پلی فنل اکسیداز تولید می‌کند) و بررسی‌های بعدی به این نتیجه رسیده‌اند که این ژن در اندام‌های گل در حال نمو به مقدار زیادی بیان شده و شاخص مرحله نمو است و می‌توان از آن به عنوان عاملی، جهت تشخیص پریموردیوم زایشی و رویشی

¹² Polyphenol oxidase

¹³ primordium

استفاده کرد. پلی فنل اکسیداز در بیشتر گیاهان عالی یافت میشود و با نام‌های کاتکول اکسیداز، کاتکولاز و تریوزیناز نامیده می‌شود در حضور اکسیژن دو نوع واکنش نشان میدهد، این واکنش‌ها عبارت است از هیدروکسی کردن ترکیبات مونو فنول و تبدیل آن‌ها به ترکیبات کوئینین، و وظیفه اصلی آن کاتالیز نوعی کوئینون از فنل‌ها در مجاورت مولکول اکسیژن است. از جمله نقش‌های اصلی این آنزیم، تأثیرات آن بر تشکیل ریشه‌های نابه‌جا و سازماندهی و نمو ریشه است (ایلماز و همکاران، ۲۰۰۳).

۲-۱۶- آنزیم پراکسیداز

تنش‌های زیستی و غیر زیستی منجر به شکل‌گیری گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) می‌شود. تولید گونه‌های اکسیژن فعال سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تخریب پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌شود (Jiang and Zhang, 2004). گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال مکانیسم‌های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی اکسیدانی اشاره کرد. این سیستم شامل سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی است. آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند (Agarwal and Pandey, 2004). در پاسخ به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان افزایش می‌یابد (Gressel and Galun, 1994). اولین آنزیم پاکسازی کننده سوپراکسید دیسموتاز است که تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیررادیکالی است را بر عهده دارد. پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم کاتالاز و یا آسکورات پراکسیداز تبدیل به آب و اکسیژن می‌شود (Comba *et al.*, 2010). آنزیم پراکسیداز نقش مهمی را در جاروب کردن پراکسید هیدروژن دارد که این عمل با کمک اسید آسکوربیک به عنوان یک دهنده الکترون برای احیای پراکسید هیدروژن به آب صورت می‌گیرد. در طی این واکنش اسید آسکوربیک به مونودهدیدروآسکورات تبدیل می‌شود. گایاکول پراکسیدازها (POX) گلیکوپروتئین‌هایی هستند که فنل‌ها را مانند یک دهنده هیدروژن مصرف کرده و در فرآیندهای نمو، لیگنین سازی، بیوسنتز اتیلن، دفاع و التیام زخم‌ها شرکت می‌کنند (Michalak, 2006 ; Verma and Dubey, 2003).

تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش‌های محیطی مختلف گزارش شده است (Hernandez *et al.*, 2000). هم‌چنین تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی آمینواسیدهای آزاد در جهت حفظ و تنظیم فشار اسمزی سلول و کاهش سنتز پروتئین در شرایط تنش مشاهده شده است (Hissao, 1973; Moran *et al.*, 1994). برخی از پژوهشگران رکود سنتز پروتئین را به کاهش تعداد پلی‌زوم‌های سلولی نسبت داده‌اند (Creelman *et al.*, 1990). یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون دی‌آلدئید (MDA) و ترکیباتی مثل اتیلن می‌شوند (Qiuji *et al.*, 1996). اثر رادیکال‌های اکسیژن بر لیپیدها و پراکسیداسیون آن‌ها ناشی از اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد که واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند. رادیکال‌های هیدروکسیل و یا اکسیژن یکتایی می‌توانند با گروه‌های متیلن اسیدهای چرب غیر اشباع واکنش داده و تولید رادیکال‌های لیپید پراکسی و هیدروپراکسی کنند (Bandyopadhyay *et al.*, 1999).

۲-۱۷-هورمون‌های گیاهی

هورمون گیاهی به مواد مختلفی اطلاق می‌شود که در بخشی از موجود زنده ساخته شده و پس از انتقال اثرات فیزیولوژی محسوسی در دیگر قسمت‌های آن به جا می‌گذارد و در تراکم‌های بسیار کم فعالند. این تصور کلی در اصل در قلمرو فیزیولوژیکی حیوانی به وجود آمده و این واژه هورمون از ریشه یونانی به معنی تهییج کردن گرفته شده است. هورمون‌های گیاهی که اغلب فیتوهورمون خوانده می‌شود در بافت‌های مریستمی یا لاقل جوان از هر نوع ساخته می‌شوند و غالباً اثر خود را پس از انتقال به بافت هدف می‌گذارند (Litwac., 2005). هورمون‌ها با آنزیم‌ها و تیامین‌ها و DNA در این خاصیت مشترکند که به غلظت بسیار کم یا ناچیز باعث ایجاد اثرات فیزیولوژیکی عمیق می‌شوند. اصولاً واژه هورمون باید به ترکیباتی محدود شود که به‌طور طبیعی در درون موجود زنده ساخته می‌شود لذا در تعریف هورمون گیاهی می‌توان گفت مواد آلی می‌باشد که مواد غذایی نبوده

و توسط گیاهان تولید می‌شود و در غلظت‌های کم فرآیند فیزیولوژیکی را تنظیم می‌کند. گاهی موادی که به صورت مصنوعی تولید شده‌اند اثرات مشابه یا عیناً نظیر یکی از هورمون‌های طبیعی گیاهی را دارند که نباید آن‌ها را هورمون گیاهی نامید بلکه واژه صحیح‌تر برای چنین ترکیباتی که اثراتی نظیر هورمون روی گیاه دارند تنظیم‌کننده رشد می‌باشد. تنظیم‌کننده‌های رشد ترکیبات سنتز شده یا هورمون‌های گیاهی هستند که فرآیندهای فیزیولوژیکی را تغییر می‌دهند. این مواد با تقلید کردن از هورمون‌ها، تأثیر روی (سنتز شدن) هورمون‌ها و از بین بردن یا انتقال یا تغییر دادن محل تأثیر هورمونی، رشد را تنظیم می‌کنند. می‌توان گفت تمام هورمون‌ها، تنظیم‌کننده رشد هستند اما تمام تنظیم‌کننده‌های رشد هورمون نیستند (Litwac.,2005).

هورمون‌های گیاهی به دو گروه بزرگ تقسیم می‌شوند:

الف) تحریک‌کننده‌های رشد شامل: اکسین‌ها (Auxin)، جیبرلین‌ها (Giberellin) و سیتوکینین‌ها (Cytokinin)

ب) بازدارنده‌های رشد که شامل: آبسزیک اسید (ABA) یا (Abscisic acid) و اتیلن (ethylene) می‌باشند (Litwac.,2005).

۲-۱۷-۱-هورمون آبسزیک اسید

در حدود دهه ۱۹۶۰ دو ماده به‌طور هم‌زمان بنام‌های دورمین و آبسازین از بافت‌های مختلف گیاهی استخراج گشت. بررسی‌ها نشان داد که اولاً هر دو آن‌ها در حقیقت یکی هستند که آبسزیک اسید نامیده شد ثانیاً مهم‌ترین قسمت بازدارنده‌های بتا را تشکیل می‌دهند. آبسزیک اسید از سایر بازدارنده‌های طبیعی گیاهان حدود یکصد مرتبه قوی‌تر است و فرآیندهایی مانند رکود بذرها، جوانه‌ها و نیز ریزش اندام‌ها را کنترل می‌کند. این اعمال مشخصاً با همراهی سایر هورمون‌ها انجام می‌پذیرد. بدین معنا که عوامل محیطی مانند کمبود مواد معدنی، خشکی خاک، روزهای کوتاه و سردی هوا که باعث ایجاد رکود می‌شوند باعث افزایش آبسزیک اسید

و کم شدن جیبرلین‌ها نیز می‌شوند و عواملی مانند روزهای بلند و سرمای زمستانه که رکود را از بین می‌برند عکس این عمل را انجام می‌دهند. (Hemberg 1949a,1949b).

میزان آبسزیک اسید در گیاه تحت تأثیر کمبود آب، اکسیژن و مواد غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشد و تغییرات سریع غلظت از مشخصات خاص این بازدارنده است بدین معنی که وقتی گیاه تحت تأثیر کمبودهای آب، اکسیژن و مواد غذایی قرار گیرد، میزان آبسزیک اسید به سرعت بالا می‌رود و پس از برطرف شدن تنش، طی دو روز به حالت عادی بر می‌گردد. همانند اتیلن برای ساخته شدن آبسزیک محل خاص در درون گیاه وجود ندارد و تمام اندام‌ها می‌توانند برحسب نیاز به تولید این ماده بپردازند. نقل و انتقال نیز مانند جیبرلین و سیتوکنین در بافت‌های آوندی انجام می‌پذیرد. از این هورمون به نام هورمون تنش یاد شده‌است چرا که از آسیب خشکی جلوگیری می‌کند، بدین صورت که باعث بسته شدن روزنه‌های گیاه می‌شود و در هنگام کم‌آبی مانع از دست رفتن آب گیاه می‌شود. هورمون گیاهی آبسزیک اسید بر طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های مهم در رشد و توسعه گیاه از قبیل خواب بذر، رشد و توسعه ریشه و ساقه، تعرق و تحمل به تنش مؤثر است (Gonzalez-Guzman M *et al.*, 2002). در گیاه، توسعه ریشه جانبی با افزایش میزان ABA مهار می‌شود، این اتفاق بلافاصله بعد از ظهور پریموردیای ریشه جانبی و قبل از فعال شدن مریستم ریشه جانبی رخ می‌دهد. تحت شرایط طبیعی رشد، محتوای ABA در گیاهان بسیار کم است. در واکنش به تنش غیر زیستی مقدار ABA در سلول گیاهی افزایش می‌یابد. گیاهان آبسزیک اسید را به طور عمده به منظور کنترل هدایت روزنه‌ای و کاهش شدت تنش تولید می‌کنند (Stoll *et al.*, 2000).

۲-۱۷-۲-هورمون اکسین

از دیگر هورمون‌های مؤثر بر رشد و نمو گیاهان، اکسین، ایندول-۳-استیک اسید IAA می‌باشد (Bartel B. 1997). ریشه جانبی یا فرعی معمولاً در ناحیه‌ای بالاتر از ناحیه طویل شدن تارهای کشنده یافت می‌شود و از گروه‌های کوچکی از سلول‌های دایره محیطیه منشأ می‌گیرند. هورمون IAA نقش مهمی در تشکیل و طویل

شدن ریشه جانبی و سازماندهی و ایجاد ساختار نهایی ریشه دارد (Bonner J, Bandurski RS. 1952). هورمون‌های گیاهی از جمله اکسین نقش مهمی در تعدیل رشد گیاه و همچنین محافظت در برابر تنش‌ها دارند (Leyser O. 2002). الگوی رگبرگ‌ها، تشکیل ریشه جانبی، ریشه موئین، ساقه، ریشه و چیرگی انتهایی فرآیندهایی شناخته شده هستند که توسط هورمون اکسین تنظیم می‌شوند (Li L, Hou X., et al. 2008).

۲-۱۷-۳-هورمون سالیسیلیک اسید

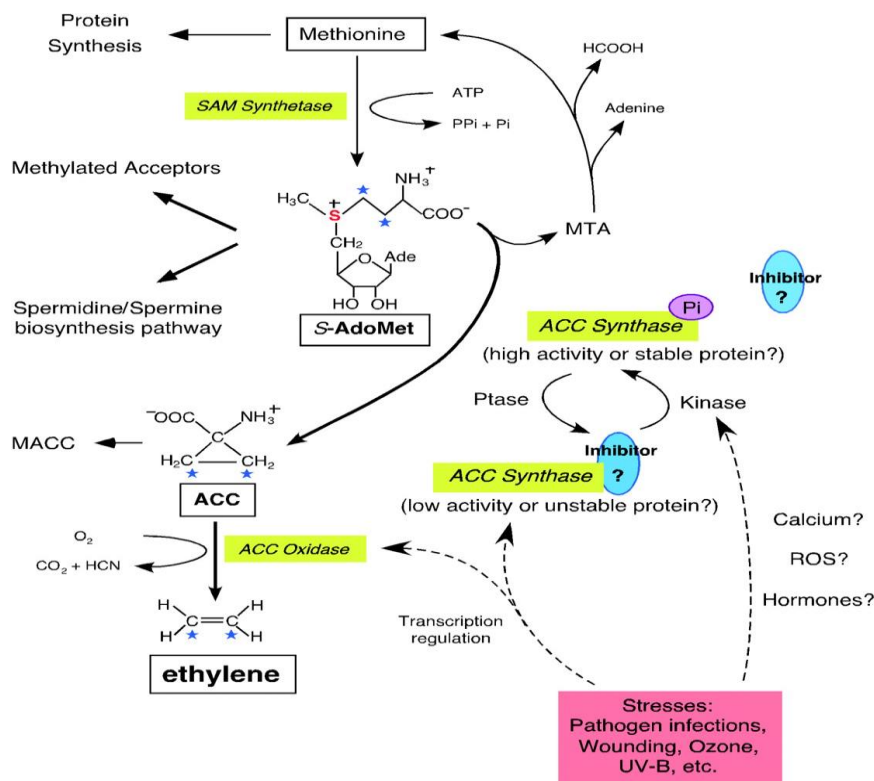
سالیسیلیک اسید، یک تنظیم کننده رشد گیاهی است. این ماده در فرآیندهای فیزیولوژیک گوناگون رشد و نمو دخالت داشته، همچنین نقشی فعال در پاسخ‌های دفاعی گیاه ایفا می‌کند. سالیسیلیک اسید یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید، به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق داشته و از نام بید یا salix مشتق شده است (Popova et al., 1997). سالیسیلیک اسید، هورمونی گیاهی است که نقش مهمی در تعدادی از فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه، نظیر: کنترل تنفس، بسته شدن روزنه‌ها، جوانه زنی دانه، رسیدن میوه، گلکولیز، گلدهی و تولید گرما ایفا می‌کند (Arfan, M et al., 2007).

سالیسیلیک اسید باعث تجمع آب‌سزیک اسید و اکسین می‌شود، ولی بر روی سیتوکنین تأثیری ندارد. این هورمون به دلیل داشتن اکسیژن گروه هیدروکسیل آزاد روی حلقه بنزوئیک قادر به شلاته کردن فلزات است، بنابراین با شلاته کردن آهن موجود در آنزیم آمینوسیکلو پروپان کربوکسیلیک اسید اکسیداز، موجب بلوکه کردن این آنزیم و در نهایت، مهار بیوسنتز اتیلن می‌شود (Shakirova et al., 2007).

۲-۱۸-مطالعه ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتز برخی از هورمون‌ها و آنزیم‌های ذکر شده

جهت بررسی بیان ژن و سنجش آن‌ها در این پروژه لازم است تا به مطالعه ژن‌ها پرداخته شود.

اتیلن نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان از جمله کنترل جوانه زنی، روند پیری گیاه، گلدهی، تشکیل و رسیدگی میوه دارد. سنتز اتیلن توسط تنش‌هایی مانند خشکی، آبی و زخمی شدن تحریک می‌شود (Kende H. 1993). واکنش‌های موجود در مسیر تشکیل اتیلن توسط آنزیم‌هایی مانند ACC synthase (ACS) و ACC oxidase (ACO) کاتالیز می‌شوند. در واقع ژن ACS آنزیم ACC synthase را تولید می‌کند.



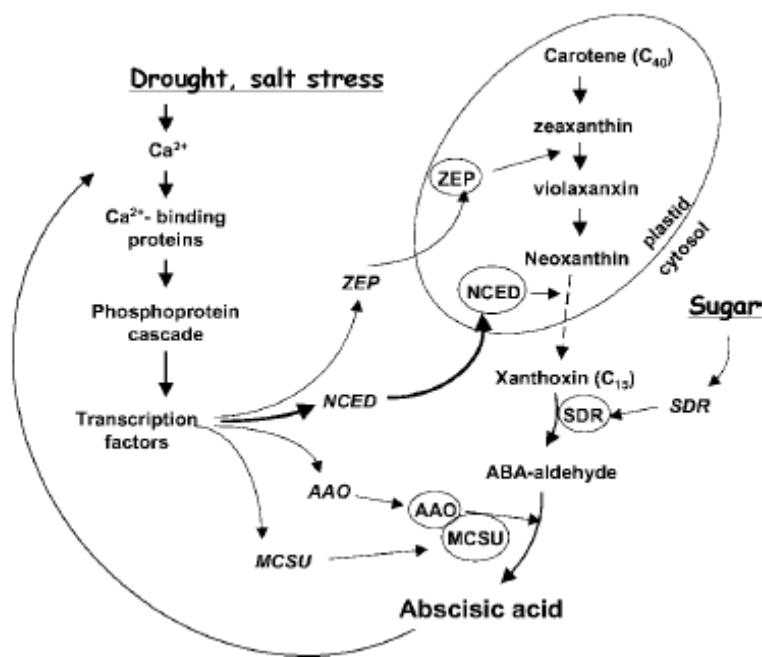
شکل ۲-۳- مسیر بیوسنتز اتیلن (Yang and Haffman, 1984)

اولین گام اصلی در مسیر بیوسنتز اتیلن طبق شکل ۲-۳، تشکیل S-AdoMet (S-adenosyl-L-methionine) و ACC (=Aminocyclopropane-1-carboxylic acid) به عنوان پیش سازهای اتیلن می‌باشند (Yang and Haffman, 1984). آنزیم‌هایی که این واکنش را کاتالیز می‌کنند شناسایی شده و با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی خالص سازی شده اند. S-AdoMet پیش ساز بیوسنتز اتیلن در گیاهان بوده و به عنوان پیش ماده برای بسیاری از مسیرهای بیوشیمیایی شامل بیوسنتز پلی آمین‌ها و اتیلن

بکار برده می‌شود. علاوه بر این S-ادنوزیل متیونین در واکنش‌های متیلاسیون که لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را تغییر می‌دهند، دخیل است. ACS در این واکنش، علاوه بر ACC، ۵-متیل تیو ادنوزین نیز تولید می‌کند که بعدها با استفاده از چرخه تغییر متیونین به متیونین تبدیل می‌شود. این مسیر حفاظت شده، گروه متیل لازم برای دوره‌های بعدی تولید اتیلن را نیز فراهم می‌کند. از این رو، اتیلن می‌تواند به طور پیوسته و بدون نیاز به افزایش مخزن متیونین ساخته شود. به طور همزمان، گروه سولفور متیونین نیز محافظت می‌شود. در نهایت، ACC بوسیله ACC-اکسیداز، اکسیده می‌شود تا اتیلن، دی‌اکسید کربن و سیانید تشکیل شود که توسط بتا-سیانوآلانین سینتاز به بتا-سیانوآلانین، دتوکسی می‌شود تا مانع سمیت تجمع سیانید در طی سنتز مقادیر بالای اتیلن شود (Wang et al., 2002).

۲-۱۸-۲-ژن NCED

این ژن در گیاهان در مسیر بیوسنتزی هورمون آبسزیک اسید قرار دارد. ژن NCED یکی از آنزیم‌های تولید کننده ABA را بیان می‌کند. آبسزیک اسید بازدارنده رشد گیاه است و زمانیکه گیاه در شرایط نامناسبی قرار داشته باشد بیان ژن NCED و هر ژن دیگری که در مسیر بیوسنتز ABA قرار دارد، افزایش می‌یابد و گیاه حالت دفاعی به خود می‌گیرد (Schwartz SH, 1997). در گوجه فرنگی NCED ممکن است سطوح ABA موجود در دانه را تنظیم کند. بیش بیان LeNCED1 باعث افزایش سطح ABA در بذر و خواب طولانی تر آن می‌شود. شکل ۲-۴، مسیر تنظیم و بیوسنتز هورمون آبسزیک اسید را نشان می‌دهد. آنزیم‌های تولید کننده ABA در داخل بیضی‌های کوچک قرار دارند. باتوجه به شکل در بین ژن‌های بیوسنتتیک، ژن NCED به شدت توسط تنش تنظیم می‌شود این درحالیست که ژن SDR توسط قند تنظیم می‌شود (Thompson AJ et al., 2000a).



شکل ۲-۴- مسیر بیوسنتز ABA (Taylor IB.,2000)

AAO, ABA-NCED, 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, ZEP, zeaxanthin epoxidase

MCSU, MoCo sulfurylase.aldehyde oxidase

۲-۱۸-۳- ژن‌های مسیر آنزیم‌های مقاومتی TPX و یا POX، PPO

بیان این ژن منجر به تولید آنزیم پراکسیداز می‌شود. یکی از ویژگی‌های دیواره سلولی گیاه که در معرض حمله بیمارگر قرار گرفته‌اند، تشکیل موانع ساختاری مانند لیگنین و ساب‌رین است. در آخرین مرحله بیوسنتز آنها توسط آنزیم پراکسیداز آپوپلاستیک کاتالیز می‌شوند. اهمیت گسترده پراکسیدازهای کلاس ۳ و هم‌چنین لیگنین‌سازی و ساب‌رین‌سازی جهت دفاع اخیراً توسط الماگرو و همکاران (۲۰۰۹) بررسی شده است. در گوجه فرنگی، TPX1 (پراکسیداز PI 6.9) مشخص شده است که پراکسیداز مسئول مرحله آخر بیوسنتز لیگنین است زیرا بیان آن به سلول‌های تحت لیگنین و سنتز ساب‌رین محصور است (Quiroga *et al.*, 2000). و تنش‌های مشابهی که باعث تحریک ترکیب لیگنین و ساب‌رین می‌شوند سبب ایجاد تغییر در الگوهای بیان ژن mRNA

و پروتئین TPX1 می شوند. TPX ژنی است که سبب تولید نوعی آنزیم پراکسیداز در گوجه فرنگی می شود. ژن PPO باعث تولید آنزیم پلی فنل اکسیداز می شود (Thipyapong P, et al., 1997).

۲-۱۸-۴-ژن WRKY

ژن های WRKY در گونه های مختلف گیاهی شناسایی و عملکردشان آنالیز شده است. تعداد زیادی از ژن های WRKY که کشف شده اند در تنش های زنده و غیرزنده درگیر بوده اند. بیان ژن WRKY را می توان با تیمار اسید آبسزیک، جیبرلین ها (GA)، سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید و اتیلن نیز ایجاد کرد (Agarwal et al., 2011). در Arabidopsis، بیان AtWRKY30 توسط تنش های غیر زنده و متیل ویلوژن^{۱۴} (MV)، H₂O₂، آرسنیک، خشکسالی، نمک و مانیتول صورت گرفت. بیش بیان AtWRKY30 می تواند تحمل آرابیدوپسیس به MV و تنش شوری را افزایش دهد. تا به امروز، بسیاری از ژن های WRKY در گونه های مختلف شناسایی شده اند، از جمله ۷۴ ژن WRKY در Arabidopsis، ۱۰۳ در برنج، ۴۵ در جو، ۵۵ در خیار، ۱۱۹ در ذرت، ۱۸۲ عدد سویا، ۱۰۹ در پنبه و ۸۵ عدد cassava (Wang QS, 2011).

عوامل رونویسی پروتئین هایی هستند که به طور اختصاصی به فعال کننده های اطراف ژن یا نواحی پیشبر متصل شده و بسته به نوع آن بعد از اتصال عامل رونویسی بیان ژن کم یا زیاد می شود. عوامل رونویسی با مهار یا تحریک فعالیت RNA پلیمراز موجب تنظیم بیان ژن می شوند. تعداد عوامل رونویسی در هر موجود زنده بستگی به اندازه ژنوم آن دارد، هر چه اندازه ژنوم بزرگتر باشد، تعداد عوامل رونویسی بیشتری وجود دارد. خانواده عوامل رونویسی WRKY نام این خانواده از چهار اسید آمینه حفاظت شده آن (tryptophan- tyrosine- lysine-arginine) گرفته شده است و از بزرگترین خانواده های تنظیم کننده رونویسی در گیاهان هستند و به عنوان فعال کننده و مهار کننده در فرآیندهای مهم گیاهی شرکت می کنند (Rushton et al., 2010). WRKY یکی از قدیمی ترین خانواده های ژنی عوامل رونویسی است که در تکامل سلسله گیاهی دچار مضاعف شدگی

¹⁴Methyl viologen

گسترده شده اند. حدود ۲۰ سال از اولین گزارش مربوط به کشف عوامل رونویسی خانواده‌ی ژنی WRKY در سیب زمینی شیرین می‌گذرد. اولین بار نامگذاری اعضای این خانواده یک سال بعد در گیاه جعفری با شناسایی سه عضو (ژن‌ها WRKY1 ، WRKY2 و WRKY3) انجام شد. عوامل رونویسی WRK تنظیم کننده‌هایی هستند که هم فعالیت‌های تنظیمی مثبت و هم منفی دارند (Wu ZJ et al., 2016). WRKY یکی از ده خانواده بزرگ ژنی است که در گیاهان عالی و تمام اجداد سبز گیاهی کشف شده است. ژن‌های این خانواده در طی تکامل خود را با پیچیدگی‌های زیاد سازوکارهای دفاعی مقابله کننده با بیمارگرها وفق داده‌اند. تکامل اجدادی خانواده ژنی WRKY ویژه بوده و دامنه ژن‌های موجود در گیاهان از یک ژن در جلبک سبز تک سلولی کلامیدوموناس *Chlamydomonas nivalis* ، ۳۷ ژن در خزه *Bryophytes* ، ۷۴ ژن در آراییدوپسیس *Arabidopsis thaliana* تا تقریباً ۲۰۰ ژن در سویا *Glycine max* متغیر است. بیشتر پروتئین‌های خانواده WRKY در پاسخ گیاه به پاتوژن‌های باکتریایی و قارچی درگیر هستند و با تنظیم بیان ژن‌های دخیل در سیستم دفاعی به خصوص مسیر سالیسیلیک اسید کار خود را انجام می‌دهند (Wu KL et al., 2005).

۲-۱۸-۵-ژن PAL

سالیسیلیک اسید یک مولکول سیگنالی مهم در گیاهان است. سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید: از مشتقات سینامیک واسطه مسیر شیکامات^{۱۵}، در سنتز ترکیبات فنلی می‌باشد. مسیر سنتز سالیسیلیک اسید که در موجودات مختلف شناخته شده‌اند شامل:

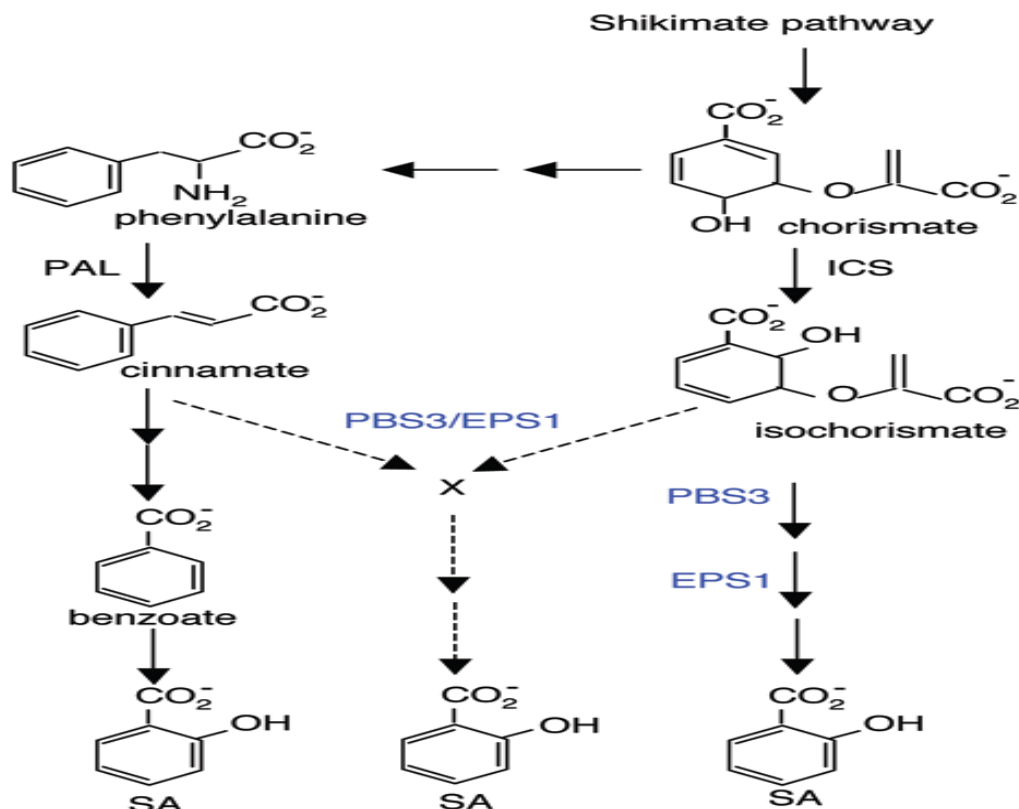
مسیر ۱: زنجیره جانبی سینامیک اسید به بنزوئیک اسید دکربوکسیله شده، سپس با هیدروکسیلاسیون در کربن شماره دو بنزوئیک اسید تولید می‌شود. این مسیر در تنباکو و دانه برنج گزارش شده است آنزیمی که اکسیداسیون سینامیک اسید را به بنزوئیک اسید کاتالیز می‌کند در بلوط یافت شده است.

¹⁵ shikamate

مسیر ۲- سینامیک اسید با هیدروکسیلاسیون، به کوماریک اسید تبدیل شده سپس با دکربوکسیلاسیون به سالیسیلیک اسید تبدیل می‌شود. احتمالاً آنزیم این واکنش ترانس سینامات هیدروکسیلاز می‌باشد. این آنزیم باعث تبدیل ترانس سینامیک اسید به پاراکوماریک اسید می‌شود.

امروزه دانشمندان مسیر سومی را هم درباکتری‌ها شناسایی کرده‌اند که تحقیقات اخیر انجام این مسیر را در کلروپلاست‌ها هم ثابت کرده است، به این صورت که در مسیر شیکیمیک اسید از طریق کوریسمیک اسید و ایزوکوریسمیک اسید سنتز می‌شود (Horvath, E. *et al.*, 2007). استرها یا گلوکوزیدها انواع آنالوگ‌های بنزوئیک اسید می‌باشند، که در گیاهان عالی می‌شناسیم. علاوه بر این در سوسپانسیون بافت سویا و لوبیا منحصراً استرهای گلیکوزید سالیسیلیک اسید شکل می‌گیرند. در هیپوکوتیل آفتابگردان مقدار کمی سالیسیلیک اسید و مقدار بیشتری بتا گلیکوزید سالیسیلیک اسید وجود دارد. متابولیت غیر فعال سالیسیلیک اسید، نتیجه هیدروکسیلاسیون حلقه آروماتیک است. ۳و۲-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید و ۵و۲-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید از گوجه فرنگی استخراج شده است و برگ‌های توتون به سرعت سالیسیلیک اسید را متابولیزه می‌کنند (Raskin, I. 1992).

طبق آزمایشات انجام شده مشخص شده است که گیاهان SA را از سینامات تولید شده توسط آنزیم PAL یا فنیل‌آلانین آمونیالیاز سنتز می‌کنند. مطالعات ژنتیکی نشان داده است که بخش عمده‌ی SA از ایزوکوریزمات تولید می‌شود. اخیراً مشخص شده PBS3 و EPS1، برای تولید SA ناشی از بیمارگر مهم هستند و ممکن است کد کننده‌ی آنزیم‌های کاتالیزور و یا ادامه واکنش در سنتز یک پیش ساز مهم یا مولکول تنظیمی برای بیوسنتز SA باشد. آزمایشات نشان داده که با استفاده از جهش ژنتیکی، خاموش کردن ژن و مهار شیمیایی، این امکان وجود دارد که مسیرهای PAL و ICS از طریق یک شبکه متابولیکی یا تنظیمی در بیوسنتز SA با هم یکی شوند. در شکل ۲-۵ مسیر تولید SA نشان داده شده است (Wildermuth MC. 2001).



شکل ۲-۵- مسیر سنتز SA (Wildermuth MC. 2001)

۲-۱۸-۶- ژن‌های خانه دار اکتین و توبولین

از میان روش‌های مختلفی که برای بررسی پروفایل بیانی ژن‌ها وجود دارد، PCR کمی در زمان واقعی (Real-time PCR)، درشت آرایه (Macroarray) و ریزآرایه (Microarray) از روش‌هایی هستند که به صورت گسترده در این زمینه مورد استفاده قرار می‌گیرد و این روش‌ها نقش بسیار مهمی را در تحقیقات زیست‌شناسی دارند (Kavaousim *et al.*, 2009). در مورد Real-time PCR شاخص‌هایی وجود دارد که لازم است در حین انجام PCR مورد توجه و کنترل قرار گیرند. این شاخص‌ها شامل مقدار اولیه نمونه‌ها، غلظت RNA موجود در نمونه، کارایی ساخت cDNA، و تفاوت‌ها در فعالیت نسخه‌برداری‌های کلی در بافت‌ها و سلول‌های مورد تجزیه و تحلیل است (Chen *et al.*, 2006). در مورد هر سه روش ذکر شده، برای به دست آوردن نتایج دقیق باید سطوح بیانی ژن‌های هدف به وسیله ژن‌های کنترل داخلی، که تحت شرایط مختلف بیان ثابتی دارند

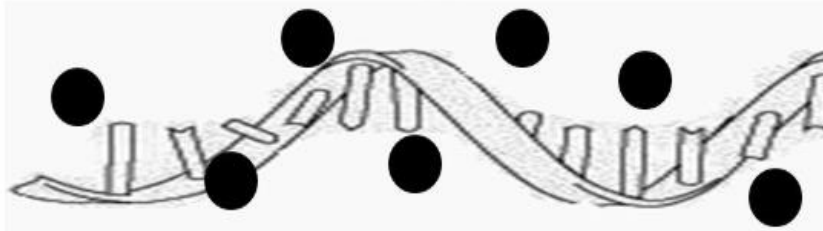
و به اصطلاح ژن‌های خانه‌دار یا Housekeeping نامیده می‌شوند، نرمال سازی گردند. ژن‌های کنترل داخلی باید سطح بیان پایداری در بافت‌های مختلف تحت تیمارهای متفاوت داشته باشند (Frericks and Esser, 2008). در طول دهه‌های اخیر ژن‌های بتا-اکتین، گلیسرآلدهید ۳- فسفات دهیدروژناز (GAPDH)، ۱۸S و ۲۶S RNA ریبوزومی، یوبیکوییتین C، آلفا-توبولین، فاکتور رونویسی ۱ آلفا و پروتئین باند شونده به TATA باکس به عنوان ژن‌های کنترل داخلی مناسب برای فرایند Real time PCR و همچنین ریزآرایه ارزیابی شده‌اند (Mitter *et al.*, 2009). پیدا کردن ژن‌های کنترل داخلی عمومی برای نرمال سازی در تمامی نمونه‌های مورد مطالعه کاری غیرممکن است. دلیل این امر این است که ممکن است سطوح بیانی ژن‌های کنترل داخلی در بافت خاصی ثابت باشد و در بافت‌های دیگر اینطور نباشد (Bustin, 2002; Bas *et al.*, 2004; Glare *et al.*, 2002).

۲-۱۹- اصول طراحی آغازگرها

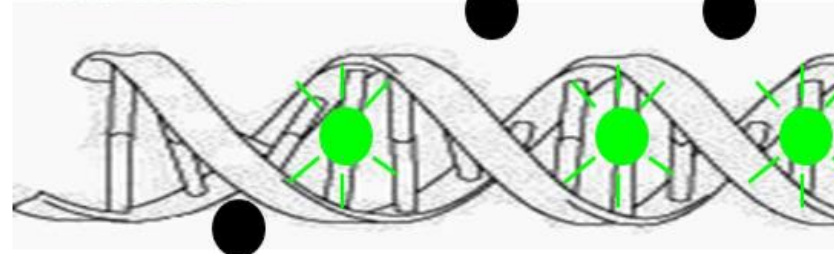
Real Time PCR بسیار شبیه به واکنش PCR می‌باشد اما تفاوت آن با PCR معمولی به کار گرفتن یک نشانگر فلورسنت در واکنش جهت ردیابی تکثیر محصول واکنش می‌باشد. این گزارش‌گرها به گونه‌ای طراحی می‌شوند که در صورت تکثیر DNA تولید نور کنند بنابراین نور بیشتر برابر است با تکثیر محصول و افزایش شدت نور ثبت شده در دستگاه با میزان محصول بدست آمده نسبت مستقیم دارد. یکی از این نشانگرهای فلورسنت، رنگ سایبرگرین (SYBR® Green) و یا اوا گرین (Eva green) است (شکل ۲-۶). در اینجا از رنگ‌های باند شده به DNA دو رشته‌ای به عنوان گزارشگر فلوروسنت برای مشاهده واکنش PCR استفاده می‌شود. این دو رنگ به شکاف کوچک مارپیچ دو رشته‌ای DNA باند می‌شود و سبب ایجاد نور فلورسنت می‌گردند، اما رنگ‌هایی که به رشته DNA باند نشده‌اند فلوروسنت خیلی کمی را نشان می‌دهند (Diefenbach., 2016).

SYBR Green

- Does not bind to single-stranded DNA

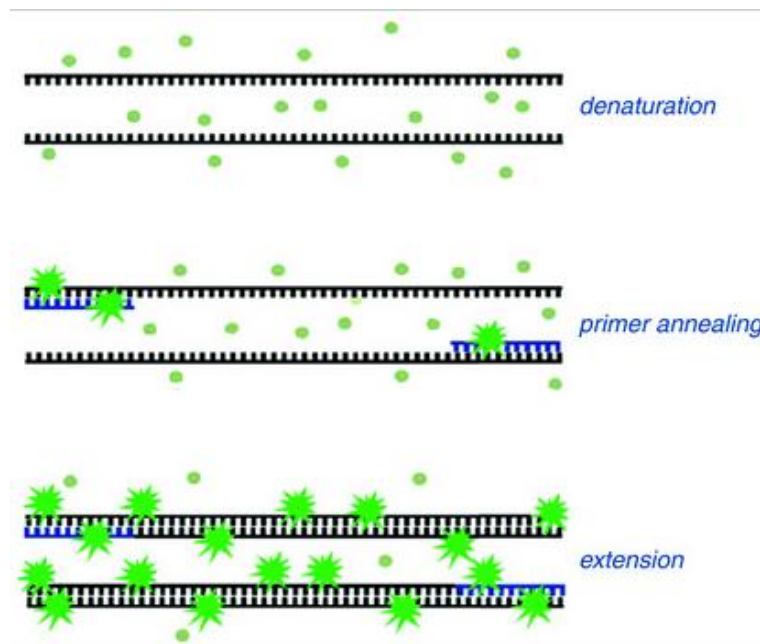


- Binds to double-stranded DNA and fluoresces



شکل ۲-۶- قابلیت اتصال رنگ‌های فلورسنت به DNA (Diefenbach., 2016)

بنابراین در روش Real Time PCR، با تکثیر DNA قطعات دو رشته‌ای افزایش می‌یابند و با اتصال رنگ‌های فلورسنت به آن‌ها میزان نور انتشار شده نیز بیشتر می‌گردد. و این انتشار نور فلوروسنت در سیکل‌های متوالی بر اثر مضاعف شدن محصول PCR افزایش می‌یابد (شکل ۲-۷). بنابراین با ثبت مقدار فلوروسنت ساطع شده در هر سیکل، می‌توان پیشرفت تکثیر محصولات واکنش PCR را در طول مرحله نمایی PCR مشاهده نمود. رنگ‌های سایبرگرین (SYBR® Green) و یا اوا گرین (Eva green) قابلیت اتصال به DNA تک رشته را ندارند (Diefenbach., 2016).



شکل ۲-۷- عملکرد رنگ‌های فلورسنت در اتصال به DNA دو رشته‌ای در روش Real Time PCR (Diefenbach., 2016).

روش Real Time PCR نیز مانند روش PCR نیازمند طراحی آغازگرها است. برای طراحی آغازگرها در روش Real Time PCR باید به این نکته توجه کرد که آغازگرهای طراحی شده نباید بر روی توالی ژنومی متصل و محصولی را تکثیر نمایند. در بررسی بیان ژن‌ها ابتدا از نمونه‌ها، RNA استخراج شده و سپس RNA استخراج شده توسط آنزیم reverse transcriptase یا آنزیم RT به cDNA تبدیل می‌گردد. سپس بررسی بیان ژن‌ها با تعیین میزان نسخه‌های رونویسی شده از هر ژن (mRNA) در cDNA سنتز شده، صورت می‌پذیرد. بنابراین آغازگرها باید بر روی توالی mRNA ژن‌ها طراحی شود و در واکنش باید از cDNA به عنوان الگو استفاده شود. اما از آن جاییکه در بیشتر موارد RNA استخراج شده و cDNA سنتز شده به DNA ژنومی آلوده است بنابراین طراحی آغازگرها باید به صورتی باشد که یا به توالی DNA ژنومی متصل نشود و یا در صورت اتصال به DNA، محصولی از الگوی DNA تکثیر نشود. در موقع سنتز cDNA می‌توان از آنزیم DNase جهت حذف آلودگی DNA استفاده نمود (Diefenbach., 2016; Sing. et al., 2014).

اصول طراحی پرایمر شامل ویژگی‌هایی مانند طول پرایمر، دمای T_m ، مقدار و درصد بازهای GC، نحوه اتصال نوکلئوتیدهای انتهایی آغازگر می‌باشد.

در طراحی آغازگر طول متوسط هر آغازگر بین ۱۸-۲۵ جفت باز باشد، آغازگر با طول کوچک اتصال غیر اختصاصی را افزایش داده و پرایمر بزرگ سرعت هیبریداسیون را کم می‌کند. میزان GC آغازگرهای روبه جلو و معکوس شبیه هم باشد که معمولاً حدود ۴۰-۶۰ درصد می‌باشد. آغازگرهای مستقیم و معکوس نباید مکمل همدیگر باشند و با یکدیگر ساختار ثانویه تشکیل دهند، زیرا باعث تولید آغازگر دایمر می‌شود که به ویژه در Real time PCR مشکل ایجاد می‌کند. قرار دادن حداقل یک باز G یا C در انتهای ۳ پرایم آغازگر سبب افزایش کارایی آغازگر می‌گردد اما قرار دادن یک باز A یا T سبب افزایش اختصاصیت آغازگر می‌گردد. باید دقت کرد که انتهای ۳ پرایم غنی از C و یا G (و یا هر دو) نباشد که سبب کاهش اختصاصیت و اتصال‌های اشتباه به ژنوم می‌شود. باید تا حد امکان از توالی‌های پالیندرومیک برای مثال GTTAAC در آغازگر جلوگیری کرد، زیرا احتمال تشکیل آغازگر دایمر را افزایش می‌دهند. در پرایمرهای طراحی شده در حد امکان تعداد پورین‌ها با پیریمیدین‌ها برابر باشد. از توالی‌های تکراری برای مثال AAAAAA در آغازگر، به ویژه در ۳ پرایم جلوگیری شود و دمای T_m دو آغازگر نزدیک هم باشد. پرایمرها نباید ساختار سنجاق سری تشکیل دهند. آغازگرها تشکیل Self-Dimer و یا Hetero-Dimer ندهد.

فصل سوم مواد و روش‌ها

۳-۱- نمونه برداری و استخراج سویه‌های باکتری استرپتومایسس

نمونه برداری از خاک اطراف ریشه بوته‌های شاداب و پر محصول (در مقایسه با سایر بوته‌ها) از ۷ واحد گلخانه گوجه فرنگی، ۱۰ واحد گلخانه خیار و ۶ واحد گلخانه فلفل دلمه‌ای رنگی، سه مزرعه گوجه فرنگی و سه مزرعه خیار از سه استان کرمان، یزد و اصفهان انجام شد. مجموعاً ۲۹ نمونه خاک تهیه و در کیسه‌های پلاستیکی به پژوهشکده منتقل شد. برای جداسازی اکتینومیست‌ها سوسپانسیون خاک با اضافه کردن ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک (۹/۰٪ NaCl) سترون به ۱ گرم خاک تهیه و به مدت ۱ ساعت در ۴۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. از سوسپانسیون خاک سریال رقت‌های 10^{-3} ، 10^{-4} و 10^{-5} تهیه و بر روی پلیت حاوی آب آگار ۲ درصد پخش شد. پلیت‌ها به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. کلنی‌های پودری شکل به محیط بهینه اکتینومیست‌ها (ISP2) منتقل شد (Sadeghi *et al.*, 2014). پس از ۷ روز کلنی‌هایی با ظاهر اکتینومیستی مشاهده شد. از هر نمونه لام میکروسکوپی تهیه و بررسی شد. کلنی‌هایی که تشکیل میسلیموم رویشی (مشخص اصلی اکتینومیست‌ها) داده بودند انتخاب شدند. به طور خلاصه، با توجه به تعداد زیاد باکتری‌های جدا شده غربالگری بر اساس رشد بر روی محیط بدون منبع نیتروژن، ایجاد هاله شفاف به واسطه انحلال فسفات معدنی در اطراف کلنی، تولید هاله نارنجی به واسطه تولید سیدروفور و همچنین تولید اکسین در محیط کشت مایع انجام شد. باکتری‌ها همچنین از نظر خواص آنتاگونیستی علیه دو عامل بیمارگر فیتوفترا/درشلمری و فوزاریوم/اکسیسپوروم بررسی شدند. ارزیابی فعالیت سلولازی و کیتینازی در مرحله بعد انجام شد. جداسازی DNA جدایه‌های کارآمد بر اساس روش بهینه شده در مطالعات قبل انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از جفت پرایمر عمومی انجام و بر اساس توالی قطعه ۱۵۰۰ جفت بازی حاصل درخت فیلوژنتیکی جدایه‌های منتخب رسم شد.

۳-۲- نگهداری باکتری‌ها

پرگنه باکتری‌ها پس از رشد ۲۴ ساعتی در محیط نوترینت آگار (NA)، به مدت ۱۶ تا ۲۴ ساعت در محیط غذایی مایع ال بی (LB) به نسبت حجمی مساوی با گلیسرین (۷۸ درصد) سترون در درون میکروتیوب‌های سترون مخلوط شده و در فریزر دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج و خالص سازی باکتری‌ها در آزمایشگاه بیوتکنولوژی میکروبی توسط تیم کارشناسان میکروبیولوژی انجام و سپس سویه‌های موردنظر جهت آزمایش دریافت شد.

۳-۳- کشت رویشی خیار و گوجه فرنگی

سویه‌های باکتری منتخب که در تست‌های بیولوژی توان انحلال فسفات، تولید سیدروفور و اکسین زیادی را نسبت به بقیه استرپتومایسس‌های جداسازی شده از خود نشان دادند شامل تعداد بسیار زیادی باکتری بود که جهت انجام آزمایش تعدادی از آنها استفاده شدند. سویه‌ها برای خیار عبارتند از: C1، C2، C3، C4، C5، C6، yz18، yz7، ss14، ss13، isfahan1، ic6، ic10، ic13، ic14، ic15، ic19، ic32، ssup، k40. و برای گوجه فرنگی عبارتند از: B1، B2، B3، B4، B5، yz28، yz78، yz17، yz29، yz28+1. سویه‌های باکتری با دو غلظت 10^7 و 10^8 cfu جهت مشخص نمودن بهترین غلظت باکتری مورد استفاده برای مراحل بعدی آزمایش، با خاک اتوکلاو شده (استریل) تلقیح شدند. محلول محیط کشت باکتری به همراه کلنی‌های باکتری به ۷۵ گرم ماسه بادی اتوکلاو شده اضافه شدند و پس از خشک شدن ماسه در زیر هود شیمیایی با خاک اتوکلاو شده تلقیح و سپس به داخل گلدان‌ها ریخته شد. شاهد در این آزمایش ماسه بدون باکتری اتوکلاو شده بود که با خاک ترکیب شد. کشت و آماده سازی گیاهچه‌ها با شستشوی قارچ‌کش از روی بذور و قرار دادن در پتری‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب شروع شد. پتری‌ها پس از ۲۴ ساعت از تاریکی خارج شده و در فیتوترون با دمای $20-25^{\circ}\text{C}$ به مدت یک هفته قرار داده شدند تا رشد کنند. پس از رشد، گیاهچه‌ها به گلدان‌های نیم کیلویی منتقل شدند و تا پایان هفته چهارم (برای گیاه خیار) و هفته پنجم (برای گیاه گوجه

فرنگی) داخل گلدان باقی ماندند. سپس صفات طول ساقه و عرض پهنک هر هفته اندازه گیری شد. وزن تر به صورت همزمان پس از نمونه برداری و وزن خشک پس از قرارگیری در 70°C به مدت ۲ روز انجام شد. پس از خشک شدن کامل، وزن خشک آن‌ها توسط ترازوی دیجیتال $0/01$ گرم توزین و درصد ماده خشک محاسبه گردید.

۳-۴- کشت زایشی گیاه خیار و گوجه فرنگی

جهت بررسی تاثیر سویه‌های منتخب استرپتومایسس‌های محرک رشد که از مرحله رویشی گزینش شدند بر برخی صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی خیار (رقم نگین) و گوجه‌فرنگی (رقم بوفالو) آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل برای هر تیمار ۴ سطح کودی (صفر، ۵۰٪، ۷۵٪ و ۱۰۰٪) و برای هر سطح ۳ تکرار در گلخانه تراریخته پژوهشگاه بیوتکنولوژی با دمای $27-30^{\circ}\text{C}$ و شدت نور ۲۰۰۰ لوکس انجام شد. پس از شستشوی قارچ کش از روی بذور، آن‌ها در پتری‌های حاوی کاغذ صافی قرارداده شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی گذاشته شدند. سپس در فیتوترون با دمای $20-25^{\circ}\text{C}$ به مدت یک هفته قرار داده شدند تا رشد کنند. پس از جوانه زنی و رشد، گیاهچه‌ها به سینی کشت منتقل و پس از چهار هفته به گلدان‌های چهار کیلویی با ترکیب خاک ۷۰٪ پیت ماس، ۲۰ درصد خاک مزرعه و ۱۰ درصد پرلیت منتقل شدند. نحوه کشت همانند آزمایش رویشی انجام شد با این تفاوت که گیاهچه‌ها در سینی نشا کشت شدند. سویه‌های منتخب این مرحله از آزمایش برای خیار yazd7، ss14، ss12، ic6 و برای گوجه فرنگی yazd28، yazd28+1، yazd17، cu2 بودند. سویه‌های yazd28+1، yazd28، cu2 با غلظت 10^7 و 10^8 طبق آنالیز داده‌ها در مرحله رویشی، با خاک تلقیح شدند. اما برای خیار غلظت 10^8 استفاده شد.

۳-۵- زمان و نحوه کوددهی به گیاهان

کوددهی از هفته سوم کشت گیاه در گلدان بزرگ به صورت دوبار در هفته آغاز شد. در اوایل دوره رشد NPK فسفر بالا برای گلدانی بیشتر، در اواسط دوره رشد NPK به میزان مساوی و در اواخر دوره رشدی NPK با

پتاس بالا برای ماندگاری بیشتر به گیاهان داده شد. گیاه خیار و گوجه فرنگی تحت تاثیر چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد قرار گرفتند. به این شکل که در تیمار صفر هیچ کودی به گیاه تلقیح شده با باکتری و بدون باکتری داده نشد. در تیمار ۱۰۰ درصد کودی همان میزان مصرف کود که بر روی بسته‌های کودی درج شده استفاده شده است. برای مثال بر بسته کودی NPK حاوی ۲۰-۲۰-۲۰ میزان مصرف ۲ گرم در یک لیتر آب توصیه شده است. تیمار ۵۰ و ۷۵ درصد کودی به نسبت ۱۰۰ کمتر می‌شوند (جدول ۱-۳).

جدول ۱-۳- میزان، زمان و نوع کود مصرفی گیاه خیار و گوجه فرنگی در مرحله کشت زایشی

نوع NPK	زمان	مقدار مورد نیاز gr/L
۱۰-۵۲-۱۰	هفته چهارم	۱
۱۰-۵۲-۱۰	هفته پنجم	۲
۲۰-۲۰-۲۰	هفته ششم	۱
۲۰-۲۰-۲۰	هفته هفتم	۲
۳۶-۱۰-۱۰	هفته هشتم	۱
۳۶-۱۰-۱۰	هفته نهم	۲

۳-۶- اندازه گیری صفات مورفولوژی و فیزیولوژی خیار و گوجه فرنگی

۳-۶-۱- وزن تک میوه

وزن هر میوه به وسیله ترازوی دیجیتالی ۰/۰۱ گرم اندازه گیری شد.

۳-۶-۲- ماده خشک ریشه، برگ و میوه

قسمتی از بافت تر میوه، ریشه و برگ گیاه وزن شد و با دستگاه آون خشک شدند سپس وزن ماده خشک آنها اندازه گیری شد.

۳-۶-۳- استخراج کلروفیل برگی

۰/۰۵ گرم از بافت گیاهی خشک شده وزن کرده و در ویال ۲ میکرولیتری ریخته سپس ۲ میلی لیتر استون ۸۰٪ به آن اضافه کرده و به مدت ۵ ثانیه ورتکس شدید شد. بعد از آن مخلوط واکنش به مدت ۱ ساعت در یخچال ۴ °C قرار داده شد. مرحله‌ی بعد نمونه‌ها را در دمای ۴ °C به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. نهایتاً بدون رقیق کردن از محلول رویی مقدار ۱ میلی لیتر با سمپلر برداشته و با بلنک که ۱ میلی لیتر استون ۸۰٪ بود، جذب نمونه‌ها را در سه طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. کلیه مراحل با دقت روی یخ و تا حدودی دور از نور انجام شد. مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید به روش آرنون (۱۹۴۹) و با استفاده از روابط ۱-۳، ۲-۳، ۳-۳ و ۴-۳ محاسبه شد.

$$\text{Total Chl (g/lit)} = 0.0202 A_{663} + 0.00802 A_{645} \quad (1-3)$$

$$\text{Chl a (g/lit)} = 0.0127 A_{663} - 0.0269 A_{645} \quad (2-3)$$

$$\text{Chl b (g/lit)} = 0.0029 A_{663} - 0.00468 A_{645} \quad (3-3)$$

$$\text{Caratinoid (g/lit)} = (1000 A_{470} - 1/8 C_a - 85/0.2 C_b) / 198 \quad (4-3)$$

۳-۶-۴- سنجش عنصر فسفر

تهیه محلول B به این صورت است که برای تهیه ۲۰ میلی لیتر محلول B ابتدا ۰/۱۲ گرم مولیبدات آمونیوم با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد سپس ۰/۰۰۳ گرم آنتیمونی تارتارات پتاسیم با ۱/۴۸ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ حل شد پس از آن دو محلول با هم میکس شدند و با آب مقطر به حجم ۲۰ میلی لیتر رسانده شد و در نهایت ۰/۰۰۵ گرم آسکوربیک اسید به آن اضافه شد.

استوک ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر به روش زیر تهیه شد:

۵۰ میلی‌گرم KH_2PO_4 با ۲۵ سی سی اسید سولفوریک غلیظ حل شده و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم.

تهیه غلظت استانداردها: استاندارد KH_2PO_4 با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌مولار تهیه شد. نحوه قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتری:

۵۰ ماکرولیتتر از نمونه استخراج شده به همراه ۹۵۰ ماکرولیتتر محلول B درون ویال ریخته و بعد از یک ساعت با مشاهده تغییر رنگ نمونه خوانش با طول موج ۸۸۰ نانومتر انجام شد.

۳-۶-۵-سنجش عنصر پتاسیم

نحوه تهیه نمونه:

۰/۰۱ گرم از میوه خشک شده وزن کرده سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خاکستر شود. پس از آن خاکستر هر نمونه داخل فالكون ۱۵ ریخته شد و بر روی آن ۱۰ میلی‌لیتر استیک اسید ۰/۱ نرمال ریخته شد و یک شب در دمای اتاق گذاشته شد و بعد از آن نمونه‌ها را درون بن ماری با دمای ۹۹ به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. پس از فیلتر کردن نمونه‌ها یک میلی‌لیتر از آن برداشته و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد و در نهایت قرائت با دستگاه $\text{Flame photometers (DWB Technologies)}$ صورت گرفت. برای تهیه استوک ۲۰۰ میلی‌مولار پتاسیم ۴/۴۷ گرم KCl ، ۸/۸۲ گرم CaCl_2 و ۳/۵ گرم NaCl را در ۳۰۰ سی سی آب مقطر حل شد.

تهیه غلظت استانداردها: استاندارد با غلظت‌های ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تهیه شد.

۳-۶-۶-سنجش نیترات

۰/۱ گرم از میوه‌های خشک شده را وزن کرده سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد. نمونه‌ها در بن ماری با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. پس از فیلتر کردن از عصاره صاف

شده ۱۰۰ ماکرولیتزر برداشته و با ۴۰۰ ماکرولیتزر آب مقطر رقیق شد سپس ۱۰۰ ماکرولیتزر از نمونه رقیق شده برداشته ۴۰۰ ماکرولیتزر (سالسیلیک اسید حل شده با اسید سولفوریک غلیظ) به آن اضافه شد بعد از ۲۰ دقیقه به آن‌ها ۹/۵ میلی‌لیتر NaOH ۲ نرمال اضافه گردید پس از ۱۵ دقیقه نمونه‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای تهیه استوک ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر ۵۰۰ میلی‌گرم KNO₃ در یک لیتر آب مقطر حل شد.

تهیه غلظت استاندارد: استاندارد با غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تهیه شد.

۳-۶-۷-سنجش قند کل و جزء

نحوه تهیه استاندارد: g ۰/۰۲۷ گلوکز در ۱۵ میلی‌لیتر آب حل شد (استوک ۱۰ میلی‌مولار). سپس استاندارد ها با غلظت ۰/۲۵-۰/۵-۰/۷۵-۱-۰/۱۵-۲-۲/۵-۳ میلی‌مولار تهیه شد.

g ۰/۰۱ ماده خشک از بافت میوه وزن شد. ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۰٪ به هر نمونه اضافه شد. به مدت ۱/۵ دقیقه نمونه‌ها ورتکس شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانترفیوژ شدند. پس از سانترفیوژ فاز رویی را برداشته و در فالکن ۱۵ می‌ریزیم. بار دیگر ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۰٪ بر نمونه باقی مانده ریخته و مسیر بالا تکرار شد. در واقع حجم داخل فالکن باید ۳ میلی‌لیتر باشد. نمونه‌ها در آن با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و کامل خشک شد.

به نمونه خشک شده ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت یک دقیقه ورتکس شد. سپس ۴۷۰ میکرولیتر هیدروکسید باریم و ۵۰۰ میکرولیتر سولفات روی به نمونه اضافه شد. کمی بادست تکان داده و در سانترفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۳۰۰۰ قرار گرفت. در این مرحله فاز رویی به دو ظرف جداگانه منتقل شد. (۱) ۵۰۰ میکرولیتر از فاز رویی برداشته و در ویال ۲ میلی‌لیتری ریخته سپس ۲۵۰ میکرولیتر فنل و ۲۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک بر روی نمونه ریخته تا واکنش دهد. در نهایت یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک ریخته و اجازه داده شد ۴۵ دقیقه در دمای محیط بماند. سپس میزان جذب در نمونه‌های گیاهی را با طول موج ۴۸۵ نانومتر

توسط دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت نموده و با قرار دادن در معادله خط مقدار قند نامحلول بر حسب میلی مول بر گرم وزن خشک ماده به دست آمد و با استفاده از رابطه‌های ۳-۵ و ۳-۶، غلظت قند نامحلول بر mmol/gdw بیان گردید (Sheligl., 1986).

$$Y = 0.6186X - 10.278 \quad (5-3)$$

$$E = (V * (C/1000)) / DM * D \quad (6-3)$$

بقیه فاز رویی به فالکن جدید منتقل شد و نمونه‌ها در آون با دمای ۵۰ درجه خشک شدند. سپس ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به نمونه خشک شده اضافه و ورتکس شد. پس از فیلتر، نمونه به دستگاه HPLC تزریق شد. و قندهای جز (گلوکز، فروکتوز و ساکارز) سنجش شد.

۳-۷-کشت بیان ژن خیار و گوجه فرنگی

در این مرحله از آزمایش کشت دیگری جهت بررسی بیان ژن، سنجش هورمون‌های اکسین، آبسزیک اسید و سالیسیلیک اسید و میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و تولید پروتئین در گیاه خیار و گوجه فرنگی شد. تمامی مراحل آماده سازی گیاهچه‌ها مانند دو کشت قبلی انجام شد. با این تفاوت که پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان‌های کوچک نیم کیلویی با همان ترکیب خاک قبلی، سوبه‌های باکتریایی پس از سه هفته با خاک اطراف ریشه گیاه تلقیح شدند. سپس در چهار نقطه زمانی صفر، ۲۴، ۴۸ ساعت و یک هفته اندام هوایی گیاه برداشت و فریز شد. جهت آزمایش‌های ذکر شده از گیاهان زمان یک هفته استفاده شد.

۳-۷-۱-استخراج، خالص سازی و آنالیز هورمون‌های اکسین و آبسزیک اسید

استخراج، خالص سازی و آنالیز هورمون‌های اکسین و آبسزیک اسید براساس روش تغییر داده شده مصطفی کلن و همکاران (۲۰۰۴) انجام شده است. آماده سازی محلول‌ها به روش زیر تهیه شد.

۱- محلول استخراج: ۰/۲۵ گرم Butylated hydroxytoluene و ۰/۵ گرم سدیم آسکوربات (یا ۰/۴۴ گرم آسکوربیک اسید) در متانول ۹۰٪ با درجه HPLC حل گردیده و به حجم یک لیتر رسانیده شد.

۲- بافر فسفات ۰/۵ مولار: ۸ گرم NaCl ، ۰/۲ گرم KH_2PO_4 و ۹/۶ گرم Na_2HPO_4 در آب مقطر حل شده و به حجم یک لیتر رسید.

۳- پتاس ۰/۲ نرمال: ۱/۱۲۲ گرم KOH را در آب مقطر حل کرده و به حجم صد میلی لیتر رسانیده شد.

۴- هیدروکلریک اسید ۰/۲ نرمال : ۱/۶۶ میلی لیتر HCl ۳۷٪ با دانسیته kg/l را به آب مقطر افزوده و سپس به حجم صد میلی لیتر رسانیده شد.

۵- متانول

روش کار به شرح زیر است:

۱- ۴ گرم از ماده گیاهی تازه برداشته و با اضافه کردن ۲۰ میلی لیتر محلول استخراج در هاون چینی خرد گردید.

۲- نمونه‌های خرد شده در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت حداقل ۱۶ ساعت بر روی شیکر نگهداری شد تا عمل انحلال هورمون‌ها به خوبی صورت گیرد.

۳- نمونه‌های خردشده را توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر نموده و بافت‌های باقیمانده بر روی فیلتر سه بار توسط محلول استخراج شستشو گردید. (هر بار ۵ میلی لیتر)

۴- متانول اضافی را توسط دستگاه Freeze Dryer در دمای ۵۵- درجه سانتی‌گراد تبخیر کرده و سپس هم حجم محلول باقیمانده، بافر فسفات ۰/۵ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن پتاس ۰/۲ نرمال PH محلول به ۸/۵ رسانیده شد.

۵- به محلول به دست آمده به میزان ۷ میلی لیتر اتیل استات اضافه شد تا بخشی از ناخالصی‌ها در آن حل شود. در این مرحله محلول دو فازی گردید. این محلول را ورتکس کرده و فاز بالایی (اتیل استات) دور ریخته شد. این کار دوبار دیگر (هر بار با ۵ میلی لیتر اتیل استات) تکرار شد.

۶- این بار PH محلول را توسط هیدروکلریک اسید ۰/۲ نرمال به حدود ۲/۵ رسانده و دوباره به میزان ۵ میلی لیتر (سه بار) اتیل استات اضافه گردید، با این تفاوت که این بار فاز اتیل استات نگه داشته شد.

۷- فاز اتیل استات اسیدی را توسط دستگاه Freeze Dryer در دمای ۵۵- درجه سانتی گراد خشک نموده و باقیمانده بلافاصله در ۰/۷۵۰ میلی لیتر متانول حل شد.

۸- نمونه را از فیلتر پلی تترافلوئورواتیلن ۰/۴۵ عبور داده و سپس به ستون HPLC تزریق گردید.

۹- اجزای محلول بدست آمده توسط دستگاه HPLC با ستون C₁₈، شدت جریان ۰/۷ ml/min و حلال استیک اسید ۰/۲٪ و متانول ۱۰۰٪ به نسبت ۵۰:۵۰ در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد جدا گردیدند.

شرایط آنالیز با HPLC:

➤ دتکتور: UV

➤ فاز متحرک: استیک اسید ۰/۲ درصد و متانول ۱۰۰٪ (۵۰:۵۰ v/v)

➤ دمای ستون: ۴۰ درجه سانتی گراد

➤ نوع ستون: C₁₈

➤ شدت جریان: ۰/۷ میلی لیتر در دقیقه

۳-۷-۲- استخراج، خالص سازی و آنالیز تنظیم کننده‌ی رشدی سالیسیلیک اسید

استخراج و خالص سازی سالیسیلیک اسید با کمک روش Barreca و همکاران (۲۰۱۶) با اعمال تغییراتی انجام گرفت. یک گرم ماده تر با ۳ml متانول اسیدی مخلوط و ورتکس شد. سپس نمونه‌ها در شیکر به مدت ۱۸ ساعت در تاریکی با دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. نمونه‌ها بعد از ۱۸ ساعت ورتکس و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۱۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و محلول رویی جدا و به ظرف دیگری منتقل شدند. سپس نمونه‌ها تا مقدار ۰/۷ میلی لیتر در دستگاه Freeze Dryer تبخیر شدند. باقیمانده محلول با فیلتر ۰/۲۲ M μ صاف گردید. از دستگاه HPLC (Agilent) برای شناسایی و سنجش سالیسیلیک اسید استفاده شد. این سیستم مجهز به پمپ ۱۰۰۱k و ستون ۱۸C و دکتور DAD می‌باشد. بخش متحرک شامل فاز ۱ و ۲ که به ترتیب بافر استیک اسید به نسبت ۳ درصد و متانول HPLC Grade و طول موج مورد استفاده ۲۸۰ و ۲۳۰ نانومتر می‌باشد.

۳-۷-۳- استخراج پروتئین و آنزیم پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز

مواد و محلول های مورد نیاز:

۱- بافر استخراج شامل فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷) و سدیم متابای سولفیت یک میلی مولار

۲- برای تهیه این بافر ابتدا بایستی دو بافر تهیه گردد ۱. بافر مونوفسفات پتاسیم ۲. بافر دی فسفات

پتاسیم

۳- تهیه بافر مونوفسفات پتاسیم: ۱۳/۶ گرم KH_2PO_4 (MW:136.09) در یک لیتر آب به حجم رسانده

شود.

۴- تهیه بافر دی فسفات پتاسیم: ۱۷/۴ گرم K_2HPO_4 (MW:174.18) در یک لیتر آب به حجم رسانده

شود.

۵- پس از تهیه این دو بافر برای تهیه ۵۰ میلی مولار بایستی ۳۹ میلی لیتر از بافر مونوفسفات پتاسیم برداشته و ۶۱ میلی لیتر نیز از بافر دی فسفات پتاسیم برداشته و در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل کنیم. نکته ای که در اینجا قابل تامل می باشد این است که باید pH بافر خود ۷ شود در غیر این صورت باید کار تکرار شود زیرا اگر کار به درستی انجام شود pH محلول خود ۷ می شود. پس از تنظیم pH ۰/۰۳۸ گرم سدیم متابای سولفیت به بافر ۵۰ میلی مولار اضافه می گردد.

۶- پلی وینیل پیرولیدین PVP (۵۰ میلی گرم به ازای هر نمونه)

۳-۷-۴- استخراج پروتئین

جهت اندازه گیری میزان غلظت پروتئین نمونه های گیاهی با استفاده از غلظت های مختلف پروتئین آلبومین سرم گاوی (BSA) منحنی استاندارد رسم شد. مراحل زیر جهت قرائت نمونه ها انجام شد.

۱- قرار دادن ۰/۱ گرم بافت تر سائیده شده درون ویال ۲ میلی لیتری

۲- افزودن ۱/۵ میلی لیتر از بافر فسفات پتاسیم و ورتکس آن به مدت ۳۰ ثانیه.

۳- سانتریفیوژ نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۱۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی گراد

۴- برداشتن فاز رویی پس از اتمام سانتریفیوژ و تقسیم آن در ویال های کوچکتر

۵- نگه داری نمونه ها بلافاصله در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد

از این عصاره می توان برای تعیین غلظت پروتئین و آنزیم ها استفاده نمود. برای سنجش پروتئین یک میلی لیتر بردفورد را درون ویال ریخته سپس ۲۰ ماکرولیتر از نمونه به آن اضافه شد. ۳۰ ثانیه ورتکس شد. بعد از ۵ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (استون و گیفورد، ۱۹۹۷).

۳-۷-۵-سنجش آنزیم پراکسیداز

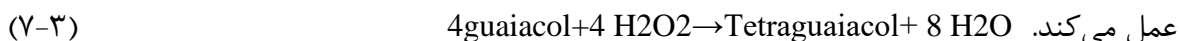
فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چانس و مهلی (۱۹۵۵) اندازه گیری شد. مخلوط واکنش شامل مواد شیمیایی زیر بود:

- بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار به میزان ۲۵۰ میکرولیتر
- گوئیکول ۱۰ میلی مولار محلول در آب دو بار تقطیر به میزان ۲۵۰ میکرولیتر (۵۶ میکرولیتر گوئیکول به وسیله آب دو بار تقطیر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده می شود).
- H_2O_2 ۷۰ میلی مولار محلول در فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار به میزان ۳۴ میکرولیتر (۶۰ میکرولیتر به وسیله بافر ۵۰ میلی مولار فسفات پتاسیم به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده می شود).

- آب دو بار تقطیر استریل شده به میزان ۴۶۶ میکرولیتر

مخلوط واکنش بالا به اضافه ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در یک کووت شیشه ای ۳ میلی لیتری ریخته شد و با قرار گرفتن در دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه گیری شد. از مخلوط واکنش بالا بدون عصاره آنزیمی به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده گردید.

نحوه عمل: آنزیم پراکسیداز با استفاده از ترکیبات فنلی گوئیکول به عنوان دهنده الکترون طبق واکنش ۳-۷



محاسبه فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز با استفاده از معادله (۳-۸) و با اعمال تغییرات زیر محاسبه شد: تغییر ضریب خاموشی H₂O₂ به ضریب خاموشی تتراکوئیکول ($26/6 \text{ cm}^{-1}\text{Mm}^{-1}$)، تبدیل ΔA_{240} به ΔA_{470} ضریب ۲ به ۴ (با توجه به ضریب H₂O₂ در معادله (۳-۷)).

U واحد آنزیمی که در اینجا به صورت تعداد میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده بر دقیقه گزارش می‌شود. ΔA_{240} تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش است.

۱ با توجه به ضریب پراکسید هیدروژن در معادله (۳-۸) تعیین می‌گردد که معادل ۲ می‌باشد.

V_t حجم مخلوط واکنش (در این آزمایش برابر یک میلی‌لیتر است).

معادله (۳-۸)

$$\text{Activity} \left(\frac{U}{ml} \right) = \frac{\Delta A_{240} \times 1 \times V_t \times df}{\epsilon \times 1 \times t \times V_s}$$

۳-۷-۶-سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

مخلوط واکنش حاوی مواد شیمیایی زیر می‌باشد: ۱- بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (۹۰۰ میکرولیتر)

۲- پیروگال (۵۰ میکرولیتر) ۳- عصاره آنزیمی (۵۰ میکرولیتر)

پس از تهیه عصاره بالا به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه (درون بن ماری) قرار داده تا تغییر رنگ آن حاصل شود (کمی زرد رنگ) سپس به مدت ۳ دقیقه در ۴۲۰ نانومتر قرائت شد روند فعالیت آنزیم افزایشی است. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با استفاده از رابطه (۳-۱) محاسبه شد با این تفاوت که ضریب خاموشی پیروگال برابر $12 \text{ cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ بود.

۳-۷-۷-آماده سازی مواد و وسایل لازم برای استخراج RNA

جهت پیشگیری از اثر آنزیم RNAase و تجزیه RNA، تمامی وسایل مورد نیاز برای استخراج RNA و کار با آن اعم از تیپ‌ها، تیوب‌ها، شیشه‌های نگهداری محلول‌های مورد نیاز، هاون و .. همگی دو بار به مدت ۴۵

دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو شدند. همچنین برای تهیه تمامی محلول های مورد نیاز برای استخراج RNA از مواد عاری از RNAase و آب تیمار شده با DEPC یا دی اتیل پیروکربنات استفاده گردید. برای تهیه آب تیمار شده با DEPC، زیر هود شیمیایی یک میلی لیتر از این ماده در شیشه حاوی یک لیتر آب مقطر ریخته شد و به همراه مگنت روی هم زن مغناطیس قرار گرفت. در شیشه بسته شد و در طول شب توسط هم زن مغناطیس کاملاً مخلوط گردید. سپس آب تیمار شده با DEPC به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو شد و در تیوب های اتوکلاو شده تقسیم گردید.

۳-۷-۸- استخراج RNA گیاهی

استخراج RNA با استفاده از روش ترایزول (Invitro gen, life technologies) انجام شد. برای استخراج RNA ابتدا ۱۰۰ میلی گرم بافت تازه برگی پودر شده با ازت را وزن کرده و به یک ویال ۲ میلی لیتری منتقل نموده شد. سپس ۱ میلی لیتر محلول ترایزول به ازای هر ۱۰۰ میلی گرم بافت اضافه کرده و کاملاً مخلوط گردید (با تکان دادن بوسیله دست) و ۵ دقیقه در دمای محیط نگه داشته شد. سپس ۰/۲ میلی لیتر کلروفرم به ازای ۱ میلی لیتر ترایزول اضافه شد و چند ثانیه به شدت با دست تکان داده شد. سپس ۱۵ دقیقه در دمای محیط نگه داشته شد و بعد از آن ۱۵ دقیقه در ۴°C با سرعت ۱۲۰۰۰ جی سانتریفوژ شد. فاز بالائی (آبی) به تیوب تمیز ریخته شد و ۰/۲۵ میلی لیتر ایزوپروپانل و ۰/۲۵ میلی لیتر از (DEPC treat) ۲ M NaCl به ازای ۱ میلی لیتر ترایزول اضافه شد و به آرامی مخلوط کرده و ۱۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴°C با سرعت ۵۰۰۰ جی سانتریفوژ شد و محلول رویی جدا شد. رسوب حاصل با اتانول ۷۵٪ رقیق شده با آب DEPC شستشو شد (۱ میلی لیتر به ازای ۱ میلی لیتر ترایزول) و کمی تکان داده شد و به مدت ۲ دقیقه در ۴°C با سرعت ۵۰۰۰ جی سانتریفوژ شد (۳ بار عمل شستشو تکرار شد). محلول بالائی برداشته شد و رسوب حاصل زیر هود خشک شد. سپس ۲۵-۲۰ ماکرولیترا آب DEPC به ازای ۱۰۰ میلی گرم

بافت اضافه شد و سپس ۳۰ ثانیه ورتکس شد تا بخوبی RNA استخراج شده حل شود. RNA استخراج شده تا زمان استفاده در ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

۳-۷-۹- بررسی کمی و کیفی RNA استخراج شده

جهت حصول اطمینان کافی از کیفیت مناسب RNA استخراج شده و تعیین غلظت آن با استفاده از دستگاه نانودراپ جذب هر نمونه در ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر خوانده شد و نسبت جذب در ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر محاسبه گردید. نکته مورد توجه این است که RNA با کیفیت و خلوص مناسب دارای نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ بالاتر از ۱/۸ می باشد. غلظت RNA طبق معادله ۳-۹ محاسبه شد.

جذب RNA در ۲۶۰ نانومتر * ۴۰ = (میکروگرم در میکرولیتر) غلظت RNA (۳-۹)

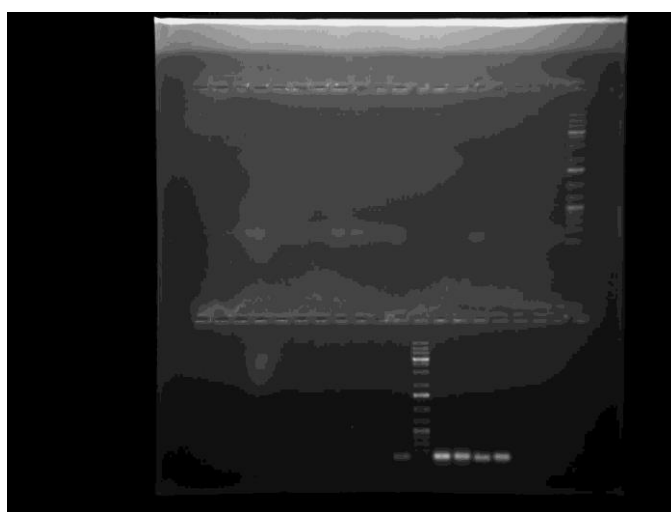
۳-۷-۱۰- تیمار RNA استخراج شده با آنزیم DNase1

وجود احتمالی آلودگی DNA ژنومی در RNA های استخراج شده در انجام واکنش PCR و Real time PCR اختلال ایجاد می کند. حذف آلودگی DNA ژنومی با آنزیم DNase1 انجام شد.

جدول ۳-۲- مخلوط واکنش جهت انجام تیمار DNase1

۳ میکرولیتر	آب تیمار شده با DEPC
۱ میکرولیتر	بافر ۱۰ برابر RQ1 RNase-Free DNase
۱ میکرولیتر	آنزیم RQ1 RNase-Free DNase
۵ میکرولیتر	RNA (۰/۵ میکروگرم در میکرو لیتر)
۱ میکرولیتر	EDTA
۱۱ میکرولیتر	حجم نهایی

این واکنش درون میکروتیوب‌های ۰/۲ تهیه شد (جدول ۳-۲) و بعد از اسپین یا چرخش، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در دستگاه بن ماری قرار گرفتند سپس جهت غیر فعال شدن آنزیم DNAase1 یک میکرولیتر EDTA یا اتیلن دی آمین تترااستیک اسید به هر میکروتیوب بر روی یخ اضافه شد و مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در بن ماری قرار گرفتند. بعد از آن نمونه‌ها روی ژل آگارز ۱٪ و 1X TAE برده شده و توسط Gel-Doc از باندها تصویر برداری شد. (شکل ۳-۱)



شکل ۳-۱- تصویر ژل مربوط به تیمار DNase1 در خیار

۳-۷-۱۱- حصول اطمینان از حذف آلودگی DNA و RNA استخراج شده با انجام واکنش PCR

انجام واکنش PCR جهت حصول اطمینان از حذف آلودگی DNA ضروری است به همین دلیل RNA تیمار شده با آنزیم DNase1 در واکنش PCR به عنوان الگو قرار می‌گیرد و در صورت حذف کامل DNA هیچ تکثیری در واکنش PCR اتفاق نمی‌افتد. ترکیبات واکنش به شرح جدول ۳-۳ است:

جدول ۳-۳- مخلوط واکنش PCR حذف آلودگی DNA و RNA استخراج شده

متغیر	آب مقطر اتوکلاو شده
۱ میکرولیتر	آغازگر رو به جلو داخلی ۱۰ میکرومولار
۱ میکرو لیتر	آغازگر برگشتی داخلی ۱۰ میکرو مولار

۱ میکرولیتر	RNA
۱۷ میکرولیتر	میکروتیوب PCR آماده لیو فلایز شده
۲۰ میکرولیتر	حجم نهایی

مواد ذکر شده مخلوط شده و پس از اسپین کردن در دستگاه PCR قرار گرفت. واسرشت سازی اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد انجام شد. واسرشت سازی، جفت شدن آغازگرها و طویل شدن رشته در ۳۰ چرخه و برای هر چرخه به مدت ۹۰ ثانیه به ترتیب در ۹۵، ۵۶، ۷۲ درجه سانتی گراد انجام شد و طویل شدن نهایی رشته به مدت ۴ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد صورت گرفت. همچنین یک واکنش PCR با الگوی DNA ژنومی خیار و گوجه فرنگی به عنوان کنترل مثبت و واکنش دیگر با آب مقطر به عنوان کنترل منفی برای کسب اطمینان از انجام PCR تهیه شد. محصول PCR روی ژل آگارز ۱٪ و 1X TAE برده شده و توسط Gel-Doc از باندها عکس برداری شد.

۳-۷-۱۲- سنتز cDNA

واکنش سنتز cDNA با استفاده از Revert Aid First Strand cDNA Synthesis kit شرکت Thermo طبق جدول ۳-۴ انجام شد.

جدول ۳-۴- مخلوط واکنش سنتز cDNA

۴ میکرولیتر	بافر واکنش 5X
۱ میکرولیتر	Ribolock RNase Inhibitor
۲ میکرولیتر	مخلوط dNTP
۱ میکرولیتر	RevertAid RT
۱ میکرولیتر	Random Hexamer Primer
۱ میکرولیتر	RNA
۱ میکرولیتر	آب
۱۲ میکرولیتر	حجم نهایی

ابتدا باتوجه به تعداد واکنش‌های مورد نظر محلول مادری تهیه گردید سپس محلول مادری به میزان مساوی در میکروتیوب‌های ۰/۲ تقسیم شد و بعد از آن RNA تیمارهای مورد نظر جداگانه به هر واکنش اضافه گردید. به منظور ساخت رشته cDNA نمونه‌ها در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند. اتصال آغازگرها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ساخت cDNA در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ دقیقه و غیر فعال سازی آنزیم در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

۳-۷-۱۳- طراحی جفت آغازگرهای ژن‌های مورد بررسی بیان ژن

طراحی جفت آغازگرها برای ژن‌های POX، PPO، NCED3.2، NCED1.1 و ACS در خیار و ژن‌های TPX، WRKY، PAL و NCED در گوجه فرنگی با استفاده از برنامه الیگو (OLIGO7, National Biosciences) انجام گرفت. از ژن کنترل داخلی اکتین برای خیار و توبولین برای گوجه فرنگی استفاده شد. توالی، دما و نام آغازگرها به شرح جدول ۳-۵ است:

جدول ۳-۵- توالی جفت آغازگرهای ژن‌های مورد بررسی

نام	دما(سانتی‌گراد)	توالی آغازگر
ACS2.2	۶۰	F:TTTCTCCTCCGACGAGTTCA R:CGAGCGGTGGTGACGACTT
NCED1.1	۵۸	F:CTGTCAGCATCAATCATGGT R:CTCCTCTTGCGTAGAATAGT
NCED3.2	۶۲	F:GCTATGGCTCTTGATGCGGT R:GGTTCGTGAAGTGGGTTGG
POX2.2	۶۴	F:CTTAGCTCCACCTTCTATGACA R:ATTGAAACCCGTGATGCCTCC
TUB	۶۲	F:CAAGAACTCGTCCTACTTTG R:GCTCACTCACCTTCTAA
PAL1	۶۲	F:CATTGTACAGGTTGGTGAGAG R:CATCTCTTGAGACACTCCA

ACTCS	۵۶	F:TCCACGAGACTACCTACAAC R:GCTCATACGGTCAGCGAT
PPOCS2	۶۲	F:CCAAAGAAATCGAGAAGCA R:AAAAC TGCCCGCAAATTC
WRKY70	۶۲	F:TGGTAAAGCATAGTGA R:AGAGGGAGAAGAAGGCATAA
TPX	۵۵	F:AGCATTGACAACACGTACC R:AGCACTCCCTGTCTTAACT

۳-۷-۱۴- بررسی نسبی بیان ژن با روش Real time PCR

واکنش Real time PCR با استفاده از کیت Bio-RAD (Bio-RAD, iQ Syber Green Supermix) به شرح جدول ۳-۶ انجام شد.

جدول ۳-۶- مخلوط واکنش Real time PCR

۸/۵ میکرولیتر	آب مقطر استریل
۱۲/۵ میکرولیتر	سایبر گرین
۰/۵ میکرولیتر	آغازگر رو به جلو ۱۰ میکرومولار
۰/۵ میکرو لیتر	آغازگر برگشتی ۱۰ میکرو مولار
۳ میکرولیتر	cDNA
۲۵ میکرولیتر	حجم نهایی

در ابتدا به منظور تعیین کارایی واکنش PCR برای هر جفت آغازگر سری غلظتی (Serial dilution) با ضریب رقت مناسب از cDNA تهیه و منحنی استاندارد رسم شد، بعد از حصول اطمینان کارایی مناسب آغازگرها در واکنش Real time PCR بررسی الگوی بیان ژن در نمونه‌های مورد نظر انجام گرفت. به منظور اجتناب از بروز هر گونه اختلاف در تهیه واکنش بین تیمارهای مختلف، همواره محلول مادری با حجم متناسب با تعداد واکنش‌ها تهیه شد و در چاهک‌های پلیت مخصوص Real time PCR تقسیم گردید و بعد از اضافه کردن

cdNA از تیمارهای مختلف به آنها، روی پلیت با چسب شفاف مخصوص پوشانده شد. پس از آن پلیت اسپین شده و در دستگاه Real time PCR قرار گرفت. واسرشت سازی اولیه برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد صورت گرفت. تکثیر الگو در ۴۵ چرخه و در هر چرخه نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در دمای واسرشت سازی ۹۵ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه در دمای اتصال آغازگرها ۶۴ درجه سانتی گراد و ۶۰ ثانیه در مرحله طویل شدن رشته در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و طویل شدن نهایی رشته به مدت ۱۸۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد صورت گرفت.

۳-۷-۱۵- تجزیه آماری داده های حاصل از Real time PCR

داده‌های بدست آمده از Real time PCR با نرم افزار rest آنالیز و نمودار افزایش و یا کاهش ژن‌های مورد نظر رسم شد.

فصل چهارم نتیجه گیری و بحث

۴-۱- بررسی نتایج و بحث حاصل از آزمایش کشت رویشی خیار و گوجه فرنگی

۴-۱-۱- اثر استرپتوماایسس بر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی در خیار و گوجه فرنگی

مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتوماایسس در دو غلظت متفاوت بر صفات فیزیولوژی و مورفولوژی خیار در ۸ مرحله کشت نشان داد، برخی سویه‌ها نسبت به شاهد خود افزایش معنی‌داری داشتند بنابراین از بین این سویه‌ها، سویه‌هایی که در آزمون‌های تولید سیدروفور، هورمون و دیگر آزمون‌ها نتایج خوبی داشتند جهت کشت زایشی و بیان ژن انتخاب شدند (جدول ۴-۱). مقایسه هرکدام از سویه‌ها طبق آزمایش با شاهد خود انجام شد. طبق نتایج به دست آمده از آزمون مقایسه میانگین روی خیار، سویه‌های yazd7، ss14، isfahan6 و ss12 افزایش معنی‌دار را در وزن تر ریشه نسبت به شاهد در غلظت 10^8 نشان دادند. سویه‌های isfahan6 ، yazd7، ss14، k40 و ss12 در غلظت 10^7 افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد در صفت وزن تر ریشه نشان دادند. در صفت وزن تر ساقه هم‌چنین سویه‌های ic13، yazd7، ss12 باکتری استرپتوماایسس در غلظت 10^8 و سویه‌های ic6، ic10 در غلظت 10^7 موجب افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد شدند. سویه‌های استرپتوماایسس ic13، yazd7، ss12 با غلظت 10^8 و سویه‌های ic6، ic10، k40، 17 با غلظت 10^7 افزایش معنی‌داری در صفت وزن خشک ساقه نشان دادند. تیمارهای باکتریایی ic13، ss14، ss12، k40 با غلظت 10^8 و سویه‌های ic10، isfahan6، ss14، yazd7، 29، k40 با غلظت 10^7 افزایش معنی‌داری را در وزن خشک ریشه نسبت به شاهد نشان دادند.

جدول ۴-۱- مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی در خیار در دو غلظت ۱۰۸ و ۱۰۷

نام باکتری	ریشه		اندام هوایی	
	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
ic10	۱/۳۴۴±۰/۱a	۰/۲۰۱±۰/۰۲b	۴/۹۹۱±۰/۲cd	۰/۴۳±۰/۰۲bcd
	۱/۲۰۵±۰/۱b	۲/۰۶۳±۱/۷a	۵/۲۳۳±۰/۳ab	۰/۴۹۶±۰/۰۳a
Ic13	۲/۰۲۱±۰/۱a	۰/۴۰۹±۰/۰۳a	۶/۵۱۹±۰/۲a	۰/۶۰۵±۰/۰۳a
	۲/۰۶۷±۰/۱a	۰/۳۱۳±۰/۰۳a	۴/۴۰۴±۰/۳bc	۰/۳۷۲±۰/۰۳b
Ic14	۱/۲۷۶±۰/۱a	۰/۲۲۹±۰/۰۲b	۵/۳۶۳±۰/۱bcd	۰/۴۶±۰/۰۲bcd
	۱/۱۵۲±۰/۱b	۰/۲۴۱±۰/۰۲a	۴/۱۰۸±۰/۳c	۰/۳۷۶±۰/۰۳b
Ic15	۱/۶۳۳±۰/۱a	۰/۲۴۸±۰/۰۲b	۵/۷۸۶±۰/۲b	۰/۵۱۲±۰/۰۴b
	۱/۸۶۳±۰/۱a	۰/۳۰۸±۰/۰۳a	۴/۹۷۶±۰/۳abc	۰/۴۵۶±۰/۰۳ab
Ic6	۱/۲۴۱±۰/۱a	۰/۱۹۳±۰/۰۱b	۵/۰۰۱±۰/۱cd	۰/۴۱±۰/۰۱cd
	۱/۹۴۶±۰/۱a	۰/۳۳۲±۰/۰۳a	۵/۵۲۷±۰/۳a	۰/۴۶۸±۰/۰۴ab
Ic19	۱/۴۸۶۷±۰/۱a	۰/۲۳±۰/۰۱b	۴/۷۲۲۲±۰/۲d	۰/۴۰۸۹±۰/۰۳cd
	۱/۹۶۴±۰/۱a	۰/۳۶۱±۰/۰۳a	۴/۱۴۹±۰/۲c	۰/۳۵۲±۰/۰۳b
ssup	۱/۶۲۴±۰/۱a	۰/۲۳۳±۰/۰۲b	۴/۸۴۲±۰/۱d	۰/۳۶۷±۰/۰۱d
	۲/۱۴۵±۰/۱a	۰/۳۴۷±۰/۰۲a	۴/۷۹۵±۰/۲abc	۰/۴۱۲±۰/۰۳ab
شاهد	۲۰/۱۰۶±۱۸/۷۶	۰/۲۵۵±۰/۰۲b	۵/۵۹۴±۰/۳bc	۰/۵±۰/۰۳bc

a

۰/۴۴۷±۰/۰۲ab	۵/۰۶±۰/۲abc	۰/۳۷۴±۰/۰۲a	۲/۲۰۱±۰/۱a	۱۰.۷	
۱/۱۴۶±۰/۰۲c	۹/۱۲۷±۰/۲c	۰/۷۶۷±۰/۰۵c	۲/۳۳۱±۰/۱a	۱۰.۸	isfahan 1
۰/۸۶۲±۰/۰۲b	۷/۴۵۸±۰/۱bc	۰/۵۲۸±۰/۰۴bcd	۱/۳۲۱±۰/۱c	۱۰.۷	
۱/۲۹۵±۰/۰۳ab	۱/۰/۰۶±۰/۱ab	۰/۹۸۴±۰/۰۴ab	۲/۷۰۹±۰/۲a	۱۰.۸	isfahan 6
۰/۸۹۴±۰/۰۲ab	۷/۹۴۵±۰/۲ab	۰/۷۰۷±۰/۰۶a	۱/۸۸۵±۰/۱a	۱۰.۷	
۱/۳۷۹±۰/۰۳a	۱/۰/۵۲۴±۰/۲a	۰/۹۵۹±۰/۰۶abc	۲/۷۷۹±۰/۱a	۱۰.۸	yazd 7
۰/۸۶۳±۰/۰۲b	۷/۹۹۱±۰/۲ab	۰/۶۹۸±۰/۰۴a	۱/۷۱۷±۰/۱ab	۱۰.۷	
۱/۳۰۳±۰/۰۲ab	۱/۰/۱۶۱±۰/۲ab	۰/۸۲۴±۰/۰۴bc	۲/۴۰۸±۰/۱a	۱۰.۸	yazd 18
۰/۸۲۴±۰/۰۵b	۷/۰۲۸±۰/۳c	۰/۵۹۴±۰/۰۵abc	۱/۴۰۱±۰/۱bc	۱۰.۷	
۱/۳۶±۰/۰۲a	۱/۰/۳۵±۰/۲ab	۱/۰۰۵±۰/۰۶ab	۲/۵۱۷±۰/۱a	۱۰.۸	ss13
۰/۸۵۸±۰/۰۳b	۷/۴۶۲±۰/۰۳bc	۰/۴۷۵±۰/۰۴cd	۱/۲۶±۰/۱c	۱۰.۷	
۱/۲۳۱±۰/۰۲bc	۹/۷۱۸±۰/۲bc	۱/۰۴۱±۰/۰۶a	۲/۷۴۹±۰/۱a	۱۰.۸	ss14
۰/۸۸۱±۰/۰۱ab	۷/۸۴۸±۰/۱ab	۰/۶۳۸±۰/۰۳ab	۱/۷۵۴±۰/۱ab	۱۰.۷	
۱/۳۲۷±۰/۰۲a	۱/۰/۲۲۱±۰/۲ab	۰/۸۹۹±۰/۰۹abc	۲/۵±۰/۲a	۱۰.۸	شاهد بدون باکتری
۰/۹۶۷±۰/۰۱a	۸/۳۲±۰/۱a	۰/۴۴۸±۰/۰۴d	۱/۰۵۵±۰/۱c	۱۰.۷	
۱±۰/۰۳a	۷/۴۰۸±۰/۲a	۰/۷۸۶±۰/۰۴a	۲/۹۳۵±۰/۱a	۱۰.۸	17
۱/۱۳۴±۰/۰۳a	۸/۶۰۶±۰/۲a	۰/۹۳۲±۰/۰۳b	۳/۱۱۱±۰/۱a	۱۰.۷	
۱/۰۰۲±۰/۰۷a	۷/۶۲۷±۰/۵a	۰/۸۸۲±۰/۰۶a	۲/۷۴۹±۰/۲a	۱۰.۸	29

۱/۰۰۸±۰/۰۵a	۷/۴۹±۰/۳b	۰/۷۲۵±۰/۰۵a	۲/۵۲±۰/۱b	۱۰ ^۷	
۱/۰۳±۰/۰۶a	۸/۴۴±۰/۴a	۰/۸۳±۰/۰۴a	۲/۹۸۳±۰/۲a	۱۰ ^۸	شاهد بدون باکتری
۱/۰۳±۰/۰۶a	۸/۴۴±۰/۴ab	۰/۸۳±۰/۰۶ab	۲/۹۸۳±۰/۲ab	۱۰ ^۷	
۰/۱۴۴±۰/۰۰۴a	۱/۴۰۷±۰/۰۵a	۰/۲۲۶۶±۰/۰۱a	۱/۰۵۹۳±۰/۰۷a	۱۰ ^۸	K40
۰/۱۴۹۳±۰/۰۰۷a	۱/۴۳۳۴±۰/۰۵a	۰/۲۴۷۶±۰/۰۱a	۱/۱۸۸۶±۰/۰۸a	۱۰ ^۷	
۰/۱۴۸±۰/۰۰۴a	۱/۴۶±۰/۰۵a	۰/۲۰۶±۰/۰۱a	۱/۱۱۸۹±۰/۰۵a	۱۰ ^۸	ss12
۰/۱۴۸±۰/۰۰۴b	۱/۴۶±۰/۰۵a	۰/۲۰۶±۰/۰۱b	۱/۱۱۸۹±۰/۰۵a	۱۰ ^۷	
۰/۱۳۷±۰/۰۰۵a	۱/۳۷۵±۰/۰۳a	۰/۱۶۶±۰/۰۰۸b	۱/۰۹۷۲±۰/۰۴a	۱۰ ^۸	شاهد بدون باکتری
۰/۱۳۷±۰/۰۰۵a	۱/۳۷۵±۰/۰۳a	۰/۱۶۶±۰/۰۰۸c	۱/۰۹۷۲±۰/۰۴a	۱۰ ^۷	

مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس در دو غلظت متفاوت بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گوجه فرنگی در ۳ مرحله کشت نشان داد، برخی سویه‌ها نسبت به شاهد خود افزایش معنی‌داری داشتند لذا از بین این سویه‌ها، سویه‌هایی که در آزمون‌های تولید سیدروفور، هورمون و دیگر آزمون‌ها نتایج خوبی داشتند جهت کشت زایشی و بیان ژن انتخاب شدند (جدول ۴-۲). مقایسه هرکدام از سویه‌ها طبق آزمایش با شاهد بدون باکتری خود انجام شد. طبق نتایج به دست آمده از آزمون مقایسه میانگین روی گوجه فرنگی سویه y17 و B3، y28 افزایش معنی‌دار را در وزن تر ریشه نسبت به شاهد در غلظت ۱۰^۸ نشان دادند. سویه‌های y17، y28، y28+1 در غلظت ۱۰^۷ افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد در صفت وزن تر ریشه نشان دادند. در صفت وزن تر ساقه هم‌چنین سویه y28 در غلظت ۱۰^۸ و سویه‌های y17، y28+1، y28 در غلظت ۱۰^۷ موجب افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد شدند. سویه‌های استرپتومایسس y28 و B3 با غلظت ۱۰^۸ و سویه‌های y17 و y28+1 با غلظت ۱۰^۷ افزایش معنی‌داری در صفت وزن خشک ساقه نشان دادند. تیمارهای باکتریایی y28 و

y17 با غلظت 10^8 و سویه‌های y17 و cu1,2(2) با غلظت 10^7 افزایش معنی‌داری را در وزن خشک ریشه نسبت به شاهد نشان دادند.

جدول ۴-۲- مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر وزن تر و خشک ساقه و ریشه گوجه فرنگی

نام باکتری	ریشه					اندام هوایی
	سطوح غلظت	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	
y17	10^8	$1/485 \pm 0/17a$	$0/153 \pm 0/01a$	$1/998 \pm 0/16b$	$0/237 \pm 0/02b$	
	10^7	$1/637 \pm 0/1a$	$0/237 \pm 0/01a$	$3/682 \pm 0/12a$	$0/474 \pm 0/02a$	
y28	10^8	$1/593 \pm 0/17a$	$0/188 \pm 0/01a$	$2/625 \pm 0/19a$	$0/325 \pm 0/03a$	
	10^7	$1/118 \pm 0/08b$	$0/14 \pm 0/009bc$	$2/177 \pm 0/16b$	$0/25 \pm 0/02b$	
y29	10^8	$1/388 \pm 0/1b$	$0/158 \pm 0/01ab$	$1/827 \pm 0/10b$	$0/198 \pm 0/01b$	
	10^7	$0/968 \pm 0/09c$	$0/117 \pm 0/01c$	$2/03 \pm 0/23b$	$0/234 \pm 0/03b$	
y28+1	10^8	$0/95 \pm 0/1b$	$0/1144 \pm 0/01b$	$1/9767 \pm 0/12b$	$0/2156 \pm 0/01b$	
	10^7	$1/214 \pm 0/08b$	$0/16 \pm 0/01b$	$2/459 \pm 0/18b$	$0/295 \pm 0/03b$	
cu1,2(2)	10^8	$1/344 \pm 0/12b$	$0/144 \pm 0/01ab$	$1/835 \pm 0/10b$	$0/207 \pm 0/01b$	
	10^7	$1/112 \pm 0/1b$	$0/163 \pm 0/007b$	$2/146 \pm 0/08b$	$0/253 \pm 0/01b$	
شاهد بدون باکتری	10^8	$1/397 \pm 0/19b$	$0/159 \pm 0/02ab$	$2/155 \pm 0/19b$	$0/265 \pm 0/02ab$	
	10^7	$0/824 \pm 0/06c$	$0/116 \pm 0/01c$	$2/051 \pm 0/15b$	$0/232 \pm 0/01b$	
B1	10^8	$2/9172 \pm 0/26b$	$0/9636 \pm 0/06c$	$7/766 \pm 0/44a$	$0/3564 \pm 0/05c$	

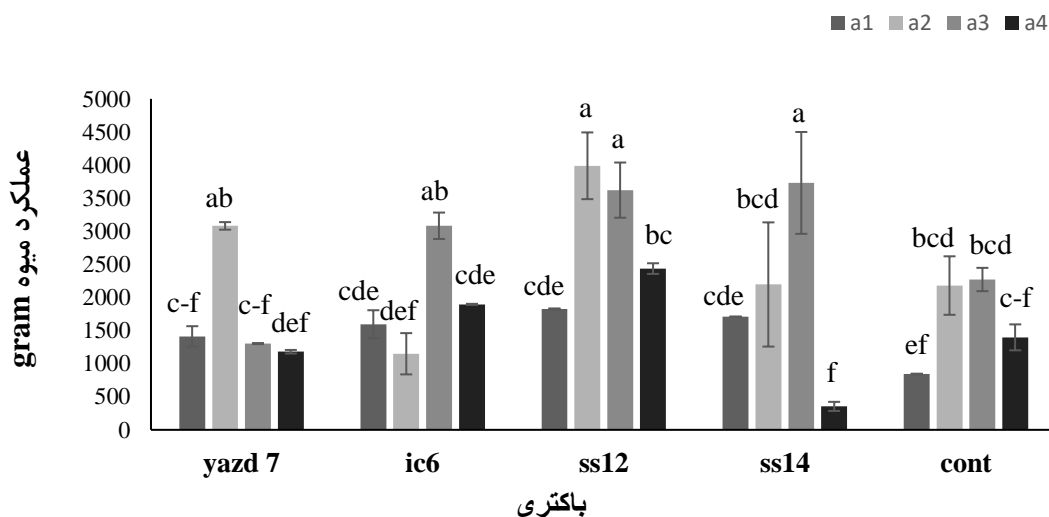
۰/۵۴۷±۰/۰۶ab	۸/۳۹۸±۰/۲۵a	۱/۱۶۱±۰/۰۴abc	۳/۴۶۲±۰/۲۴ab	۱۰ [^]	B2
۰/۵۸۵±۰/۰۴a	۸/۴۳۷±۰/۳۴a	۱/۱۰۶±۰/۰۶abc	۳/۹۴۴±۰/۱۸a	۱۰ [^]	B3
۰/۴۰۶±۰/۰۵bc	۸/۳۹۷±۰/۲۲a	۱/۰۱±۰/۰۸bc	۳/۵۴۲±۰/۳۲ab	۱۰ [^]	B5
۰/۵۴۲±۰/۰۵ab	۸/۱۷۲±۰/۴۸a	۱/۱۹۹±۰/۰۳ab	۳/۴۴۶±۰/۲۶ab	۱۰ [^]	B6
۰/۴۶۱±۰/۰۵abc	۸/۲۲۹±۰/۲۷a	۱/۱۴۵±۰/۰۴abc	۳/۸۵۱±۰/۴۹ab	۱۰ [^]	B7
۰/۴۸۹±۰/۰۳abc	۸/۸۲±۰/۵۵a	۱/۲۷۴±۰/۱a	۳/۴۰۸±۰/۲۳ab	۱۰ [^]	شاهد بدون باکتری

نتایج این بخش از تحقیقات در استفاده از سویه‌های استرپتومایسس بر روی خیار و گوجه فرنگی نشان داد که استفاده از این باکتری‌ها توانسته است میزان وزن خشک ریشه و ساقه را تا ۲۲٪ نسبت به شرایط شاهد تا ۳۰ روز پس از تلقیح افزایش دهد. همچنین نتایج تحقیق دیگر، تاثیر استفاده از باکتری‌های محرک رشد در کاهش مصرف کودهای شیمیایی نیز نشان داد که استفاده ترکیبی از آنها می‌تواند ۲۵٪ میزان مصرف کودهای شیمیایی را بدون کاهش در رشد محصول گوجه فرنگی کاهش دهد (Adesemoye et al., 2009). دل‌آمور و کودرا-کرسپو (۲۰۱۲) با مطالعه تأثیر کاربرد مایه تلقیح باکتریایی بر پاسخ فلفل شیرین به تنش شوری، مشاهده کردند که با افزایش سطح شوری، وزن خشک گیاه کاهش یافت، اما کاربرد مایه تلقیح در این شرایط، باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه شد.

۲-۴- بررسی نتایج و بحث حاصل از آزمایش کشت زایشی خیار و گوجه فرنگی

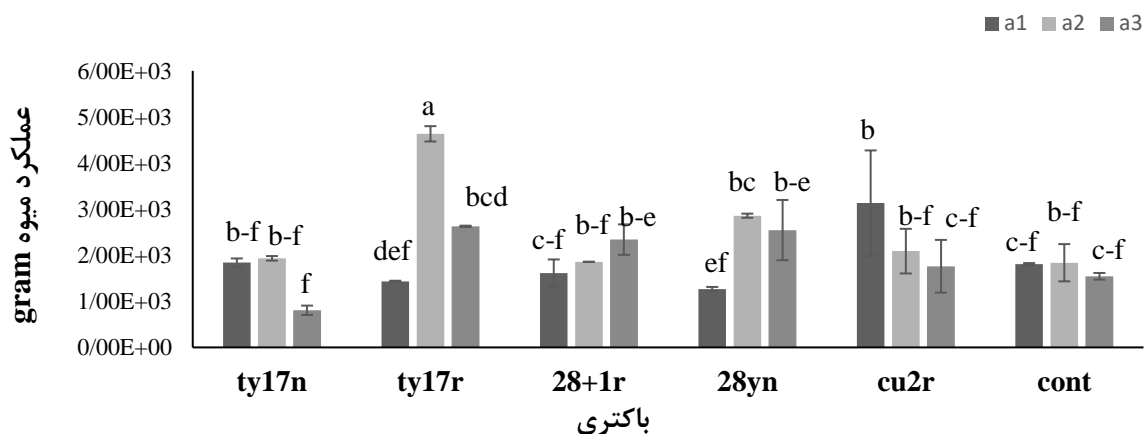
۴-۲-۱- اثر استرپتومایسس بر عملکرد خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر عملکرد گیاه خیار در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱) نشان داد که بیشترین میزان عملکرد مربوط به سویه ss12 در سطح کودی ۵۰ درصد (۳۹۸۹ گرم) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۱۷۹/۴۵ گرم)، سویه ss14 (۳۷۳۰/۱۵ گرم) در سطح کودی ۷۵ درصد و سویه ss12 (۳۶۲۱/۲۵ گرم) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۲۷۰/۷۵ گرم) است. و همچنین در سطح کودی صفر درصد هیچ کدام از سویه‌ها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نداشتند. سویه ss14 (۳۵۴ گرم) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان عملکرد را در خیار داشت.



شکل ۴-۱- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر عملکرد میوه هر بوته خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۸) نشان داد که اثر سویه‌های *استریپتومایسس* و سه سطح کودی ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ درصد بر عملکرد گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲) نشان داد که بیشترین میزان عملکرد مربوط به سویه *cu2r* در سطح کودی ۵۰ درصد (۳۱۳۰/۶ گرم) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۸۰۶/۸ گرم)، سویه *ty17r* در سطح کودی ۷۵ درصد (۶۳۴/۲ گرم) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۸۳۶/۸ گرم) است. سویه *ty17n* (۸۰۵/۷ گرم) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان عملکرد در گوجه فرنگی را داشت.



شکل ۴-۲-۳ اثر سویه‌های *استریپتومایسس* بر عملکرد میوه هر بوته گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1: ۵۰٪، a2: ۷۵٪، a3: ۱۰۰٪). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. *ty17r* و *Ty17n* هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰۸ و ۱۰۷. سویه *28+1r* و *cu2r* غلظت ۱۰۷ دارند. سویه *28yn* و *yazd28* با غلظت ۱۰۸ است.

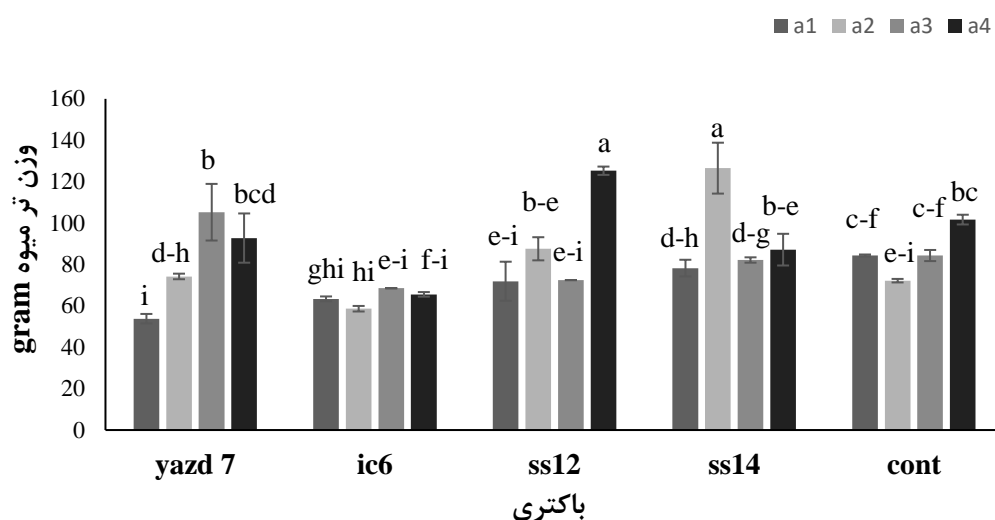
نتایج به دست آمده از تحقیقات نشان داد استفاده سویه *ss12* به همراه ۵۰ و ۷۵ درصد از کود شیمیایی و سویه *ss14* به همراه ۷۵ درصد از کود شیمیایی در گیاه خیار و سویه *cu2r* به همراه ۵۰ درصد از کود شیمیایی و سویه *ty17r* به همراه ۷۵ درصد از کود شیمیایی در گوجه فرنگی موجب افزایش عملکرد شد. تحقیقات قبلی نشان داد باکتری‌های فعال افزایش‌دهنده رشد گیاه در محیط اطراف ریشه (رایزوسفر^{۱۶}) هستند که علاوه بر

¹⁶ Rhizosphere

تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک، با تولید مقادیر قابل ملاحظه مواد تحریک کننده رشد به ویژه انواع اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها رشد، نمو و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Zahir et al, 2004). باکتری‌های PGPR علاوه بر افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک با تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و مهار عوامل بیماری‌زا، با تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Christie and Sturz., 2003). با توجه به تأثیر افزایش بر رشد و نمو گیاهان زراعی، این باکتری‌ها اصطلاحاً باکتری‌های افزایش‌دهنده عملکرد نیز نامیده می‌شوند (Vessey., 2003).

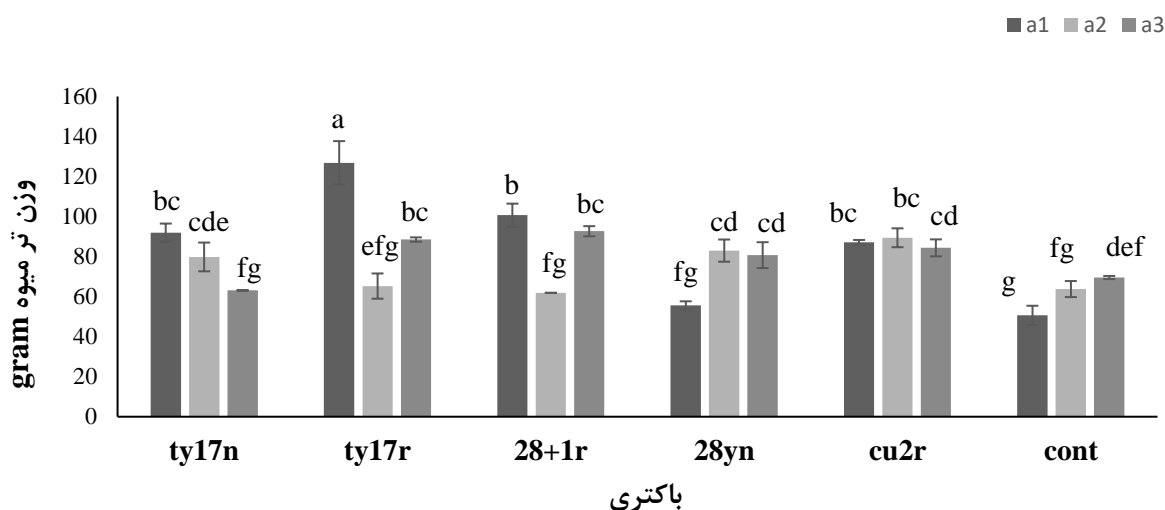
۴-۲-۲- اثر استرپتومایسس بر میانگین وزن ترمیوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میانگین وزن ترمیوه خیار در سطح ۱٪ معنی دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۳-۴) نشان داد که بیشترین میانگین وزن ترمیوه مربوط به سویه ss14 در سطح کودی ۵۰ درصد (۳۹۸۹ گرم) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۱۷۹/۴۵ گرم)، سویه yzd7 در سطح کودی ۷۵ درصد (۳۷۳۰/۱۵ گرم) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۲۷۰/۷۵ گرم) و تیمار باکتریایی ss12 در سطح کودی ۱۰۰ درصد (۲۴۳۵/۹ گرم) نسبت به شاهد خود (۱۳۹۷ گرم) است. سویه yzd7 (۳۵۴ گرم) در سطح کودی صفر درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین اثر را بر میانگین وزن ترمیوه در خیار داشت.



شکل ۳-۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین وزن تر میوه‌های یک بوته خیار در سطوح کودی مختلف (a1: 0%):
 حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است. (a4:100%، a3:75%، a2:50%)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۸) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و سه سطح کودی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میانگین وزن تر میوه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴) نشان داد که بیشترین میانگین وزن تر میوه مربوط به سویه‌های ty17r، ty17n، cu2r و 28+1r (۱۲۶/۸۷، ۹۲/۰۱، ۸۷/۱۶ و ۱۰۰/۱ گرم) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۰/۶۰ گرم)، سویه 28yn، cu2r و ty17n (۸۹/۴۰، ۸۲/۹۹ و ۷۹/۸۲ گرم) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۶۳/۷۶ گرم) و تیمار باکتریایی ty17r و 28+1r (۸۸/۵۱ و ۹۲/۶۶ گرم) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۶۹/۵۵ گرم) هستند. سویه 28yn (۵۵/۵۸ گرم) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین اثر بر میانگین وزن تر میوه در گوجه فرنگی داشت.



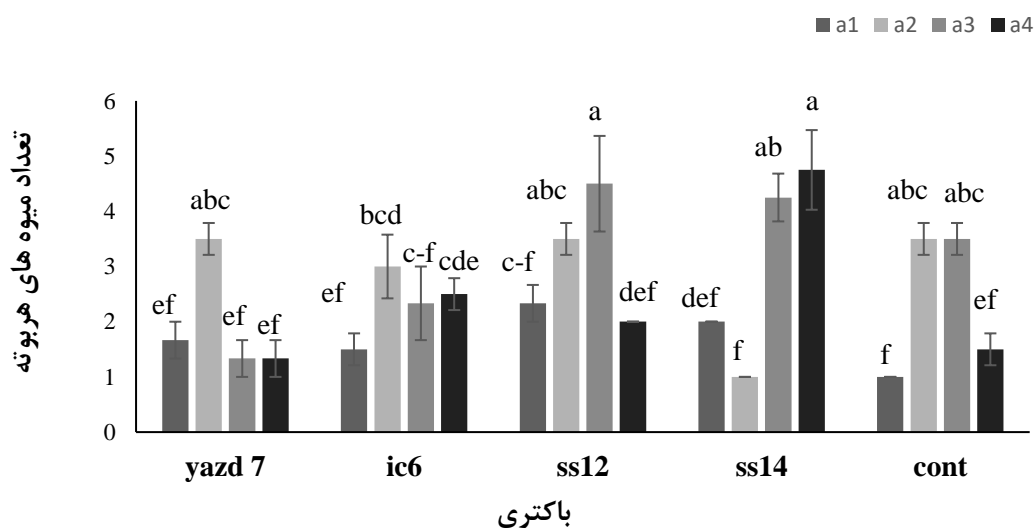
شکل ۴-۴ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین وزن تر میوه‌های هر بوته گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%، a3:100%)، حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است. ty17r و Ty17n هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

نتایج تحقیقات نشان داد سویه ss14 به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی موجب افزایش وزن تر میوه‌های هر بوته خیار نسبت به شاهد بدون باکتری در سطوح کودی مختلف شد. همچنین سویه‌های ty17n، ty17r، cu2r و 28+1r به همراه کود شیمیایی ۵۰ درصد و سویه cu2r به همراه کود شیمیایی ۷۵ درصد موجب افزایش وزن تر میوه‌های هر بوته گوجه فرنگی نسبت به شاهد بدون باکتری در سطوح کودی مختلف شد. هدف از اجرای تحقیق انتخاب بهترین سویه به همراه مصرف کود شیمیایی کمتر از ۱۰۰ درصد است. لذا این سویه‌ها موجب افزایش وزن تر میوه‌های هر بوته شدند. طبق نتایج تحقیقات قبلی باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش میانگین وزن میوه‌ها در گوجه فرنگی شدند (نعمتی و همکاران، ۱۳۹۴).

۴-۲-۳- اثر استرپتومایسس بر تعداد میوه‌های هر بوته خیار و گوجه فرنگی

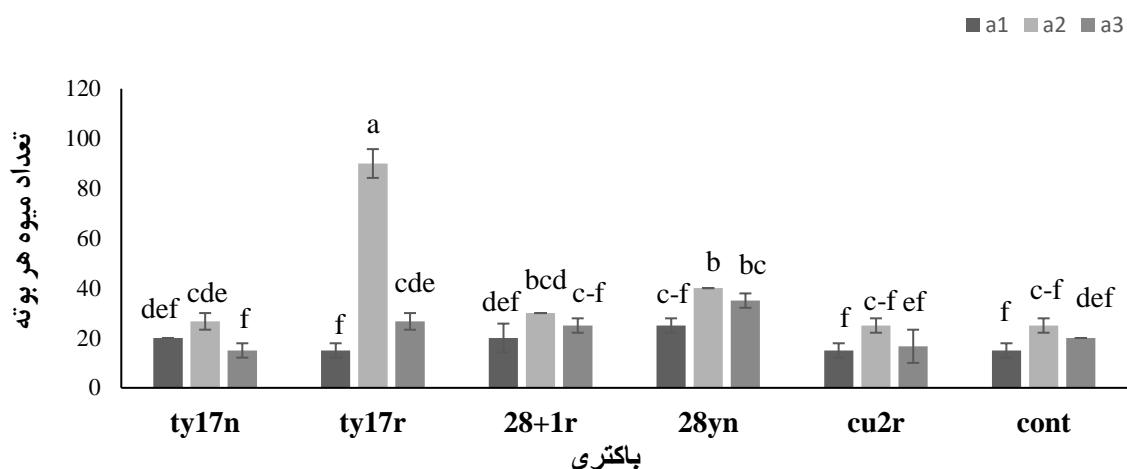
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱) نشان داد که اثر متقابل سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر تعداد میوه‌های هر بوته خیار در سطح ۱٪ معنی‌دار نیست. اما نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۵) نشان داد که بیشترین تعداد میوه مربوط به سویه

باکتریایی ss14 (۴/۷۵) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱/۵) است. و همچنین در سطوح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد هیچ کدام از سویه‌های باکتریایی موجب افزایش تعداد میوه‌های هر بوته خیار نشدند.



شکل ۴-۵- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین تعداد میوه در هر بوته خیار در سطوح کودی مختلف (a2:50%، a1:0%؛ a4:100%، a3:75%؛ حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۸) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و سه سطح کودی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میانگین تعداد میوه‌های هر بوته گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۶) نشان داد که بیشترین تعداد میوه‌های هر بوته مربوط به سویه‌ی ty17r و 28yn (۹۰ و ۴۰) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۵)، تیمار باکتریایی 28yn (۳۵) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۰) هستند. سویه‌های cu2r و ty17r (۱۵) در سطح کودی ۵۰٪ نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان میانگین تعداد میوه در گوجه فرنگی را داشتند.



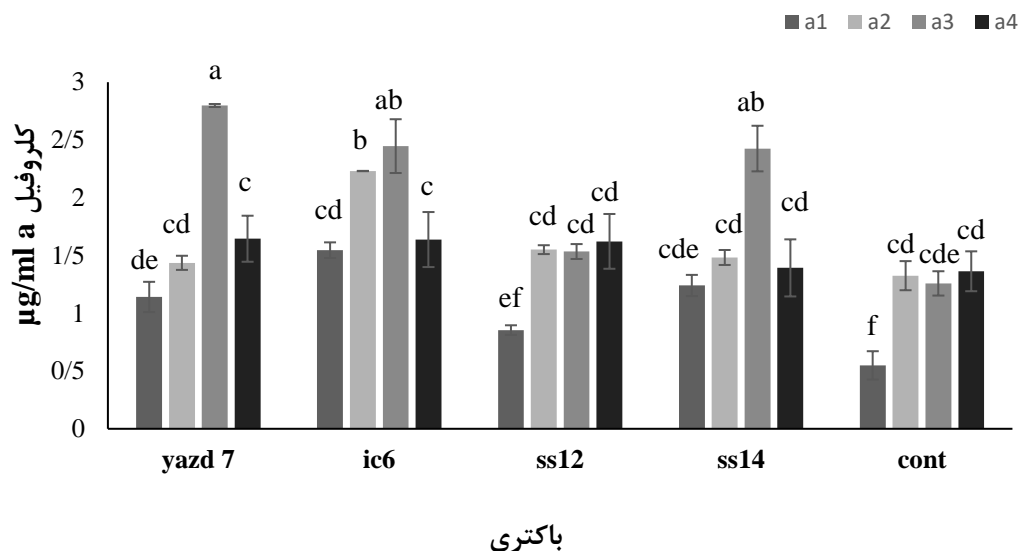
شکل ۴-۶ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میانگین تعداد میوه هر بوته گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%، a3:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17r و Ty17n هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

طبق نتایج تحقیقات انجام شده استفاده سویه ty17r به همراه کود شیمیایی ۷۵ درصد موجب افزایش تعداد میوه در هر بوته گوجه فرنگی نسبت به شاهد بدون باکتری در سه سطح کودی شد. همچنین نعمتی و همکاران (۱۳۹۴) گزارش دادند که استفاده از باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش ۶۷/۸ درصدی تعداد میوه‌های هر بوته گوجه فرنگی شد.

۴-۲-۴ اثر استرپتومایسس بر میزان کلروفیل a در خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۶) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان کلروفیل a برگ خیار، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۷) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به سویه‌های ic6، ss14، yazd7 (۱/۵۴، ۱/۲۴، ۱/۱۴ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۵۴ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی ic6 در سطح کودی ۵۰ درصد (۲/۲۳ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱/۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر) و تیمارهای باکتریایی ic6، yazd7،

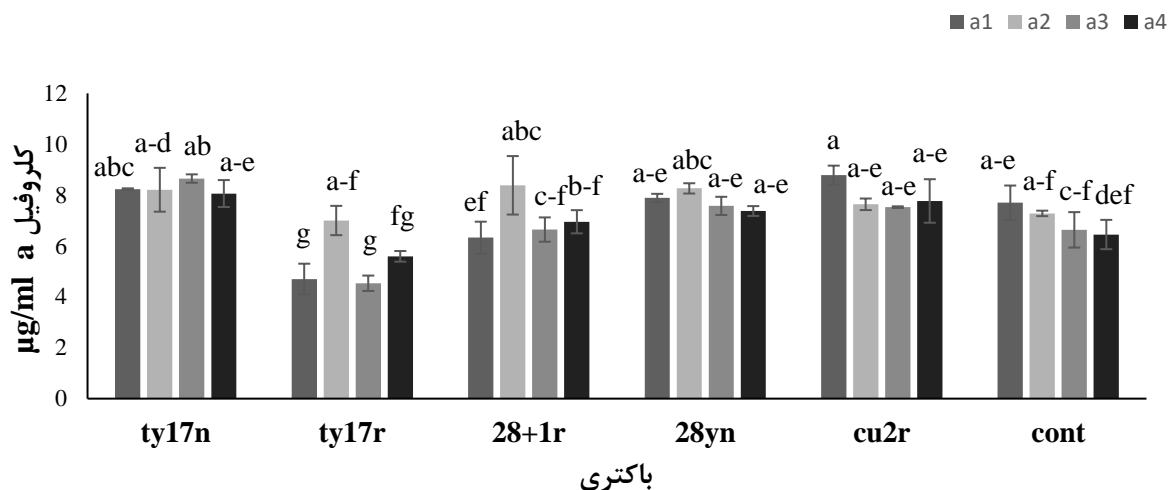
۱۴ss (۲/۷۹، ۲/۴۴، ۲/۴۲ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر) است. و همچنین در سطح کودی ۱۰۰ درصد هیچ کدام از سویه‌های باکتریایی اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a خیار نداشتند. سویه ss12 (۰/۸۵ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی صفر درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان کلروفیل a را در خیار داشت.



شکل ۴-۷- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل a در برگ خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۹) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۷۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد بر میزان کلروفیل a موجود در برگ‌های گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار نیست. اما نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۸) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به سویه ty17n (۸/۶۵ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۶/۶۳ میکروگرم بر میلی لیتر) است. همچنین سویه ty17r در سطح کودی ۷۵ درصد (۴/۵۳ میکروگرم بر میلی لیتر) و در سطح کودی صفر درصد (۴/۶۹ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به تمامی سویه‌ها

در سطوح کودی مختلف کمترین میزان کلروفیل a در گوجه فرنگی را داشتند. در سطح کودی صفر و ۵۰ درصد هیچ یک از باکتری‌ها موجب افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشدند.

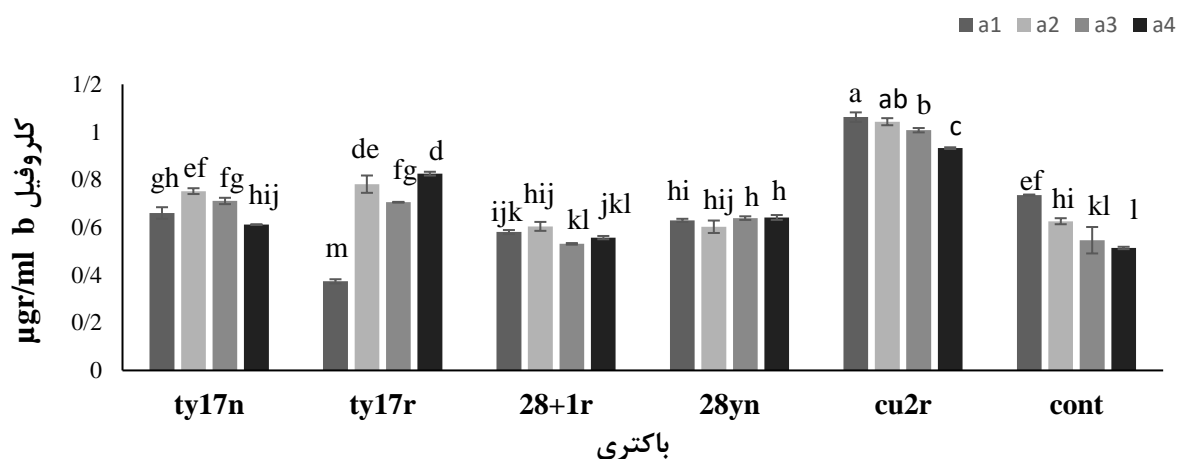


شکل ۴-۸- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل a موجود در برگ گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a2:50% a1:0% a3:75% a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هردو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

۴-۲-۵- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر میزان کلروفیل b در خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۶) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان کلروفیل b برگ خیار، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۹) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به سویه ss14، yazd7 (۰/۲۶، ۰/۲۱، ۰/۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۰۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی ss14 در سطح کودی ۱۰۰ درصد (۰/۱۷ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۰۹ میکروگرم بر میلی لیتر) است. و همچنین در سطح کودی صفر و ۵۰ درصد هیچ کدام از سویه‌های باکتریایی اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل b خیار نداشتند. سویه

خود (۰/۵۱ میکروگرم بر میلی لیتر) هستند. سویه‌های ty17r (۰/۳۷ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی صفر درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان کلروفیل b در گوجه فرنگی را داشت.

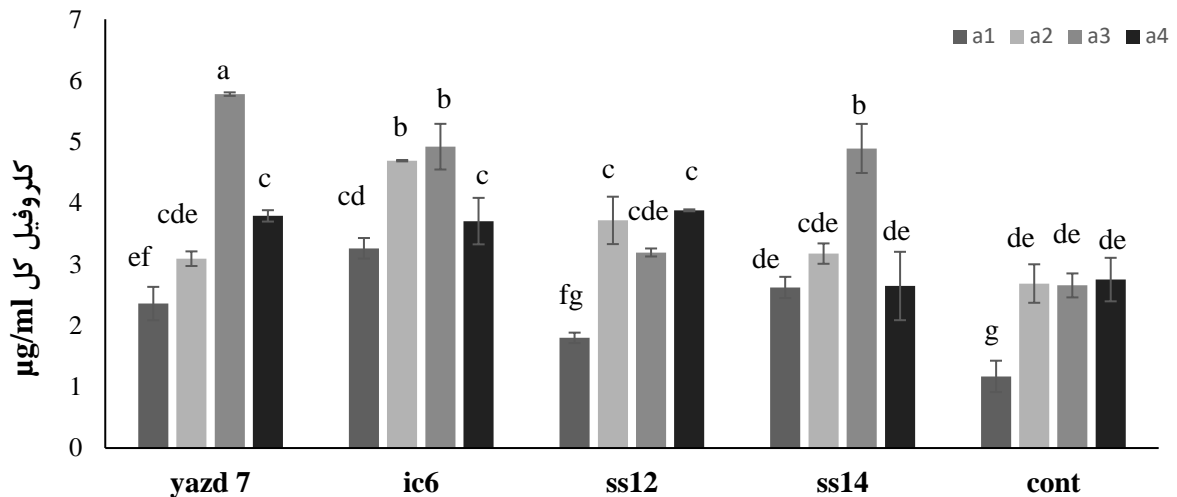


شکل ۴-۱۰ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل b موجود در برگ گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a4:100% ، a3:75% ، a2:50% a1:0%) . حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب 10^8 و 10^7 و سویه 28+1r و cu2r غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yz28 با غلظت 10^8 است.

۴-۲-۶- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر میزان کلروفیل کل خیار

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۶) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان کلروفیل کل برگ خیار، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۱) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به سویه ic6، ss14، yazd7، (۳/۲۶ ، ۲/۶۲ ، ۲/۳۵ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱/۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی ic6 ، ss12 ، (۴/۶۹ ، ۳/۷۱ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲/۶۸ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی yazd7، ic6، ss14 (۵/۷۷ ، ۴/۹۱ ، ۴/۸۹ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲/۶۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی ss12، yazd7، ic6 (۳/۷۹ ، ۳/۸۸)

۳/۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲/۶۵ میکروگرم بر میلی لیتر) است.

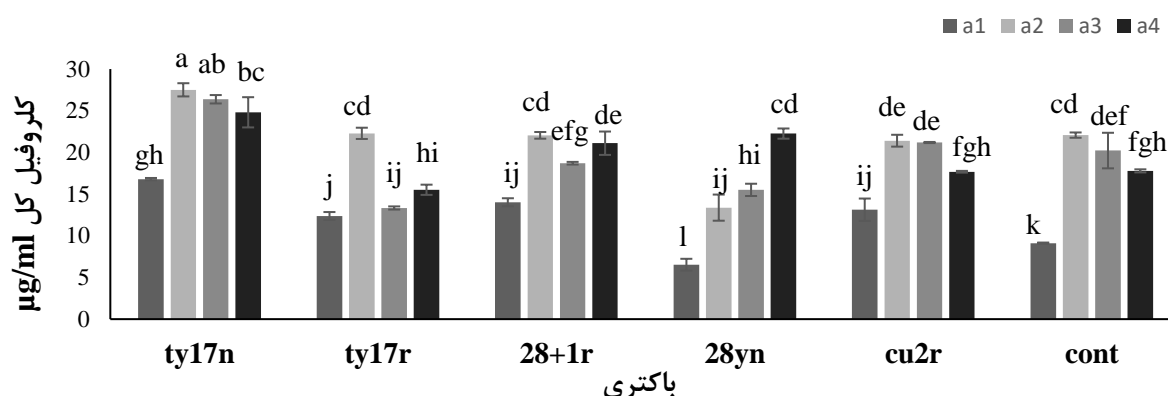


باکتری

شکل ۴-۱۱- اثر سویه‌های استریپتومایسس بر میزان کلروفیل کل در برگ خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۱) نشان داد که اثر سویه‌های استریپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان کلروفیل کل موجود در برگ‌های گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۲) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به سویه‌های ty17n، ty17r، 28+1r، cu2r در سطح کودی صفر درصد (۱۶/۷۹، ۱۲/۳۷، ۱۴/۰۱، ۱۳/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۹/۱۱ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی ty17n در سطح کودی ۵۰ درصد (۲۷/۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۲/۰۷ میکروگرم بر میلی لیتر)، سویه‌ی ty17n در سطح کودی ۷۵ درصد (۲۶/۳۷ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۰/۲۲ میکروگرم بر میلی لیتر) و سویه‌های ty17n، 28yn، 28+1r

(۲۴/۸۱ ، ۲۲/۲۵ ، ۲۱/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۷/۷۸ میکروگرم بر میلی لیتر) هستند. سویه 28yn (۶/۵۳ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی صفر درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان کلروفیل کل در گوجه فرنگی را داشتند.

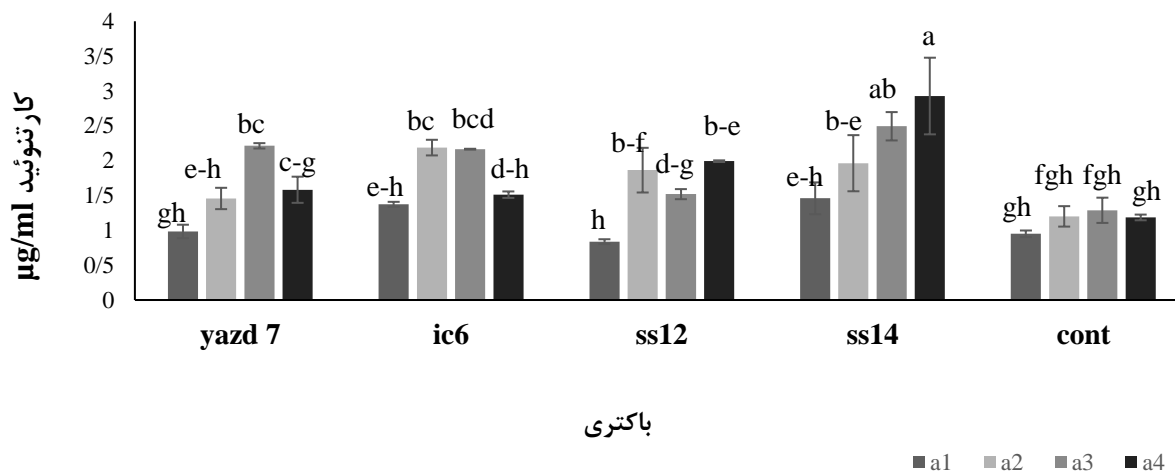


شکل ۴-۱۲ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کلروفیل کل موجود در برگ گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:0% ، a2:50% ، a3:75% ، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب 10^8 و 10^7 و سویه 28+1r و cu2r با غلظت 10^7 دارند. سویه 28yn با غلظت 10^8 است.

۴-۲-۷ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر میزان کارتنوئید خیار و گوجه فرنگی

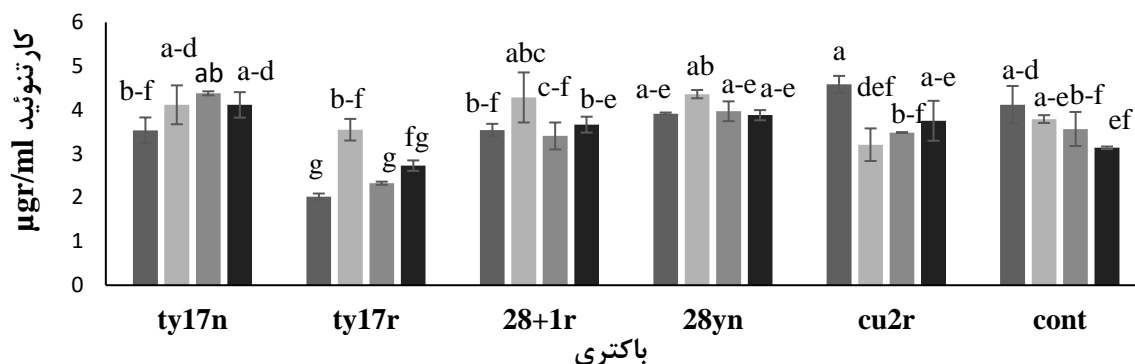
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۶) نشان می‌دهد که اثر متقابل سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان کارتنوئید برگ خیار، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۳) نشان داد که بیشترین میزان کارتنوئید مربوط به سویه ss14 ، ic6 (۲/۱۸ ، ۱/۹۶ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد خود (۱/۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ، تیمار باکتریایی ss14 ، yazd7 ، ic6 (۲/۴۹ ، ۲/۲۱ ، ۲/۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد خود (۱/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر) ، تیمار باکتریایی ss14 ، ss12 در سطح کودی ۱۰۰ درصد (۲/۹۲ ، ۱/۹۹ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱/۱۸

میکروگرم بر میلی لیتر) است. سویه ss12 (۸۳/۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی صفر درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین تاثیر بر میزان کارتنوئید در خیار را داشت. هیچ کدام از سویه‌ها در سطح کودی صفر درصد موجب افزایش کارتنوئید برگ خیار نشدند.



شکل ۴-۱۳ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کارتنوئید در برگ خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%, a2:50%, a3:75%, a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است.

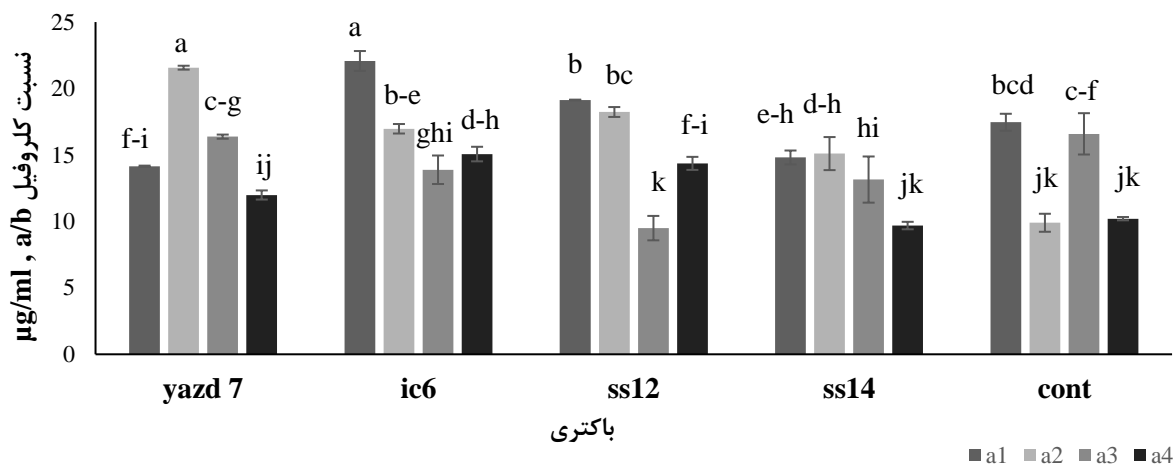
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۱) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان کارتنوئید موجود در برگ‌های گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۴) نشان داد که تنها سویه‌ی ty17n در سطح کودی ۱۰۰ درصد (۴/۱۱ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۳/۱۳ میکروگرم بر میلی لیتر) موجب افزایش کارتنوئید در برگ گوجه فرنگی شد. سویه ty17r در سطح کودی صفر (۲/۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر) و در سطح کودی ۷۵ درصد (۲/۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان کارتنوئید در گوجه فرنگی را داشتند. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که هیچ یک از سویه‌ها به همراه سطوح کودی صفر، ۵۰ و ۷۵ درصد موجب افزایش کارتنوئید نشدند.



شکل ۴-۱۴ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان کارتنتوئید موجود در برگ گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a4:100%، a3:75%، a2:50%، a1:0%)، حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب 10^8 و 10^7 و سویه 28+1r و cu2r غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yzsd28 با غلظت 10^8 است.

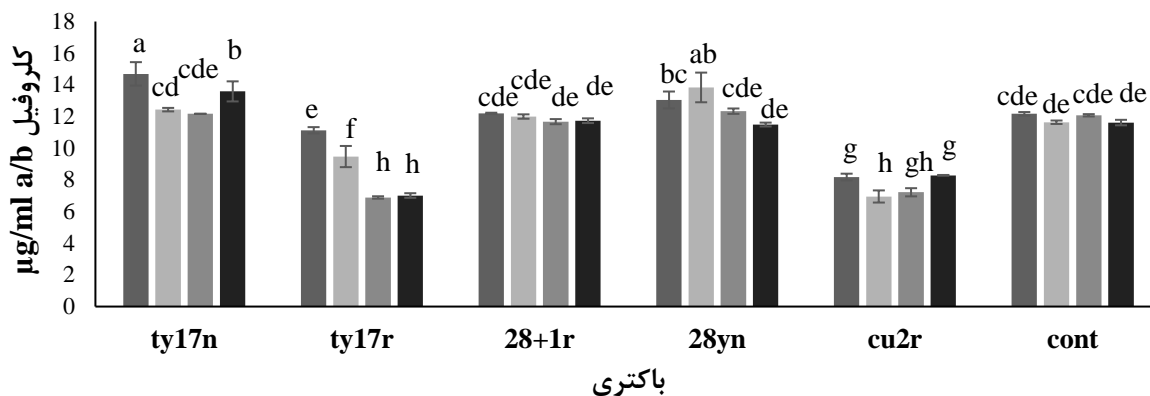
۴-۲-۸- اثر استرپتومایسس بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۶) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b برگ خیار، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۵) نشان داد که بیشترین نسبت کلروفیل a به کلروفیل b مربوط به سویه ic6 در سطح کودی صفر درصد (۲۲/۰۷ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۷/۴۶ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی yzsd7، ic6، ss12، ss14، (۲۱/۵۶، ۱۶/۹۷، ۱۸/۲۳، ۱۵/۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۹/۸۹ میکروگرم بر میلی لیتر)، تیمار باکتریایی ic6 و ss12 در سطح کودی ۱۰۰ درصد (۱۵/۰۶، ۱۴/۳۶ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۰/۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، است.



شکل ۴-۱۵ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در برگ خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%)، (a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۱) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b موجود در برگ‌های گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۶) نشان داد که بیشترین میزان نسبت کلروفیل a به کلروفیل b مربوط به سویه‌ی ty17n در سطح کودی صفر درصد (۱۴/۶۹ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۲/۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر)، سویه‌ی 28yn در سطح کودی ۵۰ درصد (۱۳/۸۳ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۱/۶۳ میکروگرم بر میلی لیتر)، سویه‌ی ty17n در سطح کودی ۱۰۰ درصد (۱۳/۵۸ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۱/۶۱ میکروگرم بر میلی لیتر) هستند. سویه‌های ty17r (۶/۸۸ میکروگرم بر میلی لیتر) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به تمامی سویه‌ها در سطوح کودی مختلف کمترین میزان نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در گوجه فرنگی را داشتند. همچنین نتایج نشان داد که هیچ کدام از سویه‌ها در سطح کودی ۷۵ درصد موجب افزایش نسبت کلروفیل a به کلروفیل b نشدند.



شکل ۴-۱۶- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در برگ گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:0%, a2:50%, a3:75%, a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب 10^8 و 10^7 و سویه 28+1r و cu2r غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت 10^8 است.

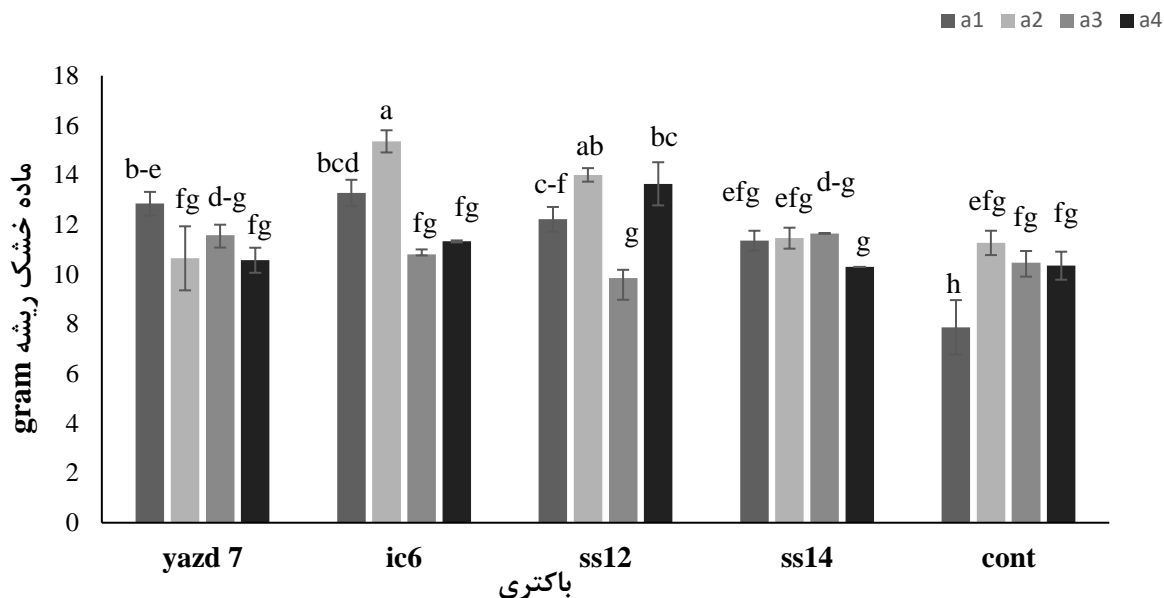
بحث اثر استرپتومایسس بر کلروفیل، کارتنوئید و جذب نور

نتایج تحقیقات نشان داد استفاده از سویه‌های ss14، yazd7 و ic6 به همراه ۷۵ درصد کود شیمیایی در گیاه خیار و استفاده از سویه‌ی ty17n به همراه ۵۰ و ۷۵ درصد کود شیمیایی و سویه‌ی cu2r به همراه صفر، ۵۰ و ۷۵ درصد کود شیمیایی در گیاه گوجه فرنگی، موجب افزایش کلروفیل شد. افزایش میزان کلروفیل در برگ باعث افزایش کارایی فتوسنتز در گیاه خیار و گوجه فرنگی شد. به دنبال این افزایش، رشد و عملکرد گیاه نیز بیشتر شد. همچنین طبق مطالعاتی که انجام شده است، کاربرد باکتری و مصرف کود پتاسیم به طور جداگانه از طریق بهبود صفات رویشی به ویژه تعداد پنجه و برگ به افزایش شاخص سطح برگ منجر شد که از جمله مؤلفه‌های مهم در جذب نور و تأثیرگذار بر میزان کارایی فتوسنتز است و بدین ترتیب سبب بهبود عملکرد شلتوک برنج در واحد سطح شد. (شهبسوار پورلنده، ۱۳۹۷). باکتری‌های محرک رشد به دلیل افزایش نیتروژن قابل دسترس گیاه، افزایش سبزی‌نگی برگ از تخریب کلروفیل جلوگیری کرده و به طور غیر مستقیم سبب افزایش آن در هر دو گیاهان تنش دیده و هم گیاهان نرمال می‌شود. همچنین در تحقیقی گزارش شده است که تیمار بذور گندم با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش محتوای کلروفیل گیاهان

می‌شود (Sing and Kapoor.,1999). کاربرد این باکتری‌ها سبب افزایش میزان کلروفیل و افزایش مقاومت به خشکی در گیاه دارویی بومادران نیز شده است (میرجلیلی وهمکاران، ۱۳۹۵). با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و تحقیقاتی که قبلاً انجام شده است استفاده از باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش میزان کلروفیل در برگ گیاه شدند و کارایی فتوسنتز را افزایش دادند.

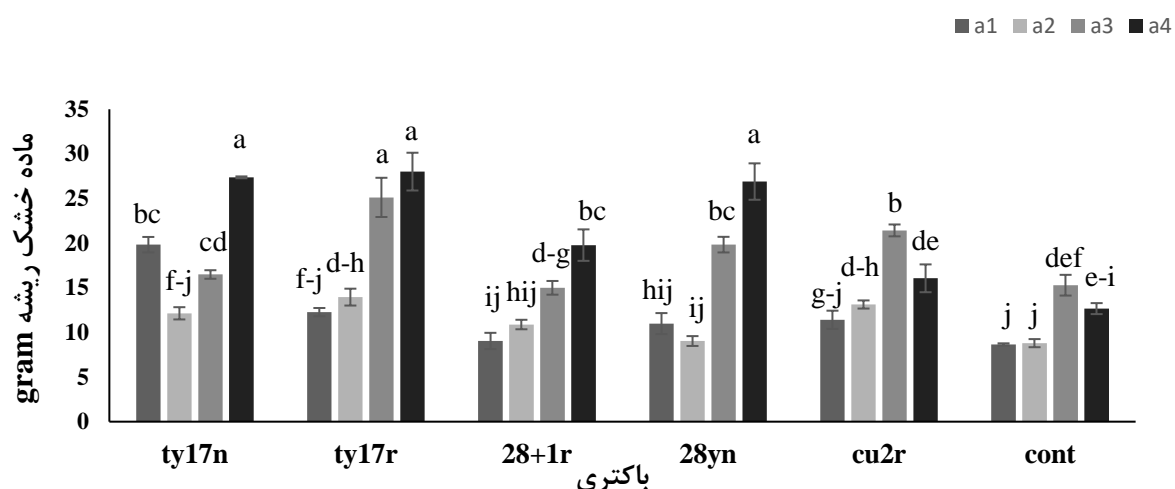
۴-۲-۹- اثر استرپتومایسس بر میزان ماده خشک ریشه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان ماده خشک ریشه خیار، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۷) نشان داد که بیشترین میزان ماده خشک ریشه خیار مربوط به سویه ss14، ss12، yazd7، ic6 (۱۳/۲۷، ۱۲/۸۴، ۱۲/۲۱، ۱۱/۳۵ گرم) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۷/۸۶ گرم)، تیمار باکتریایی ss12، ic6 (۱۵/۳۵، ۱۴ گرم) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۱/۲۶ گرم)، تیمار باکتریایی ss12 در سطح کودی ۱۰۰ درصد (۱۳/۶۴ گرم) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۰/۳۴ گرم)، است. هیچ یک از سویه‌ها به همراه سطح کودی ۷۵ درصد موجب افزایش ماده خشک ریشه خیار نشدند.



شکل ۴-۱۷ اثر سویه‌های استریپتومایسس بر میزان ماده خشک ریشه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

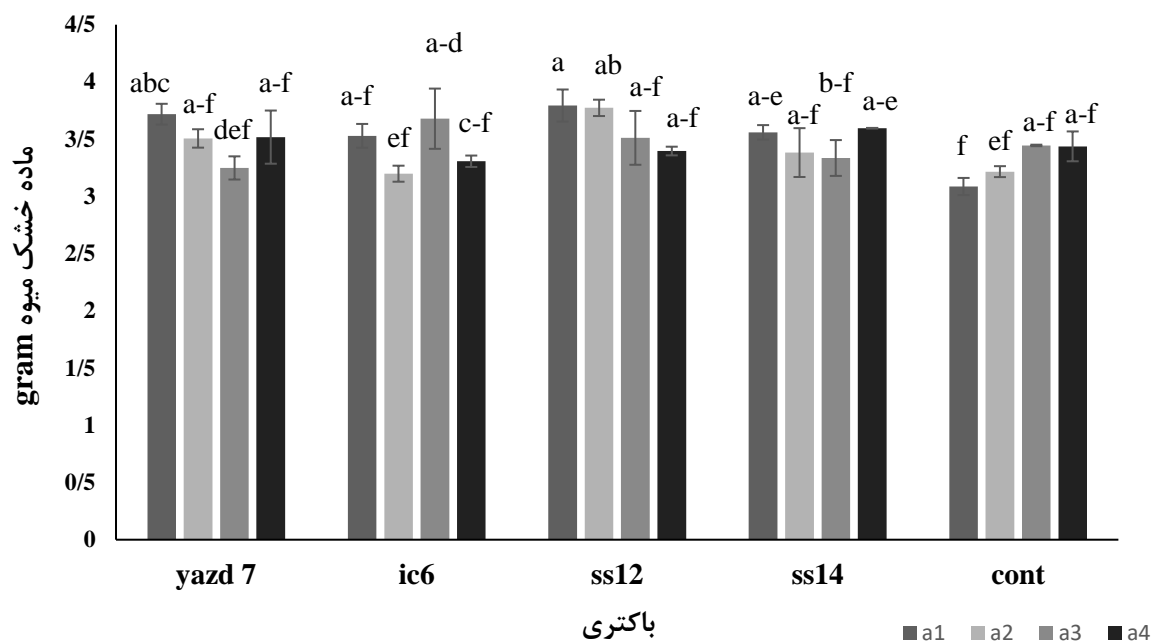
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۹) نشان داد که اثر سویه‌های استریپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان ماده خشک ریشه گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۸) نشان داد که بیشترین میزان ماده خشک ریشه مربوط به سویه‌ی ty17n (۱۹/۸۲ گرم) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۸/۶۴ گرم)، سویه‌های ty17r، cu2r (۱۳/۹۵، ۱۳/۱۲ گرم) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۸/۷۹ گرم)، سویه‌های ty17r، 28yn، cu2r (۲۵/۱۲، ۱۹/۸۳، ۲۱/۴۲ گرم) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۵/۲۸ گرم)، سویه‌های ty17r، ty17n، 28yn (۲۷/۳۷، ۲۸/۰۱، ۲۶/۸۹ گرم) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۲/۶۶ گرم) هستند.



شکل ۴-۱۸- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک ریشه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:0% a2:50% ، a3:75% ، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب 10^8 و 10^7 و سویه 28+1r و cu2r غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yzd28 با غلظت 10^8 است.

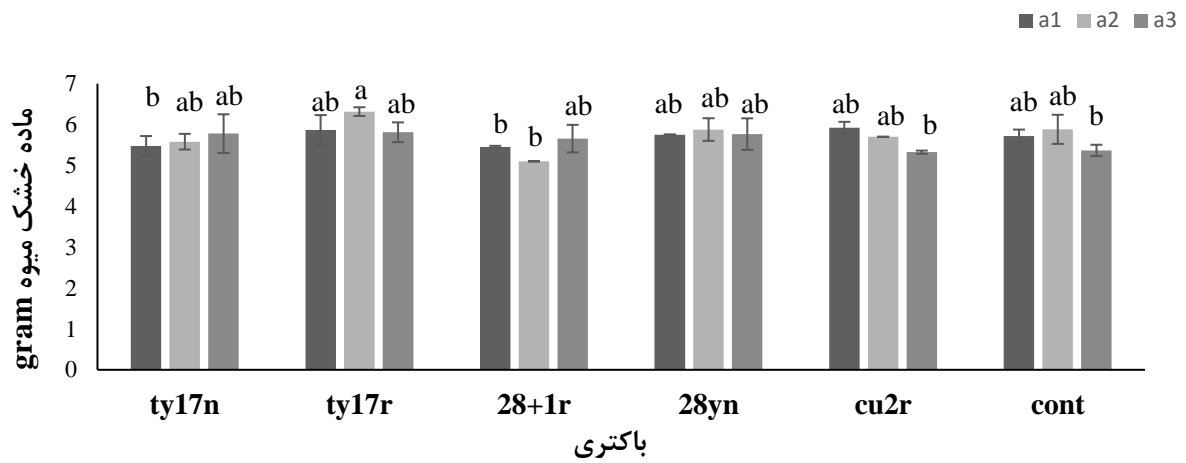
۴-۲-۱۰- اثر استرپتومایسس بر میزان ماده خشک میوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان ماده خشک میوه خیار، در سطح ۵٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۱۹) نشان داد که بیشترین میزان ماده خشک میوه خیار مربوط به سویه ss12، yzd7، ss14، (۳/۷۹، ۳/۷۱، ۳/۵۵ گرم) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۳/۰۸ گرم)، تیمار باکتریایی ss12 (۳/۷۷ گرم) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۳/۲۱ گرم)، است. هیچ یک از سویه‌ها به همراه سطوح کودی ۷۵ و ۱۰۰ درصد میزان ماده خشک میوه خیار را افزایش ندادند.



شکل ۴-۱۹ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

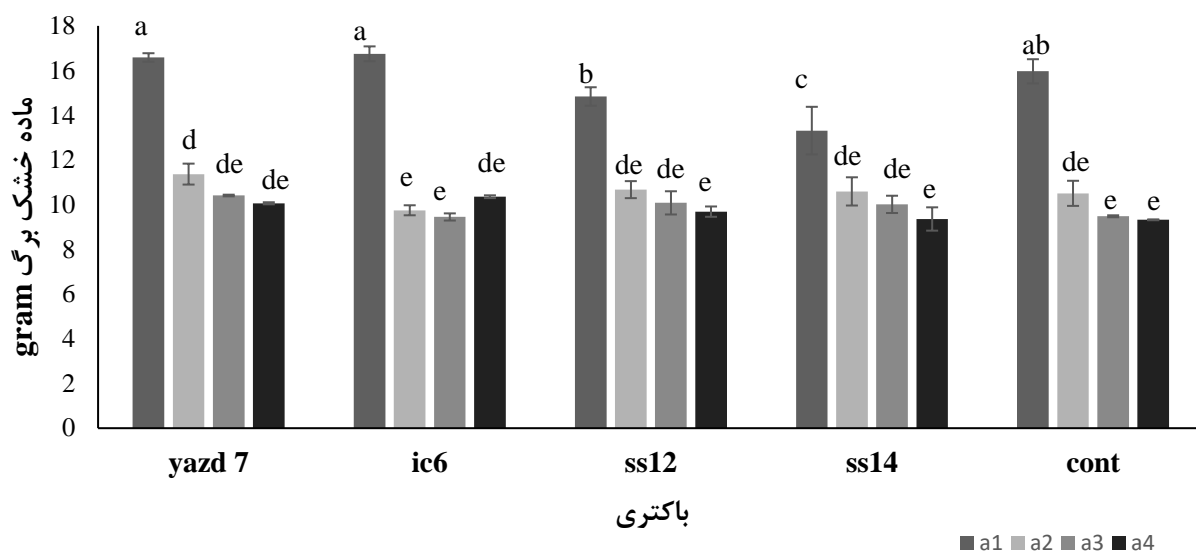
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۷) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و سه سطح کودی ۱۰۰،۷۵،۵۰ درصد بر میزان ماده خشک میوه گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار نیست. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۰) نشان داد هیچ یک از سویه‌های استرپتومایسس به همراه سه سطح کودی ۱۰۰،۷۵،۵۰ درصد موجب افزایش میزان ماده خشک میوه گوجه فرنگی نشدند.



شکل ۴-۲۰- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%، a3:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17r و Ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

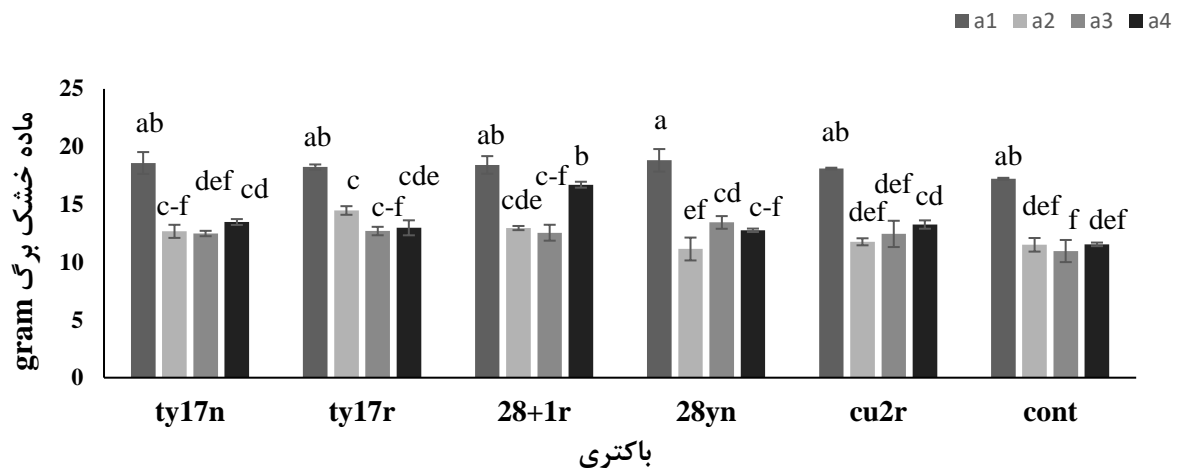
۴-۲-۱۱- اثر استرپتومایسس بر میزان ماده خشک برگ خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان ماده خشک برگ خیار، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۱) نشان داد که هیچ یک از سویه‌ها به همراه چهار سطح کودی نتوانست میزان ماده خشک برگ در گیاه خیار را افزایش دهد.



شکل ۴-۲۱- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان ماده خشک برگ خیار در سطوح کودی مختلف (a: ۱۰۰٪، a: ۵۰٪، a: ۲۵٪، a: ۱۰٪). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۹) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان ماده خشک برگ گیاه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۲) نشان داد که بیشترین میزان درصد ماده خشک برگ مربوط به سویه‌ی ty17r (۱۴/۴۷ گرم) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۱/۵۰ گرم)، سویه‌ی 28yn (۱۳/۴۴ گرم) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۰/۹۶ گرم)، سویه‌ی 28+1r (۱۶/۷۰ گرم) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۱/۵۴ گرم) هستند.



شکل ۴-۲۲ اثر سویه‌های استریپتومایسس بر میزان ماده خشک برگ گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:0% a2:50% a3:75% a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

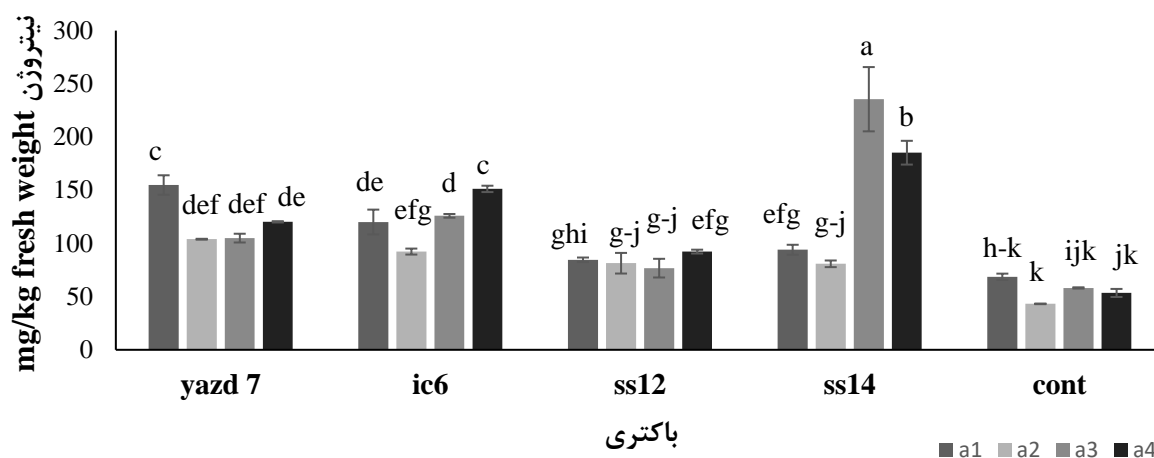
اثر سویه‌های استریپتومایسس بر میزان ماده خشک ریشه، میوه و برگ خیار و گوجه فرنگی

نتایج تحقیقات نشان داد که استفاده از سویه ic6 بدون کود شیمیایی و همینطور با مصرف ۵۰ درصد کود و سویه ss12 به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی در خیار و استفاده از سویه‌های cu2r، 28yn و ty17r به همراه ۷۵ درصد کود شیمیایی در گوجه فرنگی نسبت به حالتی که گیاهان تنها با چهار سطح کود شیمیایی تیمار شدند، باعث افزایش میزان ماده خشک ریشه در خیار و گوجه فرنگی شدند. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که هیچ یک از سویه‌های مورد استفاده به همراه چهار سطح کودی نسبت به حالتی که گیاهان تنها با چهار سطح کودی (شاهد بدون باکتری) تیمار شدند بر میزان ماده خشک میوه و برگ اثری نداشته و موجب افزایش آن نشدند. هدف از اجرای این تحقیق شناسایی سویه‌هایی هستند که با مصرف صفر، ۵۰ و ۷۵ درصد کود شیمیایی موجب افزایش حجم ریشه و به دنبال آن افزایش ماده خشک ریشه در خیار و گوجه فرنگی شوند. زیرا دغدغه‌ی بسیاری از صاحبان گلخانه، داشتن بوته‌هایی با ریشه قوی و حجیم است تا مدت طولانی تری در خاک باقی بماند و محصول بیشتری تولید کند. در پژوهشی مشخص شد که تلقیح گونه‌های مختلف گیاهی با باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش رشد ریشه و یا افزایش تشکیل ریشه‌های فرعی از طریق ترشح

هورمون اکسین توسط این باکتری‌ها شده و به دنبال آن سطح مؤثر ریشه افزایش یافته و نهایتاً جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه زراعی تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد (Patten and Glick, 2002).

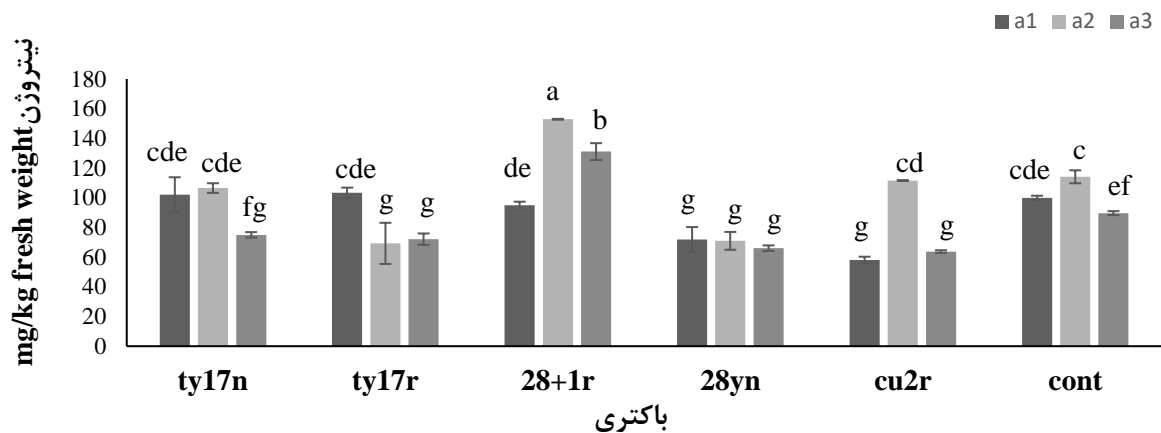
۴-۲-۱۲- اثر استرپتومایسس بر میزان عنصر نیتروژن در میوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان عنصر نیتروژن در میوه، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۳) نشان داد که بیشترین میزان عنصر نیتروژن میوه خیار مربوط به سویه ss14، ic6، yazd7 (۱۵۴/۸۴، ۱۲۰/۱۴، ۹۴/۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۶۸/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی yazd7، ic6، ss12، ss14 (۱۰۳/۹۳، ۹۲/۳۲، ۸۱/۳۷، ۸۰/۸۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۴۳/۱۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی ss14، yazd7، ic6 (۲۳۵/۵۳، ۱۲۵/۹۰، ۱۰۴/۹۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۸/۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی ss14، ic6، yazd7، ss12 (۱۸۵/۲۶، ۱۵۱/۲۵، ۱۲۰/۲۷، ۹۲/۲۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۴۳/۱۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) است.



شکل ۴-۲۳ اثر سویه‌های استریپتوماایسس بر میزان نیتروژن در میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2: 50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

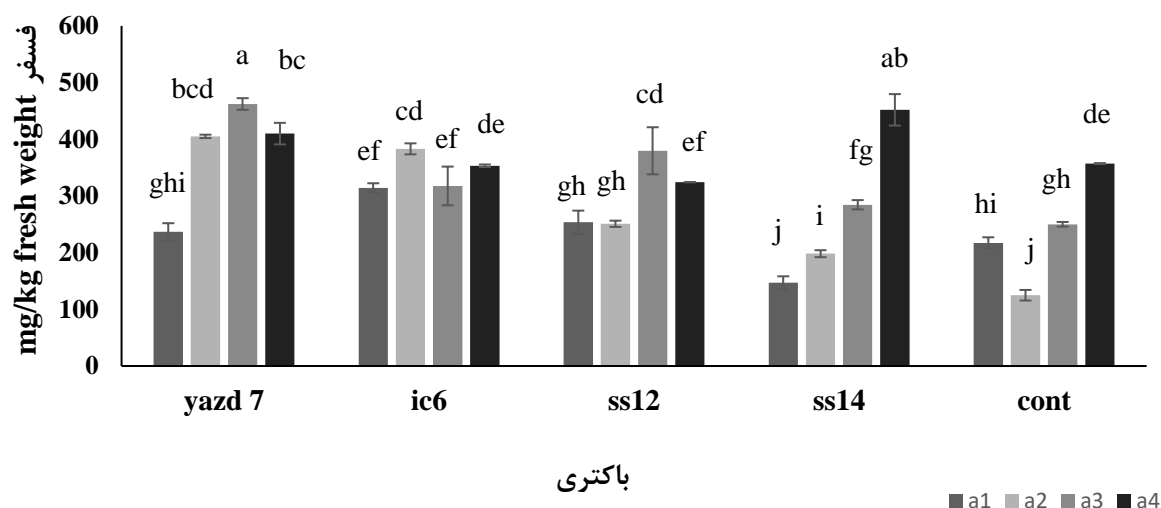
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۷) نشان داد که اثر سویه‌های استریپتوماایسس و سه سطح کودی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان عنصر نیتروژن در میوه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۴) نشان داد بیشترین میزان عنصر نیتروژن در میوه گوجه فرنگی مربوط به سویه‌ی 28+1r (۱۵۲/۸۴ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۱۴/۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، سویه‌ی 28+1r (۱۳۱/۰۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۸۹/۶۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) است.



شکل ۴-۲۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان عنصر نیتروژن در میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50% ، a2:75% ، a3:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

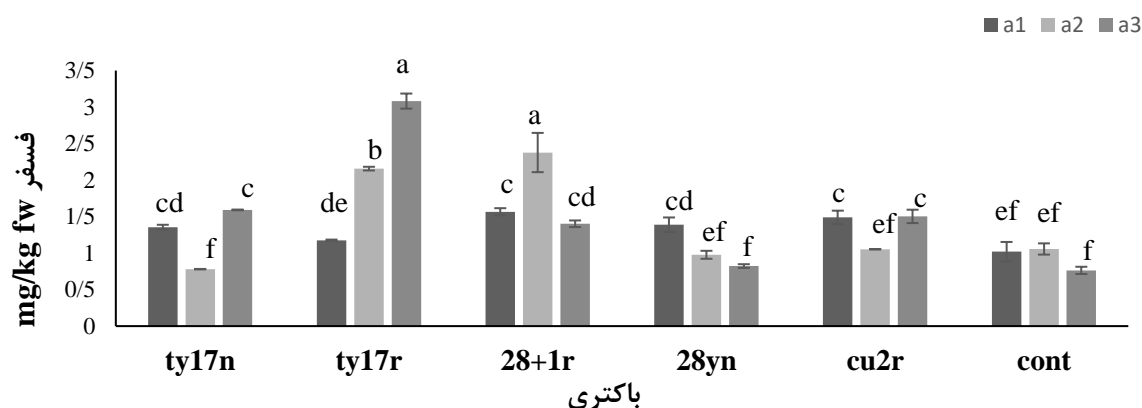
۴-۲-۱۳- اثر استرپتومایسس بر میزان عنصر فسفر موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان عنصر فسفر در میوه، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۵) نشان داد که بیشترین میزان عنصر فسفر میوه خیار مربوط به سویه ic6 (۳۱۴/۱۷) میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۱۷/۱۸) میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی yazd7، ic6 و ss12 و ss14 (۴۰۵/۱۲) ، ۳۸۳/۰۹ ، ۲۵۰/۸۹ ، ۱۹۸/۱۴ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۲۴/۸۶) میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی yazd7 و ic6 و ss12 (۴۶۲/۲۲) ، ۳۱۷/۶۱ ، ۳۷۹/۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۵۰) میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی ss14 و yazd7 (۴۵۱/۹۲) ، ۴۰۹/۹۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۳۵۷/۱۴) میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) است.



شکل ۴-۲۵ اثر سویه‌های استریپتوماایسس بر میزان فسفر موجود در میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌داری است.

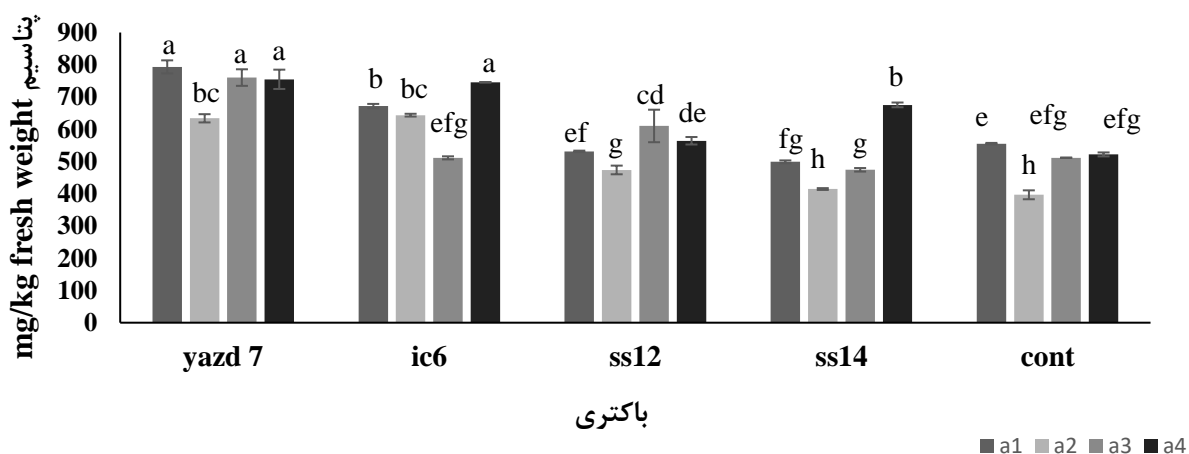
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۷) نشان داد که اثر سویه‌های استریپتوماایسس و سه سطح کودی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان عنصر فسفر در میوه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۶) نشان داد بیشترین میزان عنصر فسفر در میوه گوجه فرنگی مربوط به سویه‌های ty17n، 28yn، cu2r، 28+1r (۱/۵۶، ۱/۴۸، ۱/۳۸، ۱/۳۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱/۰۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، سویه‌های ty17r، 28+1r (۲/۳۷، ۲/۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱/۰۵۶ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، سویه‌های ty17n، ty17r، cu2r، 28+1r (۳/۰۸، ۱/۵۹، ۱/۴۰، ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۷۶ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) هستند.



شکل ۴-۲۶ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فسفر موجود در میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%، a3:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17r و ty17n هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

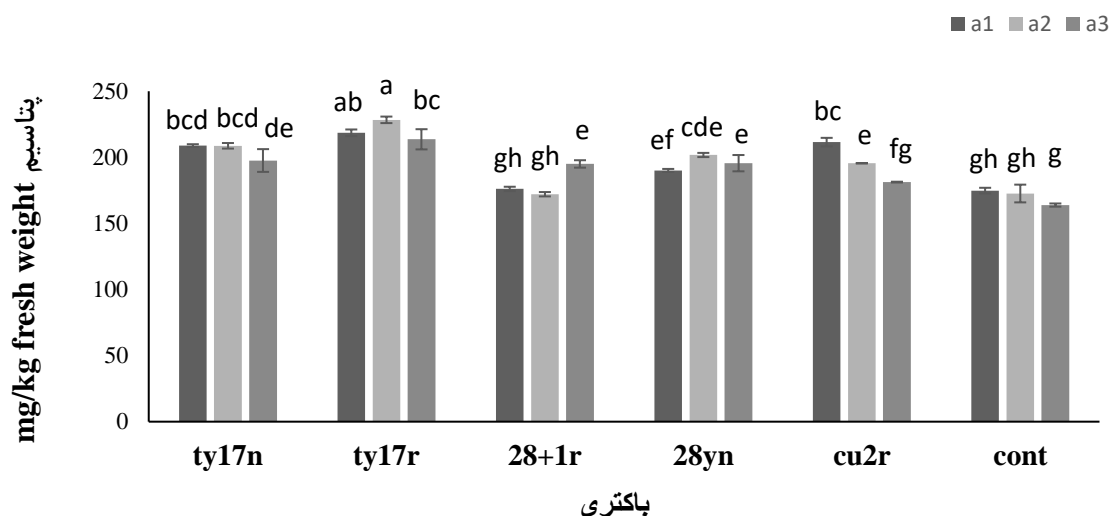
۴-۲-۱۴ اثر استرپتومایسس بر میزان عنصر پتاسیم موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان عنصر پتاسیم میوه، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۷) نشان داد که بیشترین میزان عنصر پتاسیم میوه خیار مربوط به سویه yazd7، ic6 (۷۹۳/۵۶، ۶۷۱/۹۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۵۵/۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی ic6، yazd7، ss12، ۶۴۳/۶۶، ۶۳۶/۹۵، ۴۷۳/۷۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۳۹۶/۶۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی yazd7، ss12 (۷۶۰/۲۷، ۶۱۰/۱۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۱۱/۵۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، تیمار باکتریایی yazd7، ic6، ss14 (۷۴۵/۶، ۷۵۴/۸۵، ۶۷۵/۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۲۱/۹۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) است.



شکل ۴-۲۷ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان پتاسیم موجود در میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۷) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و سه سطح کودی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان عنصر پتاسیم میوه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۲۸) نشان داد بیشترین میزان عنصر پتاسیم در میوه گوجه فرنگی مربوط به سویه‌های ty17n، ty17r، 28yn، 28r، 218/59، 208/85، 190/06، 211/46 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۷۴/۸۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، سویه‌های ty17r، ty17n، 28yn، 28r، 228/35، 208/72، 201/75، 195/49 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۷۲/۶۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه)، سویه‌های ty17r، ty17n، 28+1r، 28yn، 213/63، 197/58، 194/98، 195/57 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۶۳/۸۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر میوه) هستند.



شکل ۴-۲۸ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان پتاسیم موجود در میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%، a3:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

بحث اثر استرپتومایسس بر عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم موجود در خیار و گوجه فرنگی

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که استفاده از سویه‌های yazd7 و ic6 به همراه چهار سطح کود شیمیایی و سویه ss14 به همراه صفر، ۷۵ و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی در گیاه خیار و استفاده از سویه‌ی 28+1r به همراه ۷۵ درصد کود شیمیایی در گوجه فرنگی موجب افزایش میزان عنصر نیتروژن میوه در آن‌ها شد. همچنین استفاده از سویه yazd7 با ۷۵ درصد کود شیمیایی در گیاه خیار و استفاده از سویه‌های ty17n، cu2r و 28yn به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی و سویه ty17r به همراه ۷۵ درصد کود شیمیایی و سویه 28+1r به همراه ۵۰ و ۷۵ درصد کود شیمیایی در گیاه گوجه فرنگی نسبت به حالتی که گیاهان تنها کود شیمیایی در سطوح مختلف دریافت کردند، موجب افزایش میزان عنصر فسفر میوه در دو گیاه شد. در ادامه نتایج نشان داد که استفاده از سویه yazd7 به همراه چهار سطح کودی و سویه ic6 به همراه سه سطح کودی صفر، ۵۰ و ۱۰۰ درصد و سویه ss12 به همراه ۷۵ درصد کود شیمیایی در گیاه خیار و استفاده از سویه‌های ty17n، ty17r و 28yn به همراه سه سطح کودی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد و سویه cu2r به همراه ۵۰ و ۷۵ درصد

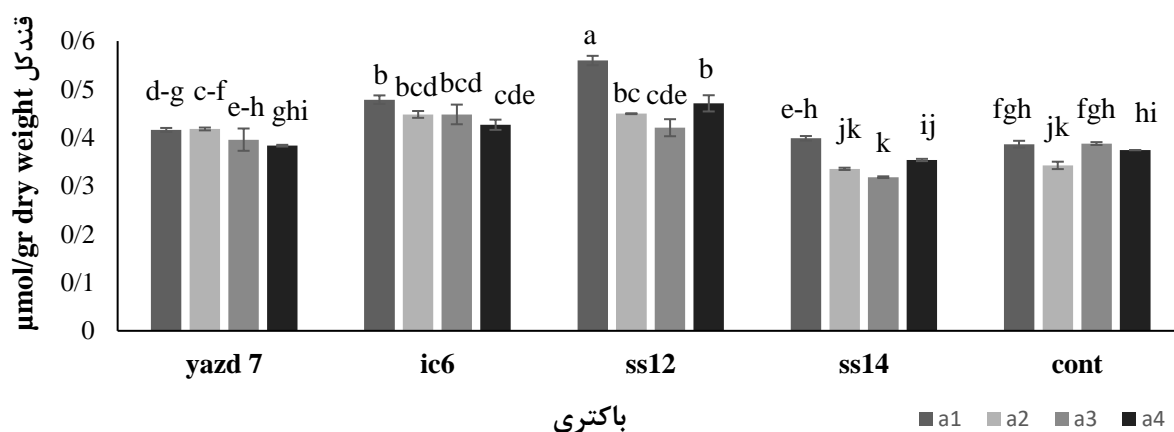
کود شیمیایی در گیاه گوجه فرنگی، موجب افزایش میزان پتاسیم میوه دو گیاه شدند. تنها استفاده از سویه‌ی yazd7 با مصرف ۷۵ درصد کود شیمیایی در خیار نسبت به زمانی که بوته‌ها فقط با کود شیمیایی در سطوح مختلف تیمار شدند، موجب افزایش میزان عنصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در میوه آن شد. همچنین محققان گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد با استفاده از مکانیسم‌های خاصی اثرات مضر بیمارگرهای گیاهی را تعدیل نموده و از این طریق موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند. اما در روش مستقیم، این باکتری‌ها با تثبیت آزادزی نیتروژن، تولید متابولیت‌های موثر در رشد گیاه، مانند هورمون‌های گیاهی (اکسین، سیتوکینین، جیبرلین)، افزایش حلالیت ترکیبات نامحلول مثل فسفر و پتاسیم از طریق تولید اسیدهای معدنی و آلی، تولید سیدروفورها و افزایش فراهمی عناصر کم مصرف بویژه آهن و تولید آنزیم Acc دامیناز موثر در کاهش اثرات سوء اتیلن تنشی، به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند (Mayak, S et al., 1999). میکروارگانیسم‌ها با تولید متابولیت‌های اولیه و ترشح در خاک قادرند بر ترکیب‌های آلی و معدنی فسفات‌ها اثر بگذارند و موجب آزاد شدن فسفر و حل شدن آن در خاک شوند (Dadrawal., 1977). به طور کلی، توانایی حل کنندگی فسفات گزارش شده برای استرپتومایس‌ها در دامنه مقادیر گزارش شده برای سایر میکروارگانیسم‌ها از جمله سودوموناس و باسیلوس‌ها می‌باشد (Nasrabadi et al., 2013). احتشامی و همکاران (۲۰۰۷) اثر تلقیح بذر با باکتری حل کننده فسفات *Pseudomonas fluorescens* و مقادیر مختلف کود فسفر نسبت به مقدار توصیه شده بر دو رقم جو را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که استفاده هم‌زمان باکتری حل کننده فسفات و کود شیمیایی فسفره سبب افزایش عملکرد جو و غلظت فسفر می‌شود. برخی مطالعات نیز نشان داده اند که باکتری‌های PGPR، به ویژه استرپتومایس‌ها، می‌توانند عملکرد گیاه را در شرایط تنش از طریق افزایش قابلیت جذب عناصر و تولید هورمون‌های گیاهی افزایش دهند. در این ارتباط، صادقی و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که استفاده از مایه تلقیح استرپتومایسس در شرایط شور و غیر شور، سبب افزایش معنی‌دار درصد جوانه زنی، رشد و توسعه گیاه، وزن خشک شاخساره و غلظت نیتروژن، فسفر، آهن و منگنز گردید. در واقع میکروبی‌های حل کننده فسفات، تأثیر مهمی در تغذیه گیاه از طریق افزایش

جذب فسفات و استفاده از آنها به عنوان کودهای بیولوژیک دارند (Dastager & Damare, 2013; Mahajan *et al.*, 2016). لاواکوش و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که بین نوع باکتری محرک رشد و مقدار کود فسفر برهم کنش معنی داری از نظر رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی مختلف در برنج وجود دارد. یافته‌های آنها نشان داد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد موجب کاهش مقدار فسفر کودی مورد نیاز برای تولید مقدار معینی از محصول می‌شود. قورچیان و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر معنی دار مایه زنی با باکتری حل کننده فسفات و کود فسفر را بر اجزای عملکرد، عملکرد دانه و زیست توده ذرت گزارش کردند. در آزمایش آنها، بر هم کنش معنی داری بین کود فسفر و باکتری برای بیشتر اجزای عملکرد به استثنای وزن دانه و تعداد ردیف دانه در بلال مشاهده نشد. بیگزاده و همکاران (۱۳۹۰) نیز اثر معنی دار باکتری حل کننده فسفات و مقدار کود فسفر را بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه ذرت گزارش کردند. با توجه به نتایج پژوهش‌های قبلی و نتایج به دست آمده مشخص شد که سویه‌های این تحقیق موجب افزایش عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در دو گیاه خیار و گوجه فرنگی شدند.

۴-۲-۱۵- اثر استرپتومایسس بر میزان قند کل موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی

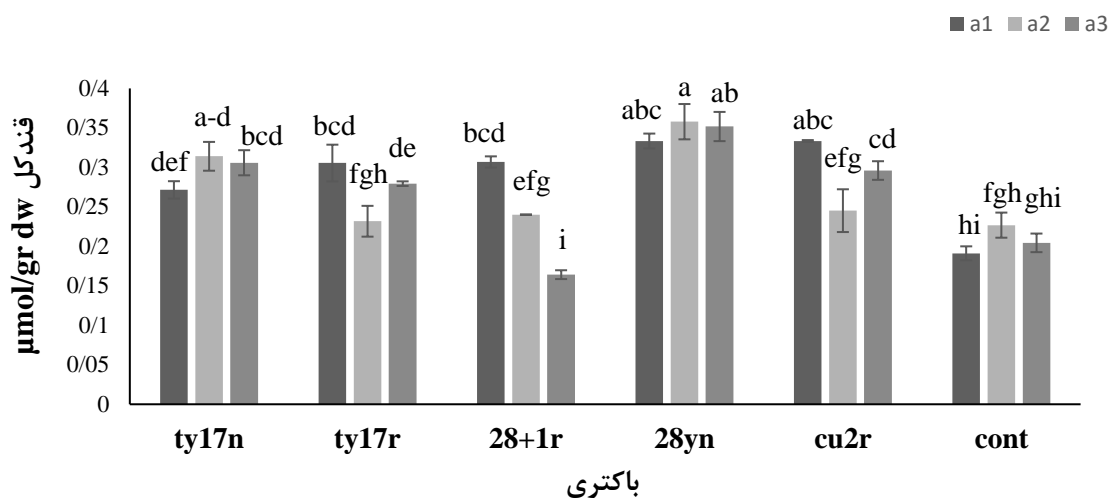
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۴) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و چهار سطح کودی صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان قند کل میوه، در سطح ۱٪ معنی دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۰) نشان داد که بیشترین میزان قند کل میوه خیار مربوط به سویه ic6، ss12، ۰/۵۵، ۰/۴۷ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی صفر درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۳۸ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، تیمار باکتریایی ic6، ss12 و yazd7 (۰/۴۴، ۰/۴۴ و ۰/۴۱ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۳۴ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، تیمار باکتریایی ic6 و ss12 (۰/۴۴ و ۰/۴۲ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۳۸ میکرومول بر گرم وزن خشک

میوه)، تیمار باکتریایی ss12 و ic6 (۰/۴۷ و ۰/۴۲ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۳۷ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) است.



شکل ۴-۲۹ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند کل موجود در میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:0%، a2:50%، a3:75%، a4:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

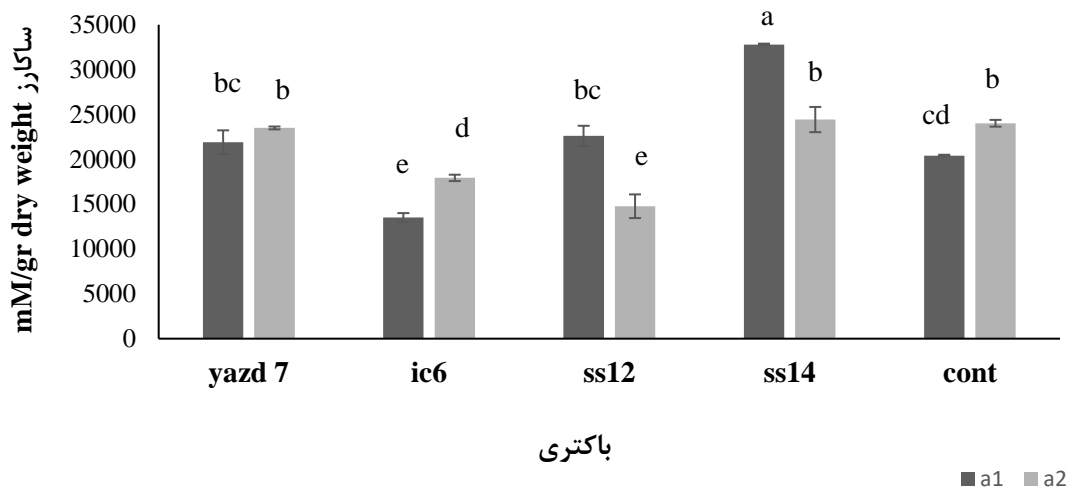
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۸) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و سه سطح کودی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد بر میزان قند کل موجود در میوه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۰) نشان داد بیشترین میزان قند کل موجود در گوجه فرنگی مربوط به سویه‌های ty17n، ty17r، 28+1r، 28yn، cu2r (۰/۳۳، ۰/۳۰، ۰/۳۰، ۰/۲۷ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۱۹ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، سویه‌های ty17n، 28yn (۰/۳۵، ۰/۳۱ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۲۲ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، سویه‌های 28yn، ty17r، cu2r، ty17n (۰/۳۵، ۰/۳۰، ۰/۲۹، ۰/۲۷ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۰/۲۰ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) هستند.



شکل ۴-۳۰ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند کل در میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%، a3:100%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب 10^8 و 10^7 و سویه 28+1r و cu2r غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت 10^8 است.

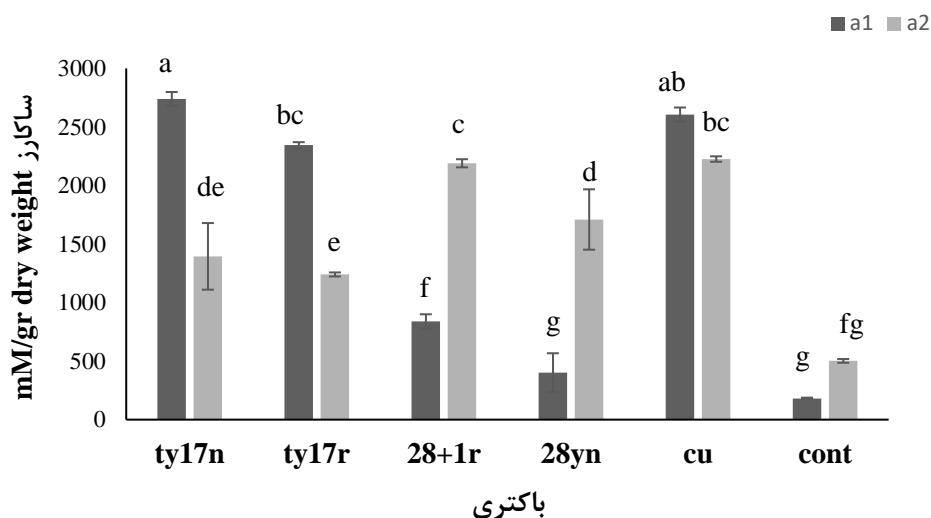
۴-۲-۱۶- اثر استرپتومایسس بر میزان قند ساکارز موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۲) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد بر میزان قند ساکارز میوه، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۱) نشان داد که بیشترین میزان قند ساکارز میوه خیار مربوط به سویه ss14 در سطح کودی صفر درصد (۳۲۷۹۴/۱۲) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۰۴۰۹/۳۱) است.



شکل ۴-۳۱- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند ساکارز موجود در میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:50% ، a2:75%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

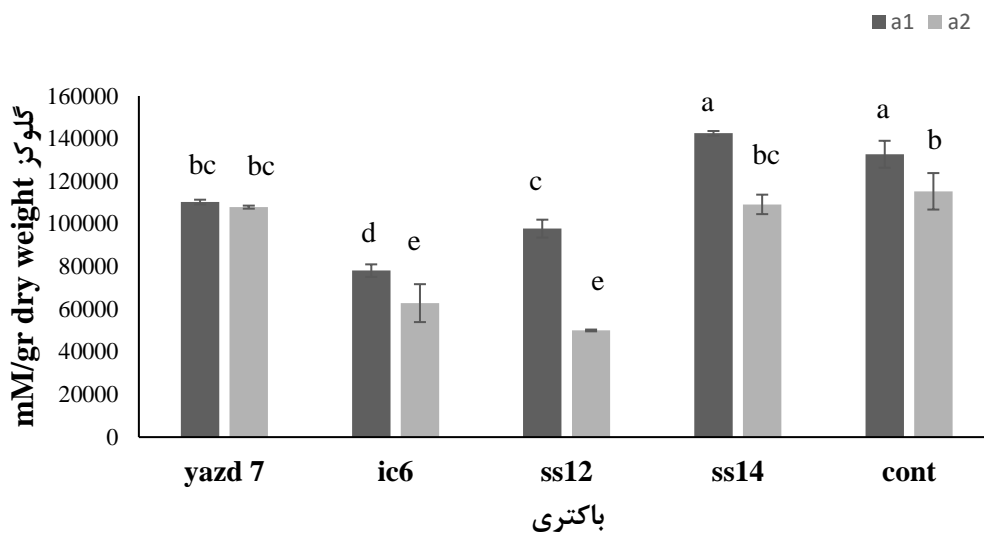
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۰) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد بر میزان قند ساکارز موجود در میوه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۲) نشان داد بیشترین میزان قند ساکارز موجود در گوجه فرنگی مربوط به سویه‌های (cu2r، 28+1r، ty17r، ty17n، ۲۷۳۹/۴۱، ۲۳۴۴/۰۵، ۸۳۹/۶۱، ۲۶۰۵/۸۶ میلی‌مولار بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۸۱/۰۴ میلی‌مولار بر گرم وزن خشک میوه)، سویه‌ی (cu2r، ty17n، ty17r، 28+1r، 28yn، ۲۲۲۵/۷۰، ۱۳۹۴/۵۱، ۱۲۴۰/۱، ۲۱۸۹/۶۰، ۱۷۰۹/۳۱ میلی‌مولار بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۰۱/۷۹ میلی‌مولار بر گرم وزن خشک میوه)، هستند.



شکل ۴-۳۲- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر قند ساکارز میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50% و a2:75% و 0%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هردو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب 10^7 و 10^8 و سویه 28+1r و cu2r (cu) غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت 10^8 است.

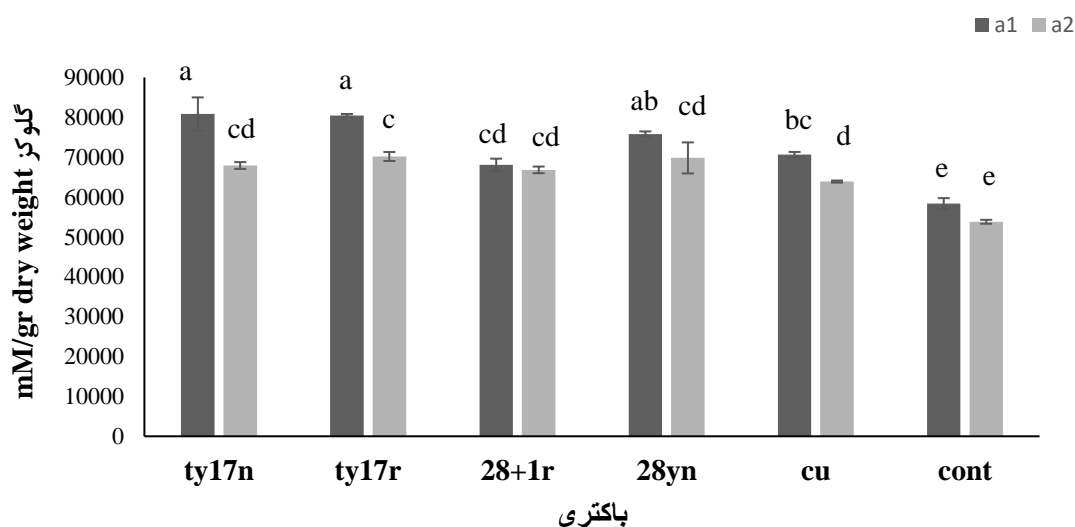
۴-۲-۱۷- اثر استرپتومایسس بر میزان قند گلوکز موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۲) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد بر میزان قند ساکارز میوه، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۳) نشان داد که سویه‌های ic6 و ss12 موجب کاهش میزان قند گلوکز موجود در میوه خیار در دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد، شد.



شکل ۴-۳۳- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند گلوکز موجود در میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

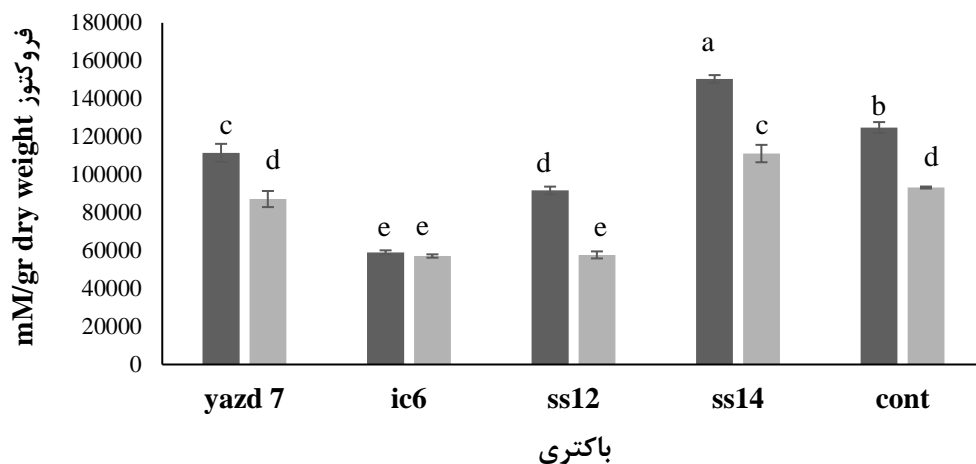
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۰) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد بر میزان قند گلوکز موجود در میوه گوجه فرنگی در سطح ۵٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۴) نشان داد بیشترین میزان قند گلوکز موجود در گوجه فرنگی مربوط به سویه‌های ty17n، ty17r، 28+1r، 28yn، cu2r (۸۰۸۴۰/۱۳، ۸۰۴۸۸/۵۴، ۶۸۱۱۰/۶۲، ۷۵۸۲۶، ۷۰۶۴۷/۱۴ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۸۳۶۶/۶۶ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، سویه‌ی ty17r، ty17n، 28+1r، 28yn، cu2r (۷۰۱۷۸/۹۴، ۶۷۹۲۰/۸۰، ۶۶۸۲۰/۰۲، ۶۹۸۱۵/۷۹، ۶۳۸۸۰/۱۸ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۷۵ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۵۳۸۰۱/۴۳ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، هستند.



شکل ۴-۳۴ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند گلوکز موجود در میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17r و ty17n هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu (غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

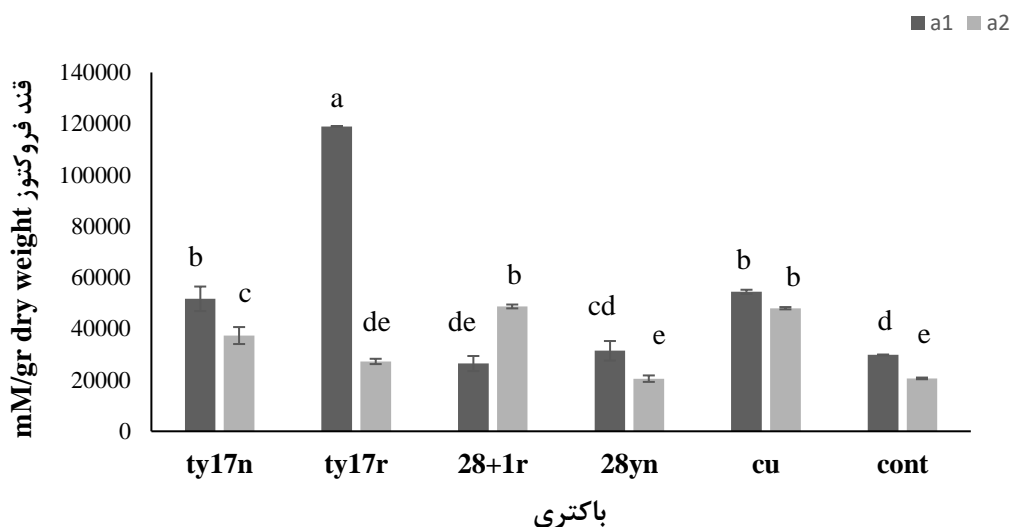
۴-۲-۱۸- اثر استرپتومایسس بر میزان قند فروکتوز موجود در میوه خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۲) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد بر میزان قند فروکتوز در میوه، در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۵) نشان داد که بیشترین میزان قند فروکتوز میوه خیار مربوط به سویه ss14 (۱۵۰۴۵۶/۴۳ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۱۲۴۸۵۴/۲۷ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، سویه ss14 در سطح کودی ۷۵ درصد (۱۱۱۱۳۳/۴۳ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۹۳۲۳۲/۲۷ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) است. سویه‌های ic6 با ۵۰ و ۷۵ درصد کود شیمیایی و ss12 با ۷۵ درصد کود شیمیایی موجب کاهش میزان قند فروکتوز در خیار شدند.



شکل ۴-۳۵ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند فروکتوز موجود در میوه خیار در سطوح کودی مختلف (a1:50%، a2:75%). حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۰) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس و دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد بر میزان قند فروکتوز موجود در میوه گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۶) نشان داد بیشترین میزان قند فروکتوز موجود در گوجه فرنگی مربوط به سویه‌های ty17n، ty17r، cu2r (۱۱۸۹۸۴/۳۵، ۵۱۶۷۸/۸۱، ۵۴۴۱۸/۱۵ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) در سطح کودی ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۹۷۸۸/۶۴ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، سویه‌های 28+1r، ty17n، cu2r در سطح کودی ۷۵ درصد (۴۸۷۰۸/۸۶، ۳۷۳۵۳/۴۷، ۴۸۰۱۹/۸۳ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه) نسبت به شاهد بدون باکتری خود (۲۰۶۳۳/۶۸ میکرومول بر گرم وزن خشک میوه)، هستند.



شکل ۴-۳۶ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان قند فروکتوز در میوه گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف (a1:50%؛ a2:75%)، حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. Ty17n و ty17r هر دو سویه یکسان هستند با غلظت به ترتیب ۱۰^۸ و ۱۰^۷ و سویه 28+1r و cu2r (cu) غلظت ۱۰^۷ دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است.

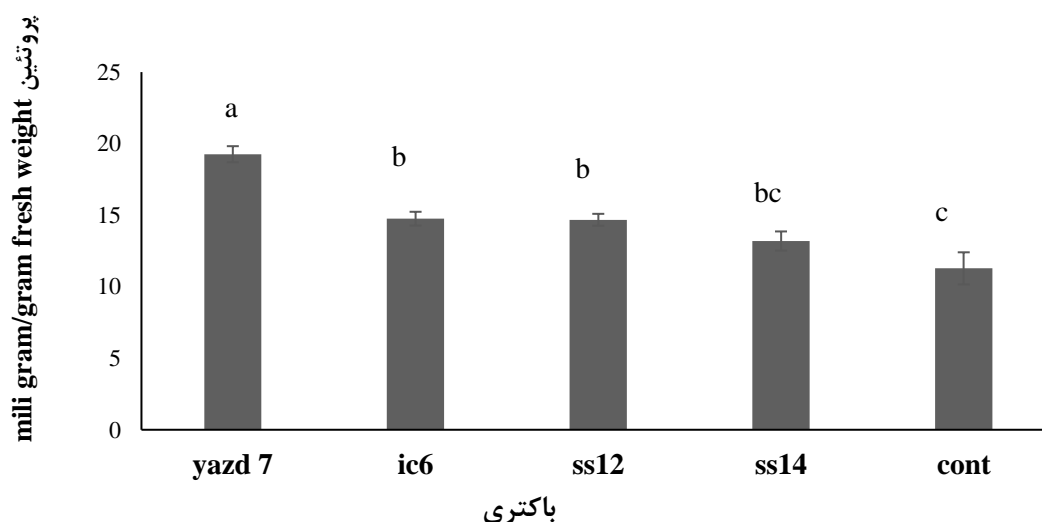
نتایج نشان داد که استفاده از سویه‌های ss12 و ic6 به همراه چهار سطح کودی موجب افزایش میزان قند کل در خیار شد. سویه‌ی ss14 با کود شیمیایی ۵۰ درصد موجب شد میزان قند جزء ساکارز افزایش و با مصرف دو سطح کودی ۵۰ و ۷۵ درصد میزان قند جزء فروکتوز نیز افزایش یابد. میزان قند کل گوجه فرنگی توسط سویه‌های ty17n و 28yn به همراه مصرف سه سطح کود شیمیایی ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد و سویه‌های ty17r و cu2r به همراه دو سطح کودی ۵۰ و ۱۰۰ درصد و سویه‌ی 28+1r با سطح کودی ۵۰ درصد افزایش یافت. همچنین قند جزء ساکارز در گوجه فرنگی توسط سویه‌های ty17n و ty17r به همراه مصرف کود شیمیایی ۵۰ و ۷۵ درصد و سویه‌های 28yn و 28+1r با ۷۵ درصد کود شیمیایی افزایش یافت. میزان قند جزء گلوکز در گوجه فرنگی توسط تمامی سویه‌های استرپتومایسس با مصرف ۵۰ و ۷۵ درصد کود شیمیایی افزایش یافت. و استفاده از سویه‌های ty17n و cu2r به همراه مصرف ۵۰ و ۷۵ درصد کود شیمیایی و سویه‌های ty17r با ۵۰ درصد کود شیمیایی و 28+1r و ۷۵ درصد کود شیمیایی موجب افزایش قند جزء فروکتوز در گوجه فرنگی شد. چین سامی و همکاران ۲۰۱۳ نیز مشاهده کردند که کاربرد عصاره ورمی کمپوست به همراه استرپتومایسس

از طریق افزایش غلظت پرولین و قندهای محلول برگ گوجه فرنگی، باعث بهبود رشد گیاه گردید. ظفری و همکاران (۱۳۹۴) گزارش کردند که تولید پرولین و قندهای محلول در اثر استفاده از باکتری های محرک رشد در گیاه یونجه افزایش پیدا کرده است. مایه زنی گیاه گوجه فرنگی با باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه موجب افزایش قند میوه در گیاه گوجه فرنگی گردید (سلطانی طولارود ۱۳۹۳). نتایج محققان و نتایج به دست آمده از تحقیق همسویی دارد.

۳-۴- بررسی نتایج و بحث حاصل از کشت بیان ژن در خیار و گوجه فرنگی

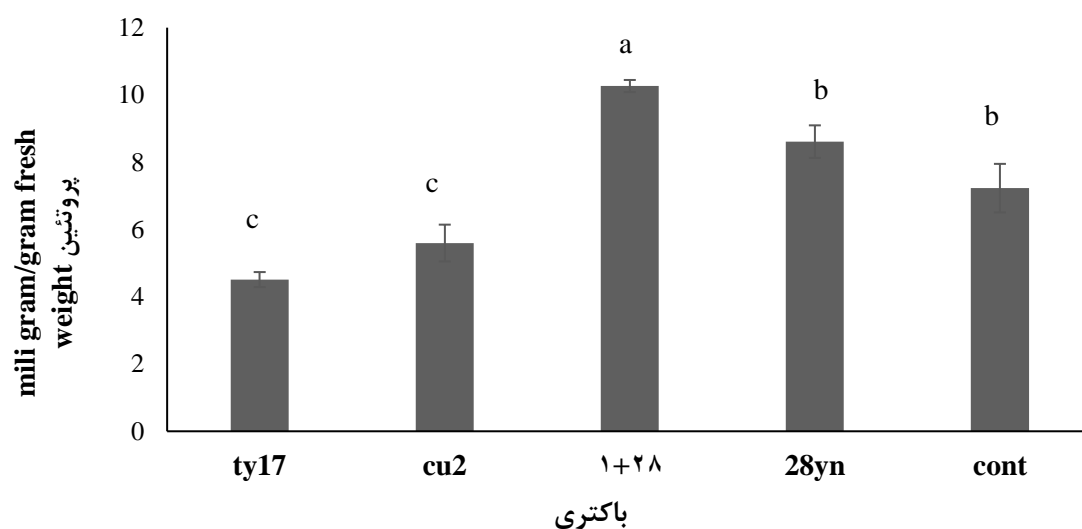
۳-۴-۱- اثر استرپتومایسس بر میزان پروتئین محلول در برگ خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۳) نشان داد که اثر سویه های استرپتومایسس بر میزان پروتئین محلول در برگ خیار در سطح ۱٪ معنی دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین ها (شکل ۴-۳۷) نشان داد که سویه های ss12، ic6، yazd7، ۱۹/۲۶، ۱۴/۷۵، ۱۴/۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) پروتئین موجود در برگ خیار را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۱۱/۲۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) افزایش داد.



شکل ۴-۳۷-مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس پس از یک هفته تلقیح بر میزان پروتئین محلول در برگ خیار. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

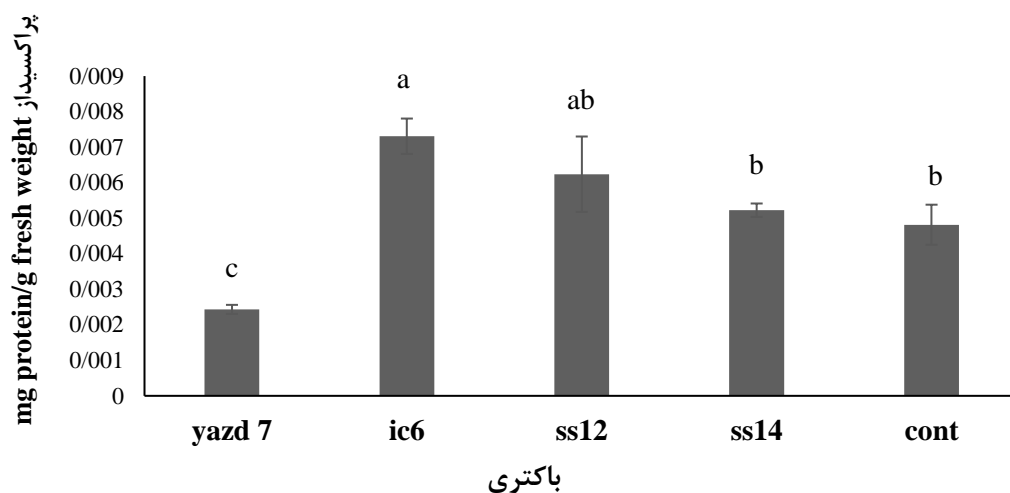
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۳) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان پروتئین محلول در برگ گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۸) نشان داد که سویه‌ی 28+1r (۱۰/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) پروتئین موجود در برگ گوجه فرنگی را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۷/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) افزایش داد. اما سویه‌های ty17، cu2r (۵/۵۹ و ۴/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) پروتئین موجود در برگ گوجه فرنگی را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۷/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) کاهش داد.



شکل ۴-۳۸-مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس پس از یک هفته تلقیح بر میزان پروتئین محلول در برگ گوجه فرنگی. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28+1r و cu2r با غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت 10^8 است.

۴-۳-۲- اثر استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار و گوجه فرنگی

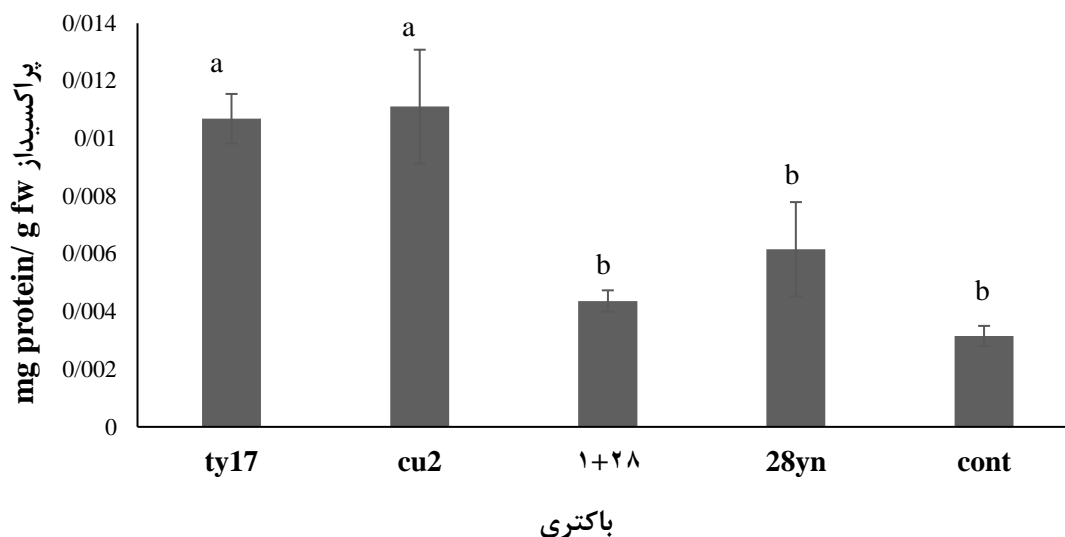
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۳) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۳۹) نشان داد که سویه‌ی ic6 (۰/۰۰۷ میلی‌گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۰/۰۰۴ میلی‌گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) افزایش داد. اما سویه‌ی yzd7 (۰/۰۰۲ میلی‌گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۰/۰۰۴ میلی‌گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) کاهش داد.



شکل ۴-۳۹-مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار پس از یک هفته تلقیح. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۳) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۰) نشان داد که سویه‌های ty17 و cu2 (۰/۰۱۰ و ۰/۰۱۱ میلی‌گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ)

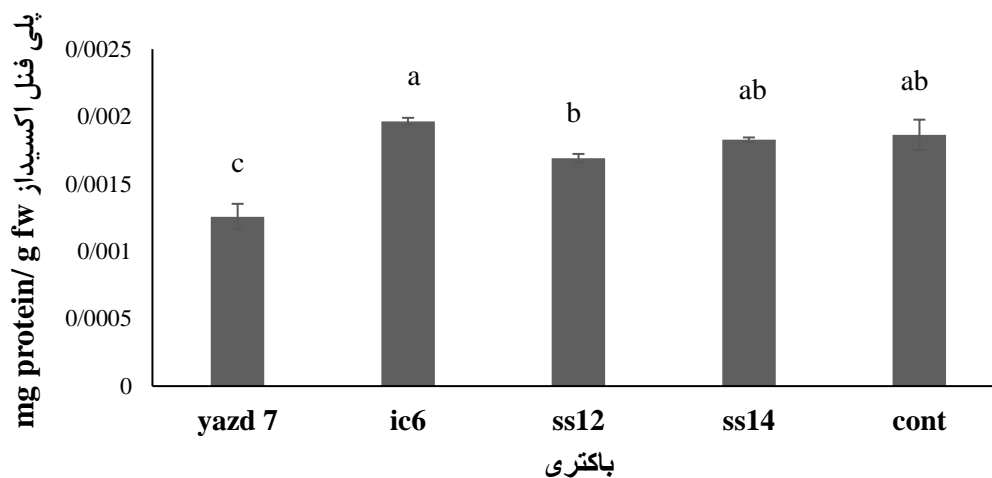
فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ گوجه فرنگی را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۰/۰۰۳ میلی گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) افزایش داد.



شکل ۴-۴۰- مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری است. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28+1r و cu2r غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yzd28 با غلظت 10^8 است.

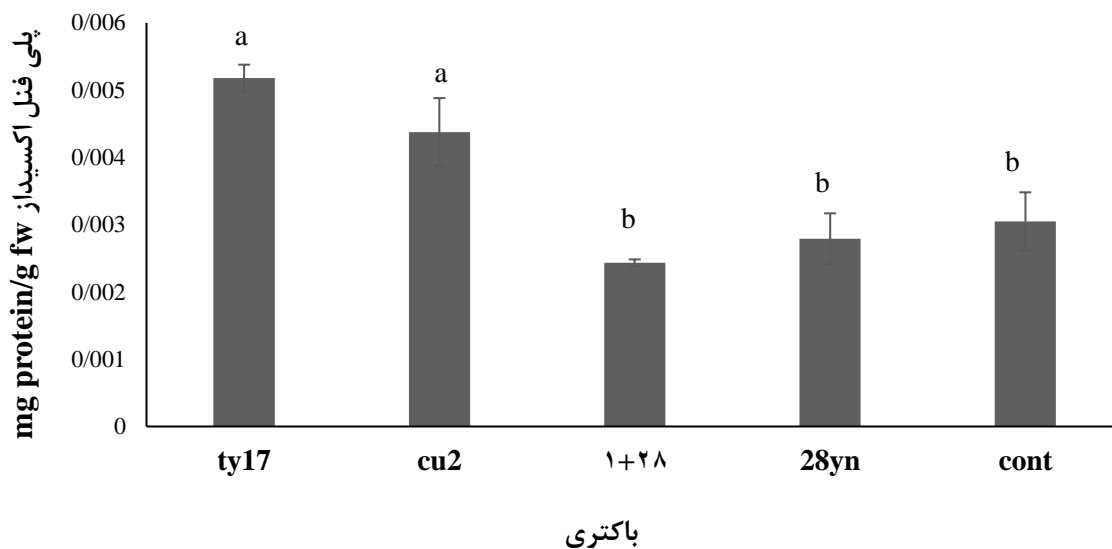
۴-۳-۳- اثر استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۳) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ خیار در سطح ۱٪ معنی دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۱) نشان داد که سویه‌ی yzd7 (۰/۰۰۱۲ میلی گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ خیار را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۰/۰۰۱۸ میلی گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) کاهش داد.



شکل ۴-۴۱- مقایسه میانگین اثر سویه های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ خیار پس از یک هفته تلقیح. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۳) نشان داد که اثر سویه های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین ها (شکل ۴-۴۲) نشان داد که سویه های ty17 و cu2r (۰/۰۰۵۱ و ۰/۰۰۴۳ میلی گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ گوجه فرنگی را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۰/۰۰۳۰ میلی گرم پروتئین بر هر گرم وزن تر برگ) کاهش داد.



شکل ۴-۲۲-مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28+1r و غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yzd28 با غلظت 10^8 است.

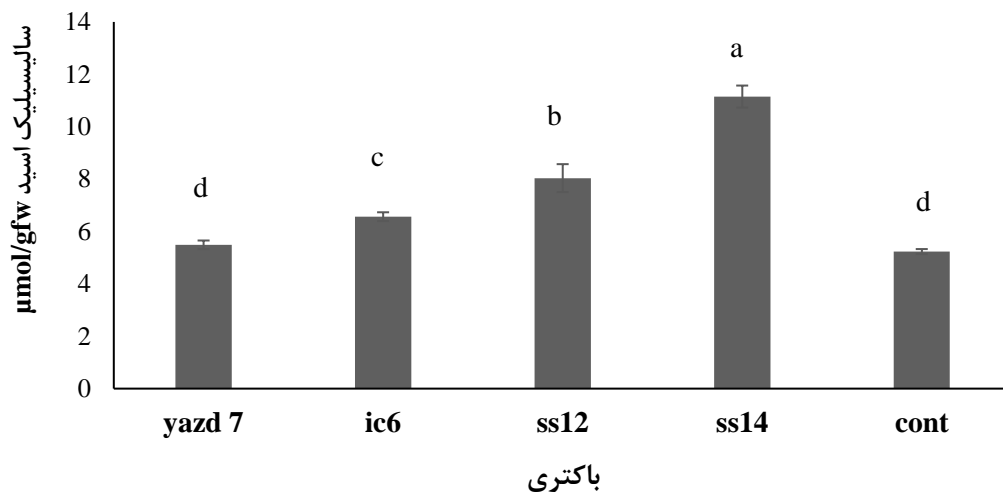
بحث اثر استرپتومایسس بر میزان پروتئین و فعالیت آنزیمی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز

باتوجه به نتایج به دست آمده از تحقیق مشخص شد که استفاده از سویه‌های yzd7، ss12، ic6 پروتئین محلول در برگ خیار را به میزان ۴۱ (yzd7) و ۲۳ (ic6، ss12) درصد پس از یک هفته تلقیح، افزایش داد. همچنین سویه‌ی 28+1r موجب افزایش ۲۹/۶ درصدی و سویه‌های ty17 و cu2 موجب کاهش ۳۹/۹ و ۲۹ درصدی میزان پروتئین محلول در برگ گوجه فرنگی شدند. در طی تحقیقی مشخص شد که تلقیح بذرهای کلزا با باکتری‌های ازتوباکتر و استرپتومایسس موجب افزایش پروتئین کلزا در مقایسه با تیمارهای بدون تلقیح با باکتری و همچنین افزایش تجمع عناصر غذایی در دانه در مقایسه با تیمارهای بدون کود شیمیایی گردید (یساری و همکاران ۲۰۰۹). باتوجه به تحقیقات قبلی که نشان داد باکتری محرک رشد موجب افزایش میزان پروتئین شد، نتایج به دست آمده هم نشان داد که سویه‌های استرپتومایسس yzd7، ss12، ic6 و سویه‌ی 28+1r موجب افزایش پروتئین در خیار و گوجه فرنگی شدند.

نتایج نشان داد که استفاده از سویه‌ی ic6 موجب شد تا میزان فعالیت آنزیمی ۴۲/۸۵ درصد در برگ خیار افزایش یابد و همچنین سویه‌ی yazd7 میزان فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار را دو برابر کاهش داد. در ادامه تحقیق مشخص شد که سویه‌های ty17 و cu2 فعالیت آنزیمی پراکسیداز در برگ خیار را ۶۰ و ۷۲ درصد افزایش دادند. طبق نتایج مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز در گیاه خیار نسبت به زمانی که گیاه با سویه‌های /استرپتومایسس تلقیح نشده بود، توسط سویه‌ی yazd7 به میزان ۳۳ درصد کاهش یافت اما سایر سویه‌ها در میزان فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز تغییری ایجاد نکردند. اما در گیاه گوجه فرنگی مشخص شد که سویه‌های ty17 و cu2 به میزان ۴۱/۱۷ و ۳۰/۲۳ درصد موجب افزایش فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز شدند. ثقفی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند باکتری‌های محرک رشد با تغییر در ساختار سیستم ریشه‌ای سبب بهبود جذب عناصر غذایی، تخصیص کربوهیدرات‌ها به ریشه، کاهش فعالیت پراکسیداز ریشه و سنتز پروتئین‌های جدید شده و در نتیجه سبب تحریک رشد گیاه ریحان می‌شوند. همچنین در تحقیقی مشخص شد که افزایش قابل توجه آنزیم‌های آنتی اکسیدانی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گوجه فرنگی تیمار شده با PGPR با یا بدون پاتوژن مشاهده شد. نتایج حاصل از این آزمایش با نتایج به دست آمده از دیگر محققان هم سویی دارد.

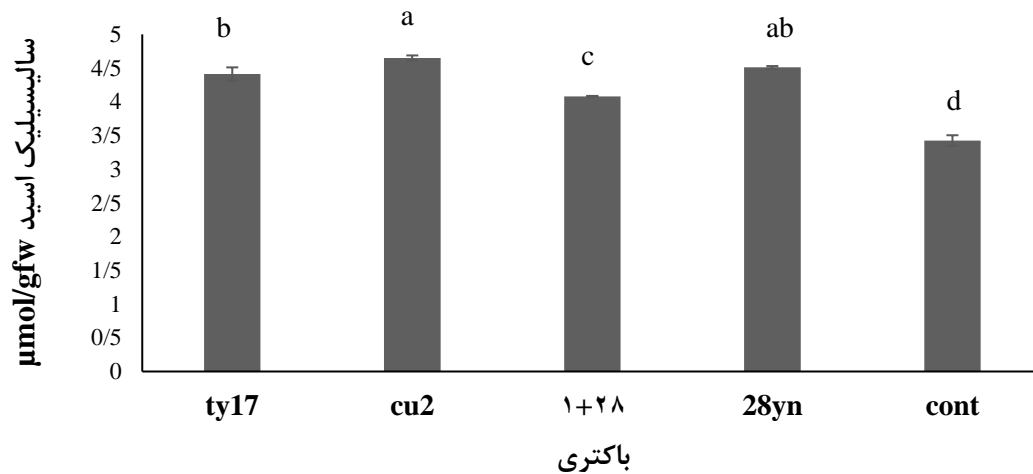
۴-۳-۴- اثر استرپتومایسس بر تولید سالیسیلیک اسید در برگ خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۵) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید سالیسیلیک اسید در برگ خیار در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۳) نشان داد که سویه‌های ic6، ss12، ss14، ۸/۰۳، ۶/۵۶، ۱۱/۱۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان تولید سالیسیلیک اسید در برگ خیار را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۵/۲۳ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) افزایش داد.



شکل ۴-۴۳- مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید سالیسیلیک اسید در برگ خیار پس از یک هفته تلقیح. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

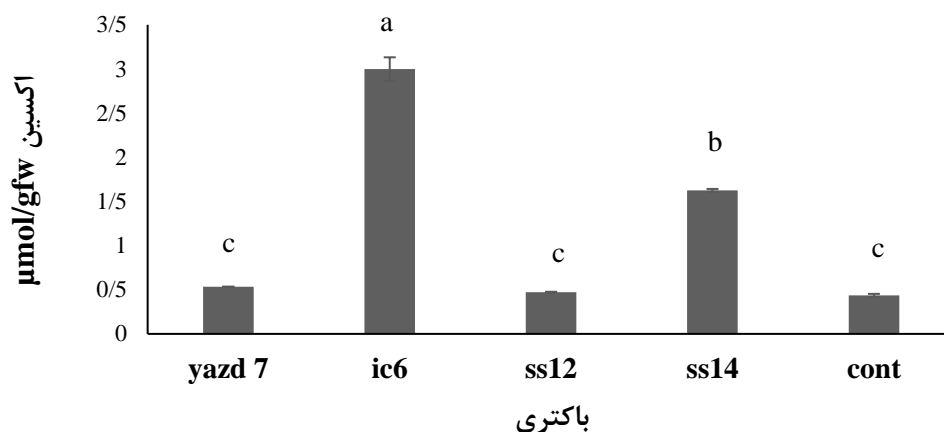
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۲) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید سالیسیلیک اسید در برگ گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۴) نشان داد که سویه‌های 28yn، 28+1r، cu2، ty17 (۴/۴۱، ۴/۶۵، ۴/۰۸، ۴/۵۱ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان تولید سالیسیلیک اسید در برگ گوجه فرنگی را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۳/۴۲ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) افزایش داد.



شکل ۴-۴۴- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون سالیسیلیک اسید در برگ گوجه فرنگی. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌داری است. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28yn و yzd28 با غلظت 10^8 است. cu2 و 28+1r و سویه 10^7 دارند.

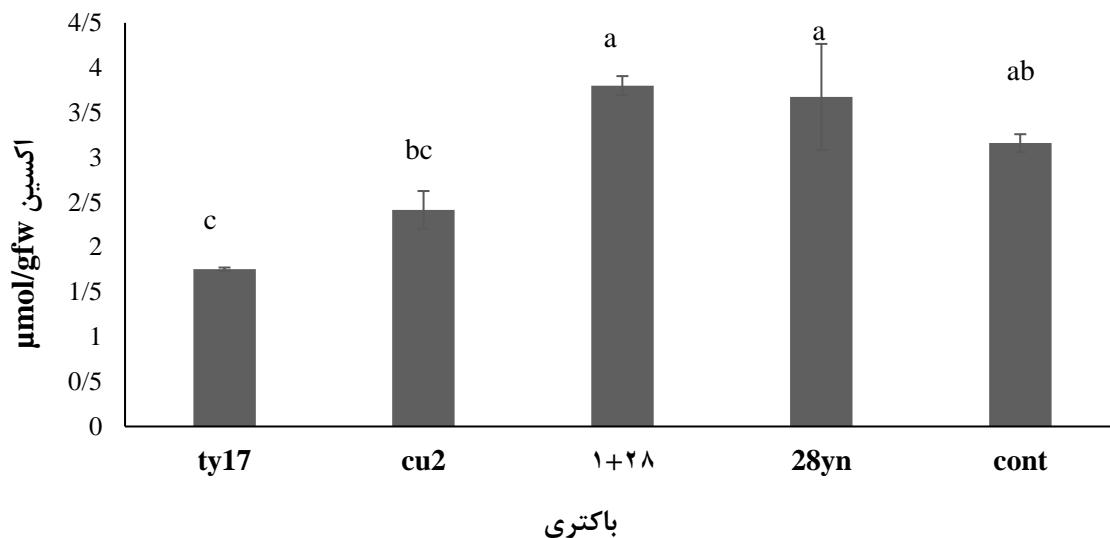
۴-۳-۵- اثر استرپتومایسس بر میزان اکسین در برگ خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۵) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید اکسین در برگ خیار در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۵) نشان داد که سویه‌های ss14، ic6، (۲/۹۹، ۱/۶۲ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان تولید اکسین در برگ خیار را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۰/۴۳ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) افزایش داد.



شکل ۴-۴۵- مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون اکسین در برگ خیار پس از یک هفته. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

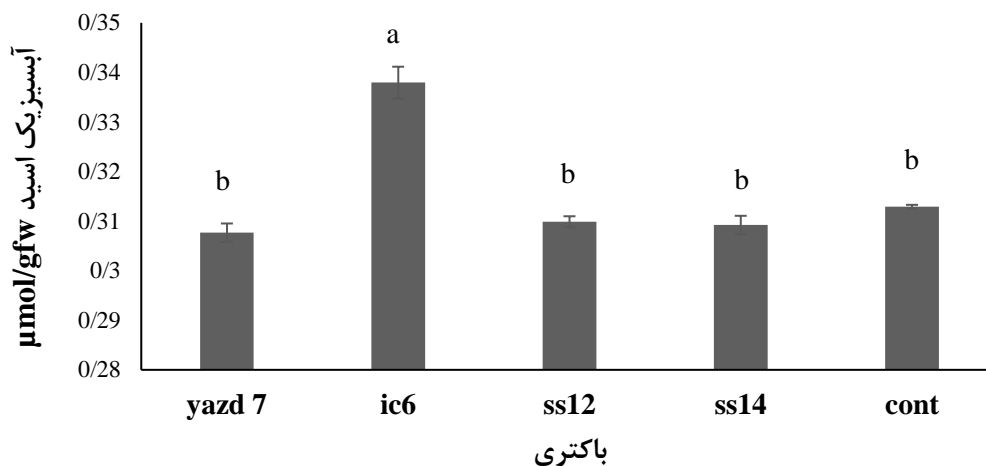
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۲) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید اکسین در برگ گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۶) نشان داد که سویه‌ی ty17 (۱/۷۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان تولید اکسین در برگ گوجه فرنگی را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۳/۱۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) کاهش داد.



شکل ۴-۴۶- اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون اکسین در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28+1r و cu2 با غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت 10^8 است.

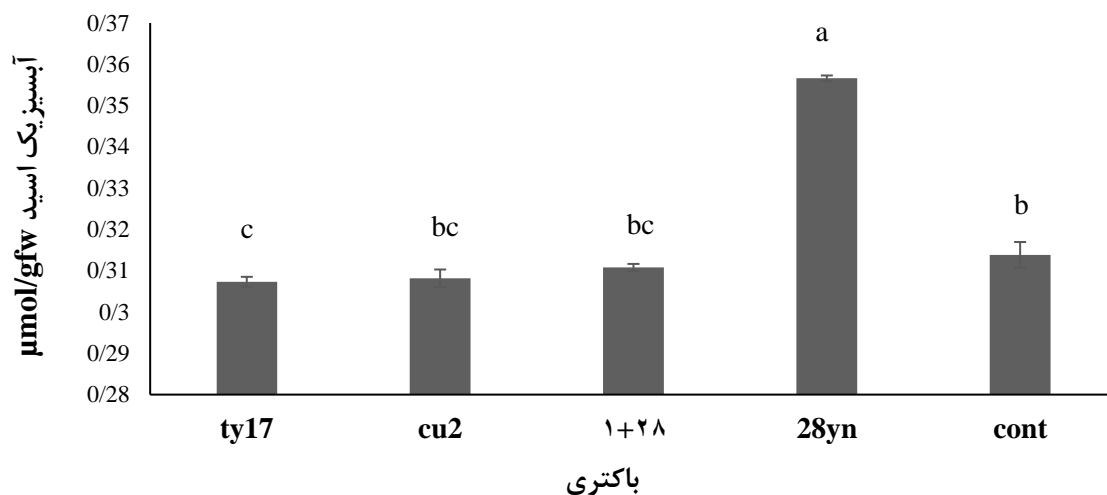
۴-۳-۶- اثر استرپتومایسس بر میزان هورمون آبسیزیک اسید در برگ خیار و گوجه فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۵) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید آبسیزیک اسید در برگ خیار در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۷) نشان داد که سویه‌ی ic6 ($0/33$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان تولید آبسیزیک اسید در برگ خیار را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری ($0/31$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) کاهش داد.



شکل ۴-۴۷-مقایسه میانگین اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون آبسیزیک اسید در برگ خیار پس از یک هفته. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول پیوست ۱۲) نشان داد که اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان تولید آبسیزیک اسید در برگ گوجه فرنگی در سطح ۱٪ معنی‌دار است. نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴-۴۸) نشان داد که سویه‌ی 28yn (۰/۳۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان تولید آبسیزیک اسید در برگ گوجه فرنگی را پس از یک هفته تلقیح نسبت به شاهد بدون باکتری (۰/۳۱ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) افزایش داد. همچنین سویه‌ی ty17 (۰/۳۰ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان تولید آبسیزیک اسید را نسبت به شاهد بدون تلقیح با باکتری (۰/۳۱ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) کاهش داد.



شکل ۴-۴۸ اثر سویه‌های استرپتومایسس بر میزان هورمون آبسزیک اسید در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28+1r و cu2 با غلظت 10^7 دارند. 28yn سویه yazd28 با غلظت 10^8 است.

بحث اثر استرپتومایسس بر میزان تولید هورمون سالیسیلیک اسید، اکسین و آبسزیک اسید

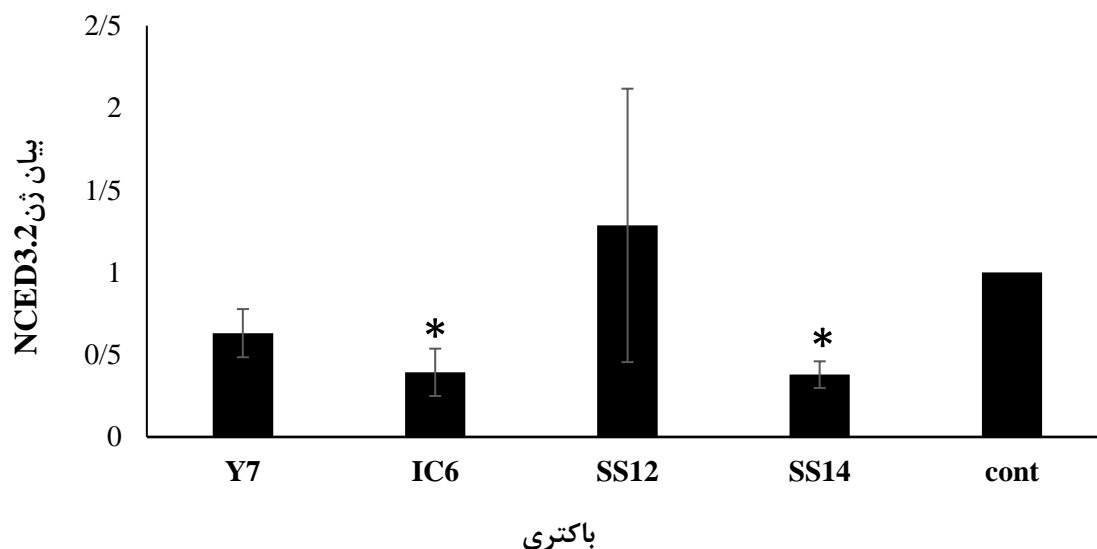
نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از سویه‌های ic6، ss12، ss14 پس از یک هفته تلقیح به ترتیب ۲۰، ۳۴ و ۵۳ درصد، باعث افزایش تولید هورمون سالیسیلیک اسید در خیار و استفاده از سویه‌های ty17، cu2، 28+1r و 28yn پس از یک هفته تلقیح به ترتیب ۲۲، ۲۶، ۱۶ و ۲۴ درصد باعث افزایش تولید هورمون سالیسیلیک اسید در گوجه فرنگی شدند. میزان تولید هورمون اکسین در برگ خیار توسط سویه‌ی ic6 و ss14 به میزان ۸۵ و ۷۳ درصد افزایش یافت و میزان تولید اکسین در برگ گوجه فرنگی توسط سویه‌ی ty17 به میزان ۴۴ درصد کاهش یافت. سویه‌ی ic6 موجب تولید ۶ درصدی هورمون آبسزیک اسید در خیار شد. و همچنین سویه‌های 28yn موجب افزایش ۱۱ و ty17 موجب کاهش ۳ درصدی میزان تولید هورمون آبسزیک اسید در گوجه فرنگی شدند. محققان اعلام کردند به جز آبسزیک اسید (ABA)، مقادیر اسید جیبرلیک اسید (GA)، اسید سالیسیلیک (SA)، ایندول استیک اسید (IAA) به ترتیب نسبت به شاهد با استفاده از PGPR به ترتیب با نسبت ۲۳/۶۴، ۸۹/۵۴ و ۲۵/۶۳ درصد در کلم افزایش یافت (Ekinici et al., 2014). بسیاری از

محققان اظهار کردند که باکتری‌های حل‌کننده‌ی فسفات نه تنها باعث افزایش قابلیت جذب فسفر نامحلول و تثبیت شده در خاک می‌شوند، بلکه با تولید برخی از هورمون‌های گیاهی از قبیل ایندول استیک اسید موجب تعدیل و تسهیل جذب عناصر غذایی شدند (Bakhshandeh, et al., 2015). گزارش شده است که یکی از دلایل افزایش رشد گیاه در اثر تلقیح با باکتری PGPR ترشح اکسین توسط آن است (Frankenberger., 1995).

۴-۴- بررسی الگوی بیان ژن‌ها در خیار

۴-۴-۱- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن NCED3.2 در خیار

نتایج آنالیز شده با نرم افزار rest نشان داد (شکل ۴-۴۹) که سویه‌های ic6 و ss14 پس از یک هفته تلقیح با گیاه خیار نسبت به زمانی که تلقیح انجام نشد موجب کاهش بیان ژن NCED 3.2 به میزان ۰/۳۷۹ و ۰/۳۹۳ در برگ خیار شدند. شاهد عدد ثابت یک است که بر اساس آن میزان تغییرات بیان ژن سنجیده شد.

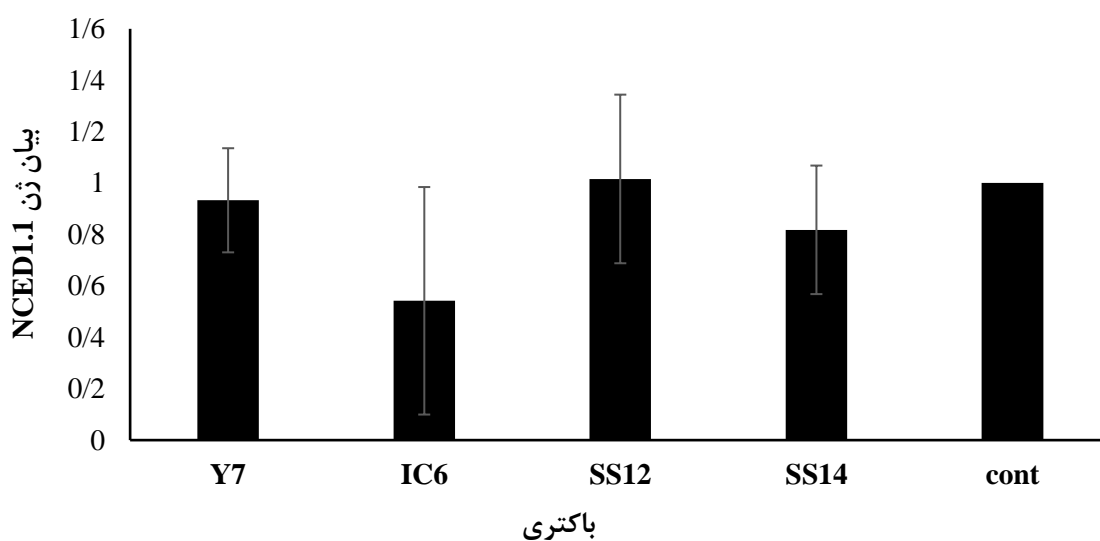


شکل ۴-۴۹- میزان بیان ژن NCED3.2 در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. کاهش بیان با * مشخص شده است.

نتایج حاصل از یک تحقیق نشان داد که تلقیح گیاه گوجه فرنگی با باکتری های محرک رشد به طور قابل توجهی غلظت هورمون ABA را در برگ کاهش داد. همچنین با کاهش غلظت ABA میزان بیان ژن *NCED* نیز کاهش یافت (پورسل و همکاران، ۲۰۱۴).

۴-۲-۴ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن *NCED1.1* در خیار

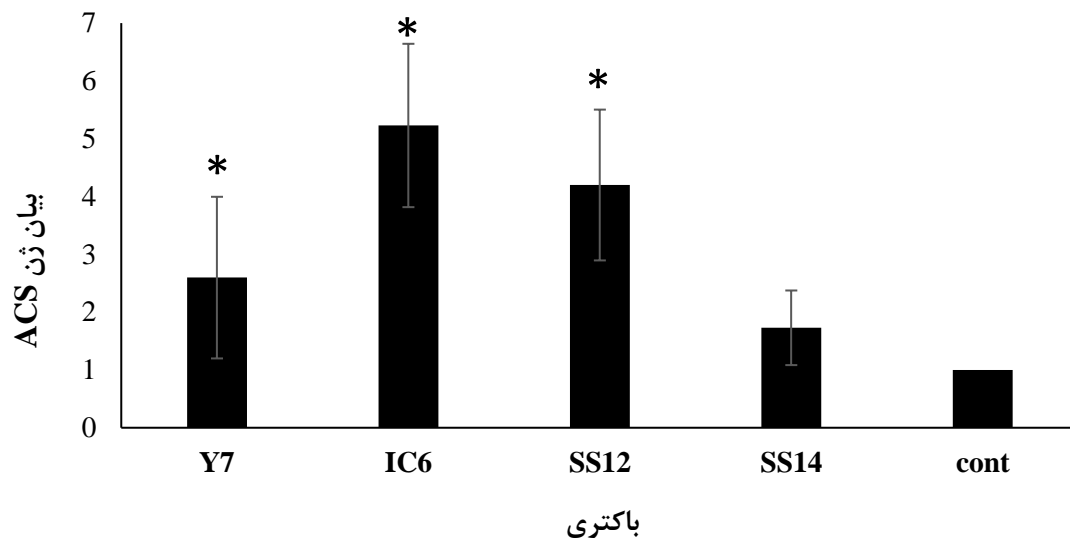
نتایج آنالیز شده با نرم افزار *rest* نشان داد (شکل ۴-۵۰) که استفاده از سویه های استرپتومایسس تاثیری بر الگوی تغییرات کمی بیان ژن *NCED1.1* در برگ خیار را نداشت.



شکل ۴-۵۰- میزان بیان ژن *NCED1.1* در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح با سویه های استرپتومایسس.

۴-۳-۴ اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن *ACS* در خیار

نتایج نشان داد (شکل ۴-۵۱) بیان ژن *ACS* در برگ خیار تحت تاثیر سویه های *ic6*، *ss12* و *y7* به میزان ۵/۲۲۹ ، ۴/۱۹۹ و ۲/۵۹۷ افزایش یافت. افزایش بیان ژن *ACS* باعث افزایش تولید هورمون اتیلن در گیاه می شود.

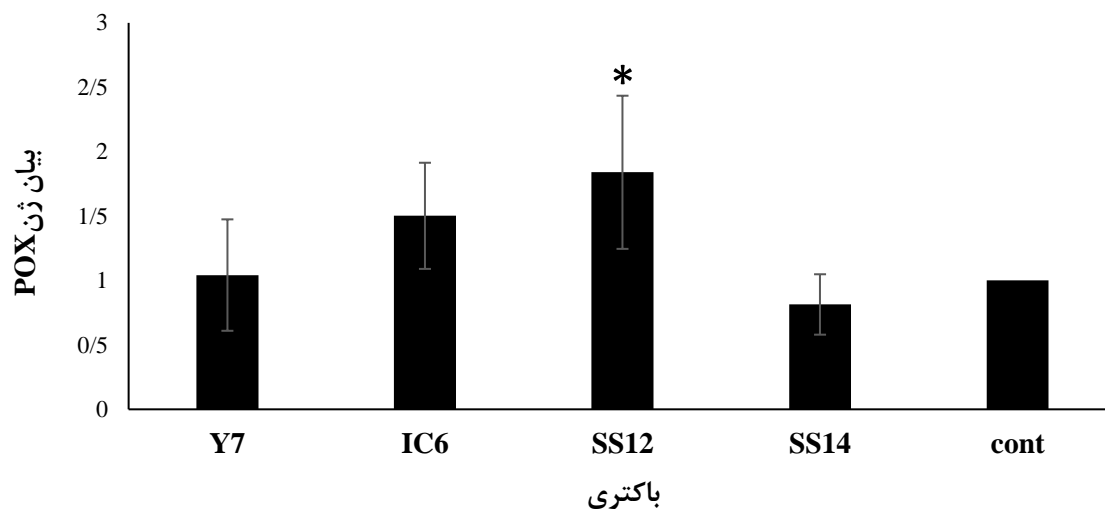


شکل ۴-۵۱- میزان بیان ژن ACS در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. افزایش معنی‌دار بیان ژن با * مشخص شده است.

باکتری‌ها به طور مستقیم با افزایش حلالیت عناصر غذایی، تولید هورمون‌های گیاهی، ACS سینتاز، تثبیت نیتروژن و به طور غیرمستقیم به وسیله ممانعت از قارچ‌های بیماری‌زا منجر به تحریک رشد گیاه می‌شوند (Kevin. et al., 2002).

۴-۴-۴- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن POX

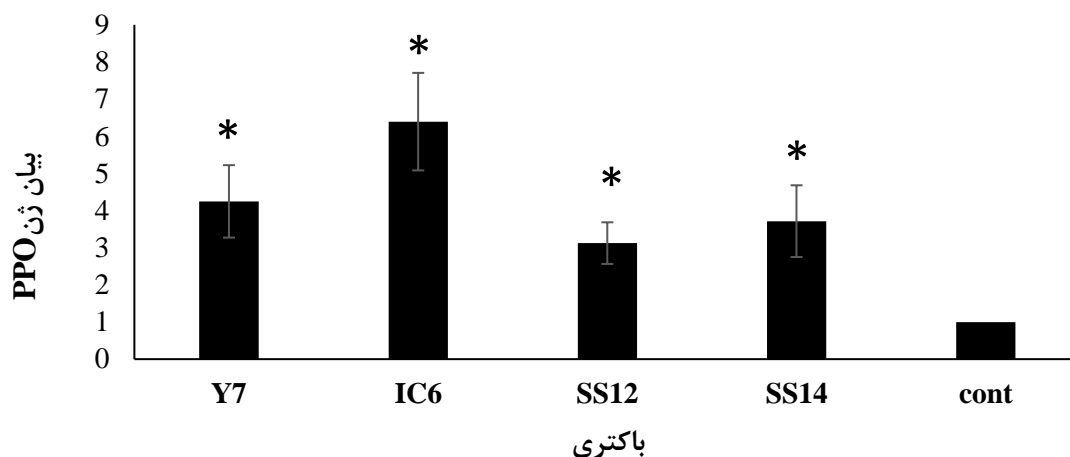
نتایج حاصل از نرم افزار rest نشان داد (شکل ۴-۵۲) که الگوی تغییرات کمی بیان ژن POX در گیاه خیار با استفاده از سویه‌ی ss12 به میزان ۱/۸۴ نسبت به شاهد (۱) افزایش یافت. سایر سویه‌های تلقیح شده با خیار موجب کاهش و یا افزایش بیان ژن POX در برگ خیار نشدند. بیان ژن پراکسیداز در گیاهان گوجه فرنگی ۲۴ ساعت بعد از تلقیح با باکتری محرک رشد افزایش پیدا کرد (نارندرا و همکاران، ۲۰۱۵).



شکل ۴-۵۲- میزان بیان ژن POX در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. افزایش معنی‌دار بیان با * مشخص شده است.

۴-۴-۵- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن PPO در خیار

نتایج آنالیز شده با نرم افزار rest نشان داد (شکل ۴-۵۳) استفاده از سویه‌های استرپتومایسس به عنوان باکتری محرک رشد و تلقیح خیار با سویه‌های این تحقیق موجب افزایش میزان بیان ژن PPO در خیار شد. سویه‌های ic6، ss12، ss14 و y7 باعث افزایش بیان ژن PPO به میزان ۶/۳۹۴، ۳/۱۲۴، ۳/۷۱۵ و ۴/۲۴۸ در برگ خیار شد. در مطالعه ای نشان داده شد که کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد و پاتوژن سبب افزایش بیان ژن PPO در گیاه گوجه فرنگی شد این افزایش بیان ۱۵ ساعت بعد از تلقیح انجام شد (وانیتا و همکاران، ۲۰۱۱).

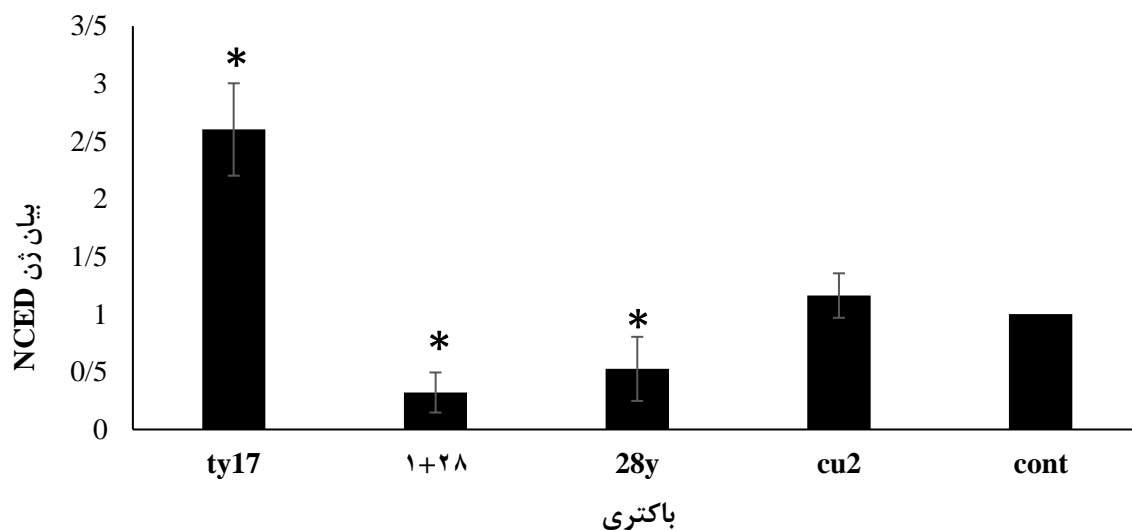


شکل ۴-۵۳- میزان بیان ژن PPO در برگ گیاه خیار پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. افزایش معنی‌دار بیان با * مشخص شده است.

۴-۵- بررسی الگوی بیان ژن‌ها در گوجه فرنگی

۴-۵-۱- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن NCED در گوجه فرنگی

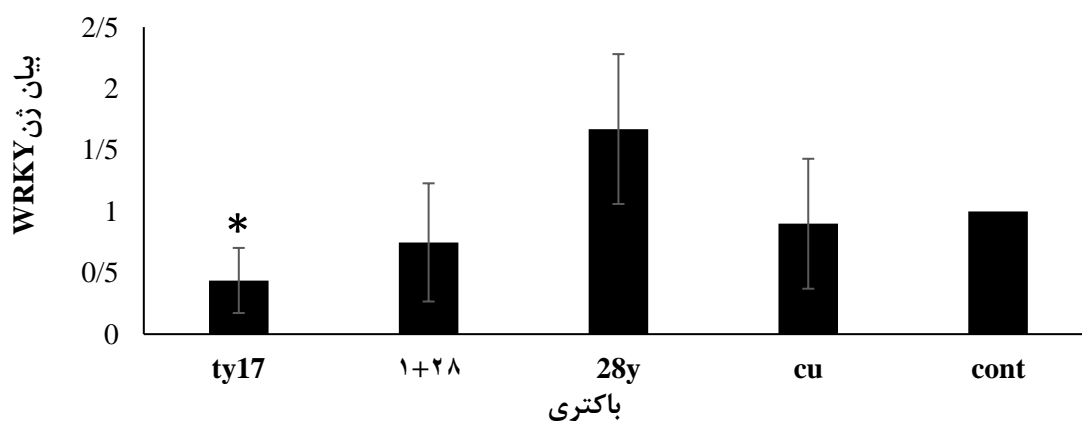
باتوجه به الگوی تغییرات کمی بیان ژن NCED در گیاه گوجه فرنگی، مشخص شد (شکل ۴-۵۴) که تلقیح گوجه فرنگی با سویه‌های استرپتومایسس پس از یک هفته موجب کاهش و افزایش بیان ژن NCED شدند. سویه‌های 28y و 28+1r میزان بیان ژن NCED را به میزان ۰/۳۲۱ و ۰/۵۲۶ کاهش و سویه‌ی ty17 میزان بیان ژن NCED را به میزان ۲/۶۰۳ افزایش دادند. تلقیح آفتابگردان با PGPR، به طور قابل توجهی غلظت ABA در برگ‌ها را کاهش داد، که با کاهش بیان ژن NCED بیوسنتز ABA ارتباط دارد (Sadeghi et al., 2006).



شکل ۴-۵۴- میزان بیان ژن NCED در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28+1r و 28y سویه yazd28 با غلظت 10^7 دارند. 28y سویه yazd28 با غلظت 10^8 است. افزایش و یا کاهش معنی‌دار بیان با * مشخص شده است.

۴-۵-۲- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن WRKY

نتایج آنالیز شده با نرم افزار rest نشان داد (شکل ۴-۵۵) سویه‌ی استرپتومایسس ty17 بیان ژن WRKY در گیاه گوجه فرنگی را به میزان ۰/۴۳۷ نسبت به شاهد (۱) کاهش داد.

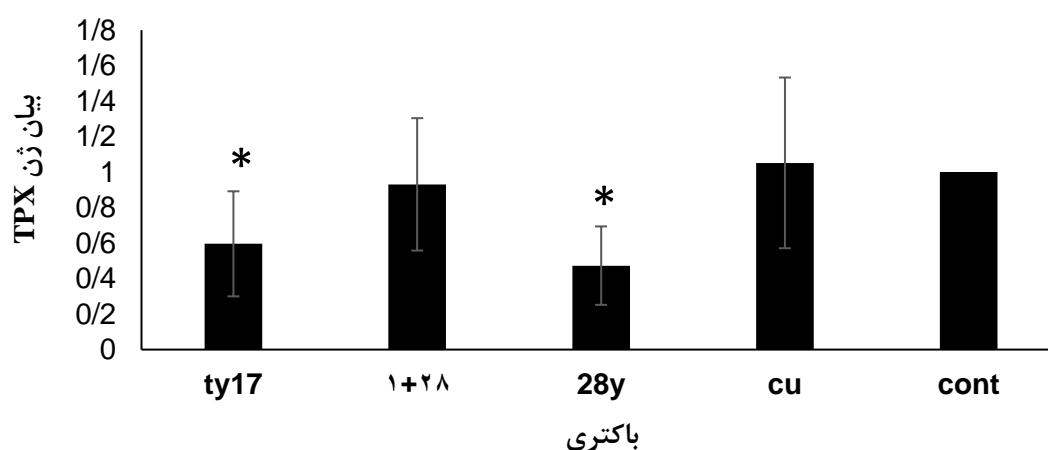


شکل ۴-۵۵- میزان بیان ژن WRKY در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. ty17 با غلظت ۱۰^۸ و سویه 28+1r و cu2 با غلظت ۱۰^۷ دارند. 28y سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است. افزایش و کاهش بیان با * مشخص شده است.

فاکتورهای WRKY نقش مهمی را در تنظیم فرآیندهای بیولوژیکی متنوع ایفا می‌کنند، اما مهمترین آنها نقش اصلی در پاسخ گیاهان به تنش‌های زنده و غیرزنده هستند (بای و همکاران، ۲۰۱۸). در گوجه فرنگی، در کل ۸۳ ژن WRKY (که قبلاً ۸۱ ژن ثبت شده بودند؛ هوانگ و همکاران، ۲۰۱۲) شناسایی شده است (بای و همکاران، ۲۰۱۸؛ کارکوته و همکاران، ۲۰۱۸). گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد رونویسی WRKY70 را در برگ‌های Arabidopsis تحریک می‌کند. مطابق مطالعه آن‌ها، WRKY70 از طریق فعال کردن مسیر سیگنالینگ SA، سیستم مقاومت گیاه را تعدیل می‌کند (وانگ و همکاران، ۲۰۱۸).

۴-۵-۳- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن TPX در گوجه فرنگی

نتایج آنالیز شده با نرم افزار rest نشان داد (شکل ۴-۵۶) سویه‌ی ty17 و 28y پس از یک هفته تلقیح با گیاه گوجه فرنگی، بیان ژن TPX در برگ گوجه فرنگی را به میزان ۰/۵۹۶ و ۰/۴۷۳ کاهش داد.

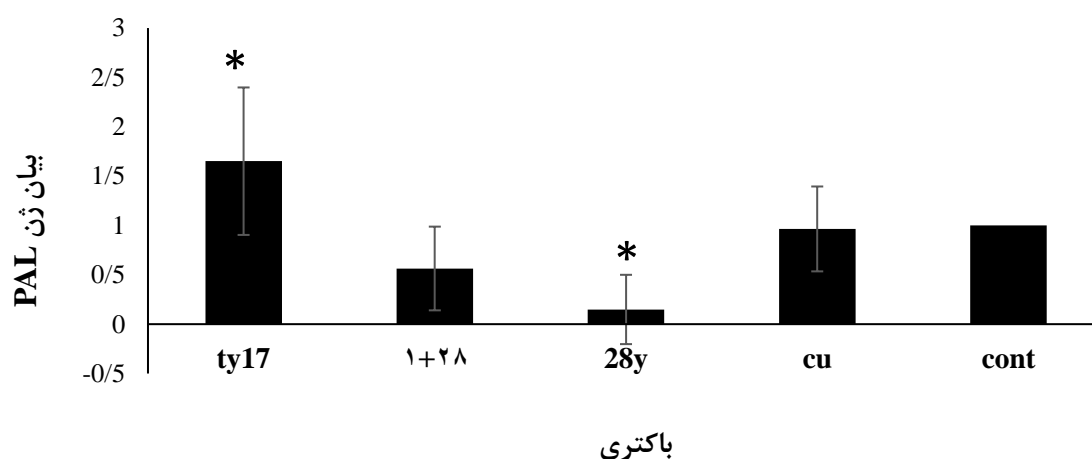


شکل ۴-۵۶- میزان بیان ژن TPX در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. ty17 با غلظت ۱۰^۸ و سویه 28+1r و cu2 با غلظت ۱۰^۷ دارند. 28y سویه yazd28 با غلظت ۱۰^۸ است. کاهش بیان با * مشخص شده است.

بیان TPX1 در سطح پایین ۴۸ ساعت پس از تلقیح گوجه فرنگی با باکتری‌های محرک رشد مشاهده شد (عباسی و همکاران ۲۰۱۹).

۴-۵-۴- اثر استرپتومایسس محرک رشد بر الگوی بیان ژن PAL در گوجه فرنگی

نتایج حاصل از آنالیز با نرم افزار rest نشان داد (شکل ۴-۵۷) استفاده از سویه‌ی استرپتومایسس ty17 بیان ژن PAL در گیاه گوجه فرنگی را به مقدار ۱/۶۵۱ افزایش و سویه‌ی 28y بیان ژن PAL در گیاه گوجه فرنگی را به مقدار ۰/۱۴۹ نسبت به شاهد (۱) کاهش داد.



شکل ۴-۵۷- میزان بیان ژن PAL در برگ گوجه فرنگی پس از یک هفته تلقیح با سویه‌های استرپتومایسس. ty17 با غلظت 10^8 و سویه 28+1r و غلظت 10^7 دارند. 28y سویه yz28 با غلظت 10^8 است. افزایش و کاهش بیان با * مشخص شده است.

ریزجانداران مفید به دو روش مستقیم (از قبیل تثبیت نیتروژن، تولید برخی از هورمون‌های گیاهی، انحلال ترکیبات نامحلول و تولید آنزیم‌ها) و غیرمستقیم (نظیر تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن، ویژگی‌های بیوکنترلی، فعال سازی سیستم القاء مقاومت در گیاه و تسهیل جذب عناصر غذایی) باعث بهبود رشد گیاهان میزبان می‌شوند (Ahemad , Kibret 2014). القاء فعالیت آنزیمی PAL و بیان ژن PAL در

گیاهان گوجه فرنگی پس از تیمار با باکتری های محرک رشد (اکرام و همکاران ، ۲۰۱۳) و قارچ میکوریزی (سونگ و همکاران ، ۲۰۱۵) نیز گزارش شد.

۴-۶- بحث و نتیجه گیری کلی

امروزه مصرف کودهای شیمیایی بویژه عناصر ریز مغذی در کشاورزی و گلخانه‌ها تاحدی اجتناب ناپذیر است. کودهای شیمیایی حاوی عناصر مورد نیاز و قابل جذب برای گیاه می‌باشند. استفاده از کودهای شیمیایی چه به صورت خاک مصرف و چه بصورت محلول پاشی باعث افزایش عملکرد و رشد گیاهان بویژه در محیط گلخانه می‌شوند. اما در صورت عدم مصرف صحیح و اصولی، به شدت اثرات نامطلوب زیست محیطی و اکولوژیکی برجای گذاشته و عامل بروز بیماری‌های خاصی از جمله ناراحتی‌های گوارشی و مسمومیت می‌باشد. گیاهان خیار و گوجه فرنگی گلخانه ای از لحاظ فیزیولوژیکی و ژنتیکی به شدت به مصرف کودهای شیمیایی حساس هستند. بطوریکه در طول دوره رشد و مدت بهره برداری به شدت نیاز به مصرف کودهای مختلف خاک مصرف و سایر عناصر غذایی بصورت محلول پاشی دارند. لذا لازم است که مصرف کودهای شیمیایی را به حداقل رساند. مکانیسم‌های محرک رشد باکتری‌های ریزوسفری به طور کامل مشخص نشده‌اند، اما برخی از مهمترین این مکانیسم‌ها شامل: توانایی تولید هورمون‌های گیاهی (اگامبردیوا، ۲۰۰۷؛ شاهارونا و همکاران، ۲۰۰۶) ، تثبیت نیتروژن به طور غیرهمزیستی (احمد و همکاران، ۲۰۰۶)، مقابله با میکروارگانیزم‌های بیماری‌زای گیاهی از طریق تولید سیدروفورها، سنتز آنتی بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها و یا ترکیبات کشنده قارچ (یانگ و همکاران، ۲۰۰۹a)؛ (یائو و همکاران، ۲۰۰۶) ، حلالیت فسفات معدنی و مواد مغذی دیگر (کاتلان، ۱۹۹۹) و همچنین تولید آنزیم ACC دآمیناز (ارزانش و همکاران، ۱۳۹۱) مؤثر در کاهش اثرات سوء اتیلن تنشی می‌باشد. مزایای تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد شامل افزایش شاخص‌های متعددی مانند سرعت جوانه زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، وزن اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، محتوای کلروفیل، همچنین کنترل زیستی عوامل بیماری‌زا، مقاومت به خشکی و افزایش فعالیت میکروبی می‌باشد (لوسی و همکاران، ۲۰۰۴). در مجموع، ریزجانداران مفید به دو روش مستقیم (از قبیل تثبیت نیتروژن، تولید برخی از هورمون‌های گیاهی،

انحلال ترکیبات نامحلول و تولید آنزیم‌ها) و غیرمستقیم (نظیر تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن، ویژگی‌های بیوکنترلی، فعال‌سازی سیستم‌القاه مقاومت در گیاه و تسهیل جذب عناصر غذایی) باعث بهبود رشد گیاهان میزبان می‌شوند (Abd-Alla, 1994). تاکنون مطالعات زیادی در زمینه کاهش مصرف کودهای شیمیایی و جایگزین کردن آن با انواع کودهای آلی و زیستی انجام شده است. بهترین عامل برای افزایش حاصلخیزی خاک و افزایش کیفی و کمی محصولات کشاورزی استفاده از کودهای زیستی می‌باشد. باکتری‌های موجود در یک کود زیستی ممکن است در خاک ریزوسفری، روی سطح ریشه، در داخل ریشه و حتی در ساقه و برگ گیاه به حالت اندوفیت ایجاد کلنی نمایند. اصطلاح کود زیستی متفاوت با کود آلی، کود دامی، کود سبز و غیره می‌باشد. از طرفی در کشاورزی پایدار، کنترل زیستی یا بیولوژیک (بیوکنترل) به عنوان جایگزین روش‌های مبارزه شیمیایی برای کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی به ویژه قارچ‌های خاکزی مورد توجه قرار گرفته است. اگر چه استفاده از برخی قارچ‌کش‌های شیمیایی باعث جلوگیری از خسارت قارچ‌های بیماری‌زا می‌گردد اما اثرات منفی آن‌ها بر روی میکروارگانیسم‌های مفید خاک و محیط زیست را نمی‌توان نادیده گرفت. استفاده مستقیم از میکروارگانیسم‌ها برای افزایش رشد گیاه و برای کنترل آفات گیاهی همچنان به عنوان یک حوزه تحقیقاتی به سرعت در حال گسترش است. باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه (PGPR) که به صورت همزیست با ریشه گیاهان زندگی می‌کنند و با سازوکارهای مختلفی سبب افزایش و تقویت رشد گیاهان می‌گردند، معمولاً از طریق سازوکارهایی مانند تثبیت نیتروژن، حلالیت فسفات، تولید سیدروفور، اکسایش گوگرد، آزادسازی پتاسیم، تولید انواع هورمون‌ها مانند اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها، کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و تولید آنزیم ACC-د-آمیناز موجب افزایش سلامت و عملکرد گیاهان مختلف می‌گردند. علاوه بر این استفاده از PGPR در بسیاری از مناطق جهان به یک روش معمول تبدیل شده و کنترل قابل توجهی از پاتوژن‌های گیاهی توسط PGPR در مطالعات گلخانه و شرایط آزمایشگاهی مشاهده شده است (Singh and Jha., 2017).

طبق نتایج به دست آمده از کشت رویشی و بررسی بهترین سویه‌های باکتریایی در خیار و گوجه فرنگی، آزمایش کشت گیاهان خیار و گوجه فرنگی جهت برداشت میوه و اندازه‌گیری صفات فیزیولوژی انجام شد. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر برخی از جدایه‌های باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر پارامترهای فیزیولوژی و مولکولی خیار و گوجه فرنگی با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصدی در گلخانه است.

سویه‌های بدست آمده در خیار yz7، ic6، ss14، ss12 و در گوجه فرنگی 28yn، 28+1r، cu2r، ty17 بود. نتایج به دست آمده نشان داد که سویه‌های ic6 و ss14 در خیار و 28yn و 28+1r در گوجه فرنگی موجب افزایش هورمون اکسین شدند. بیوسنتز اتیلن بوسیله چند فاکتور نظیر: نحوه توسعه، شرایط محیطی، سایر هورمون‌های گیاهی از جمله اکسین (Auxins) و صدمات مکانیکی و شیمیایی تحریک می‌شود. اکسین سبب تولید اتیلن می‌شود (Abeles-1973).

هورمون اکسین به صورت غیر مستقیم در بیوسنتز اتیلن نقش دارد و می‌تواند موجب افزایش اتیلن شود. از طرفی با بیان ژن ACS، موجب تولید هورمون اتیلن نیز می‌شوند. که تمامی سویه‌های خیار موجب افزایش این ژن شدند و لازم است جهت بررسی افزایش تولید اتیلن، این هورمون اندازه‌گیری شود. اتیلن و اکسین اثرات مختلفی بر گیاه دارند. هورمون گیاهی اتیلن طیف گسترده‌ای از فرآیندهای گیاهی را نظیر رشد، جوانه زنی بذور، گلدهی، ریزش اندام‌ها، تشکیل ریشه‌های جانبی، توسعه بافت برگ، رسیدگی میوه و پیری بافت برگ بعد از لقاح را تنظیم می‌کند (Cleland, R. E. 1995). اتیلن می‌تواند سبب تحریک شکل‌گیری ریشه‌های نابجا در برگ‌ها، ساقه‌ها، محور گل بعضی گیاهان و سایر ریشه‌ها شود قلمه‌های رویشی گوجه فرنگی و گل اطلسی در پاسخ به کاربرد اکسین مقادیر زیادی ریشه نابجا تولید کردند اما در جهش یافته‌های غیر حساس به اتیلن، اکسین در این زمینه بی‌تأثیر بود یا تأثیر کمی نشان داد. این یافته‌ها حاکی از آن است که اثر تحریک‌کننده اکسین در تولید ریشه‌های نابجا به واسطه اتیلن تعدیل می‌شود. و همچنین اتیلن به عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت در تشکیل ریشه‌های موئین برخی گونه‌ها عمل می‌کند (Clark., et al, 1998).

طبق مطالعات انجام شده هورمون اکسین موجب تعدیل رشد گیاه و هم‌چنین محافظت گیاه در برابر تنش هاست. هم‌چنین تشکیل ریشه جانبی، ریشه موئین و ساقه و ریشه فرایندهای شناخته شده‌ای هستند که توسط هورمون اکسین تنظیم می‌شود (روبلس و همکاران ۲۰۱۰). مشاهدات نشان می‌دهند که برخی اثراتی که به اکسین ربط داده می‌شوند، در حقیقت ناشی از تولید اتیلن هستند و در اثر مصرف اکسین ایجاد می‌شوند. بازدارنده‌های سنتز پروتئین توسط سنتز ACC و اکسین که سبب تولید اتیلن می‌شوند، بلوکه می‌شوند. مشخص شده است که ACC "سنتتاز" سبب ایجاد واکنش‌هایی می‌شود که تا حد قابل توجهی تولید اتیلن را بالا می‌برد (Yazdani et al., 2009). به دلیل اثر سویه‌های استرپتومایسس در بیان ژن اتیلن و افزایش تولید هورمون اکسین و اتیلن، میزان ماده خشک ریشه، برگ و میوه گیاه خیار و گوجه فرنگی افزایش یافت. در گیاه خیار ماده خشک ریشه و میوه در تمامی سویه‌ها معنی‌دار شد ولی میزان ماده خشک برگ فقط توسط ic6 و yazd7 معنی‌دار شدند. در گوجه فرنگی نیز بجز صفت ماده خشک میوه تمامی سویه‌ها بر ماده خشک ریشه و برگ اثر معنی‌داری داشتند.

آبسزیک اسید عمل بازدارندگی بر سنتز پروتئین‌ها دارد و در نتیجه به این طریق رشد را تحت الشعاع قرار می‌دهد. تأثیر رشد بازدارنده‌های رشد غالباً بر روی کوتاه کردن فاصله میانگره‌ها و ارتفاع گیاه می‌باشد ولی سطح برگ‌ها، میزان دریافت نور و راندمان محصول با اثر بازدارنده‌های رشد معمولاً کاهش نمی‌یابند. ژن‌های NCED1.1 و NCED3.2 در مسیر بیوسنتز هورمون ABA نقش دارند.

نیتروژن غذای اصلی برای گیاهان است. یکی از اجزای اساسی پروتئین می‌باشد (برای ساخت اسیدهای آمینه، در کاتالیز واکنش‌های شیمیایی و حمل و نقل الکترون‌ها) و کلروفیل (توانایی فتوسنتز) و در بسیاری از بخش‌های گیاهان شرکت دارد. نیتروژن نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف دارد. رنگ سبز تیره را القاء می‌کند و باعث افزایش رشد برگ، ساقه و سایر بخش‌های گیاه و نمو آن می‌شود. به علاوه باعث تحریک

رشد ریشه، بهبود کیفیت میوه، افزایش محتوای پروتئین و هم‌چنین باعث جذب و استفاده مواد مغذی دیگر نظیر پتاسیم و فسفر می‌شود (Bloom A.j. 2015).

عنصر فسفر در ساختمان ترکیبات انرژی‌زا ATP و AMP, ADP و مکانیزم‌های انتقال انرژی شرکت دارد. فسفر جزئی از پروتئین‌های سلول بوده و به عنوان بخشی از پروتئین‌های هسته، غشای سلولی و اسیدهای نوکلئیک نقش ویژه‌ای دارد (تقسیم سلولی و انتقال صفات ژنتیکی). هم‌چنین در رشد و توسعه ریشه، خنثی نمودن اثرات ازت زیادی بر رشد رویشی گیاه، تولید بذر، میوه و خوشه گندم، رشد و توسعه کلیه مراحل رشد گیاه و افزایش کیفیت محصول به خصوص علوفه و سبزیجات، افزایش مقاومت گیاهان به آفات و بیماری‌ها و برقراری تعادل عناصر کم مصرف نقش ایفا می‌کند (ایران نژاد و همکاران، ۱۳۸۴).

پتاسیم نقش قابل توجهی در تأمین رشد، کاهش اثرات سوء ناشی از تنش‌ها، افزایش عملکرد و بهبود کیفی محصول، از جمله طول دوره انبارداری، بازارپسندی و ارزش اقتصادی آن دارد. این عنصر از اجزاء تشکیل دهنده مولکول‌های آلی یا ساختار گیاه نیست و به صورت یک یون آزاد در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی دخالت دارد. پتاسیم در تنظیم اسمزی و حفظ فشار آماس سلول‌های زنده گیاهی، باز و بسته شدن روزنه‌ها، نمو سلول، حرکت برگی و کنترل تعرق و فتوسنتز و فعال یون‌های آنزیمی نقش کلیدی دارد. این عنصر شدت فتوسنتز کلروپلاست‌ها و سرعت انتقال مواد ساخته شده در برگ‌ها را از طریق آوند آبکش به بافت‌های ذخیره‌ای افزایش می‌دهد و به جذب پتاسیم توسط گیاه از محلول خاک تحت تأثیر عواملی همین دلیل عملکرد و کیفیت میوه را بهبود می‌بخشد (Hartz et al., 1999). مانند شرایط رطوبتی خاک، pH، بافت، تهویه، دمای خاک و غلظت سایر عناصر غذایی قرار می‌گیرد (Kaila et al., 1967). پتاسیم تأثیر زیادی بر کیفیت محصول دارد. غلظت این عنصر در زمان کاشت برای کنترل رشد و در پایان دوره رشد برای جلوگیری از دیررسی میوه‌ها اهمیت دارد. میزان پتاسیم به طور قابل توجهی، مقدار مواد جامد محلول، رنگ میوه، ویتامین C، غلظت ترکیبات فنلی،

مزه و سفتی میوه را نیز بهبود می‌بخشد. مقدار پتاسیم به طور قابل توجهی بر غلظت رنگدانه‌هایی نظیر لیکوپن و بتاکاروتن، که شاخص‌های کیفیت درونی میوه هستند، تأثیر می‌گذارد. تغذیه با پتاسیم باعث افزایش اندازه و تعداد میوه، میزان قند و اسید می‌شود (Etminan, M. et al., 2004).

یافته‌های این تحقیق نشان داد که، هر ۴ تیمار باکتری در گیاه خیار نتایج مثبت و معنی‌داری روی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و مولکولی گذاشتند. از میان ۴ تیمار باکتری، سویه IC6 در گیاه خیار بیشترین میزان افزایش وزن تر و خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد در کشت رویشی و افزایش صفات میزان ماده خشک ریشه و برگ، وزن و عملکرد میوه، طول و عرض میوه، کلروفیل کل، میزان قندهای جزء و عنصر نیتروژن و همچنین افزایش میزان هورمون‌های ABA و IAA و بیان ژن‌های NCED 1.1، NCED 3.2، ACS و PPO را در برداشت. سویه yz7 نیز سبب افزایش وزن تر و خشک ریشه در کشت رویشی و افزایش صفاتی همچون میزان ماده خشک ریشه، برگ و میوه، تعداد میوه، قند کل و میزان کلروفیل a و b، عناصر فسفر و پتاسیم، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز، بالا رفتن میزان هورمون SA و همچنین افزایش بیان ژن‌های ACS و PPO شد. سویه ss14 نیز سبب افزایش وزن تر و خشک ریشه در کشت رویشی و افزایش صفاتی همچون میزان ماده خشک ریشه و برگ، میزان کلروفیل a و کل، عنصر نیتروژن، افزایش میزان هورمون IAA و همچنین افزایش بیان ژن‌های NCED 1.1، NCED 3.2 و PPO شد. و همچنین سویه ss12 سبب افزایش میزان ماده خشک میوه، وزن، طول، کلروفیل a و عنصر نیتروژن شد و همچنین افزایش میزان هورمون‌های SA، ABA و IAA و بیان ژن‌های ACS و PPO را در برداشت.

نتایج حاصل از آزمایش اثر استرپتومایسس بر گیاه گوجه فرنگی نشان داد که، هر ۴ تیمار باکتری نیز نتایج مثبت و معنی‌داری روی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاه گوجه فرنگی گذاشتند. از میان ۴ تیمار باکتری/استرپتومایسس، سویه 28y در گیاه گوجه فرنگی بیشترین میزان افزایش وزن تر و خشک ریشه و ساقه نسبت به تیمار شاهد در کشت رویشی و افزایش صفات میزان ماده خشک ریشه طول

میوه، قند کل، کلروفیل a، b و کل، میزان قندهای جزء و عنصر پتاسیم و هم‌چنین افزایش میزان آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و بیان ژن‌های POX و WRKY70 را در برداشت. سویه 28+1r نیز سبب افزایش وزن تر و خشک ریشه و ساقه نسبت به تیمار شاهد در کشت رویشی و افزایش میزان ماده خشک میوه، تعداد و وزن میوه، کلروفیل b، عنصر فسفر و پتاسیم و هم‌چنین افزایش میزان هورمون‌های ABA، SA و IAA و افزایش بیان ژن‌های POX و WRKY70 و کاهش بیان ژن PAL را در برداشت. سویه cu2r افزایش وزن تر و خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد در کشت رویشی و افزایش صفات طول و وزن میوه، کلروفیل a، b و کل، هم‌چنین افزایش میزان هورمون‌های ABA و SA و افزایش بیان ژن POX و کاهش بیان ژن WRKY70 شد. سویه ty17 افزایش وزن تر و خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد در کشت رویشی و افزایش صفات میزان ماده خشک ریشه، تعداد میوه، کلروفیل کل، پروتئین کل و هم‌چنین افزایش میزان هورمون‌های ABA، SA و IAA و افزایش بیان ژن‌های POX، WRKY70 و PAL شد.

نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد استرپتومایسس‌های محرک رشد تا حدی سبب افزایش رشد و میزان جذب عناصر غذایی در دو گیاه خیار و گوجه فرنگی شدند. به نظر می‌رسد این افزایش، به دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آن‌ها بر رشد ریشه بود که جذب آب و مواد غذایی از خاک را بهبود بخشید. افزایش میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه باعث افزایش تجمع ماده خشک گیاه شد. شرایط تغذیه‌ای خاک و متعاقب آن، تعادل کاتیون‌ها و آنیون‌ها و توانایی جذب عناصر در ریزوسفر، نقش مهمی در ترکیب و مقدار تراوه‌های ریشه، به خصوص اسیدهای آلی، رشد ریزجانداران و تأثیر آن‌ها بر گیاه میزبان دارد. حتی عناصر غذایی به طور مستقیم نیز موجب افزایش رشد و توسعه سامانه ریشه می‌شوند.

۴-۷-پیشنهادات

بر اساس نتایج بدست آمده از تحقیق پیشنهاد می‌شود در ادامه کارهای زیر صورت گیرد:

- بررسی گلخانه‌های دیگر برای بدست آوردن سویه‌های کارآمد بیشتری از استرپتومایسس
- بررسی سویه‌های پژوهش حاضر در گیاه غیر اختصاصی
- بررسی سویه‌های پژوهش حاضر بر سایر رقم‌های خیار و گوجه فرنگی
- آزمایش سویه‌ها در گلخانه های تجاری و بزرگ
- بررسی و آزمایش دیگر صفات مولکولی و ژن‌های درگیر در رشد و نمو خیار و گوجه فرنگی

پیوست

جدول پیوست ۱-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر برخی صفات فیزیولوژی خیار در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر میوه (gram)	تعداد میوه (هر بوته)	عملکرد میوه (gram)
باکتری	۴	۸۸۸/۱۲**	۱۷/۳۳ns	۷۲/۵۵**
کود	۳	۳۴۱۵/۶۷**	۲۶/۳۷*	۳/۳۷ns
باکتری*کود	۱۲	۷۳۱/۳۱**	۹/۷۵ns	۳۶/۰۳**
خطا	۵۲	۲۲۲/۱۲	۷/۹۶۱	۱۱/۵۲
ضریب تغییرات		۱۲/۴۲	۲۷/۴۳	۲۹/۰۱

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۲-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر قند جزء میوه خیار در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	فروکتوز (mM/g dw)	گلوکز (mM/g dw)	ساکارز (mM/g dw)
باکتری	۴	۴۹۰۱۱۸۱۸۸۲**	۴۳۱۱۹۹۶۵۶۶**	۱۴۰۶۵۱۱۵۳/۴**
کود	۱	۵۱۵۹۰۴۴۳۲۰**	۴۰۴۱۹۹۴۹۶۲**	۱۳۰۶۵۲۱۱/۴۵ns
باکتری*کود	۴	۳۲۰۱۶۲۰۴۳**	۴۶۳۸۴۲۷۹۸**	۵۹۱۸۸۲۸۹/۳۶**
خطا	۲۴	۷۴۲۷۸۱۵۵/۹	۱۳۷۹۲۹۸۳۶	۱۱۶۹۱۲۹۱/۲۹
ضریب تغییرات		۵/۳۰	۸/۴۷	۶/۸۵

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۳- مقایسه میانگین تاثیر سویه های استرپتومایسس بر پروتئین و فعالیت آنزیمی خیار

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین (mg/g fw)	پراکسیداز (mg protein/g fw)	پلی فنل اکسیداز (mg protein/g fw)
باکتری	۴	۳۴/۷۴**	۰/۰۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۰۰۳**
خطا	۱۵	۱/۹۴**	۰/۰۰۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۰۰۱**
ضریب تغییرات		۹/۵۲	۲۲/۶۹	۸/۰۳۲

ns, *, ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می باشند.

جدول پیوست ۴- مقایسه میانگین تاثیر سویه های استرپتومایسس بر برخی صفات فیزیولوژی گیاه خیار در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	قندکل (μmol/gr)	پتاس (mg/kg fw)	فسفر (mg/kg fw)	نیتروژن (mg/kg fw)	ماده خشک (ماده برگ (گرم))	ماده خشک (میوه (گرم))	ماده خشک (ریشه (گرم))
باکتری	۴	۰/۰۳۲**	۱۲۰۹۱۶/۴۵**	۳۷۶۷۶/۹**	۱۶۰۳۱/۵۲**	۲/۶۲*	۰/۱۶*	۱۳/۹۷۱**
کود	۳	۰/۰۰۹۴**	۵۲۷۳۷/۱۵**	۶۴۰۶۹/۳۸**	۵۳۷۲/۰۴**	۱۱۱/۹۶**	۰/۰۴۱ ns	۷/۷۸*
باکتری* کود	۱۲	۰/۰۰۲۱**	۱۳۱۵۴/۸۷**	۱۵۱۷۰/۹۳**	۳۷۵۳/۳**	۱/۸۶**	۰/۱۱*	۶/۶۹**
خطا	۵۲	۰/۰۰۰۷۲	۳۶۶۰۰۹۴	۴۱۲۸/۱	۱۰۴۲/۳۹	۰/۸۵	۰/۰۶۷	۲/۲۷
ضریب تغییرات		۴/۲۸	۴/۸۵	۹/۳۲	۱۴/۲۲	۶/۴۷	۶/۵۸	۸/۴۵

ns, *, ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می باشند.

جدول پیوست ۵-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر هورمون‌های برگ خیار

منابع تغییرات	درجه آزادی	اکسین ($\mu\text{mol/gr fw}$)	آبسزیک اسید ($\mu\text{mol/gr fw}$)	سالیسیلیک اسید ($\mu\text{mol/gr fw}$)
باکتری	۴	۳/۷۳**	۰/۰۰۰۴۸**	۱۷/۵۸**
خطا	۱۰	۰/۰۱۰۹	۰/۰۰۰۰۱	۰/۳۱
ضریب تغییرات		۸/۶۱	۱/۰۶	۷/۷۱

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۶-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر کلروفیل خیار در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a ($\mu\text{g/ml}$)	کلروفیل b ($\mu\text{g/ml}$)	کلروفیل کل ($\mu\text{g/ml}$)	کارتنوئید ($\mu\text{g/ml}$)	کلروفیل a/b ($\mu\text{g/ml}$)
باکتری	۴	۱/۲۷**	۰/۰۱**	۵/۷۱۸**	۱/۸۰**	۳۱/۶۶**
کود	۳	۲/۶۴**	۰/۰۲۷**	۱۰/۶۰**	۲/۰۲**	۸۴/۵۹**
باکتری* کود	۱۲	۴/۷۶**	۱۰/۵۱**	۶/۵۶**	۲/۸۳**	۱۸/۵۶**
خطا	۵۲	۰/۱۱	۰/۰۰۱	۰/۴۸	۰/۱۷	۸/۸۹
ضریب تغییرات		۱۶/۰۲	۲۰/۴۴	۱۳/۸۶	۲۱/۰۴	۸/۸۴

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۷-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر صفات فیزیولوژی گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	ماده خشک میوه(گرم)	نیتروژن (mg/kg fw)	فسفر (mg/kg fw)	پتاسیم (mg/kg fw)
باکتری	۵	۰/۳۵ns	۳۷۳۹/۶۶**	۱/۸۶**	۲۷۶۲/۶۵**
کود	۲	۰/۰۷۳ns	۲۱۹۹/۹۲**	۰/۱۷ns	۱۷۶/۶۶ns
کود* باکتری	۱۰	۰/۱۹ns	۱۰۷۷/۰۴**	۰/۸۸**	۲۹۱/۰۸**
خطا	۳۶	۰/۱۷	۳۰۵/۵۹	۰/۲۱	۹۸/۱۲
ضریب تغییرات		۷/۳۷	۱۰/۴۰	۱۰/۹۶	۳/۴۲

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول ۸-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر صفات فیزیولوژی گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر میوه (گرم)	عملکرد میوه (گرم)	تعداد میوه (هر بوته)	قند کل ($\mu\text{mol/gr dw}$)
باکتری	۵	۱۱۸۳/۰۴**	۲۱۵۳۴۷۱/۰۸*	۸۷۴/۱۶**	۰/۰۲۱**
کود	۲	۶۰۹/۲۲ns	۲۵۰۵۷۲۲/۷*	۲۲۰۹/۷۲**	۰/۰۰۲۹*
کود*باکتری	۱۰	۱۰۳۶/۶۳**	۲۱۳۵۵۰/۱**	۶۳۸/۰۵**	۰/۰۰۵۰**
خطا	۳۶	۲۸۱/۱۶	۸۱۸۱۲۰/۱۹۷	۱۶۵/۸۸	۰/۰۰۰۶
ضریب تغییرات		۱۰/۵۹	۳۱/۹۲	۲۱/۸۶	۹/۳۶

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۹-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر صفات فیزیولوژی گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	ماده خشک ریشه (گرم)	ماده خشک برگ (گرم)	کلروفیل a ($\mu\text{g/ml}$)
باکتری	۵	۱۲۳/۰۲۳**	۷/۴۷۵**	۱۲/۲۸۷**
کود	۳	۴۷۶/۵۸۸**	۱۳۸/۵۶۸**	۲/۶۹۸*
کود*باکتری	۱۵	۳۹/۳۲۶**	۲/۹۶**	۱/۲۵۱ns
خطا	۶۳	۱۲/۱۶	۱/۴۹۵	۰/۹۱۵
ضریب تغییرات		۱۱/۹۷	۷/۲۰	۱۲/۳۹

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۱۰-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استریتومایسس بر قند جزء گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	ساکارز (mM/g dw)	گلوکز (mM/g dw)	فروکتوز (mM/g dw)
باکتری	۵	۳۳۳۵۹۱۳/۱۸**	۳۰۶۹۴۴۷۹۰.**	۱۹۳۴۴۰۶۲۵۰.**
کود	۱	۵۶۰۶/۷۲ns	۴۳۸۱۱۲۳۱۰.**	۳۰۳۶۶۹۲۱۰۰.**
باکتری*کود	۵	۲۰۴۱۳۰۶/۴۸**	۲۵۶۶۴۱۸۵/۵*	۲۱۹۹۲۱۶۰۱۰.**
خطا	۲۹	۳۹۰۹۱۶/۳۲۸	۱۲۸۴۷۱۱۸/۳	۳۹۱۸۳۰۰۸۸
ضریب تغییرات		۱۴/۱۷۲	۴/۶۳	۹/۱۰

ns, *, **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۱۱-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر کلروفیل و جذب نور گوجه فرنگی در سطوح کودی مختلف

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل b (µg/ml)	کلروفیل کل (µg/ml)	کارتنوئید (µg/ml)	کلروفیل a/b (µg/ml)
باکتری	۵	۰/۳۱**	۱۲۷/۸۱**	۳/۱۱۴**	۶۲/۷۳**
کود	۳	۰/۰۱۴ns	۳۱۷/۱۳۲**	۰/۴۹۹ns	۷/۹۶۵**
کود*باکتری	۱۵	۰/۰۳۳**	۲۴/۲۹۳**	۰/۶۷۵**	۲/۶۹۱**
خطا	۶۳	۰/۰۰۹	۷/۵۵۱	۰/۳۲۵	۰/۹۳۳
ضریب تغییرات		۴/۴۷	۸/۳۹	۱۲/۷۵	۵/۶۳

ns, **, ***: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۱۲-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر هورمون‌های گوجه فرنگی

منابع تغییرات	درجه آزادی	آبسزیک اسید (µmol/gr fw)	سالیسیلیک اسید (µmol/gr fw)	اکسین (µmol/gr fw)
باکتری	۴	۰/۰۰۱۳**	۰/۷۱**	۲/۲۵**
خطا	۱۰	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۱	۰/۲۴
ضریب تغییرات		۱/۰۰۲	۲/۴۲	۱۶/۸۷

ns, **, ***: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول پیوست ۱۳-مقایسه میانگین تاثیر سویه‌های استرپتومایسس بر پروتئین و فعالیت آنزیمی گوجه فرنگی

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین (mg/g fw)	فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز (mg protein/g fw)	فعالیت آنزیمی پراکسیداز (mg protein/g fw)
باکتری	۴	۲۱/۱۹۳**	۰/۰۰۰۰۰۵۴**	۰/۰۰۰۰۰۵۲**
خطا	۱۵	۰/۹۰۸	۰/۰۰۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۰۰۶۰
ضریب تغییرات		۱۳/۱۵	۱۹/۸۳	۳۴/۶۷

ns، *، **؛ به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند

منابع

احمدی ک، عبادزاده ح، حاتمی ف، حسینپور ر، عبدشاه ه (۱۳۹۷) / *مارنامه کشاورزی* سال ۱۳۹۶، جلد سوم، چاپ اول، انتشارات تهران وزات جهاد کشاورزی، ص ۳۷.

ارزانش، م.ح.، ن. بنی عقیل، م. قربانلی و م. شهبازی. (۱۳۹۱). تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر پارامترهای رشدی و غلظت عناصر کم مصرف در دو رقم کلزا تحت تنش شوری. *مجله مدیریت خاک و تولید پایدار* جلد دوم، شماره دوم، ص. ۱۶۳.

ایران نژاد، ح. و ن، شهبازیان. (۱۳۸۱). *زراعت غلات* جلد دوم. انتشارات کارنو.

امیرآبادی، م.، م. اردکانی، ف. رجالی، م. برجی. ۱۳۸۹. بررسی اثرات ازتوباکتر کروکوکوم و قارچ میکوریزی در سطوح مختلف فسفر بر برخی صفات مورفولوژیکی و خصوصیات کیفی ذرت علوفه ای (سینگل کراس ۷۰۴). *مجله تحقیقات آب و خاک ایران*. دوره ۴۱، ش ۱، صفحات ۴۹-۵۶.

بای بوردی، م. (۱۳۸۵). *مدیریت پایدار خاک در کشاورزی و محیط زیست*. مجموعه مقالات همایش خاک، محیط زیست و توسعه پایدار. صفحات ۷ الی ۹. دانشکده مهندسی آب و خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران. کرج، ایران.

بیگزاده، س. فتاحی، ک. قبادی، ر. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر تنش خشکی بر شاخص سطح برگ، درصد چوب، قطر چوب و طول هیبریدهای ذرت در استان کرمانشاه. *اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی*. صفحه ۴۵.

زاهدیفر مریم، کریمیان نجفعلی، رونقی عبدالمجید، یثربی جعفر و امام یحیی (۱۳۸۹). اثر فسفر و ماده آلی بر روابط فسفر خاک- گیاه در اسفناج. *نشریه علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای / سال اول / شماره چهارم / زمستان ۱۳۸۹* جلد ۱ شماره ۴ صفحات ۴۵-۵۳.

زمردی ش.، منتظری ع.ز. و خسرو شاهی اصل ا. (۱۳۸۳). تاثیر منابع و مقادیر مختلف کود نیتروژن دار، و زمان برداشت بر عملکرد و میزان تجمع نیترات در گوجه فرنگی رقم کورال. *مجله دانش کشاورزی*. ۱۴: ۱-۱۰.

رجالی فرهاد ، اسدی رحمانی هادی ، خاوازی کاظم ، اصغرزاده احمد و اسمعیلی زاد اشرف. سال ۱۳۹۳. کودهای زیستی فسفره و ضرورت توسعه آنها در کشور. نشریه مدیریت /راضی جلد ۲ شماره ۱

سلطانی طولارود علی اشرف ، ضیاتبار رسول ، اسماعیل پور بهروز ، عباس زاده دهجی پیمان ، خاوازی کاظم. اثر کودهای زیستی و آلی بر غلظت عناصر غذایی و برخی شاخص های رشدی گوجه فرنگی. نشریه تحقیقات کاربردی خاک، سال دوم شماره ۲ (زمستان ۱۳۹۳) ص ۱۰۵-۱۱۸

شهسواری پورلنده خدیجه ، پیردشتی همت اله ، بخشنده اسماعیل. ۱۳۹۷ اثر روش های مختلف تلقیح با باکتری بومی افزایشده رشد بر صفات رویشی و عملکرد برنج (رقم طارم هاشمی) تحت تأثیر سطوح مختلف کود پتاسیم. نشریه: به زراعی کشاورزی (مجله کشاورزی پردیس ابوریحان) دوره: ۲۰ شماره: ۱ صفحات: ۲۳۵-۲۴۷

طباطبایی س.ج. و ملکوتی م.ج. (۱۳۷۶). اثر مقادیر مختلف اوره و تاثیر متقابل آن با فسفر و پتاسیم بر عملکرد و تجمع نیترات در سیب زمینی. نشریه علمی پژوهشی موسسه تحقیقات خاک و آب. ۱۱: ۳۲-۳۹

ظفری، م. عبادی، ع. پرمون، ق. جهانبخش، س. ۱۳۹۴. فصلنامه فرآیند و کارکرد گیاهی، سال چهارم، شماره ۱۴، ص ۷۶-۶۱.

گنجه ای بهناز ، گلچین احمد. (۱۳۹۰) تاثیر سطوح مختلف نیتروژن، پتاسیم و منیزیم بر عملکرد و شاخص های رشد گیاه توت فرنگی در محیط کشت هیدروپونیک. نشریه: روابط خاک و گیاه (علوم و فنون کشت های گلخانه ای دوره: ۲ شماره: ۸ صفحات ۷۱-۸۰:

میرجلیلی احمد ، پازکی علیرضا ، رشیدی اصل ابوالفضل. (۱۳۹۵). اثر روش های مصرف باکتری های محرک رشد PGPR بر میزان کلروفیل a و کلروفیل b گیاه دارویی بومادران *Achillea millefolium* در شرایط تنش. سومین کنفرانس بین المللی پژوهش در علوم و تکنولوژی

ملکوتی، م. ج. (۱۳۸۵). خاک، کیفیت مواد غذایی و سلامت جامعه. مجموعه مقالات همایش خاک، محیط زیست و توسعه پایدار. صفحات ۱۰ الی ۱۸. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران. کرج، ایران.

نعمتی حمیده ، حمیدپور محسن ، عباس زاده پیمان و روستا حمیدرضا زمستان ۱۳۹۴. اثر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و سیدروفور بر توزیع شکل‌های شیمیایی روی در خاک و جذب آن توسط ذرت. *تحقیقات کاربردی خاک* جلد ۳، شماره ۲ یزدان دوست همدانی م. (۱۳۸۲). مطالعه تاثیر مصرف نیتروژن بر عملکرد، اجزا عملکرد و تجمع نیترات در ارقام سیب زمینی. *مجله علوم کشاورزی ایران*. ۴. ۳۴: ۹۸۵-۹۷۷.

Abbasi, S., Safaie, N., Sadeghi, A., & Shamsbakhsh, M. (2019). Streptomyces strains induce resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in tomato through different molecular mechanisms. **Frontiers in microbiology**, **10**, 1505.

Abeles, F.B. (1973). Ethylene plant in biology. **New York, London. Academic press. 302 pp**

Abd-Alla, M.H., (1994). Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viciae* phosphatases. **Biol. Fertil. Soils. 18**: 216-218.

Adesemoye AO, HA Torbert, JW Kloepper , (2009). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Allow Reduced Application Rates of Chemical Fertilizers. In : **Microbial Ecology** volume **58**, pages 921–929

Agarwal, S., & Pandey, V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. **Biologia Plantarum**, **48**(4), 555-560.

Agarwal P, Reddy M P, Chikara J (2011) WRKY: its structure, evolutionary relationship, DNA-binding selectivity, role in stress tolerance and development of plants. **Mol Biol Rep** **38**(6):3883-3896

Ahmad, F., I. Ahmad, and M.S. Khan. (2006). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiol. Res. 36**:1-9.

Ahemad Munees, Mulugeta Kibret. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective **Journal of King Saud University - Science** Volume **26**, Issue 1, January 2014, Pages 1-20

Akram, W., Mahboob, A., and Javed, A. A. (2013). *Bacillus thuringiensis* strain 199 can induce systemic resistance in tomato against *Fusarium* wilt. **Eur. J. Microbiol. Immunol. 3**, 275–280.

Almagro, L., Gomez, L.V., Belchi-Navarro, S., Bru, R., Barcelo, A., and Pedreno, M.A. (2009). Class III peroxidases in plant defense reactions. **J. Exp. Bot.**, **60**: 377-390.

Arfan, M., H.R. Athar and M. Ashraf. (2007). Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? **Journal of Plant Physiology**, **164**: 685-694

Arnon Daniel I. (1949 Jan). Copper Enzymes in Isolated chloroplasts. Poly phenol oxidase in *Beta Vulgaris* **Plant Physiol.** ; **24**(1): 1–15.

Asghar, A., A. Ali, W. H. Syed, M. Asif, T. Khaliq and A. A. Abid. (2010). Growth and yield of maize cultivars affected by NPK application in different proportion. **Pakistan Journal of Sciences**. **62**(4): 211-216

Bai, Y., Sunarti, S., Kissoudis, C., Visser, R. G., & van der Linden, C. (2018). The role of tomato WRKY genes in plant responses to combined abiotic and biotic stresses. **Frontiers in plant science**, **9**, 801.

Bakhshandeh E., H. Rahimian, H. Pirdashti and G.A. Nematzadeh (2015). Evaluation of phosphate-solubilizing bacteria on the growth and grain yield of rice (*Oryza sativa* L.). **cropped in northern Iran Journal of Applied Microbiology** **119**, 1371-1382

Bandyopadhyay, U., Das, D., & Banerjee, R. K. (1999). Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. **Current Science-Bangalore-**, **77**, 658-666.

Barreca D, Lagana G, Leuzzi U, Smeriglio A, Trombetta D, Bellocco E (2016) Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) hulls. **Food Chem** **196**:493 502.

Bardi L, Malusà E (2012). Drought and nutritional stresses in plant: alleviating role of rhizospheric microorganisms. abiotic stress: new research. **Nova Science Publishers Inc., Hauppauge**, pp. **1–57**

Bartel B, (1997). Auxin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **48**:51–66

Bas AG, Forsberg S, Hammarstrom ML (2004) Utility of the housekeeping genes 18S rRNA, β -Actin and Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase for normalization in real-time quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of gene expression in human T lymphocytes. *Scand. J. Immunol.* **59**: 566-573.

Bloom, A.J. (2015). Photorespiration and nitrate assimilation: a major intersection between plant carbon and nitrogen. *Photosynth Res* **123**, 117–128.

Bonner J, Bandurski RS. 1952. Studies of the physiology, pharmacology, and biochemistry of the auxins. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **3**:59–86

Brock, T.D., Madigan, M.T., 1991. *Biology of Microorganisms*, sixth ed. **Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs NJ**, Sections **17.2.** and **19.9.**

Bustin SA (2000) Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J. Mol. Endocrinol.* **25**: 169-193.

Chance, B. and A. Maehly. (1955). Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymology*, **2**: 764-817.

Cattelan, A. J., Hartel, P. G. and Fuhrmann, J. J. (1999). Screening for plant growth- promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* **63**:1670-1680.

Chen J, Rider DA, Ruan R, (2006) Identification of valid housekeeping genes and antioxidant enzyme gene expression change in the aging rat liver. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **61**: 20-27.

Christie, B. and Sturz, A. (2003). Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil and Tillage Research*, **72**, 107-123.

Chunga WC, Huangb JW, Huangc HC (2005) Formulation of a soil biofungicide for control of damping off of Chinese cabbage (*Brassica chinensis*) caused by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control* **32**: 287–294.

Clark, K. L., Larsen, P. B., Wang, X., and Chang, C. (1998) Association of the Arabidopsis CTR1 Raf like kinase with the ETR¹ and ERS ethylene receptors. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **95**.

Cleland, R. E. (1995) Auxin and cell elongation. In *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*, 2nd ed., **P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands**, pp. **214–227**

Chinsamy, M.G., M. Kulkarni and J. Van Staden. (2013). Garden -waste -vermicompost leachate alleviates salinity stress in tomato seedlings by mobilizing salt tolerance mechanism. **Plant Growth Regul.** **71**: 41 -47.

Comba, A., Maestri, D. M., Berra, M. A., Garcia, C. P., Das, U. N., Eynard, A. R., & Pasqualini, M. E. (2010). Effect of ω -3 and ω -9 fatty acid rich oils on lipoxygenases and cyclooxygenases enzymes and on the growth of a mammary adenocarcinoma model. **Lipids in health and disease**, **9**(1), 112.

Creelman, R. A., Mason, H. S., Bensen, R. J., Boyer, J. S., & Mullet, J. E. (1990). Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings: analysis of growth, sugar accumulation, and gene expression. **Plant Physiology**, **92**(1), 205-214.

Dadrawal, K.R. (1977). *Biotechnological approaches in soil microorganisms for sustainable crop production*. **Scientific Publisher**

Dastager, S., & Damare, S. (2013). Marine Actinobacteria showing Phosphate solubilizing efficiency in Chorao Island, Goa. **Current Microbiology**, **66**(5), 421-427.

De Boer W, Klein Gunnewiek PJA, Lafeber P, Janse JD, Spit BE, Woldendorp JW (1998) Antifungal properties of chitinolytic dune soil bacteria. **Soil Biology and Biochemistry** **30**:193–203.

Diefenbach C.W, Lowe T.M.J, Dveksler G.S. (2016). General concepts for PCR primer design. Downloaded from genome.cshlp.Published by **Cold Spring Harbor Laboratory Press** org on May **9**

Del Amor, F.M. and P. Cuadra-Crespo. 2012. Plant growth-promoting bacteria as a tool to improve salinity tolerance in sweet pepper. *Funct. Plant Biol.* 39: 82-90.

Ehteshami, M., A. Aghalikhani, M.R. Chaechi, and K. Khavazy. (2007). Effect of phosphate solubilizing microorganisms on quantitative and qualitative properties of corn under water stress conditions. **The second national conference on sustainable agriculture. Gorgan. P, 123.**

El-Tarabily KA, Soliman MH, Nassar AH, Al-Hassani HA, Sivasithamparam K, McKenna F, Hardy GESJ (2000) Biological control of *Sclerotinia minor* using chitinolytic bacterium and actinomycetes. **Plant Pathology** 49: 573-583.

Egamberdiyeva, D. (2007). The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. **Applied Soil Ecology** 36: 184-189.

Etminan, M., B. Takkouche and F. Caamano -Isorna. (2004). The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: A meta -analysis of observational studies. **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.** 13: 340 -345.

Ekinci, M. Turan, M., Yildirim, E., Güneş, A., Karagöz, K., Kotan, R., & Dursun, A. (2014). Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, 38(3), 327-333.

Frericks M, Esser C, (2008) A toolbox of novel murine house-keeping genes identified by meta-analysis of largescale gene expression profiles. **Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.** 1779: 830-837

Frankenberger, W.T., & Arshad, M. (1995). *Phytohormones in soils-microbial production and function.* New York: **Marcel Dekker.**520

Glare E, Divjak M, Baile M, Walters E (2002) β -Actin and GAPDH housekeeping gene expression in asthmatic airways is variable and not suitable for normalizing mRNA levels. **Thorax**, 57: 765-770.

Gressel J, Galun E. (1994). Genetic control of photo-oxidant tolerance. In: Foyer CH, Mullineaux PM, eds. Causes of photo-oxidative stress and amelioration of defence systems in plants. **Boca Raton**: CRC Press, **237-273**.

Gonzalez-Guzman M, Apostolova N, Belles JM, Barrero JM, Piqueras P, Ponce MR, Micol JL, Serrano R, Rodriguez PL (2002). The short-chain alcohol dehydrogenase ABA2 catalyzes the conversion of xanthoxin to abscisic aldehyde. **Plant Cell** **14**: 1833–1846

González, A., Tamés, R. S., & Rodríguez, R. (1991). Ethylene in relation to protein, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rooting in hazelnut cotyledons. **Physiologia Plantarum**, **83**(4), 611-620.

Guner, N. and Wehner, T.C. 2004. The genes of watermelon. **HortScience** **39**: 1175-1182.

Ghorchiani, M., Alikhani, H., Akbari, GH., Zarei, M. and Alah Dadi, I. 2011. Effect of phosphate solubilizing bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilizer on yield and yield components of maize under normal and deficit irrigation conditions in Karaj region. **Iranian Journal of Agricultural Research** **10**(1): 214-224.

Gupte TE, Naik SR (1999) Isolation, taxonomic and fermentation studies on a new strain of *Streptomyces arenae* var *ukrainiana* producing a tetraene antibiotic. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** **15**: 545-552.

Hemberg T (1949a) Growth-inhibiting substances in terminal buds of *Fraxinus*. **Physiol Plant** **2**: 37–44

Hemberg T (1949b) Significance of growth-inhibiting substances and auxins for the rest-period of the potato tuber. **Physiol Plant** **2**: 24–36

Hernandez, J.A., Jimenez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F., (2000). Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. **Plant Cell Environ.** **23**, 853–862.

Hissao, H. (1973). Plant responses to water stress. **Annual Review Plant Physiology**, **24**, 519-570.

Hartz, T.K., G. Miyao, T.J. Mullen, M.D. Cahn, J. Valencia, J. and K.L. Brittan. (1999). Potassium requirements for maximum yield and fruit quality of processing tomato. **J. Am. Soc. Hort. Sci.** **124**(2): 199-204.

Horvath, E., Szalai, G., and Janda T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. **J Plant Growth Regul** **26**:290–300.

Huang, S., Gao, Y., Liu, J., Peng, X., Niu, X., Fei, Z., et al. (2012). Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum*. **Mol. Genet. Genomics** **287**, 495–513.

Jiang, M. Y., & Zhang, J. H. (2004). Abscisic acid and antioxidant defense in plant cells. **ACTA BOTANICA SINICA-ENGLISH EDITION-**, **46**(1), 1-9.

Kaila, A. (1967). Potassium status in different size fraction of some Finish soils. **J. Sci. Agric. Soc. Finland** **39**: 45 -56.

Karkute, S. G., Gujjar, R. S., Rai, A., Akhtar, M., and Singh, M. (2018). Genome wide expression analysis of WRKY genes in tomato (*Solanum lycopersicum*) under drought stress. **Plant Gene** **13**, 8–17

Kavousim HR, Marashi H, Mozafari J, Bagheri AR (2009) Expression of phenylpropanoid pathway genes in chickpea defense against race 3 of *Ascochyta rabiei*. **Plant Pathol. J.**, **8**: 127-132.

Kevin L.-C. Wang, Hai Li, Joseph R. Ecker. (2002). Ethylene Biosynthesis and Signaling Networks .in: **The Plant Cell**, Volume 14, Issue suppl_1, May 2002, Pages S131–S151

Kende, H. (1993). Ethylene biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **44**, 283–307

Kelen, M., E. Cubukdem-Iralay, S. Sen and G. Ozkan. (2004). Separation of abscisic acid, indole-3-acetic acid, gibberellic acid in 99R (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) and rose Oil (*Rosa damascena* Mill.) by reversed phase liquid chromatography. **Turk. J. Chem.** **28**: 603-610.

Korn-Wendisch, F., & Kutzner, H. J. (1992). The family Streptomycetaceae. The Prokaryotes, Vol. II, 2nd edn (Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Hardeer W & Schleifer KH, eds).

Kutzner, H. J. (1981): The family Streptomycetaceae, In: The Prokaryotes. Vol. 2 (Eds: Starr, M. P., Stolp, H., Truper, H. G., Balows, A., Schlegel, H. G.) **Springer-Verlag, New York**, 2028-2082.

Lavakush, Y.J., Verma, J.P., Jaiswal, D.K., and Kumar, A. (2014). Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*). **Ecol. Eng.**, **62**: 123-128

Leyser O. (2002). Molecular genetics of auxin signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* **53**:377-398

Litwack, G. (Ed.). (2005). *Plant hormones* (Vol. **72**). **Gulf Professional Publishing**.

Li L, Hou X, Tsuge T, Ding M, Aoyama T, et al. (2008). The possible action mechanisms of indole-3-acetic acid methyl ester in Arabidopsis. **Plant Cell Rep.** **27**:575–584

Loria, R., Bukhalid, R. A., Fry, B. A., & King, R. R. (1997). Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. **Plant Disease**, **81**(8), 836-846.

LOCCI, R. & SHARPLES, G.P. (1984) Morphology. In: **Biology of Actinomycetes**, ed. Goodfellow, M., Mordarski, M. & Williams, S.T. pp. 165–199, New York: Academic Press.

Lucy M, Reed E, Glick BR (2004) Application of freeliving plant growth-promoting rhizobacteria. **Antonie van Leeuwenhoek** **86**: 1-25

Mahajan, R., Nikitina, A. Litti, Y., Nozhevnikova, A., & Goel, G. (2016). Autochthonous microbial community associated with pine needle forest litterfall influences its degradation under natural environmental conditions. **Environmental Monitoring and Assessment**, **188**(7), 417.

Malusa E, Vassilev N (2014) A contribution to set a legal framework for biofertilisers. **Appl Microbiol Biotechnol** **98**(15):6599–6607.

Mayer AM, Harel E: (1991). Phenoloxidases and their significance in fruit and vegetables. In: **Fox PF (ed) Food Enzymology**, pp. 373-398. Elsevier Science Publishers, New York.

Mayer AM: (1987). Polyphenol oxidases in plants - recent progress. **Phytochemistry** **26**:11-20.

Mayak, S., Tirosh, T. & Glick, B. (1999). Effect of Wild-Type and Mutant Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on the Rooting of Mung Bean Cuttings. **J. Plant Growth Regul** **18**, 49–53.

Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, **15**(4).

Mitter, K., Kotoulas, G., Magoulas, A., Mulero, V., Sepulcre, P., Figueras, A., ... & Sarropoulou, E. (2009). Evaluation of candidate reference genes for QPCR during ontogenesis and of immune-relevant tissues of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, **153**(4), 340-347.

Moran, J. F., Becana, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R. V., & Aparicio-Tejo, P. (1994). Drought induces oxidative stress in pea plants. **Planta**, **194**, 346-352.

Nasrabadi-GhorbaniR, Greiner R, Alikhani HA, Hamed J, Yakhchali B (2013). Distribution of actinomycetes in different soil ecosystems and effect of media composition on extracellular phosphatase activity. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** **13**(1):223-236.

Narendra Babu, A., Jogaiah, S., Itoc, S., Kestur Nagaraj, A., Tran L.S. (2015). Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenol oxidase, **Plant Science**, **231**: 62 –73

Nassar, A.H.; EL-Tarabily, K.A. (2003); Sivasithamparam, K. Growth promotion of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a polyamine-producing isolate of *Streptomyces griseoluteus*. **Plant Growth Regulation**, v.**40**, p.97-106.

Oskay, A. M., Üsame, T., & Cem, A. (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. **African journal of Biotechnology**, **3**(9), 441-446.

Patten C., Glick B. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system (2002). App 1. **Environ. Microbiol.**, **68**, pp. 3795-3810

Popova Losanka, Tania Pancheva, Alexandra Uzunova2 (1997). BULG. J. **Plant Physiol.**, **23**(1-2), 85–93

Paulitz TC, Belanger RR (2001) Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology** **39**:103–133.

Pattison RJ, Catalá C. (2012). Evaluating auxin distribution in tomato (*Solanum lycopersicum*) through an analysis of the PIN and AUX/LAX gene families. **The Plant Journal** **70**, 585–598.

Porcel, R., Zamarreño, Á.M., García-Mina, J.M. et al. (2014). Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* PGPR activity in tomato plants. **BMC Plant Biol** **14**, 36.

Quiroga, M., C. Guerrero, M. A. Botella, A. Barceló, I. Amaya, M. I. Medina, F. J. Alonso, S. M. Forchetti, H. Tigier & V. Valpuesta. 2000. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. **Plant Physiol.** **122**: 1119–1127.

Qiujie, D .Bin, Y., &. (1996). Effects of ultraviolet-B radiation on active oxygen metabolism and membrane system of rice leaves. **Zhi wu Sheng li xue bao= Acta Phytophysiologica Sinica**, **22**(4), 373-378.

Rushton, P. J., Somssich, I. E., Ringler, P., & Shen, Q. J. (2010). WRKY transcription factors. **Trends in plant science**, **15**(5), 247-258.

Raskin, I. (1992). Salicylate, a new palnt hormone. **Plant Physiol.** **99**: 799-803

Raynaud, X.; Nunan, N. (2014) Spatial ecology of bacteria at the microscale in soil. **PLoS ONE**, **9**, e87217.

Robles, P., Fleury, D. Candela, H. Cnops, G., Alonso Peral, M. M. and Anami, S. (2010) The RON1/FRY1/SAL1 gene is required for leaf morphogenesis and venation patterning in Arabidopsis. **Plant Physiology**. **152**:1357-72.

Sabaratnam S, Traquair JA (2002) Formulation of a Streptomyces biocontrol agent for the suppression of Rhizoctonia damping-off in tomato transplants. **Biological Control** **23**: 245-253.

Sadeghi, A., Hessian, A. R., Askari, H., Aghighi, S., & Shahidi Bonjar, G. H. (2006). Biological control potential of two Streptomyces isolates on Rhizoctonia solani, the causal agent of damping-off of sugar beet. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, **9**(5), 904-910.

Sadeghi, A., E. Karimi, P. Abaszadeh Dahaji, M. Ghorbani Javid, Y. Dalvand and H. Askari. (2012). Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of Streptomyces under saline soil conditions. **World J. Microbiol. Biotechnol.** **28**: 1503 -1509.

Saghafi, K., Ahmadi, J., Asgharzadeh, A., and Bakhtiari, S. (2013). The effect of microbial inoculants on physiological responses of two wheat cultivars under salt stress. **International journal of Advanced Biological and Biomedical Research**. **1**(4): 421-431.

Shakirova F M. (2007). Role of hormonal system in the manifestation of growth promoting and anti -stress action of salicylic acid. In: Hayat, S., Ahmad, A. (Eds). Salicylic Acid. **A Plant Hormone. Springer. Dordrecht. Netherlands** **4**, 69-89

Sheligl, H. Q. (1986). Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. **Planta J**, **47**, 51.

Shaharoon, B., Arshad, M., and Zahir, Z.A. (2006) . Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.). **Letters in Applied Microbiology**. **42**(2): 155-159.

Schwartz SH, Tan BC, Gage DA, Zeevaart JAD, McCarty DR (1997) Specific oxidative cleavage of carotenoid by VP14 of maize. **Science** **276**: 1872–1874

Singh Jagtar Birbian, Niti Sinha, Shweta, Goswami Akshra: (2014) A critical review on PCR, its types and applications. **International Journal of Advanced Research in Biological Sciences**:**1**(7):65-80.

Singh, R.P. and P.N. Jha (2017). The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 augments resistance against biotic and abiotic stress in wheat plants. **Frontiers in microbiology.**, **8**,1945:

Sadeghi, A., Soltani, B. M., Jouzani, G. S., Karimi, E., Nekouei, M. K., & Sadeghizadeh, M. (2014). Taxonomic study of a salt tolerant *Streptomyces* sp. strain C-2012 and the effect of salt and ectoine on lon expression level. **Microbiological Research**, **169**(2-3), 232-238.

Smith J, Putnam A, Nair M (1990) In vitro control of fusarium diseases of *Asparagus officinalis* L. with a *Streptomyces* or its polyene antibiotic, faeriefungin. **Journal of Agricultural and food Chemistry** **38**: 1729-1733.

Stewart A (2001) Commercial biocontrol reality or fantasy? **Australasian Plant Pathology** **30**: 127-131.

Stoll, M., Loveys, B., & Dry, P. (2000). Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. **Journal of experimental botany**, **51**(350), 1627-1634.

Stone, S.L., and Gifford, D.J. (1997). Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early seedling growth: I storage protein reserves. **Int. J. Plant Sci.** **158**: 727-737.

Sujanya S, Chandra S (2011) Effect of part replacement of chemical fertilizers with organic and bio-organic agents in ground nut, *Arachis hypogea*. **Journal of Algal Biomass Utilization** **2**(4):38–41.

Singh, S. and K.K. Kapoor (1999). Inoculation with phosphatesolubilizing microorganisms and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in sandy soil. **Biol. Ferti. Soils**, **28**: 139-144.

Song Xiuchao, Manqiang Liu, Di Wu, Bryan S. Griffiths, Jiaguo Jiao, Huixin Li, Feng Hu Interaction matters: Synergy between vermicompost and PGPR agents improves soil quality, crop quality and crop yield in the field. **Applied Soil Ecology** Volume **89**, May 2015, Pages 25-34

Taylor, I. B., Burbidge, A., & Thompson, A. J. (2000). Control of abscisic acid synthesis. **Journal of experimental Botany**, **51**(350), 1563-1574.

Thipyapong P, Joel DM, Steffens JC (1997): Differential expression and turnover of the tomato polyphenol oxidase gene family during vegetative and reproductive development. **Plant Physiol**, **113**(3):707–718.

Thompson AJ, Jackson AC, Parker RA, Morpeth DR, Burbidge A, Taylor IB (2000a) Abscisic acid biosynthesis in tomato: regulation of zeaxanthin epoxidase and 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase mRNAs by light/dark cycles, water stress and abscisic acid. **Plant Mol Biol** **42**: 833–845

Timothy, J. and P.B. Eyzaguirre. (2007). Biofortification, biodiversity and diet: A search for complementary applications against poverty and malnutrition. **Food Policy**. **32**: 1-24

Tokala RK, Strap JL, Jung CM, Crawford DL, Salove MH, Deobald LA, Bailey JF, Morra MJ (2002) Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). **Applied and Environmental Microbiology** **68**: 2161-2171.

Trejo-Estrada SR, Sepulveda IR, Crawford DL (1998) In vitro and In vivo antagonism of *Streptomyces violaceusniger* YCED9 against fungal pathogens of turfgrass. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** **14**: 865–872.

Tuan Manh Nguyen, Van Hong Thi Pham & Jaisoo Kim (2015) *Mesorhizobium soli* sp. nov., a novel species isolated from the rhizosphere of *Robinia pseudoacacia* L. in South Korea by using a modified culture method. **Antonie van Leeuwenhoek** volume **108**, pages301–310

Vanitha, S.C., Umesha, S. (2011). *Pseudomonas fluorescens* mediated systemic resistance in tomato is driven through an elevated synthesis of defense enzymes. **Biol Plant** **55**, 317–322.

Verma, S., & Dubey, R. S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. **Plant Science**, **164**(4), 645-655.

Vessey JK (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant Soil** **255**(2):571–586

Waksman, S.A.; Henrici, A.T. (1943). The nomenclature and classification of the Actinomycetes. **Journal of Bacteriology**. **46**(4):337-341.

Wang, K. L. C., Li, H., & Ecker, J. R. (2002). Ethylene biosynthesis and signaling networks. **The plant cell**, **14**(suppl 1), S131-S151.

Wang, X., Selvam, A., Lau, S.S. and Wong, J.W. (2018). Influence of lime and struvite on microbial community succession and odour emission during food waste composting. **Bioresource technology** **247**: 652-659.

Wang QS, Wang MH, Zhang XZ, Hao BJ, Kaushik SK, Pan YC (2011) WRKY gene family evolution in Arabidopsis thaliana. **Genetica** **139**(8):973–983

Wildermuth, M. C., Dewdney, J., Wu, G., & Ausubel, F. M. (2001). Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. **Nature**, **414**(6863), 562-565.

Williams, S. T., Goodfellow, M., Wellington, E. M. H., Vickers, J. C., Alderson, G., Sneath, P. H. A., ... & Mortimer, A. M. (1983). A probability matrix for identification of some streptomycetes. **Microbiology**, **129**(6), 1815-1830.

Wu S.C., Z.H. Caob., Z.G. Lib, K.C. Cheunga and M.H. Wong. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: **A greenhouse trial. Geoderma** **125**: 155–166.

Wu ZJ, Li XH, Liu ZW, Li H, Wang YX, Zhuang J (2016) Transcriptome-wide identification of Camellia sinensis WRKY transcription factors in response to temperature stress. **Mol Genet Genomics** **291**(1):255–269 15.

Wu KL, Guo ZJ, Wang HH, Li J (2005) The WRKY family of transcription factors in rice and Arabidopsis and their origins. **DNA Res** **12**(1):9–26

Wehner, T. C., & Guner, N. (2002, August). Growth stage, flowering pattern, yield, and harvest date prediction of four types of cucumber tested at 10 planting dates. In **XXVI International Horticultural Congress: Advances in Vegetable Breeding** **637** (pp. 223-230).

Yao J, Allen C (2006) Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *J Bacteriol* **188**:3697–3708.

Yasari Esmail, M.A. Esmaili Azadgoleh, Saedah Mozafari and Mahsa Rafati Alashti, (2009). Enhancement of Growth and Nutrient Uptake of Rapeseed (*Brassica napus* L.) by Applying Mineral Nutrients and Biofertilizers. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12: 127-133

Yang, S.F., and Hoffman, N.E. (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher-plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **35**, 155–189.

Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Science* **14**: 1- 4.

Yazdani, M., Bahmanyar, M. A., Pirdashti, H., & Esmaili, M. A. (2009). Effect of phosphate solubilization microorganisms (PSM) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of corn (*Zea mays* L.). *World Academy of Science, Engineering and Technology*, **49**(1), 90-92.

Yilmaz, H., Taskin, T., and Otludil, B. 2003. Polyphenol oxidase activity during rooting in cuttings of grapes (*Vitis vinifera* L.) varieties. *Turk. J. Bot.*, **27**: 495-498.

Zahir, Z. A., Arshad, M., and Frankenberger, J. W. T. (2004). Plant growthpromoting rhizobacteria application and perspectives in agriculture. *Adv. Agron.***81**, 97–168.

Abstract

Nowadays, irregular consuming fertilizers and environmental pollutants cause many researchers and farmers are finding ways to reduce the use of chemical fertilizers to produce healthy products. The use of beneficial soil products such as growth promoting bacteria, suitable substitutes for improving soil fertility, increasing plant nutrient absorption and plant health are among the most important scientific methods to help soil stability and prevent the risk of chemical contaminants in the soil environment.

In this study, in order to identify and introduce *Streptomyces* strains as bio-fertilizer for cucumber and tomato, experiments were conducted to evaluate the effect of growth promoting *Streptomyces* strains on some vegetative and productive of cucumber and tomato in greenhouse of Biotechnology Research Institute of Iran. The experiment was conducted as a factorial design in a completely randomized design with four fertilizer levels (0, 75, 50, 100%) and three replications for each. The results showed that co cultivation of cucumber seedlings with ss12 and ss14 strains and 75% of NPK fertilizer increased some important characters such as fruit yield, fruit dry matter and root dry weight and ty17 strain with the same level NPK caused to increase yield in tomato. The other characters such as glucose, chlorophyll, carotenoids, nitrogen, phosphorus and potassium and molecular characters confirmed mentioned results. *Streptomyces* strains at different levels of fertilizer had different effects on different traits in cucumber and tomato. Then, using these strain can help us to decrease at least 25% NPK fertilizer and improve the yield.

Keywords: *Streptomyces*, cucumber, tomato, yield



Shahrood University Technology
Faculty of Agricultural
M.Sc Thesis in Agriculture of Biotechnology

Evaluate the effect of growth promoting *Streptomyces* on some physiological
and molecular traits related to yield in greenhouse plants cucumbers and
tomatoes

By: Elham Orouji

Supervisors

Dr. Shahrokh Gharanjic

Dr. Parisa Koobaz

Dr. Akram Sadeghi

September 2019