مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی online
دوره ۱۴، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۴
صفحه ۲۳۳-۲۱۷

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2026
Volume 14, Number 2, Pages: 217-233

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

10.61882/gebsj.14.2.9

جداسازی و شناسایی باکتری‌های محرک رشد گیاهی *Pseudomonas* از ریزوسفر گوجه‌فرنگی و بررسی توان زیست‌کنترلی آنها علیه قارچ *Fusarium oxysporum*

Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting *Pseudomonas* from the Tomato Rhizosphere and Study of Their Biocontrol Activity against *Fusarium oxysporum*

بهاره خوش‌خلق[۱]، فاطمه دهقان‌نیری[۲*] و حسن رسولی[۳]

Bahareh Khoshkholgh[1], Fatemeh Dehghan Nayeri[2*] and Hassan Rasouli[3]

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، ۲- دانشیار،
گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.
۳- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران،

1. PhD Candidate of Agricultural Biotechnology, 2. Associate Professor, Department of Biotechnology Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University (IKIU), Qazvin, Iran.
3. PhD Candidate of Agricultural Biotechnology, Department of Agricultural Biotechnology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email
nayeri@eng.ikiu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۲/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۴/۱ - تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۴/۱)
Received: 2026/05/07 | Accepted: 2026/06/22 | Published: 2026/06/22

چکیده

رفرانس دهی این مقاله Citation

Khoshkholgh B, Dehghan Nayeri F, Rasouli H. (2026). Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Pseudomonas from the Tomato Rhizosphere and Study of Their Biocontrol Activity against Fusarium oxysporum. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 14 (2) :217-233. Doi: 10.61882/gebsj.14.2.9
URL: http://gebsj.ir/article-1-544-en.html

Abstract

This study aims to characterize the biodiversity of fluorescent growth-promoting bacteria of the genus *Pseudomonas* from the rhizosphere of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fields of Qazvin and Shabestar provinces, at three different soil depths (5-10, 10-15 and 20-25cm). The isolates were evaluated for their ability to produce auxin, siderophore, hydrogen cyanide, and for inorganic phosphate solubilization. The highest number of isolates was found at the depth of 15 to 25 cm. The average auxin production (40.97 µg/mL) and the maximum hydrogen cyanide production capacity (more than 10 isolates) were observed in soil samples collected from Qazvin. Bacterial isolates including Q19, Q22, Q25, and Q26 showed substantial ability to inhibit the growth of the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Furthermore, molecular docking results revealed that the compound phenazine-1-carboxamide, with a binding energy of -8.3 kcal/mol, is capable of interacting with the SGE1 protein of the *Fusarium* fungus, a finding that could be utilized in the development of new fungicides based on bacterial secondary metabolites. Overall, the results of this research demonstrate that the tomato rhizosphere is rich in plant growth-promoting bacteria with diverse biocontrol capabilities, suitable for developing eco-friendly biofertilizers.

Keywords: Tomato, Rhizosphere, *Fusarium oxysporum*, *Pseudomonas,* molecular docking

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 14, Number 2, 2026

خلاصه

در این پژوهش به منظور شناسایی تنوع جامعه میکروبی ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی(*Solanum lycopersicum* L.)، باکتری‌های فلوئورسنت محرک رشد جنس سودوموناس از خاک مزارع قزوین و شبستر در سه عمق مختلف خاک (شامل ۵ تا ۱۰، ۱۰ تا ۱۵ و ۲۰ تا ۲۵ سانتی‌متر) جداسازی شدند. جدایه‌ها از نظر توانایی تولید اکسین، سیدروفور، سیانید هیدروژن و حلالیت فسفات معدنی ارزیابی شدند. بیشترین تعداد جدایه‌ها در عمق ۱۵ تا ۲۵ سانتی‌متری مشاهده شد. میانگین تولید اکسین (۴۰/۹۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و حداکثر قدرت تولید سیانید هیدروژن (بیش از ۱۰ جدایه) در نمونه‌های خاک قزوین مشاهده شد. در بررسی خاصیت زیست‌کنترلی، جدایه‌های Q19، Q22، Q25 و Q26 توانایی قابل قبولی در مهار رشد قارچ بیمارگر *Fusarium oxysporum* نشان دادند. همچنین، نتایج داکینگ مولکولی نشان داد که ترکیب فنازین-۱-کربوکسامید با انرژی اتصال ۸/۳- kcal/mol قادر به برهمکنش با پروتئین SGE1 قارچ فوزاریوم است که از این یافته می‌توان در توسعه قارچ‌کش‌های جدید بر پایه متابولیت‌های ثانویه باکتریایی بهره برد. در مجموع، نتایج حاصل از این پژوهش نشان دهنده‌ی تنوع ریزوسفر گوجه‌فرنگی از باکتری‌های محرک رشد با قابلیت‌های زیست‌مهارگری متنوع و مناسب برای توسعه کودهای زیستی سازگار با محیط زیست است.

کلمات کلیدی: گوجه‌فرنگی، ریزوسفر، *Fusarium oxysporum*، سودوموناس، داکینگ مولکولی

مقدمه Introduction

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) به عنوان یکی از سبزیجات اقتصادی و با ارزش غذایی بالا، سرشار از متابولیت‌های ثانویه سودمند مانند لیکوپن، فیبر، پتاسیم و ویتامین C در بخش کشاورزی و صنعت غذایی است (Rahman *et al.*, 2025). تحقیقات نشان داده است که عوامل بیمارگر قارچی مانند گونه‌های جنس *Fusarium*، *Rhizoctonia* و *Alternaria* در مزرعه و مرحله پس از برداشت باعث ایجاد خسارت اقتصادی گسترده در عملکرد و کیفیت محصول گوجه‌فرنگی می‌شوند (Maake & Sibisi, 2025; Singh *et al.*, 2017). امروزه، عوامل زیست‌کنترل طبیعی به عنوان جایگزینی مناسب و سازگار با محیط زیست برای کاهش مصرف سموم قارچ‌کش و خطرات ناشی از استفاده بی‌رویه از این ترکیبات شیمیایی در مزارع کشاورزی، نقش مهمی در مدیریت بیماری‌های محصولات زراعی ایفا می‌کنند. عوامل زیست‌کنترلی عمدتا شامل میکروارگانیسم‌های مفید و محرک رشد گیاه هستند که در ناحیه ریزوسفر یا فیلوسفر گیاه از طریق سازوکارهایی نظیر افزایش دسترسی گیاه به آب و مواد غذایی، سرکوب عوامل بیمارگر، رقابت بر سر عناصر غذایی و فضا با میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌های مضر و القای مقاومت سیستمیک در گیاه میزبان عوامل بیمارگر را تضعیف یا مهار می‌کنند (Ghoreshizadeh *et al.*, 2025).

ریزوسفر به عنوان ناحیه فعال اطراف ریشه، جایگاه اصلی تعاملات گیاه-میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و یکی از غنی‌ترین مخازن تنوع میکروبی در خاک به شمار می‌رود. ترشح ترکیبات آلی و متابولیت‌های ثانویه، مواد معدنی، کربوهیدرات‌ها و آمینواسیدها توسط ریشه‌ها، سبب ایجاد گرادیان‌های زیست‌شیمیایی می‌شود که بر ساختار و فعالیت جامعه میکروبی ریزوسفر اثر می‌گذارد (Reinhold-Hurek *et al.*, 2015; Wen *et al.*, 2022; Zhalnina *et al.*, 2018). این تعاملات نقش مهمی در سلامت، رشد، توسعه و عملکرد گیاه و همچنین پویایی خاک ایفا می‌کنند (Peng *et al.*, 2025). در این میان، باکتری‌های جنس سودوموناس به عنوان عوامل همزیست و کلونیزه کننده ریشه در تقویت رشد و دفاع از گیاه در مقابل عوامل بیمارگر اهمیت ویژه‌ای دارند. این باکتری‌ها با تولید فیتوهورمون‌ها، کلاته کردن عناصر فلزی به خصوص آهن از طریق ترشح ترکیبات سیدروفوری و افزایش حلالیت فسفات معدنی توسط اسیدهای آلی، دسترسی سیستم ریشه‌ای گیاه به عناصر غذایی را افزایش

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

می‌دهند و در نتیجه توان دفاعی گیاه را در برابر عوامل بیمارگر را تقویت می‌کنند (Chu *et al*., 2020; Chaudhary *et al*., 2025; Mazuecos-Aguilera *et al*., 2025; Tian *et al*., 2021).

قارچ‌های جنس *Fusarium* از مهمترین و پیچیده‌ترین قارچ‌های خاکزی هستند که باعث خسارت اقتصادی چشمگیری در محصولات زراعی، سبزی و صیفی می‌شوند. در بین اعضای این خانواده، گونه‌ی *F. oxysporum* به عنوان یکی از عوامل بیمارگر خاکزاد با دامنه میزبانی متنوع شناخته می‌شود که شامل گونه‌های بیماری‌زا، غیربیماری‌زا و تولید کننده مایکوتوکسین است (Srinivas *et al.*, 2019). بیماری‌های گیاهی مهمی مانند پژمردگی آوندی، پوسیدگی طوقه و ریشه و مرگ گیاهچه که در بسیاری از محصولات زراعی مشاهده می‌شوند ناشی از این گونه قارچی هستند. قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* یکی از مهمترین عوامل پژمردگی آوندی گوجه‌فرنگی است و موجب کاهش قابل توجه در عملکرد و کیفیت محصول می‌شود (Srinivas *et al.*, 2019). به دلیل محدود بودن قارچ‌کش‌های موثر علیه قارچ فوزاریوم، پیشروی آن در بافت‌های آوندی گیاه و بقا طولانی ساختارهای قارچ در خاک، کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی بسیار دشوار است. تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های اندوفیت جدا شده از اندام‌های گیاه *Nicotiana glauca* به صورت چشمگیری می‌توانند باعث مهار این بیماری در گیاه گوجه‌فرنگی شوند (Abdallah *et al*., 2016). همچنین گزارش شده است دو گونه سودوموناس شامل *P. chlororaphic* PCL1391 و *P. fluorescens* جدا شده از ریزوسفر گوجه‌فرنگی با ترشح متابولیت ثانویه فنازین-۱-کربوکسامید (PCN) قادر به مهار *F. oxysporum* f. sp. *radices-lycopersici* عامل بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی می‌باشند (Bolwerk *et al*., 2003). گونه‌های دیگر سودوموناس مانند *P. chlororaphis* IRHB3، *P. chlororaphis* PCL1606، *P. chlororaphis* PCL1601 و *P. chlororaphis* YTBTa14 با تولید فیتوهورومون‌هایی نظیر اکسین و جیبرلین، افزایش مقاومت القایی، کلونیزاسیون ریشه، افزایش تنوع میکروبی باکتری‌های محرک رشد در ناحیه ریزوسفر و افزایش بیان ژن‌های دخیل در مقاومت گیاه، باعث سرکوب طیف وسیعی از عوامل بیمارگر به ویژه زیرگونه‌های *F. oxysporum* می‌شوند (Li *et al*., 2025; Wei *et al*., 2024; Villar-Moreno *et al*., 2022). بنابراین، شناسایی باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر گوجه‌فرنگی علاوه بر اینکه باعث افزایش دانش محققان در زمینه‌ی تنوع میکروبی و رابطه همزیستی ریشه‌های این گیاه و میکروارگانیسم‌های مفید می‌شود، می‌تواند به صورت موثری در شناسایی عوامل میکروبی زیست‌کنترلی علیه قارچ‌های بیمارگر این گیاه که باعث ایجاد خسارت چشمگیر در کیفیت و عملکرد محصول آن می‌شوند، نقش داشته باشد. در پژوهش حاضر با در نظر گرفتن اهمیت باکتری‌های محرک رشد گیاهی سودوموناس فلوئورسنت در تقویت رشد و سلامت گیاه گوجه‌فرنگی، جمعیت میکروبی ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی در منطقه‌ی شبستر استان آذربایجان شرقی و اقبالیه استان قزوین به منظور شناسایی جدایه‌های سودوموناس محرک رشد گیاهی و مهارگر قارچ *F. oxysporum* مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

Materials and Methods

جمع‌آوری نمونه خاک ریزوسفر گوجه‌فرنگی: در این پژوهش، نمونه‌برداری از خاک ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی (در مرحله میوه‌دهی) در دو منطقه ایران شامل شبستر (استان آذربایجان شرقی) با بافت خاک سبک و شنی و اقبالیه (استان قزوین) با بافت خاک لومی در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ انجام شد. عمق‌های خاک نمونه برداری شده شامل ۵ تا ۱۰، ۱۰ تا ۱۵ و ۲۰ تا ۲۵ سانتی‌متر بودند که به عمق A، عمق B و عمق C نامگذاری شدند. از هر شهر، دو مزرعه انتخاب و از هر مزرعه گیاهان به طور تصادفی از سه نقطه جداگانه به فاصله ۲۰ سانتی‌متر از یکدیگر انتخاب و با یکدیگر ترکیب شدند (Smalla *et al*., 2001). در نمونه برداری، خاک چسبیده به ریشه گیاه تهیه شد و به کیسه نایلونی تمیز انتقال یافت (Barillot *et al*., 2013). برای جداسازی باکتری‌ها، ابتدا ۱۰ گرم از خاک جمع‌آوری شده از ناحیه ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد شیک شد. سپس رقت‌های سریالی از مخلوط حاصل تهیه و از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر روی محیط نوترینت‌آگار (NA) کشت داده شد و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

گرماگذاری شد. در مرحله‌ی بعد، کلونی‌های فلورسنت از سایر کلونی‌های غیرفلورسنت تفکیک شد و آزمون‌های اولیه شامل رنگ‌آمیزی گرم و بررسی خواص تحریک‌کنندگی رشد برای کلونی‌های تفکیک شده صورت گرفت. برای شناسایی بیوشیمیایی کلونی‌های مدنظر، آزمون‌های سیترات (با استفاده از محیط کشت سیمون‌سیترات حاوی نمک سیترات‌سدیم به عنوان منبع کربن)، اکسیداز (با استفاده از محلول ۱ درصد تترامتیل-پارا-فنیلن‌دی‌آمین دی‌هیدروکلرید (TMPD))، کاتالاز (با استفاده از پراکسید هیدروژن ۳ درصد) و محیط کشت سه‌قندی آهن (TSI) برای بررسی تخمیر قندهای گلوکز و لاکتوز و تولید گاز مورد استفاده قرار گرفت. تغییر رنگ کلونی یا تولید حباب در آزمون‌های موردنظر، نشانگر مثبت بودن هر آزمون برای کلونی‌های مورد بررسی بود (Lehman, 2005; Steel, 1961).

آزمون تولید سیدروفور: برای بررسی توان تولید سیدروفور کلونی‌های جداسازی شده، از آزمون تولید سیدروفور با استفاده از نشانگر بیوشیمیایی کروم‌آزول S (CAS) (به عنوان عامل کلات کننده برای اتصال به آهن) با بهینه‌سازی دستورالعمل‌های موجود استفاده شد (Louden *et al.*, 2011). به این منظور، ابتدا به مقدار ۰/۰۶۰۵ گرم از پودر CAS در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول آهن ترکیب شد. محلول آهن از ترکیب غلظت یک میلی‌مولار $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ با HCl ۱۰ میلی‌مولار تهیه شد. سپس، به مقدار ۷۲/۹ میلی‌گرم از پودر هگزادسیل‌تریمتیل‌آمونیوم (HDTMA) در ٤٠ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و پس از ترکیب با محلول CAS در آهن، در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه شد. سپس، مخلوط CAS و کلریدآهن به نسبت ۹۰۰ به ۱۰۰ با محیط لوریا-برتانی آگار (LBA) ترکیب گردیدند. مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی در سه تکرار به صورت قطره‌ای بر روی سطح محیط LBA کشت شد و تولید هاله و تغییر رنگ پس از گذشت زمان ٤ روز بررسی شد. میزان شاخص تولید سیدروفور از نسبت قطر کلونی به مجموع قطر هاله و کلونی محاسبه شد.

آزمون حل‌کنندگی فسفات: برای بررسی قدرت انحلال فسفات معدنی توسط کلونی‌های سودوموناس شناسایی شده از دستورالعمل موجود بر مبنای محیط کشت NBRIP حاوی تری‌کلسیم‌فسفات استفاده شد (Nautiyal, 1999). ابتدا، ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر باکتری رشد کرده در محیط مایع تریپتیک سوی‌براث (TSB) در سه تکرار به صورت قطره‌ای در محیط جامد کشت شد. سپس، کلونی‌های موردنظر از لحاظ تشکیل هاله حل‌کنندگی فسفات بررسی شدند. عدم تشکیل هاله در محیط کشت به منزله عدم توانایی کلونی‌های مورد مطالعه در حلالیت فسفات است.

آزمون تولید اکسین: به منظور ارزیابی کلونی‌های سودوموناس جداسازی شده برای تولید فیتوهورمون اکسین، سه تکرار از هر باکتری پس از رشد در محیط کشت TSB، به محیط حاوی ۵۰۰ میکروگرم تریپتوفان منتقل گردید و به مدت ۷۲ ساعت در شیکر انکوباتور قرار گرفت. در مرحله‌ی بعد، فاز رویی کشت پس از سانتریفوژ، با محلول سالکوفسکی به نسبت ۲:۱ ترکیب شد. پس از قرار دادن محلول تهیه شده به مدت ۲۵ دقیقه در تاریکی، جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. در صورت ترکیب اکسین با محلول سالکوفسکی، محلول حاصل تغییر رنگ پیدا می‌کند که نشان دهنده‌ی توانایی تولید اکسین توسط باکتری است (Bent *et al.*, 2001). برای کمی‌سازی تولید اکسین توسط باکتری، از منحنی استاندارد اکسین در دامنه غلظت ۱۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد.

آزمون تولید سیانیدهیدروژن: به منظور شناسایی توانایی تولید سیانیدهیدروژن توسط باکتری‌های جداسازی شده، آزمون تولید سیانیدهیدروژن بر مبنای سنجش کیفی مبتنی بر تغییر رنگ مشاهده شده ارزیابی شد. یک کلونی از باکتری در محیط تریپتیک سوی‌آگار (Soy agar) حاوی ٤/٤ گرم/لیتر گلایسین کشت شد. در ادامه، کاغذ صافی آغشته به پیکریک‌اسید ۰/۵ درصد و کربنات‌سدیم ۲ درصد، روی سطح محیط کشت قرار داده شد (Hnini & Aurag, 2024). پس از ٤٨ الی ٩٦ ساعت گرماگذاری محیط کشت‌های حاوی باکتری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نتایج ثبت شد. از پتری حاوی محیط کشت فاقد باکتری به عنوان تیمار شاهد استفاده شد. تغییر رنگ کاغذ صافی به قهوه‌ای روشن، قهوه‌ای و قهوه‌ای مایل به قرمز به عنوان توانایی ضعیف (+)، متوسط (++) یا قوی (+++) باکتری‌ها برای تولید سیانیدهیدروژن ثبت شد (Abd El-Rahman *et al.*, 2019).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

استخراج ماده ژنتیکی: به منظور شناسایی مولکولی و مقایسه فیلوژنتیکی باکتری‌های مورد بررسی با سایر گونه‌های جنس سودوموناس گزارش شده در پایگاه‌های داده ژنومی، ارزیابی مولکولی به شرح زیر انجام شد (Zhou *et al.*, 1996). ابتدا، پس از سانتریفوژ کردن سوسپانسیون باکتری و حذف سوپرناتانت رویی حاصل، توده ته‌نشین شده در بافر استخراج حل شد. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم قرار داده شد و آنزیم لیزوزیم به آن اضافه شد. در ادامه، به آن آنزیم پرتئیناز k به محلول ۰/۵ درصد SDS اضافه شد و نمونه به مدت ۹۰ تا ۱۲۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم قرار داده شد. پس از سانتریفوژ، فاز آبی توسط مخلوط کلروفرم/ ایزوآمیل‌الکل با نسبت ۲٤:۱ استخراج شد. پس از دو مرحله تکرار این مرحله، محلول رویی شفاف توسط ایزوپروپانول سرد و سدیم‌استات رسوب داده شد و سپس با الکل شستشو شد (Zhou *et al.*, 1996).

شناسایی مولکولی: از ژن *16S rRNA* برای شناسایی مولکولی باکتری‌های فلورسنت ارزیابی شده در پژوهش حاضر با استفاده از پرایمرهای عمومی 27f (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) و 1492R (TACGGYTACCTTGTTACGACTT) استفاده گردید (Weisburg *et al.*, 1991). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با چرخه دمایی: واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ چرخه تکثیر شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه در دستگاه ترموسایکلر حاوی میکروتیوب‌های واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. با استفاده از الکتروفورز و ژل آگارز ۱ درصد از تکثیر قطعات هدف در ژنوم باکتری‌ها اطمینان حاصل شد و با استفاده از دستگاه ترانس‌ایلومینار از ژل حاوی قطعات تکثیری عکس‌برداری شد. پس از توالی‌یابی قطعات تکثیری، انتهای ۳' و ۵' توالی‌ها برای حذف بازهای فاقد کیفیت و ساخت فایل کانتیگ واحد از خوانش‌های دو طرفه با استفاده از نرم‌افزار BioEdit انجام شد.

ارزیابی فیلوژنتیکی: توالی‌های پردازش شده به منظور شناسایی توالی‌های مشابه با استفاده از ابزار BLASTn (با اعمال تنظیمات پیشفرض) در پایگاه NCBI جستجو شد و نتایج بدست آمده مرتبط با گونه‌های مشابه با کمترین امتیاز E-value در فرمت *fasta* ذخیره شد. از نرم‌افزار MEGA 12 (Kumar *et al.*, 2024) و روش Maximum Likelihood با اعمال تنظیمات Adaptive bootstrap و در نظر گرفتن آستانه ۵ و مدل General Time Reversible Model و شاخص Gamma برابر ۵ برای ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی و بررسی ارتباطات تکاملی بین باکتری‌های شناسایی شده و سایر گونه‌های سودوموناس موجود در بانک‌های اطلاعاتی ژنومی استفاده شد (Kumar *et al.*, 2024).

شناسایی جدایه‌های زیست‌مهارگر: در پژوهش حاضر، ابتدا قارچ *F. oxysporum* از متخصص بیماری‌شناسی گیاهی بانک ژن موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج (دکتر احمد عباسی مقدم) تهیه شد. به منظور شناسایی جدایه‌های سرکوبگر قارچ *F. oxysporum* از بین باکتری‌های فلوئورسنت جداسازی شده، از روش کشت دوگانه در محیط ترکیبی سیب‌زمینی-دکستروز آگار (PDA) و نوترینت-آگار (NA) استفاده شد. ابتدا، یک برش ظریف از قارچ *F. oxysporum* پس از یک هفته رشد روی محیط PDA تهیه شد و در وسط پتری‌دیش حاوی محیط کشت ترکیبی (PDA+NA) قرار داده شد. سپس، سوسپانسیون باکتری رشد یافته در محیط LB در سه تکرار به صورت قطره‌ای با فاصله یکسان از مرکز پتری‌دیش کشت شد (Baptista *et al.*, 2022). خاصیت ضدقارچی باکتری‌های مورد بررسی به صورت کیفی و در بازه زمانی یک هفته‌ای روی محیط کشت حاوی قارچ-باکتری رصد و سودوموناس‌های زیست‌مهارگر از سایر جدایه‌های باکتریایی تفکیک شدند. با مقایسه‌ی میزان رشد ریسه‌های قارچ *F. oxysporum* در حضور باکتری‌های فلوئورسنت با نمونه شاهد، جدایه‌های زیست‌مهارگر با پتانسیل مهارکنندگی بالا، متوسط و ضعیف از یکدیگر تفکیک شدند. در پژوهش حاضر، تیمار قارچ بدون حضور باکتری در محیط کشت به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

داکینگ مولکولی: برای توجیه اثرات ضدقارچی باکتری‌های سودوموناس جدا شده علیه قارچ *F. oxysporum* از روش داکینگ مولکولی استفاده شد. ابتدا، داده‌های پایگاه‌های داده علمی Scopus و Pubmed به منظور شناسایی متابولیت‌های ضدقارچی جنس سودوموناس بررسی

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

و مطالعه شد. بر اساس گزارشات علمی (Mavrodi *et al.*, 2006; Chin-A-Woeng *et al.*, 2003)، برخی گونه‌های جنس سودوموناس قادر به تولید و ترشح متابولیت ثانویه ضدقارچی PCN هستند. ساختار شیمیایی ترکیب PCN از بانک ترکیبات شیمیایی PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov) در فرمت *sdf*. سه‌بعدی دریافت شد و پس از بهینه‌سازی ساختاری و انرژی اتم‌ها با استفاده از نرم‌افزار Avogadro (https://avogadro.cc/index.html)، به عنوان لیگاند ورودی برای بررسی برهمکنش آن با پروتئین SIX Gene Expression 1 (SGE1) که در مطالعات قبلی به عنوان یکی از پروتئین‌های کلیدی گونه فوزاریوم معرفی شده است، استفاده شد (Sonkar *et al.*, 2024). توالی پروتئین SGE1 از بانک اطلاعاتی UniProt با شماره دسترسی J9N5P9 دانلود و ساختار سه‌بعدی با استفاده از نرم‌افزار Modeller v10.8 مدلسازی شد. سپس، با استفاده از نرم‌افزار AutoDock Vina v 4.2.6 با اعمال تنظیمات پیشفرض داکینگ پروتئین-لیگاند انجام شد و براساس انرژی داکینگ بر حسب کیلوکالری/مول، تمایل اتصالی ترکیب PCN به این پروتئین محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: در پژوهش حاضر داده‌های حاصل از آزمون‌های بیوشیمیایی و محرک رشد در سه تکرار انجام شد. سپس از نرم‌افزار R v4.5.3 و بسته‌های *ggplot2* و *agricolae* برای آنالیز آماری داده‌ها استفاده شد. به منظور بررسی تفاوت‌های موجود در پارامترهای اندازه‌گیری شده برای خاک‌های مورد مطالعه از تحلیل خوشه‌بندی سلسله مراتبی با استفاده از بسته *pheatmap* در نرم‌افزار R استفاده شد.

نتایج و بحث Results and Discussion

شناسایی جدایه‌های فلوئورسنت

در مجموع از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی در دو منطقه‌ی شبستر و اقبالیه قزوین ۲۷۶ کلونی باکتری جداسازی شد. اگرچه همه‌ی کلونی‌های جداسازی شده متعلق به جنس سودوموناس نبودند، اما بر اساس آزمون رنگ‌آمیزی گرم، از میان کلونی‌های تفکیک شده ۵۸ کلونی دارای خاصیت فلورسنت، ویژگی‌های ریخت‌شناسی شامل شکل باکتری، تحرک، سرعت رشد و مورفولوژی کلونی مشابه با باکتری‌های فلوئورسنت جنس سودوموناس و گرم منفی بودند. مقایسه این نتایج با گزارشهای قبلی نشان داد که در ریزوسفر گوجه‌فرنگی عمدتا جدایه‌های متعلق به جنس سودوموناس شامل *P. fluorescens*، *P. putida*، *P. aeruginosa* و همچنین جدایه‌ی *Ralstonia pickettii* از جمله گونه‌های غالب در این ناحیه هستند (Pastor *et al.*, 2012). نتایج این پژوهش نشان داد فراوانی جدایه‌های سودوموناس فلوئورسنت در اعماق مختلف خاک یکنواخت نبود و بیشترین تعداد سودوموناس‌های فلوئورسنت جدا شده از منبع خاک اول (منطقه‌ی شبستر با بافت سبک و شنی) در عمق C (۲۰ تا ۲۵ سانتی‌متری خاک) بدست آمد، در حالی که فراوانی آنها در عمق B (۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر) و عمق A (۵ تا ۱۰ سانتی‌متر) کمتر بود. تفاوت مشاهده شده در پراکنش باکتری‌های سودوموناس فلوئورسنت در اعماق مختلف خاک منبع اول می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط محیطی و خاکی، خصوصیات فیزیکی خاک، توزیع ریشه‌ها، رطوبت و دسترسی به منابع کربن و مواد غذایی در لایه‌های مختلف خاک اطراف سیستم ریشه‌ای گیاه گوجه‌فرنگی باشد در مقابل، پراکنش باکتری‌های فلوئورسنت در منبع خاک دوم (منطقه‌ی اقبالیه قزوین با بافت خاک لوم) با فراوانی بالا در بخش فوقانی خاک ریزوسفر (عمق B) و پراکنش متوسط در عمق C مشاهده شد. مقایسه‌ی نتایج بدست آمده برای ارزیابی فراوانی باکتری‌های سودوموناس جدا شده از خاک این دو منطقه نشان داد که بافت خاک در مزارع گوجه‌فرنگی احتمالا نقش کلیدی در پراکنش عمقی سودوموناس‌های فلوئورسنت در ناحیه ریزوسفر دارد. می‌توان گفت که ویژگی‌های فیزیکی خاک از طریق تاثیر بر گسترش و توزیع سیستم ریشه‌ای گیاه و پایداری شرایط محیطی، الگوی استقرار باکتری‌های سودوموناس فلوئورسنت را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های سودوموناس عمدتا در همه‌ی قسمت‌های سیستم ریشه‌ای گیاه گوجه‌فرنگی پراکنش دارند، اما این جدایه‌ها در بخش‌های فوقانی خاک بخصوص در عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متر به دلیل تراکم حداکثری ریشه و ترشحات غنی از مواد غذایی بیشترین فراوانی را دارند (Chin-A-Woeng *et al.*, 1997).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

توانایی تولید اکسین و سیدروفور

تحقیقات نشان داده است توانایی باکتری‌های محرک رشد برای تولید فیتوهورمون اکسین نه تنها منجر به تقویت تعاملات گیاه-جامعه میکروبی می‌شود، بلکه به عنوان عاملی کلیدی می‌تواند رشد و توسعه گیاه را نیز تحت تاثیر قرار دهد (Zamioudis *et al.*, 2013). بنابراین، می‌توان از ویژگی تولید اکسین توسط باکتری‌های محرک رشد گیاهی به عنوان فاکتوری مناسب برای کاهش خطرهای ناشی از استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی که اثرات نامطلوبی روی اکوسیستم زیستی دارند برای دستیابی به عملکرد بالاتر بهره برد (Vessey, 2003). به نظر می‌رسد فیتوهورمون اکسین تولید شده توسط باکتری‌های محرک رشد بر سیستم ریشه‌ای گیاه اثر می‌گذارد و باعث افزایش طول ریشه، تحریک ریشه‌های جانبی و ریشه‌های مویین می‌شود. در نتیجه می‌توان گفت مقادیر اضافی اکسین ترشح شده توسط باکتری‌ها معماری سیستم ریشه‌ای گیاه را تغییر می‌دهد و باعث افزایش سطح تماس ریشه با خاک می‌شود و جذب آب و عناصر غذایی و معدنی که برای رشد گیاه مورد نیاز است را بهبود می‌بخشد. از طرف دیگر، اکسین باکتریایی می‌تواند تعادل هورمونی گیاه را تنظیم نماید و پاسخ‌های فیزیولوژیک و مولکولی مرتبط با رشد گیاه، تقسیم و تمایز سلولی را تحت تاثیر قرار دهد (Ahmed & Hasnain, 2014). بنابراین، باکتری‌های محرک رشدی که دارای توان بالاتری برای تولید هورمون اکسین هستند، با تضمین رشد پایدار گیاه باعث بهبود عملکرد آن می‌شوند. نتایج این پژوهش نشان داد که جدایه‌های شناسایی شده از لحاظ تولید فیتوهورمون اکسین در دو منطقه مورد مطالعه با یکدیگر متفاوت هستند (شکل ۱). در این راستا، میانگین تولید اکسین برای جدایه‌های شناسایی شده از خاک اقبالیه قزوین ۴۰/۹۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای جدایه‌های خاک شبستر آذربایجان شرقی ۲۹/۰۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در هر دو خاک مورد بررسی، جدایه‌های سودوموناس با تولید مقدار اکسین بالاتر از آستانه محاسبه شده برای همه‌ی جدایه‌ها نیز مشاهده شد به نحوی که ۲۰ درصد جدایه‌ها دارای تولید اکسین بالاتر از ۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند و فراوانی آنها در ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی منطقه‌ی اقبالیه بیشتر از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی در منطقه شبستر بود. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تولید فیتوهورمون اکسین در جدایه‌های Q17، Q21 و Q7 (جدا شده از عمق ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری ریزوسفر گوجه‌فرنگی) به ترتیب برابر با ۱۰۶، ۱۰۳/۰۷ و ۹۰/۶۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در مقابل، بالاترین مقدار تولید اکسین در جدایه‌های S13 و S12 جدا شده از عمق C خاک ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی شبستر به ترتیب برابر با ۷۰/۷ و ۶۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. ارزیابی جدایه‌های سودوموناس جدا شده از ریزوسفر هر دو منطقه مورد بررسی برای تولید سیدروفور نشان داد که سطح متنوعی از شدت تولید سیدروفور در میان این جدایه‌ها وجود دارد. از میان ۵۸ جدایه مورد بررسی تنها جدایه‌های Q7، Q13 و Q24 برای هر دو شاخص تولید اکسین و سیدروفور توانایی قابل قبولی از خود نشان دادند.

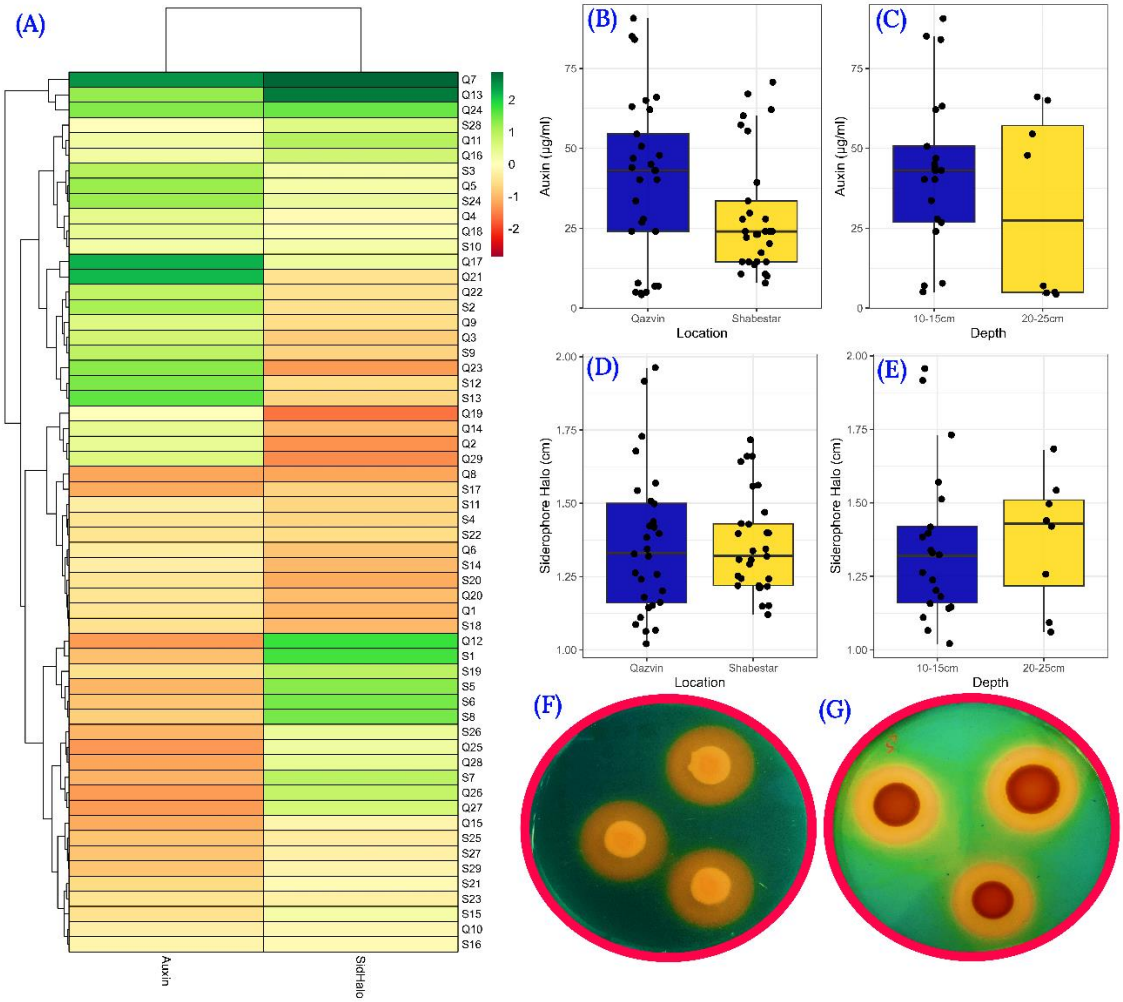
توانایی تولید سیانیدهیدروژن و انحلال فسفات

تحقیقات نشان داده است که توانایی باکتری‌های محرک رشد گیاهی در تولید سیانیدهیدروژن (HCN) یکی از عوامل تاثیرگذار در کنترل عوامل بیمارگر گیاهی است. به طور کلی، HCN یک متابولیت حاصل از فرآیند متابولیکی سیانوژنز باکتریایی است که در بسیاری از باکتری‌های ریزوسفری به خصوص جنس *Pseudomonas* و *Bacillus* مشاهده می‌شود و با مهار رشد یا مرگ میکروارگانیسم‌های رقیب و عوامل بیمارگر گیاهی نقش کلیدی در کنترل زیستی این عوامل دارد (Sehrawat *et al.*, 2022). مطالعات مختلف نشان داده است که باکتری‌های سودوموناس از توانایی بالایی برای تولید HCN، انحلال فسفات معدنی، تولید فیتوهورومون اکسین، تولید سیدروفور و خاصیت تثبیت‌کنندگی نیتروژن برخوردار هستند (Sehrawat *et al.*, 2022). بنابراین، می‌توان با شناسایی گونه‌های مختلف جنس سودوموناس از ناحیه‌ی ریزوسفر گیاهان زراعی که دارای توانایی تحریک رشد گیاه و تولید HCN بالا هستند، برای توسعه فرمولاسیون‌های کود زیستی و عوامل زیست‌کنترلی طبیعی بهره برد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تمام جدایه‌های جدا شده از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی قزوین و شبستر قادر به تولید متابولیت HCN بودند، اما شدت تولید HCN (براساس آزمون کیفی انجام شده) در آنها متفاوت است (شکل ۲). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که جدایه‌های فلوئورسنت جدا شده از خاک منطقه‌ی اقبالیه قزوین از پتانسیل بالاتری برای تولید HCN

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

برخوردار بودند، اگرچه حداقل ۱۰ جدایه سودوموناس با توان تولید HCN متوسط تا قوی در ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی شبستر نیز شناسایی شد.

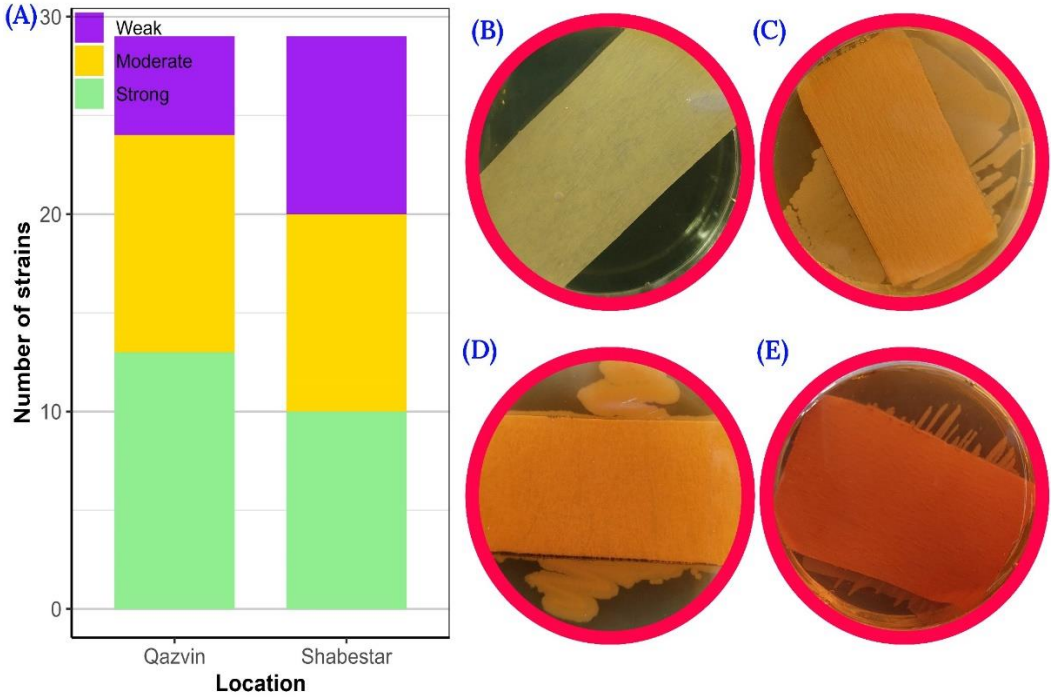


شکل ۱- مقایسه شاخص تولید سیدروفور و فیتوهورمون اکسین در جدایه‌های جدا شده از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی قزوین (Q) و شبستر (S). A) هیت‌مپ مقایسه‌ای تولید اکسین/سیدروفور در جدایه‌های مورد بررسی، B) متوسط تولید اکسین در ریزسفر منطقه Q/S، C) مقایسه مقدار متوسط تولید اکسین در جدایه‌های منطقه Q/S بر حسب عمق خاک، D) متوسط قطر هاله تولید سیدروفور در منطقه Q/S، E) متوسط قطر هاله تولید سیدروفور در منطقه Q/S بر حسب عمق خاک، F و G) هاله حاصل از توانایی تولید سیدروفور در جدایه‌های Q7 و S1.

Figure 1. Comparison of siderophore production index and auxin phytohormone in strains isolated from the tomato rhizosphere of Qazvin (Q) and Shabestar (S) fields. A) Comparative heatmap of auxin/siderophore production in the studied strains, B) Mean auxin production in the rhizosphere of Q/S regions, C) Comparison of mean auxin production in strains of Q/S regions by soil depth, D) Mean siderophore halo diameter in Q/S regions, E) Mean siderophore halo diameter in Q/S regions by soil depth, F and G) the observed Halo resulting from siderophore production ability in Q7 and S1 strains

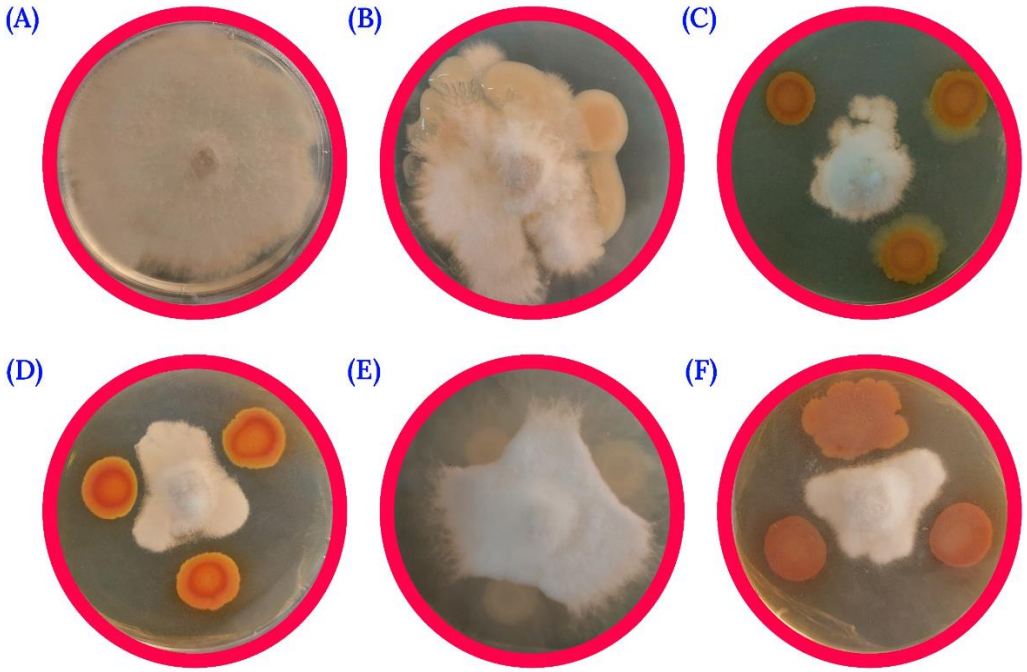
در پژوهش حاضر، نتایج آزمون انحلال فسفات معدنی برای جدایه‌های فلوئورسنت جدا شده از هر دو منبع خاک مورد مطالعه تنوع نشان داد. در جدایه‌های شناسایی شده از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی قزوین، حلالیت فسفات در جدایه‌های Q9، Q25 و Q11 با تولید هاله کمتر از ۱/۵ سانتی‌متر، دارای توانایی حل‌کنندگی فسفات پایینی بودند. در مقابل، جدایه Q10 با اندازه‌ی هاله‌ی حل‌کنندگی فسفات بیشتر از ۲ سانتی‌متر، در مقایسه با سایر جدایه‌های سودوموناس مورد بررسی توانایی بالاتری برای این ویژگی از خود نشان داد. متقابلا، در نمونه‌ی خاک شبستر نیز توانایی حلالیت فسفات در برخی جدایه‌ها مانند S17، S14، S11 و S10 ضعیف و مشابه یکدیگر بود. براساس این نتایج، دو جدایه S9 و S24 بالاترین میزان حل‌کنندگی فسفات را در مقایسه با سایر جدایه‌ها از خود نشان دادند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]



شکل ۲- مقایسه جدایه‌های فلوئورسنت جدا شده از دو خاک قزوین و شبستر برای توانایی تولید HCN. A) نمودار فراوانی جدایه‌های سودوموناس براساس قدرت تولید HCN، B) نمونه کنترل بدون تیمار باکتری، C) جدایه Q14 با توان تولید HCN ضعیف، D) جدایه S8 با توان تولید HCN متوسط، E) جدایه Q4 با توان تولید HCN قوی. توانایی تولید سیانیدهیدروژن توسط باکتری‌های مورد بررسی، به صورت کیفی و بر مبنای شدت تغییر رنگ از زرد به قهوه‌ای روشن، قهوه‌ای و قرمز ارزیابی شده است.

Figure 2. Comparison of fluorescent strains isolated from Qazvin and Shabestar soils for HCN production ability. A) Frequency diagram of fluorescent strains based on HCN production strength, B) Control sample without bacterial treatment, C) Strain Q14 with weak HCN production ability, D) Strain S8 with moderate HCN production ability, E) Strain Q4 with strong HCN production ability. The hydrogen cyanide production ability of the studied bacteria was evaluated qualitatively based on the intensity of color change from yellow to light brown, brown, and red.



شکل ۳- خاصیت زیست‌کنترلی برخی از جدایه‌های فلوئورسنت جداسازی شده از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی Q/S با جدایه غیرفلوئورسنت Q19 و نمونه شاهد. A) نمونه شاهد بدون حضور باکتری، B) جدایه Q22، C) جدایه Q25، D) جدایه Q26، E) جدایه Q19 (غیرفلوئورسنت) و F) جدایه S1

Figure 3. Biocontrol activity of selected fluorescent strains isolated from the tomato rhizosphere of Q/S fields, along with the non-fluorescent strain Q19 and the control sample. A) Control sample without bacterial presence, B) Strain Q22, C) Strain Q25, D) Strain Q26, E) Strain Q19 (non-fluorescent), and F) Strain S1.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

در مجموع، این نتایج نشان می‌دهند که جدایه‌های مختلف سودوموناس از نظر توانایی حلالیت فسفات معدنی دارای تنوع عملکردی قابل توجهی هستند، به نحوی که این توانایی می‌تواند به منبع خاک و ویژگی‌های اکولوژیکی هر منطقه مرتبط باشد.

توانایی زیست‌مهارگری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که برخی از باکتری‌های فلوئورسنت جدا شده از هر دو منبع خاکی ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی قزوین و شبستر قادر به مهار قارچ *F. oxysporum* به صورت درون‌شیشه‌ای هستند. برخی از جدایه‌های مهارکننده این قارچ می‌توانند رشد حداکثری این قارچ را به حداقل برسانند و از توسعه آن روی محیط کشت جلوگیری کنند (شکل ۳). مشاهدات حاصل از این پژوهش نشان داد که خاصیت زیست‌کنترلی برخی جدایه‌های فلوئورسنت مورد بررسی احتمالا در ارتباط با توانایی این باکتری‌ها برای تولید بیوفیلم و هاله نارنجی رنگ اطراف محیط کلونی باکتری است که به صورت چشمگیری رشد قارچ مذکور را کاهش می‌دهد. همچنین، بایستی به این نکته اشاره کرد که برخی از جدایه‌های سودوموناس مورد مطالعه در این پژوهش فاقد توانایی لازم برای کنترل رشد قارچ *F. oxysporum* بودند. با در نظر گرفتن این نتایج می‌توان گفت که سودوموناس‌های محرک رشد گیاهی جدا شده از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی مناطق اقبالیه استان قزوین و شبستر استان آذربایجان شرقی، دارای توانایی مهار نسبی این قارچ خسارت‌زا هستند که در مطالعات بعدی می‌توان از آنها برای توسعه‌ی فرمولاسیون‌های ترکیبی بر پایه باکتری‌های محرک رشد گیاهی ضدقارچی استفاده کرد. به طور کلی، از مجموع جدایه‌های ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی منطقه‌ی اقبالیه و شبستر، ۱۵ جدایه دارای خاصیت زیست‌کنترلی بودند. در میان این ۱۵ جدایه، ۹ جدایه قادر به تولید کلونی به رنگ نارنجی بودند. همچنین، میزان ترشحات متابولیتی در اطراف کلونی باکتریایی در دو جدایه Q9 و Q21 بیشتر از سایر جدایه‌ها بود. از طرف دیگر، تشکیل بیوفیلم در جدایه S23 مشاهده شد و در بازه زمانی بررسی اثرات زیست‌کنترلی این جدایه روی قارچ *F. oxysporum* مهار نسبی این قارچ مشاهد شد. تحقیقات علمی نشان داده است که تشکیل بیوفیلم غنی از متابولیت‌های ثانویه مهارگر در باکتری‌های محرک رشد گیاهی توانایی کلونیزاسیون این میکروارگانیسم‌ها در محیط هدف را افزایش می‌دهد و می‌تواند به عنوان بستری برای مهار عوامل بیمارگر گیاهی خسارت‌زا باشد (Abdul Hamid & Nadarajah, 2022).

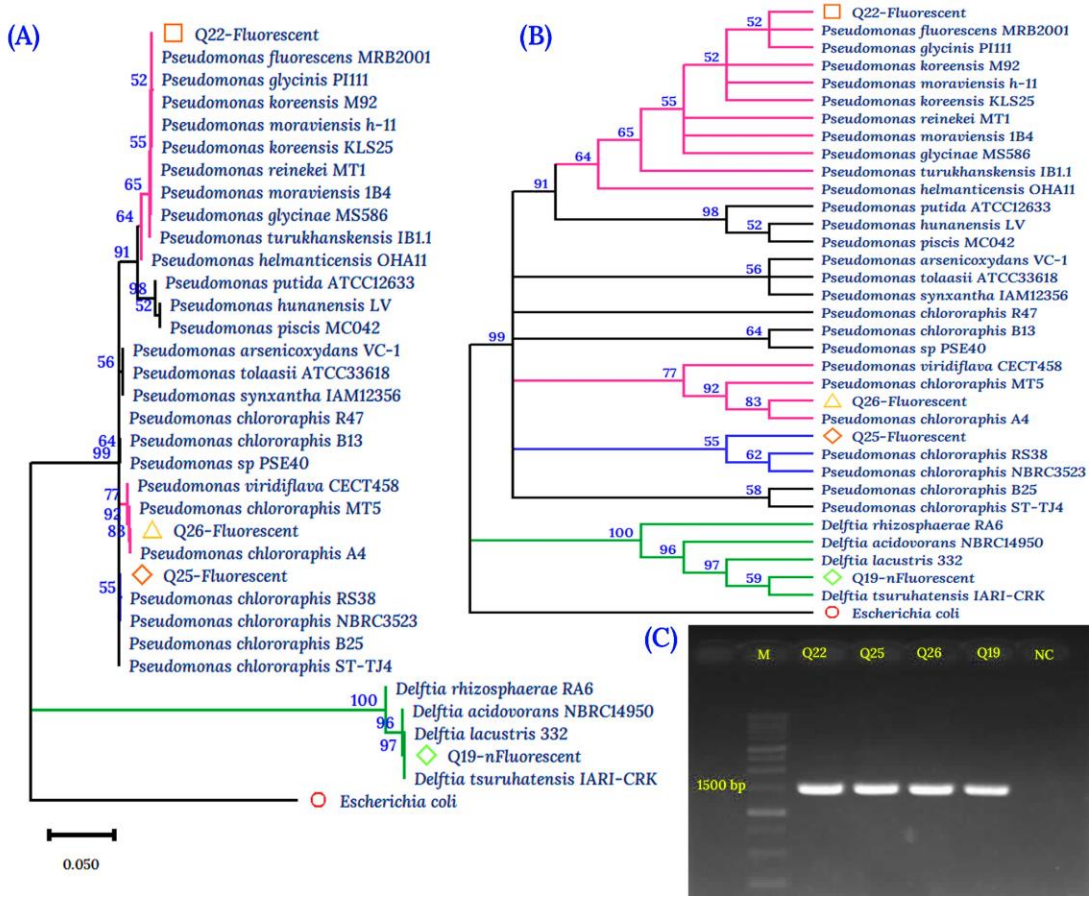
تجزیه و تحلیل درخت فیلوژنتیکی

پس از تکثیر ناحیه 16S rRNA از ژنوم جدایه‌های Q19، Q22، Q25 و Q26 با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، مشخص شد که محصول تکثیری این ناحیه از ژنوم باکتری‌های موردنظر دارای طول قطعه برابر با bp ۱۵۰۰ روی ژل آگارز بدون ایجاد باند غیراختصاصی است. پس از توالی‌یابی و پیرایش قطعه 16S rRNA از سه جدایه فلوئورسنت (Q22، Q25 و Q26) و جدایه غیرفلوئورسنت (Q19) و شناسایی توالی‌های 16S rRNA در نتایج BLASTn، تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی براساس توالی‌های 16S rRNA نشان داد که جدایه‌های فلوئورسنت Q22، Q25 و Q26 در درون شاخه مربوط به گونه‌های جنس *Pseudomonas* قرار می‌گیرند، در حالی که جدایه Q19 (غیر فلوئورسنت) در خارج از این شاخه واقع شده است. براساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی انجام شده در این پژوهش، می‌توان گفت جدایه Q22 در کلاد کمپلکس *P. fluorescens/koreensis* شامل گونه‌های *P. fluorescens* MRB2001، *P. glycinis* PI111، *P. koreensis*، *P. moraviensis*، *P. reinekei* MT1، *P. glycinae* MS586، *P. turukhanskensis* IB1.1 و *P. helmanticensis* OHA11 قرار گرفته است. همانطور که در شکل ٤ نشان داده شده است، دو جدایه فلوئورسنت Q25 و Q26 در گروه مرتبط با گونه *P. chlororaphis* قرار گرفتند به نحوی که جدایه فلوئورسنت Q26 به همراه گونه *P. chlororaphis* A4 و جدایه فلوئورسنت Q25 در کنار گونه‌های *P. chlororaphis* RS38 و *P. chlororaphis* NBRC3523 قرار گرفتند. در مقابل، جدایه غیر فلوئورسنت Q19 در شاخه‌ای مستقل از کلاد *Pseudomonas* به همراه گونه‌های *Delftia tsuruhatensis* IARI-CRK، *D. lacustris* 332، *D. acidovorans* NBRC 14950 و *D. rhizosphaerae* RA6 قرار گرفت. در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که در حالی که جدایه‌های Q22، Q25 و Q26 با اطمینان بالا در درون جنس *Pseudomonas* (به ویژه کمپلکس *P. fluorescens/koreensis* و گونه *P. chlororaphis*) قرار می‌گیرند و جدایه Q19 به احتمال قوی به گونه‌های جنس *Delftia* تعلق

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

دارد و بایستی مطالعات تکمیلی با استفاده از توالی‌یابی ژنوم کامل برای این گونه انجام شود تا با اطمینان بالا جنس و گونه‌ی دقیق آن را مشخص نمود.



شکل ٤- نتایج حاصل از تکثیر قطعه 16S rRNA و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی. A و B) درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده برای بررسی ارتباط تکاملی جدایه‌های فلوئورسنت Q22، Q25 و Q26 و جدایه غیر فلوئورسنت Q19 با بوت‌استراپ ۱۰۰۰، C) نتایج حاصل از PCR قطعه 16S rRNA روی ژل آگارز ۱ درصد برای جدایه‌های مورد مطالعه

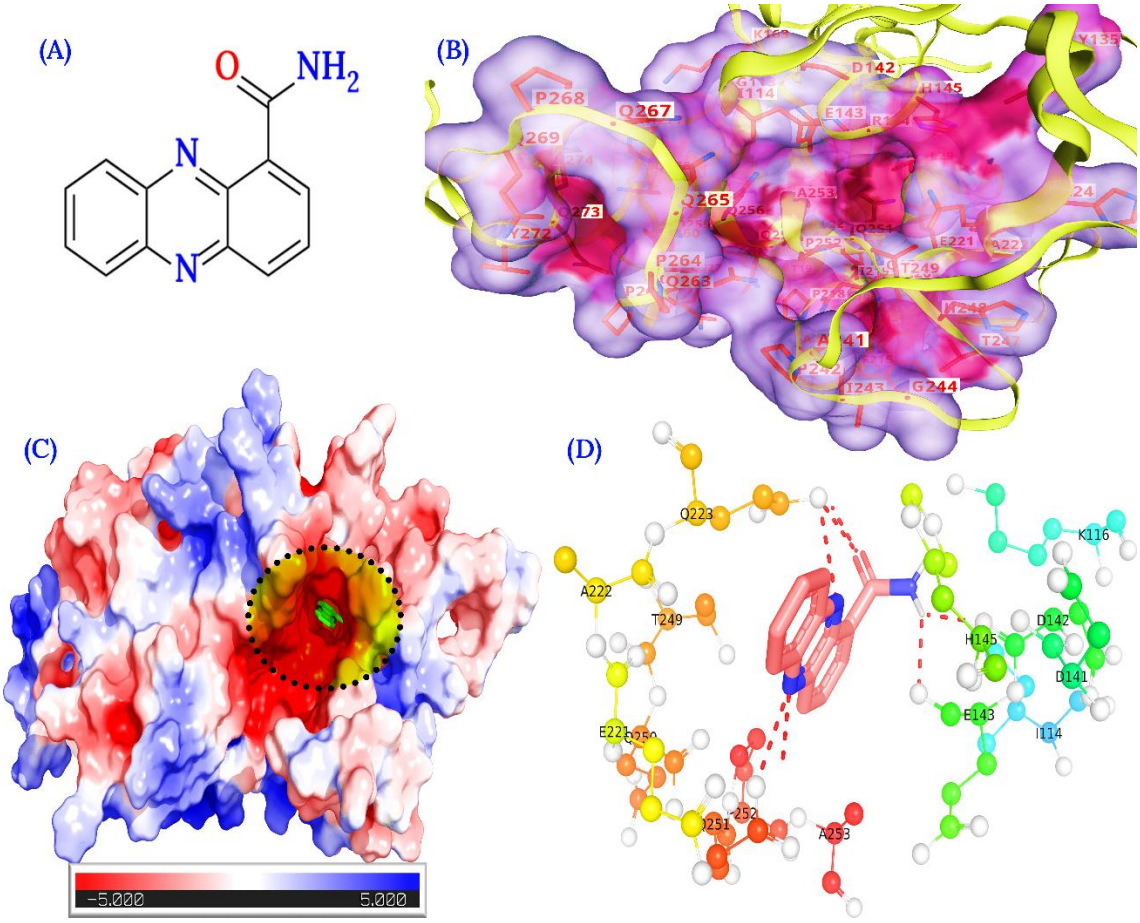
Figure 4. Results of 16S rRNA fragment amplification and phylogenetic analysis. A and B) Phylogenetic tree constructed to examine the evolutionary relationship of fluorescent isolates Q22, Q25, and Q26, and the non-fluorescent isolate Q19, with 1000 bootstrap replications, C) PCR results of the 16S rRNA fragment on 1% agarose gel for the studied isolates.

برهمکنش PCN با پروتئین SGE1

تحقیقات نشان داده است که ترکیب فنازینی PCN یک متابولیت ضدمیکروبی و ضدقارچی قوی با طیف اثر گسترده است که توسط گونه‌های جنس سودوموناس، به خصوص *P. aeruginosa* و *P. chlororaphis* بیوسنتز می‌شود. این ترکیب به عنوان یک متابولیت زیست‌کنترلی در برابر عوامل بیماریزای گیاهی عمل کرده و همچنین قادر به مهار سلول‌های سرطانی است (Serafim *et al.*, 2023). مطالعات اخیر نشان داده است که PCN نقش مهمی در تشکیل بیوفیلم باکتریایی و جذب آهن ایفا می‌کند. پروتئین هسته‌ای SGE1 یکی از پروتئین‌های کلیدی در قارچ *F. oxysporum* است که توالی آن در زیرگونه‌های این قارچ شدیدا حفاظت شده می‌باشد (Michielse *et al.*, 2009) این پروتئین در سرکوب سیستم ایمنی میزبان، تولید مایکوتوکسین‌هایی مانند فومونیزین‌ها و ایجاد پژمردگی و علائم بیماری در گیاه نقش دارد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که کاهش بیان این پروتئین در *F. oxysporum* می‌تواند رشد قارچ را به شدت تحت تاثیر قرار دهد و توانایی آن را برای ایجاد خسارت در گیاه میزبان کاهش دهد (Michielse *et al.*, 2009). با توجه به خاصیت ضدقارچی متابولیت ثانویه PCN، به نظر می‌رسد که یکی از فرضیه‌های محتمل برای دارا بودن چنین خاصیتی برهمکنش این ترکیب با پروتئین‌های کلیدی قارچ‌های بیمارگر است که در رشد،

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

توسعه و بیماری‌زایی آنها نقش دارند. نتایج حاصل از داکینگ مولکولی برای بررسی برهمکنش پروتئین SGE1 و متابولیت فنازینی PCN نشان داد که انرژی اتصال این ترکیب با جایگاه فعال پیش‌بینی شده در ساختار این پروتئین برابر با ۸/۳- kcal/mol است (شکل ۵). اگرچه ساختار کریستالوگرافی پروتئین SGE1 در حال حاضر گزارش نشده است، اما با این حال نتایج نشان داد که متابولیت فنازینی PCN قادر است در حفره جایگاه فعال این پروتئین با آمینواسیدهایی مانند آسپارتات ۱۴۲، گلوتامات ۱۴۳، هیستیدین ۱۴۵، گلوتامین ۲۲۳ و گلوتامین ۲۵۱ پیوند هیدروژنی ایجاد کند. همچنین، ارزیابی ساختاری کمپلکس PCN-SGE1 نشان داد که آمینواسیدهای دیگر این ناحیه در برهمکنش با این متابولیت فنازینی دخیل هستند که با نزدیک شدن زنجیره جانبی آنها به اتم‌های موجود در ساختار شیمیایی ترکیب PCN همراه است. اگرچه ترکیبات فلاونوییدی تمایل به برهمکنش با آمینواسیدهای گلایسین ۱۹، تیروزین ۳۲ و گلوتامات ۶۳ پروتئین SGE1 در *F. oxysporum f. sp. cubense* دارند (Sonkar *et al.*, 2024)، اما با این حال نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیب PCN دارای جایگاه اتصال متفاوت‌تری نسبت به موقعیت‌های آمینواسیدی گزارش شده در مطالعات قبلی است. امروزه تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های محرک رشد گیاهی نقش کلیدی در رشد و توسعه گیاه و سرکوب عوامل بیمارگر گیاهی دارند.



شکل ۵- برهمکنش متابولیت فنازینی PCN و پروتئین SGE1 قارچ *F. oxysporum* A) ساختار شیمیایی ترکیب PCN، B) جایگاه فعال پیش‌بینی شده در ساختار پروتئین SGE1، C) پتانسیل الکترواستاتیک کمپلکس SGE1-PCN که در آن حضور PCN در جایگاه فعال این پروتئین با رنگ سبز مشخص شده است، D) آمینواسیدهای شناسایی شده در جایگاه فعال پروتئین SGE1 برای برهمکنش با ترکیب فنازینی PCN

Figure 5. Interaction of the phenazine metabolite PCN with the SGE1 protein of *F. oxysporum*. A) Chemical structure of the PCN compound, B) Predicted active site in the SGE1 protein structure, C) Electrostatic potential of the SGE1-PCN complex, in which the presence of PCN in the active site of this protein is highlighted in green, D) Amino acids identified in the active site of the SGE1 protein for interaction with the phenazine compound PCN.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

این باکتری‌ها با تولید و ترشح طیف متنوعی از متابولیت‌های ثانویه مفید برای رشد گیاه مانند عوامل ضدقارچی و ضدمیکروبی، فیتوهورمون‌های گیاهی، متابولیت‌های کلاته‌کننده آهن، افزایش دسترسی گیاه به عناصر معدنی مانند فسفات، پتاسیم و روی، ثبیت نیتروژن اتمسفری و همچنین تولید متابولیت‌های فرار، عملکرد و رشد پایدار گیاه را تضمین می‌کنند(Beneduzi *et al.*, 2012). تجمع و کلونیزاسیون جامعه میکروبی در ناحیه ریزوسفر گیاه به صورت مستقیم با نوع گیاه و ترشحات سیستم ریشه‌ای ارتباط دارد (Eichmann *et al.*, 2021). تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی جنس *Pseudomonas*، از طریق تولید اکسین و انتقال آن، تغییرات در سسیستم ریشه‌ای گیاه را تحریک می‌کنند و سبب اصلاح ساختار و معماری ریشه می‌شوند که در نهایت منجر به توسعه‌ی سیستم ریشه‌ای، افزایش بهینه مواد غذایی خاک و بهبود رشد کلی گیاه می‌شوند (Zamioudis *et al.*, 2013). نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار کمی اکسین تولید شده در جدایه‌های فلوئورسنت جدا شده از ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی قزوین بیشتر از جدایه‌های فلوئورسنت منبع خاک شبستر بود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که گونه‌های جنس سودوموناس جدا شده از ناحیه ریزوسفر به طور متوسط ٦٠ تا ٨٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر فیتوهورمون اکسین تولید می‌کند (Bakki *et al.*, 2024).

همراستا با این نتایج، در پژوهش حاضر مشاهده شد که مقدار تولید اکسین در جدایه‌های فلوئورسنت خاک قزوین به طور متوسط بین ٢٠ تا ٦٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر است، اگرچه در هر دو منبع خاک جدایه‌هایی با مقدار تولید اکسین بیش از ٨٥ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمتر از ١٠ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز مشاهده شد. تحقیقات نشان داده است که گونه‌های جنس *Pseudomonas* و *Bacillus* به دلیل توانایی حداکثری در حلالیت فسفات معدنی، از جمله فراوان‌ترین باکتری‌های محرک رشد گیاهی ریزوسفری هستند که مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Bakki *et al.*, 2024). در پژوهش حاضر، جدایه‌های فلوئورسنت مورد بررسی قادر به حلالیت فسفات معدنی بودند، اما با این حال شدت حلالیت فسفات در میان جدایه‌های موردنظر بسیار متفاوت بود. در آزمون حل‌کنندگی فسفات معدنی در پژوهش حاضر، ٣ جدایه شاخص حل‌کنندگی فسفات بیشتر از میانگین استاندارد نشان دادند (با تولید هاله حل کنندگی فسفات بیش از ٢ سانتی‌متر بر روی محیط کشت حاوی فسفات معدنی). براساس پژوهش‌ها، اسیدهای آلی و آنزیم‌ها، پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی ترشح شده توسط باکتری‌ها از عوامل دخیل در حلالیت فسفات معدنی هستند (Pan & Cai, 2023).

تولید ترکیبات سیدروفوری توسط باکتری‌های محرک رشد گیاهی، به خصوص سودوموناس‌های فلوئورسنت، یک راهبرد زیستی هوشمندانه برای مهار زیستی عوامل بیمارگر و بهبود تغذیه گیاه به شمار می‌رود. متابولیت‌های سیدروفوری با تمایل فوق‌العاده بالا به آهن سه‌ظرفیتی، مقادیر کم آهن غیرقابل دسترس در ناحیه ریزوسفر اطراف سیستم ریشه‌ای گیاه را به دام می‌اندازند و با ایجاد کمبود شدید آهن در محیط، رشد و بیماری‌زایی عوامل بیمارگر قارچی و باکتری‌های بیماری‌زا را که قدرت رقابت کمتری برای جذب این کمپلکس‌های آهن-سیدروفور دارند را متوقف می‌کنند (Wang *et al.*, 2022). در مقابل، گیاه میزبان نه تنها از این کاهش فشار بیماری‌زایی سود می‌برد، بلکه مطالعات نشان داده‌اند که برخی گیاهان قادر به شناسایی و جذب مستقیم کمپلکس سیدروفور باکتریایی-آهن به عنوان یک منبع زیستی آهن هستند، به نحوی که این مکانیسم دوگانه، گونه‌های محرک رشد گیاهی جنس سودوموناس را به سپر دفاعی و تامین کننده مواد ریزمغذی گیاه تبدیل می‌کند و در نهایت به بهبود سلامت و توسعه رشد گیاه می‌انجامد (Wang *et al.*, 2022). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تمامی جدایه‌های فلوئورسنت مورد بررسی قادر به تولید سیدروفور بودند اما برخی از آنها از توانایی بسیار بالاتری برای تولید این متابولیت کلات‌کننده برخوردار بودند، به نحوی که هاله‌ی نارنجی رنگ بسیار بزرگتر و متمایزتری را در مقایسه با سایر جدایه‌ها تشکیل دادند. در پژوهش حاضر، جدایه Q19 که در شناسایی مولکولی دارای قرابت تکاملی با گونه‌ی *D. tsuruhatensis* IARI-CRK است نیز قادر به تولید اکسین و سیدروفور بود و به صورت نسبی رشد قارچ *F. oxysporum* را مهار کرد. مطالعات قبلی نشان داده است که گونه *D. tsuruhatensis* IARI که از ریزوسفر مزارع برنج جداسازی شده است قابلیت تجزیه سم کلروپیریفوس را که دارای اثرات سویی بر سلامتی انسان است، دارد (Fattahi *et al.*, 2017). تحقیقات دیگر نشان داده است که گونه *D. tsuruhatensis* عمدتا در خاک، لجن فعال و همچنین محیط‌های دارای

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

آلودگی شیمیایی می‌تواند رشد کند و علاوه بر خاصیت تحریک‌کنندگی رشد گیاهی دارای خواص ضدمیکروبی نیز می‌باشد (Hou *et al*., 2015). در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که جدایه Q19 که بیشترین شباهت تکاملی را با گونه *D. tsuruhatensis* دارد، قادر است رشد قارچ فوزاریوم که عامل پژمردگی آوندی ریشه و طوقه محصولات کشاورزی است را به صورت نسبی کاهش دهد.

به طور کلی، در مدیریت بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی که توسط قارچ مخرب*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ایجاد می‌شود، مهار زیستی مبتنی بر باکتری‌های سودوموناس دارای قدرت ترشح سیدروفور، اکسین و دارای خاصیت تحریک‌کنندگی رشد گیاهی اهمیتی حیاتی دارد (Asha *et al*., 2011). در مطالعه حاضر، جدایه‌های Q22، Q25 و Q26 براساس تجزیه و تحلیل تبارنمای فیلوژنتیکی در کلاد متعلق به باکتری‌های سودوموناس محرک رشد گیاهی قرار گرفتند و خواص زیست‌کنترلی قابل قبولی برای کنترل قارچ *F. oxysporum* از خود نشان دادند. با توجه به مستندات علمی می‌توان این فرضیه را مطرح کرد که گونه‌های *P. chlororaphis* با تولید انبوه سیدروفور پیووردین و همچنین مشتقات فنازینی مانند PCN، علاوه بر مسدود کردن دسترسی عامل بیمارگر به عنصر آهن، به طور مستقیم رشد میسلیومی و جوانه‌زنی اسپور *F. oxysporum* را سرکوب می‌کنند. از سوی دیگر، گونه‌های *P. fluorescens* و *P. koreensis* با ایجاد یک شبکه همکاری بیوشیمیایی، پایداری ریزوسفر را تقویت می‌نماید، به نحوی که گونه‌ی *P. fluorescens* با ترشح گسترده سیدروفورهای با قدرت کلاته‌کنندگی بالا، فقر آهن را بر قارچ تحمیل می‌کند و به صورت همزمان گونه‌ی *P. koreensis* از طریق رقابت برای کلونیزاسیون در اطراف ریشه و القای مقاومت سیستمیک در گیاه، سد دفاعی میزبان را پیش از استقرار عامل بیمارگر تقویت می‌کند (Hultberg et al., 2010; Ghazy & El-Nahrawy, 2021). وجود چنین هم‌افزایی زیستی بین گونه‌های محرک رشد گیاهی جنس سودوموناس در ناحیه ریزوسفر نه تنها می‌تواند جمعیت عامل بیمارگر *F. oxysporum* را در خاک به شدت کاهش دهد، بلکه با بهبود جذب آهن و تعدیل هورمون‌های رشد، ریشه‌های گوجه‌فرنگی را از آسیب مصون می‌دارد و منجر به استقرار گیاهچه‌ای سالم‌تر و افزایش محصول نهایی و کاهش خسارت به کشاورزان می‌شود. بنابراین، شناسایی باکتری‌های محرک رشد گیاهی در ریزوسفر مزارع گوجه‌فرنگی در نقاط مختلف ایران و سپس انتخاب جدایه‌های با خاصیت زیست‌کنترلی بالا علیه عوامل بیمارگر قارچی از میان جدایه‌های فلوئورسنت و غیر فلوئورسنت می‌تواند منجر به شناسایی سویه‌های باکتریایی زیست‌مهارگر قوی برای توسعه فرمولاسیون‌های جدید کود زیستی و مدیریت عوامل بیمارگر قارچی و همچنین تقویت سلامت و عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی در مزارع هدف شود.

تشکر و قدرانی: نویسندگان این مقاله از آقای دکتر احمد عباسی‌مقدم برای همکاری در ارائه منبع قارچ بیمارگر *F. oxysporum* برای تکمیل بخش زیست‌کنترلی این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را دارند. مقاله حاضر بخشی از نتایج رساله‌ی دکتری نویسنده اول است. این پژوهش با حمایت مالی بنیاد ملی علم ایران (طرح شماره ٤٠٠٤٣٢٦) انجام شده است.

تعارض منافع: تعارض منافع علمی/تجاری بین نویسندگان این مقاله برای انتشار داده‌های بحث شده در این مقاله وجود ندارد. هیچ بخشی از این مقاله، داده‌های بحث شده و تصاویر مقاله در قالب گزارش، مقاله یا فصل کتاب در مجله داخلی و بین المللی چاپ نشده است و برای اولین بار در این مقاله گزارش می‌شود.

منابع

References

Abd El-Rahman, A., Shaheen, H. A., Abd El-Aziz, R. M., & Ibrahim, D. S. (2019). Influence of hydrogen cyanide-producing rhizobacteria in controlling the crown gall and root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control. 29*(1). 1-11. https://doi.org/10.1186/s41938-019-0143-7

Abdallah, R. A. B., Mokni-Tlili, S., Nefzi, A., Jabnoun-Khiareddine, H., & Daami-Remadi, M. (2016). Biocontrol of Fusarium wilt and growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Nicotiana glauca* organs. *Biological control*, *97*, 80-88. https://doi.org/10.1111/jph.12501

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

Abdul Hamid, N. W., & Nadarajah, K. (2022). Microbe Related Chemical Signalling and Its Application in Agriculture. *International Journal of Molecular Sciences, 23*, 1- 25. https://doi.org/10.3390/ijms23168998

Ahmed, A., & Hasnain, S. (2014). Auxins as one of the factors of plant growth improvement by plant growth promoting rhizobacteria. *Polish Journal of Microbiology*, *63*(3), 261.11-24. PMID: 25546935

Asha, B. B., Nayaka, C. S., Shankar, U. A., Srinivas, C., & Niranjana, S. R. (2011). Biological control of *F. oxysporum f. sp. lycopersici* causing wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens*. *International Journal of Microbiology Research*, *3*(2), 79. 1-8.

Bakki, M., Banane, B., Marhane, O., Esmaeel, Q., Hatimi, A., Barka ,E. A., Azim, K., & Bouizgarne, B. (2024). Phosphate solubilizing *Pseudomonas* and *Bacillus* combined with rock phosphates promoting tomato growth and reducing bacterial canker disease. *Frontiers in microbiology, 15*, 1289466. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1289466

Baptista, J. P., Teixeira, G .M., de Jesus, M. L. A., Bertê, R., Higashi, A., Mosela, M., da Silva, D. V., de Oliveira, J. P., Sanches, D. S., & Brancher, J. D. (2022). Antifungal activity and genomic characterization of the biocontrol agent *Bacillus velezensis* CMRP 4489. *Scientific reports, 12*(1), 17401. https://doi.org/10.1038/s41598-022-22380-0

Barillot, C. D., Sarde, C.-O., Bert, V., Tarnaud, E., & Cochet, N. (2013). A standardized method for the sampling of rhizosphere and rhizoplan soil bacteria associated to a herbaceous root system. *Annals of microbiology, 63*(2), 471-4 .doi:https://doi.org/10.1007/s13213-012-0491-y

Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. Genetics and molecular biology, 35(4 suppl 1), 1044-1051. https://doi.org/10.1590/s1415-47572012000600020

Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C. P., & Enebak, S. (2001). Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology, 47*(9), 793-800. https://doi.org/10.1139/w01-080

Bolwerk, A., Lagopodi, A. L., Wijfjes, A. H., Lamers, G. E., Chin-A-Woeng, T. F., Lugtenberg, B. J., & Bloemberg, G. V. (2003). Interactions in the tomato rhizosphere of two Pseudomonas biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *16*(11), 983-993. https://doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.11.983

Chaudhary, P., Bhattacharjee, A., Shivay, Y. S., Dalal, R. C., & Sharma, S. (2025). Farming practices affect soil's suppressiveness towards phytopathogens. *Applied soil ecology, 209*, 106012. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.106012

Chin-A-Woeng, T. F., Bloemberg, G. V., & Lugtenberg, B. J. (2003). Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New phytologist*, *157*(3), 503-523. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00686.x

Chin-A-Woeng, T. F., de Priester, W., van der Bij, A. J., & Lugtenberg, B. J. (1997). Description of the colonization of a gnotobiotic tomato rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain WCS365, using scanning electron microscopy. *Molecular plant-microbe interactions*, *10*(1), 79-86. http://dx.doi.org/10.1094/MPMI.1997.10.1.79

Chu, T. N., Bui, L. V & ,.Hoang, M. T. T. (2020). *Pseudomonas* PS01 isolated from maize rhizosphere alters root system architecture and promotes plant growth. *Microorganisms, 8*(4), 471. https://doi.org/10.3390/microorganisms8040471

Eichmann, R., Richards, L., & Schäfer, P. (2021). Hormones as go-betweens in plant microbiome assembly. *The Plant Journal, 105*(2), 518-541. https://doi.org/10.1111/tpj.15135

Fattahi, E., Ostovar, N., & Kaboosi, H. (2017). Isolation and characterization of chlorpyrifos-degrading bacteria from rice field soils in Amol City, Iran. *Scientific Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research 15(1)*, 73-82. http://sjsph.tums.ac.ir/article-1-5480-en.html

Ghazy, N., & El-Nahrawy, S. (2021). Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling Cephalosporium maydis in maize plant. *Archives of microbiology*, *203*(3), 1195-1209. https://doi.org/10.1007/s00203-020-02113-5

Ghoreshizadeh, S., Calvo-Peña, C., Ruiz-Muñoz, M., Dobrajc, M., Radišek, S., Coque, J. J. R., & Cobos, R. (2025). Isolation and characterization of *Pseudomonas* sp. HX1, *Streptomyces luteogriseus* HR40, and *Streptomyces Flavofungini* HR77 as promising biocontrol agents against verticillium wilt in hops affected by Verticillium nonalfalfae. *Horticulturae*, *11*(5), 459. https://doi.org/10.3390/horticulturae11050459

Hnini, M., & Aurag, J. (2024). Genetic diversity, stress tolerance and phytobeneficial potential in rhizobacteria of *Vachellia tortilis* subsp. *raddiana*. *Environmental Microbiome, 19*, 1- 21 .https://doi.org/10.1186/s40793-024-00611-3

Hou, Q., Wang, C., Guo, H., Xia, Z., Ye, J., Liu, K., & Ding, Y. (2015). Draft genome sequence of *Delftia tsuruhatensis* MTQ3, a strain of plant growth-promoting rhizobacterium with antimicrobial activity. *Genome announcements*, *3*(4), 10-1128. https://doi.org/10.1128/genomeA.00822-15

Hultberg, M., Alsberg, T., Khalil, S., & Alsanius, B. (2010). Suppression of disease in tomato infected by *Pythium ultimum* with a biosurfactant produced by *Pseudomonas koreensis*. *BioControl*, *55*(3), 435-444.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-009-9261-6

Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular biology and evolution, 41*(12), msae263 . https://doi.org/10.1093/molbev/msae263

Lehman, D. (2005). Triple sugar iron agar protocols. *American society for microbiology*, 1-7.

Li, B., Sun, Q., Shi, J., Zhang, W., Zhou, H., Wang, Y., Wang, P., Tang, M., Du, Y., & Liu, B. (2025). *Pseudomonas chlororaphis* YTBTa14 as a Multifunctional Biocontrol Agent: Simultaneous Growth Enhancement and Systemic Resistance Induction in Vitis vinifera Against Downy Mildew. *Agriculture, 15*(17), 1822 .https://doi.org/10.3390/agriculture15171822

Louden, B. C., Haarmann, D., & Lynne, A. M. (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of microbiology & biology education*, *12*(1), 51-53. PMID: 23653742

Maake, T. W., & Sibisi, P. (2025). Microbial Antagonists for the Control of Plant Diseases in *Solanaceae* Crops: Current Status, Challenges, and Global Perspectives. *Bacteria, 4* . 29. ; https://doi.org/10.3390/bacteria4030029

Mavrodi, D. V., Blankenfeldt, W., & Thomashow, L. S. (2006). Phenazine compounds in *fluorescent Pseudomonas* spp. biosynthesis and regulation. *Annu. Rev. Phytopathol.*, *44*(1), 417-445. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.013106.145710

Mazuecos-Aguilera, I., Anta-Fernández, F., Crespo-Barreiro, A., Martínez-Quesada, A., Lombana-Larrea, L., & González-Andrés, F. (2025). Plant growth-promoting rhizobacteria enhanced induced systemic resistance of tomato against Botrytis cinerea phytopathogen. *Frontiers in plant science, 16*, 1570986 . https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1570986

Michielse, C. B., van Wijk, R., Reijnen, L., Manders, E. M., Boas, S., Olivain, C., & Rep, M. (2009). The nuclear protein Sge1 of *Fusarium oxysporum* is required for parasitic growth. *PLoS pathogens*, *5*(10), e1000637. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000637

Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS microbiology letters, 170*(1), 265-270 .https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x

Pan, L., & Cai, B. (2023). Phosphate-solubilizing bacteria: advances in their physiology, molecular mechanisms and microbial community effects. *Microorganisms*, *11*(12), 2904. https://doi.org/10.3390/microorganisms11122904

Pastor, N., Carlier, E., Andrés, J., Rosas, S. B., & Rovera, M. (2012). Characterization of rhizosphere bacteria for control of phytopathogenic fungi of tomato. *Journal of Environmental Management, 95*, S332-S337 . doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.03.037

Peng, J., Hou, J., Liu, H., Mavrodi, D. V., Mavrodi, O. V., Sun, F., Shen, M., Wang, X., Dang, K., & Yan, M. (2025). Changes in the soil and rhizosphere microbiomes associated with bacterial wilt decline in the tomato monoculture field. *Geoderma, 457*, 117273 . https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2025.117273

Rahman, M. M., Almasoudi ,N. M., Asiry, K. N., & Abo-Elyousr, K. A. M. (2025). Evaluation of bacterial bioagents for controlling gray mold disease in tomatoes and promoting crop health. *Egyptian Journal of Biological Pest Control, 35* . https://doi.org/10.1186/s41938-025-00843-6

Reinhold-Hurek, B., Bünger, W., Burbano, C. S., Sabale, M., & Hurek, T. (2015). Roots shaping their microbiome: global hotspots for microbial activity. *Annual Review of Phytopathology, 53*(1), 403-424 . https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102342

Sehrawat, A., Sindhu, S. S., & Glick, B. R. (2022). Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere*, *32*(1), 15-38. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60058-9

Serafim, B., Bernardino, A. R., Freitas, F., & Torres, C. A. (2023). Recent developments in the biological activities, bioproduction, and applications of *Pseudomonas* spp. phenazines. *Molecules, 28*(3), 1368. https://doi.org/10.3390/molecules28031368

Singh, V. K., Singh, A. K., & Kumar, A. (2017). Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. *3 Biotech, 7*(4), 255. https://doi.org/10.1007/s13205-017-0896-1

Smalla, K., Wieland, G., Buchner, A., Zock, A., Parzy, J., Kaiser, S., Roskot, N., Heuer, H., & Berg, G. (2001). Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Applied and environmental microbiology, 67*(10), 4742-4751. doi:10.1128/AEM.67.10.4742–4751.2001

Sonkar, P., Purwar, S., Bhargva, P., Singh, R. P., Alkahtani, J., Al-Hashimi, A., and Khan, S. (2024). In silico profiling, docking analysis, and protein interactions of secondary metabolites in Musa spp. Against the SGE1 protein of Fusarium oxysporum f. sp. cubense. *Computational Biology and Chemistry*, 113, 108230. https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2024.108230

Srinivas, C., Devi, D. N., Murthy, K. N., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., & Srivastava, R. K. (2019). *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity–A review. *Saudi journal of biological sciences*, *26*(7), 1315-1324. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]

Steel, K. (1961). The oxidase reaction as a taxonomic tool. *Microbiology, 25*(2), 297-306. https://doi.org/10.1099/00221287-25-2-297

Tian, J., Ge, F., Zhang, D., Deng, S., & Liu, X. (2021). Roles of phosphate solubilizing microorganisms from managing soil phosphorus deficiency to mediating biogeochemical P cycle. *Biology, 10*(2), 158. https://doi.org/10.3390/biology10020158

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, *255*(2), 571-586. https://doi.org/10.1023/A:1026037216893

Villar-Moreno R, Tienda S, Gutie´ rrez-Barranquero JA, Carrio´ n VJ, de Vicente A, Cazorla FM, & E, A. (2022). Interplay between rhizospheric *Pseudomonas chlororaphis* strains lays the basis for beneficial bacterial consortia. *Frontiers in plant science*, 1-17. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1063182

Wang ,Y., Zhang, G., Huang, Y., Guo, M., Song, J., Zhang, T., Long, Y., Wang, B., & Liu, H. (2022). A Potential Biofertilizer—Siderophilic Bacteria Isolated From the Rhizosphere of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. *Frontiers in microbiology, 13*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.870413

Wei, D., Zhu ,D., Zhang, Y., Yang, Z., Hu, Y., Song, C., Yang, W., & Chang, X. (2024). *Pseudomonas chlororaphis* IRHB3 assemblies beneficial microbes and activates JA-mediated resistance to promote nutrient utilization and inhibit pathogen attack. *Frontiers in microbiology*, *5(15):*1-15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1328863

Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of bacteriology, 173*(2), 697-703. https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991

Wen, T., Yu, G.-H., Hong, W.-D., Yuan, J., Niu, G.-Q., Xie, P.-H., Sun, F.-S ,.Guo, L.-D., Kuzyakov, Y., & Shen, Q.-R. (2022). Root exudate chemistry affects soil carbon mobilization via microbial community reassembly. *Fundamental Research, 2*(5), 697-707. https://doi.org/10.1016/j.fmre.2021.12.016

Zamioudis, C., Mastranesti, P., Dhonukshe, P., Blilou, I., & Pieterse, C. M. (2013). Unraveling root developmental programs initiated by beneficial *Pseudomonas* spp. bacteria. *Plant physiology*, *162*(1), 304-318. https://doi.org/10.1104/pp.112.212597

Zhalnina, K., B. Louie, K., Hao, Z., Mansoori, N., da Rocha, U. N., Shi, S., Cho, H., Karaoz, U., Loqué, D., P. Bowen, B ,.Firestone, M., Northen, T., & Brodie, E. L. (2018). Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature microbiology, 3*, 470-480. https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3

Zhou, J., Bruns, M. A., & Tiedje, J. M. (1996). DNA recovery from soils of diverse composition. *Applied and environmental microbiology, 62*(2), 316-322. doi:https://doi.org/10.1128/aem.62.2.316-322.1996. https://doi.org/10.1128/aem.62.2.316-322.1996

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.2.9]