بررسی اثر باکتری *Pseudomonas putida* بر صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی دو گونه ریحان

مجتبی مؤمنی منفرد*[۱]، محمد محمودی سورستانی[۲] و نعیمه عنایتی ضمیر[۲]

دانش آموخته کارشناسی ارشد (گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران)

دانشیار (گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران)

*نویسنده مسئول: ac.mojtaba_momeni@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی اثر باکتری *Pseudomonas putida* بر تأمین نیاز فسفر دو گونه ریحان، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز اجرا گردید. فاکتور اول شامل نوع گیاه و فاکتور دوم نوع کود (۰٪، ۵۰٪ و ۱۰۰٪ سوپر فسفات، فقط باکتری، باکتری+۵۰٪ سوپر فسفات و باکتری+۱۰۰٪ سوپر فسفات). صفات اندازه‌گیری شده عبارت‌اند از: ارتفاع، تعداد گل‌آذین، سطح برگ، وزن‌تر و خشک، فسفر برگ، فلاون و فلاونول، فلاونوئید، فنل و درصد مهار رادیکال‌های آزاد. نتایج نشان داد به ترتیب برای هر دو گونه *O.basilicum* و *O. sanctum* بیشترین ارتفاع، تعداد گل‌آذین، سطح برگ، وزن‌تر و خشک اندام هوایی و همچنین بیشترین میزان فسفر برگ (۴/۹۲ و ۴/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)، فلاون و فلاونول (۱۰/۶ و ۷/۷۶ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک)، فلاونوئید (۴۹/۷۲ و ۴۸/۸۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک)، فنل (۹/۶۲ و ۱۴/۱۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و درصد مهار رادیکال‌های آزاد (۶۷/۴۲٪ و ۷۵/۲۶٪) در تیمار فقط باکتری مشاهده شد. به‌طورکلی باکتری سودوموناس باعث بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی ریحان نسبت به شاهد شد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای کود شیمیایی فسفر در تولید گیاهان دارویی باشد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، ریحان، سودوموناس، فسفر

مقدمه

ریحان گیاهی علفی و یک‌ساله از خانواده نعناعیان می‌باشد که به‌عنوان گیاهی دارویی و ادویه‌ای استفاده می‌شود. این گیاه به دلیل مواد مؤثره‌ای که در پیکره رویشی خود دارد در بیشتر فارماکوپه‌ها به‌عنوان یک گیاه دارویی معرفی‌شده است (امیدبیگی، ۱۳۹۲). مواد مؤثره موجود در اسانس آن در صنایع عطر و ادوکلن سازی، صنایع آرایشی-بهداشتی، صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود زیرا اسانس ریحان منبع ترکیبات حلقوی می‌باشد و عملکرد ضد باکتری، ضد قارچ، ضدویروس و ضد اکسایشی دارد (Harisaranraj *et al*., 2008). فسفر بعد از نیتروژن مهم‌ترین عنصر غذایی موردنیاز برای رشد گیاهان است (Okusancya and Fawole, 1985). عنصر فسفر ضمن شرکت در ساخت فسفولیپیدها و پایداری بخشیدن به غشاهای سلولی، در ساختار پروتئین‌ها و انواع مختلف مولکول‌های حامل انرژی هم‌چون ATP، GTP و NADPH حضور داشته و دارای نقش اساسی در واکنش‌های حیاتی سلول می‌باشد. به‌علاوه، این عنصر با افزایش تشکیل جوانه گل در گیاه سبب تغییر رشد رویشی گیاه به سمت رشد زایشی می‌گردد. کمبود عنصر فسفر منجر به آسیب‌هایی چون باریک شدن برگ‌ها، کاهش تشکیل جوانه برگ و گل و درنهایت کاهش محصول میوه و بذر در گیاه می‌شود (داوودی، ۱۳۸۵). با توجه به کاربرد بی‌رویه کودهای شیمیایی فسفاته و اثرات مضر ناشی از آن به منابع آب و خاک لازم است مطالعاتی درباره روش‌های کاربرد یا موارد قابل جایگزین انجام شود. رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بکارگیری روش‌های مدیریتی نظیر مصرف کودهای بیولوژیک می‌باشد، چراکه از گیاهان دارویی در ساخت انواع دارو استفاده می‌کنند، پس باید در مصرف نهاده‌هایی مثل کود دقت بیشتری را داشت مطمئن‌ترین کودها کودهای بیولوژیکی می‌باشند زیرا علاوه بر اینکه نیاز تغذیه‌ای گیاه را تأمین می‌کند با محیط‌زیست نیز سازگارند و حتی موجب بهبود کیفیت خاک نیز می‌گردند (Vadiraj *et al*., 1998) کودهای زیستی در حقیقت ماده‌ای شامل انواع مختلف ریز موجودات آزادزی هستند (Vessey, 2003) که توانایی تبدیل عناصر غذایی پرمصرف را از فرم غیرقابل‌دسترس به فرم قابل‌دسترس طی فرایندهای بیولوژیکی داشته و منجر به توسعه سیستم ریشه‌ای و جوانه‌زنی بهتر بذور می‌گردند (Rajendran and Devaraj, 2004). گروهی از گونه‌های باکتریایی که دارای قابلیت همیاری با

گیاه هستند متعلق به جنس ازتوباکتر، آزوسپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس می‌باشند (Tilak *et al*., 2005). در پژوهشی تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک بر میزان جذب عناصر نیتروژن و فسفر گیاه دارویی همیشه‌بهار مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد کاربرد تلفیق کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس سبب افزایش معنی‌دار حدود ۱/۵ برابری در میزان عناصر نیتروژن و فسفر گیاه گردید (Hosseinzadah *et al*., 2011). شالان نیز در مطالعات خود نشان داد که مصرف باکتری‌های حل‌کننده فسفات (*Pseudomonas sp.* و *Bacillus megaterium*) موجب بهبود ویژگی‌هایی مانند ارتفاع بوته، تعداد گل و عملکرد دانه در گیاه دارویی گل‌گاوزبان (*Borago officinalis*) و نیز افزایش چشمگیر صفاتی چون ارتفاع بوته و عملکرد دانه در گیاه دارویی سیاه‌دانه گردید(Shaalan, 2005). یافته‌های راشمی و همکاران نیز حکایت از افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در عملکرد و بیوماس گیاه دارویی ریحان (*Ocimum gratissimum*) در اثر کاربرد میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات داشت (Rashmi *et al*., 2008). مطالعه تأثیر کود فسفات زیستی بر روی فاکتورهای رشدی و عملکرد گیاه دارویی ریحان جهت تأمین نیازهای غذایی سالم و غنی‌تر، برداشت بیشتر به‌دوراز آلوده سازی زیست‌بوم و افزایش محصول ازنظر کمی و کیفی بدون آسیب رساندن به اکوسیستم مزرعه امری ضروری به نظر می‌رسد لذا پژوهش حاضر در راستای اهداف زیر پایه‌گذاری گردید: ۱- استفاده از باکتری حل‌کننده فسفر به‌منظور تأمین فسفر موردنیاز دو گونه ریحان. ۲- مقایسه کارایی کود زیستی و شیمیایی فسفر بر تأمین نیاز فسفر دو گونه ریحان. ۳- مقایسه کارایی کود زیستی و شیمیایی فسفر بر شاخص‌های رشدی دو گونه ریحان.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال (۱۳۹۸) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی علوم باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز اجرا گردید. فاکتور اول شامل نوع گیاه (*O.basilicum* var. Thyrsiflora و *O. sanctum*.L) فاکتور دوم شامل سطوح مختلف کود (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ درصد نیاز گیاه کود سوپر فسفات، فقط باکتری، باکتری+۵۰ درصد کود سوپر فسفات و باکتری+۱۰۰ درصد نیاز گیاه کود سوپر فسفات). نیاز کودی فسفر برای ریحان در این آزمایش ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (کود سوپر فسفات معمولی) در نظر گرفته شده است (امیدبیگی، ۱۳۹۲). ابتدا کشت شبانه‌ای از باکتری محرک رشد گیاه به نام (*Pseudomonas putida*) که قبلاً از ریزوسفر نیشکر جداسازی شده بود، تهیه گردید و به منظور بررسی تأثیر باکتری *Pseudomonas* putida بر روی صفات رشدی و عملکردی دو گونه از گیاه دارویی ریحان، گلدان‌هایی تهیه و با خاک (سیلتی- رسی) پر شدند، سپس اعمال کود شیمیایی و زیستی فسفر به‌تناسب تیمارهای آزمایش انجام شد. کود زیستی به میزانی اضافه گردید که تعداد باکتری در هر گلدان 10^6 Cfu/g باشد. بذر گونه‌های موردنظر در عمق یک سانتیمتری کشت گردید و هم‌چنین تمامی گلدان‌ها به‌صورت مشابه با محلول حاوی کود اوره (در مجموع ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) طی سه مرحله مورد کود دهی قرار گرفتند. آبیاری گلدان‌ها تا مرحله گلدهی کامل به‌صورت کاملاً یکسان انجام گرفت سپس در این مرحله برداشت شدند و برای اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند. صفات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده عبارت‌اند از: ارتفاع گیاه، تعداد گل‌آذین، سطح برگ، وزن‌تر و وزن خشک و صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده عبارت‌اند از: اندازه‌گیری فسفر برگ با استفاده از روش رنگ سنجی (Bingham and Bartels, 1996)، اندازه‌گیری میزان فلاون و فلاونول (Popova *et al*., 2004)، اندازه‌گیری، میزان فلاونوئید کل (Menichini *et al*., 2009)، اندازه‌گیری میزان فنل کل با استفاده از روش فولین (Wojdylo *et al*., 2007) و اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش اسپکتروفتومتری بر پایه کاهش رادیکال‌های آزاد (Oke *et al*., 2009). برای عصاره‌گیری نمونه‌ها از روش (Wojdylo *et al*., 2007) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت، سپس میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شد.

نتایج و بحث

جدول-۱: تجزیه واریانس اثر باکتری (*Pseudomonas putida*) و کود شیمیایی سوپر فسفات بر صفات مورفولوژیکی دو گونه از گیاه دارویی ریحان.

		میانگین مربعات				
Sov.	df	وزن خشک	وزن تر	سطح برگ	No. Inflorescence	ارتفاع
گیاه (a)	۱	./۰۱^{ns}	۲/۹۳*	۸۱۲۱/۰۱**	۲۱۳/۶۹**	۸۲/۹۳**
کود (b)	۵	./۱۲**	۹/۰۴**	۳۵۸۴/۶۵**	۴۳/۹۴**	۱۴۰/۶۸**
a*b	۵	./۰۶^{ns}	۱/۱۴^{ns}	۴۳۰/۶۱**	۶/۶۱**	۹/۹۷**
خطا	۲۴	./۰۵	۰/۴۵	۱۲/۲۶	۰/۵۵	۱/۶۱
ضریب تغییرات (%)		۵/۲۰	۵/۴۷	۱/۳۳	۹/۶۱	۲/۹۵

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

نتایج جدول تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی (جدول ۱) نشان داد اثر متقابل فاکتورهای a و b سبب تفاوت معنی‌دار در صفات ارتفاع گیاه، تعداد گل‌آذین و سطح برگ در سطح احتمال ۱ درصد گردید. همچنین اثر ساده فاکتورهای a و b نیز بر صفات وزن‌تر و خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد (جدول ۲) که بیشترین میزان ارتفاع گیاه در هر دو گونه باسیلیکوم و سانکتوم در تیمار کودی فقط باکتری وجود داشت (به ترتیب ۴۵ و ۴۹ سانتی‌متر) و بعد از آن تیمارهای (باکتری + ۵۰ درصد سوپر فسفات) و (باکتری+۱۰۰ درصد سوپر فسفات) بیشترین ارتفاع را نسبت به شاهد داشتند. در پژوهشی که بر روی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر صفات مورفولوژیکی گیاه ریحان انجام شد مشخص گردید کاربرد باکتری‌های ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و سودموناس سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه در مقایسه با تیمار شاهد گردید (Roshanpour *et al*., 2014). بیشترین تعداد برگ (۹۶ و ۸۲ عدد در بوته برای ریحان باسیلیکوم و سانکتوم) و بیشترین سطح برگ (۴۰۴ و ۴۰۵ سانتی‌متر مربع برای باسیلیکوم و سانکتوم) در تیمار فقط باکتری مشاهده شد. تیمارهای باکتری+۵۰ درصد سوپر فسفات و باکتری+۱۰۰ درصد سوپر فسفات بدون داشتن اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بعد از تیمار فقط باکتری بیشترین میزان سطح برگ را به خود اختصاص دادند. با توجه به اهمیت نقش عنصر فسفر در انجام فرآیند فتوسنتز و اثر مثبت کاربرد کود بیولوژیک فسفر بر تعداد برگ و متعاقب آن سطح برگ گیاه ریحان را می‌توان چنین استدلال کرد کاربرد این عامل توانسته است با تأمین کافی عنصر فوق، توان فتوسنتزی گیاه را بالابرده و از این طریق سبب افزایش تعداد و سطح برگ گردیده است.

در پژوهشی دیگر کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و سودوموناس تعداد و سطح برگ گیاه مرزه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد که دارای تفاوت معنی‌دار با شاهد بودند (Esmaeil Pour *et al*., 2015).

تیمار کودی فقط باکتری در هردو گونه باسیلیکوم و سانکتوم بیشترین تعداد گل‌آذین را تولید نمود (۹ و ۱۳ عدد در بوته برای باسیلیکوم و سانکتوم). در پژوهشی تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر روی صفات مورفولوژیکی گیاه دارویی ریحان مورد مطالعه قرار گرفت، نتایج نشان داد کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفر (سودوموناس و باسیلوس) سبب افزایش معنی‌دار تعداد گل‌آذین این گیاه نسبت به تیمار شاهد گردید (تهامی و همکاران، ۱۳۹۳). علیجانی و همکاران (۱۳۹۰) نیز در بررسی کاربرد کودهای بیولوژیک بر روی گیاه دارویی مرزه گزارش نمودند تلقیح این گیاه با باکتری‌های حل‌کننده فسفر به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی فسفره سبب افزایش معنی‌دار بیش از دو برابری تعداد گل‌آذین در هر بوته این گیاه گردید؛ اما در بررسی حاضر تیمار فقط باکتری تأثیر بیشتری در هر دو گونه موردنظر تیمار باکتری+۵۰ درصد سوپر فسفات و بعدازآن تیمار باکتری+۱۰۰ درصد سوپر فسفات بهترین نتیجه را داشتند. عنصر فسفر پس از نیتروژن مهم‌ترین عنصر در گیاه به شمار می‌آید و ازجمله مهم‌ترین نقش‌های این عنصر کمک به گذر گیاه از مرحله رویشی به مرحله زایشی و تشکیل گل، میوه و بذر می‌باشد (داوودی، ۱۳۸۵). علی‌رغم وجود منابع فراوان این عنصر در خاک (چه به‌صورت معدنی و چه به‌صورت آلی) به دلیل انحلال‌پذیری پایین این منابع، میزان فسفر محلول و در دسترس گیاه اندک می‌باشد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان چنین استدلال کرد تلقیح گیاه با باکتری

جدول-۲: مقایسه میانگین اثر باکتری (*Pseudomonas putida*) و کود شیمیایی سوپر فسفات بر صفات مورفولوژیکی دو گونه از گیاه دارویی ریحان.

	O. sanctum					*O.basilicum var. Thyrsiflora*				
	وزن خشک	وزن تر	سطح برگ	No. Inflo.	Hi	وزن خشک	وزن تر	سطح برگ	No. Inflo.	Hi
Control	۰/۹۷^{f}	۶/۸^{g}	۲۵۰^{d}	۴/۶^{d}	۳۵^{g}	۰/۹۱^{f}	۸/۳۳^{f}	۲۱۲^{e}	۲/۸^{e}	۳۷^{fg}
50% P	۱/۲^{e}	۹/۸^{e}	۲۶۰^{d}	۹^{d}	۴۲^{c}	۱/۱۲^{ef}	۱۰/۳^{e}	۲۲۹^{e}	۲/۶^{e}	۳۸^{de}
100% P	۱/۵۴^{d}	۱۰^{e}	۳۰۴^{c}	۱۱^{b}	۴۳^{cb}	۱/۲۴^{e}	۱۱/۲^{d}	۲۸۱^{cd}	۴/۱^{d}	۴۰^{cd}
Bacteria	۲/۵۸^{a}	۱۳/۸^{b}	۴۰۵^{a}	۱۳/۶^{a}	۴۹^{a}	۲/۰۴^{b}	۱۴/۷^{a}	۴۰۴^{a}	۹^{c}	۴۵^{b}
Bacteria + 50% P	۲/۱^{b}	۱۲/۵^{c}	۳۹۰^{ab}	۱۱/۳^{b}	۴۹^{a}	۱/۸۱^{c}	۱۳/۹^{b}	۳۶۲^{b}	۸^{c}	۴۳^{c}
Bacteria +100% P	۱/۸۵^{c}	۱۱/۱^{d}	۳۵۳^{b}	۱۱^{b}	۴۷^{b}	۱/۴۶^{d}	۱۲/۵^{c}	۳۳۳^{bc}	۴/۶^{d}	۴۲^{c}

اعداد دارای حرف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

Pseudomonas putida (به عنوان یک باکتری حل‌کننده فسفات) سبب افزایش انحلال‌پذیری و میزان غلظت این عنصر در محلول خاک شده و با کمک به جذب این عنصر توسط گیاه منجر به تحریک رشد زایشی و افزایش تعداد گل‌آذین در گیاه گردیده است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد (جدول ۲) که بیشترین وزن‌تر (۱۴/۷ و ۱۳/۸ گرم برای باسیلیکوم و سانکتوم) و خشک (۲/۰۴ و ۲/۵۸ گرم برای باسیلیکوم و سانکتوم) اندام هوایی بوته در هر دو گونه موردمطالعه در تیمار فقط باکتری مشاهده شد، به‌طور مشابهی تیمار شاهد در این مطالعه برای صفات موردنظر کمترین میزان را نشان داد. با توجه به اینکه باکتری *Pseudomonas putida* باعث افزایش چشمگیری در صفات ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، تعداد گل‌آذین گردید به تبعیت از این موضوع باعث افزایش چشمگیری در وزن‌تر و خشک گیاه نسبت به سایر تیمارهای به‌ویژه تیمار شاهد گردید. این باکتری باعث افزایش میزان فسفر قابل‌جذب برای گیاه می‌شود، عنصر فسفر با تأمین انرژی لازم جهت انجام واکنش‌های بیوشیمیایی مانند فتوسنتز و بیوسنتز هورمون‌های گیاهی که نقش مهمی در افزایش توان فتوسنتزی دارد، سبب بهبود رشد ریشه گیاه و جذب بهتر آب و مواد غذایی می‌شود (Mano and Nemoto, 2012) و از سوی دیگر با شرکت در ساختار رنگیزه‌های فتوسنتزی و تأمین انرژی لازم برای فرآیند فتوسنتز، سبب افزایش وزن‌تر و خشک اندام‌های گیاه می‌گردد (Hoseini *et al*., 2015). با توجه به تأثیر باکتری سودوموناس بر وزن تر و خشک گیاه

ریحان در تحقیق حاضر می‌توان چنین استدلال کرد باکتری سودوموناس توانسته است با بهبود جذب عنصر فسفر سبب افزایش توان فتوسنتزی گیاه و در نهایت افزایش وزن‌تر و خشک آن شده است.

نتایج جدول تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی (جدول ۳) نشان داد اثر متقابل فاکتورهای a و b سبب تفاوت معنی‌دار در صفات فنل کل، فلاون و فلاونول کل، فلاونوئید کل و درصد مهار آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال ۱ درصد گردید. اثر ساده فاکتورهای a و b نیز بر میزان فسفر برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد (جدول ۴) که بیشترین میزان فسفر برگ در هر دو گونه باسیلیکوم و سانکتوم در تیمار فقط باکتری مشاهده شد (۴/۹۲ و ۴/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و بعدازآن تیمارهای باکتری+۵۰ درصد سوپر فسفات (۳/۶۹ و ۴/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برای باسیلیکوم و سانکتوم) و باکتری+۱۰۰ درصد سوپر فسفات (۳/۵۹ و ۴/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برای باسیلیکوم و سانکتوم) بدون داشتن اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بیشترین میزان فسفر برگ را به خود اختصاص دادند. تیمار شاهد نیز در هر دو گونه کمترین مقدار فسفر برگ را به خود اختصاص داد (۲/۴۴ و ۲/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برای باسیلیکوم و سانکتوم). در پژوهشی که بر روی تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک بر میزان جذب عناصر نیتروژن و فسفر در برگ گیاه دارویی همیشه‌بهار انجام شد مشخص گردید کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (ازتوباکتر) و حل‌کننده فسفر (سودوموناس) سبب افزایش معنی‌دار حدود ۵۰ درصدی در میزان عناصر نیتروژن و فسفر گیاه گردید (Hosseinzadah *et al*., 2011) با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد باکتری حل‌کننده فسفر (سودوموناس) توانسته است با انحلال فسفات‌های کم محلول و نامحلول موجود در خاک، میزان این عنصر در خاک و درنهایت جذب آن توسط گیاه را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۴) بیشترین میزان فنل کل (۹/۶۲ و ۱۴/۱۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک برای باسیلیکوم و سانکتوم)، فلاون و فلاونول کل (۱۰/۶ و ۷/۷۶ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک برای باسیلیکوم و سانکتوم)، فلاونوئید کل (۴۹/۷۲ و ۴۸/۸۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک

جدول-۳: تجزیه واریانس اثر باکتری (*Pseudomonas putida*) و کود شیمیایی سوپر فسفات بر صفات بیوشیمیایی دو گونه از گیاه دارویی ریحان.

		میانگین مربعات				
Sov.	df	inhibition of antioxidant	فلاونوئید	فلاون و فلاونول	فنل	**فسفر برگ**
گیاه (a)	۱	۲۶۵/۲۱**	۱۹۷/۸۹**	۰/۲۷**	۴/۷۸**	**۰/۱۲^{ns}**
کود (b)	۵	۴۰۴/۰۴**	۸۶/۳۴**	۳/۰۸**	۳۹/۱۵**	**۰/۵۴****
a*b	۵	۴۶/۴۸**	۹/۷۹**	۰/۲۸**	۵/۸۴**	**۰/۰۵^{ns}**
خطا	۲۴	۲/۴۷۰	۲/۶۷۲	۰/۰۴	۰/۰۸	**۰/۰۲**
ضریب تغییرات(%)		۲/۷۰	۲/۰۸	۳/۱۴	۳/۷۳	**۳/۸۸**

ns، * و ** به ترتیب معنی‌دار و غیرمعنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

برای باسیلیکوم و سانکتوم) و درصد مهار آنتی‌اکسیدانی (۶۷/۴۲ و ۷۵/۲۶ درصد برای باسیلیکوم و سانکتوم) در تیمار فقط و بعد از آن در تیمار باکتری+۵۰ درصد سوپر فسفات مشاهده شد. به طور کلی باکتری سودوموناس توانست تأثیر مثبتی بر افزایش میزان ترکیبات فنلی و افزایش درصد مهار آنتی‌اکسیدانی داشته باشد که این موضوع را می‌توان به ارتباط همزیستی این باکتری باریشه گیاه دارویی ریحان نسبت داد چراکه برخی گیاهان برای ایجاد ارتباط مؤثر و همزیستی با میکروارگانیسم‌هایی مانند قارچ‌ها و باکتری جهت استفاده بهتر و بیشتر از منابع غذایی در محدوده ریزوسفر ریشه خود جهت جذب میکروارگانیسم‌ها اقدام به ترشح یک سری ترکیبات هورمونی (مانند جیبرلین‌ها، اکسین‌ها و سالیسیلیک اسید و ...) و ترکیبات پیچیده فنلی می‌کنند که سیگنالی برای جذب میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (Van Dam and Bouwmeester, 2016). میکروارگانیسم‌ها پس از استقرار در سطح ریشه گیاهان برخی

از ترکیبات موردنیاز گیاه مثل فسفر و نیتروژن را در اختیار گیاه قرار داده و هم‌چنین به ترشح و تحریک ترشح مواد بیولوژیکی فعالی مانند اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، فلاونوئیدها، ویتامین‌های گروه B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین و ... می‌پردازند که با افزایش در کارایی فتوسنتز باعث افزایش رشد رویشی، زایشی و تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (Rademacher, 1994). همچنین دریافت نیتروژن و فسفر محلول تولیدشده توسط باکتری، در گیاه پاسخ مثبتی را در پی داشته که باعث جذب تعداد بیشتری باکتری توسط گیاه می‌شود، ادامه این روند منجر به افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Kai *et al*., 2016). در این آزمایش کاربرد باکتری *Pseudomonas putida* باعث بهبود خصوصیات کمی و کیفی هر دو گونه گیاه دارویی ریحان شد، به‌طوری‌که نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که باکتری به‌تنهایی در بهبود صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی بسیار موفق بوده است و توانسته نتایج بهتری را نسبت به شاهد و سایر تیمارها به دست آورد، بررسی منابع نشان می‌دهد که با افزایش منابع فسفر محلول موجود در محیط عملکرد باکتری حل‌کننده فسفر کاهش‌یافته می‌یابد (Han and Lee, 2006) که با نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد.

جدول-٤: مقایسه میانگین اثر باکتری (*Pseudomonas putida*) و کود شیمیایی سوپر فسفات بر صفات بیوشیمیایی دو گونه از گیاه دارویی ریحان.

	O. sanctum					*O.basilicum var. Thyrsiflora*				
	inhibition of antioxidant	فلاون وئید	فلاون و فلاون ول	فنل	فسفر برگ	inhibition of antioxidant	فلاون وئید	فلاون و فلاون ول	فنل	ف سفر ب رگ
Control	۵۲/۸^{d}	۲۴/۶^{d}	۳/۷^{d}	۴/۴^{e}	۲/۵^{e}	۴۵^{e}	۲۳/۴^{d}	۳^{e}	۵/۵^{d}	/۴^{e} ۲
50% P	۵۹/۲^{c}	۳۲^{c}	۴/۳^{cd}	۵/۱۴^{de}	۳/۲^{d}	۴۵/۸^{e}	۳۰/۳^{c}	۳/۱^{e}	۵/۷^{d}	۳^{d}
100% P	۵۲/۷^{d}	۳۹/۶^{b}	۳/۷^{d}	۷/۳^{c}	۳/۸^{c}	۵۵/۵^{cd}	۳۲/۲^{c}	۵/۵^{c}	/۵^{cd} ۶	/۲^{c} ۳
Bacteria	۷۵/۲^{a}	۴۸/۸^{a}	۷/۷^{b}	۱۴/۱^{a}	۴/۸^{a}	۶۷/۴^{b}	۴۹/۷^{a}	۱۰/۲^{a}	۹/۶^{b}	/۹^{a} ۴
Bacteria + 50% P	۶۵/۵^{b}	۴/۵۱^{ab} ۳	۷/۱^{b}	۹/۱۳^{b}	۴/۴^{b}	۶۱/۶۸^{bc}	۳۹/۴^{ab}	۷/۴^{b}	۹/۱^{b}	/۷^{b} ۳
Bacteria +100% P	۵۹/۳^{c}	۴/۵۱^{ab} ۲	۵/۳^{c}	۷^{c}	۴/۳^{b}	۵۷^{c}	۳۳^{ab}	۶/۱^{c}	۴/۸^{e}	/۶^{b} ۳

اعداد دارای حرف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی باکتری *Pseudomonas putida* توانست به‌تنهایی باعث بهبود خصوصیات کمی و کیفی در هر دو گونه گیاه دارویی ریحان شود. با توجه به‌ضرورت تولید گیاهان دارویی و لزوم توجه به کشت این گیاهان در نظام‌های کم نهاده و ارگانیک به نظر می‌رسد این باکتری جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی فسفر در تولید این گیاهان باشد.

منابع

امیدبیگی، ر. ۱۳۹۲. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم. چاپ هفتم. انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۱۰۵-۹۹.

تهامی، م.ک.، رضوانی مقدم، پ. و جهان، م. ۱۳۹۳. ارزیابی تأثیر کودهای آلی، بیولوژیکی و شیمیایی بر صفات مورفولوژیکی، عملکرد و اجزاء عملکرد بذر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum L.*) نشریه پژوهش های زراعی ایران، ۱۲(۴): ۵۵۳-

۵۴۳.
داوودی، م. ح. ۱۳۸۵. علائم کمبود عناصر غذایی پر مصرف در گیاهان زراعی. نشر آموزش کشاورزی، کرج، ۱۴۴ صفحه.
علیجانی، م.، امینی دهقی، م.، ملبوبی، م.ع.، زاهدی. م. و مدرس ثانوی، س.ع.م. ۱۳۹۰. تأثیر سطوح مختلف کود فسفره در تلفیق با کود زیستی فسفاته بارور- ۲ بر عملکرد، مقدار اسانس و درصد کامازولن گیاه دارویی بابونه آلمانی، فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۷(۳): ۴۵۹-۴۵۰.
Bingham, F.T. and Bartels, J.M. 1996. *Methods of soil analysis*. Vol. 1, Part 3. Chemical methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA. PP: 752-758.
Esmaeil Pour, B., Faraji meahmani, A, sefidkon, F., Abbas Zadeh, B. and Ghanbari, E. 2015. Effect of inoculation with biofertilizers on growth and yield characteristics of qualitative and quantitative Savory (*Satureja hortensis* L.). Journal of Agroecology, 6 (4): 879-870.
Han, H.S. and Lee, K.D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant soil and Environment, 52(3): 130.
Harisaranraj, R., Prasitha, R., Babu, S.S. and Suresh, K. 2008. Analysis of Inter-species relationships of Ocimum species using RAPD Markers. Ethnobotanical Leaflets, 12: 609-613.
Hoseini, R.Z., Mohammadi Goltapeh, E. and Kalatejari, S. 2015. Effect of Bio-fertilizer on growth, development and nutrient content (leaf and soil) of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Journal of Crop Protection, 4 (1): 691-704.
Hosseinzadah, F., Satei, A. and Ramezanpour, M.R. 2011. Effects of mycorhiza and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrients uptake and physiological characteristics in Calendula officinalis L. Middle-East. Journal of Scientific Research, 8 (5): 947-953.
Kai, M., Effmert, U. and Piechulla, B. 2016. Bacterial-plant-interactions: approaches to unravel the biological function of bacterial volatiles in the rhizosphere. Frontiers in microbiology, 7.
Mano, Y., and Nemoto, K. 2012. The pathway of auxin biosynthesis in plants. Journal of experimental Botany, ers091.
Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M.R., Conforti, F., Statti, G., Dicindi B., Houghton, P.J. and Menichini, F. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. Habanero. Food Chemistry, 114: 553-560.
Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altundag, S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* ten. Food Chemistry, 112: 874-879.
Okusancya, O.T. and Fawole, T. 1985. The possible role of phosphate in salinity tolerance of Lavatera arborea. Journal of Ecology, 73:317-322.
Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A. G., Marcazzan, G.L. and Bogdanov, S. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. Phytochemical Analysis, 15: 235-240.
Rademacher, W. 1994. Gibberellin formation in microorganisms. Plant growth regulation, 15(3): 303-314.
Rajendran, K. and Devaraj, P. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of Casuarina equisetifolia inoculated with biofertilizers in farm land. Biomass and Bioenergy, 26(1): 235-249.
Rashmi, K.R., Earanna, N. and Vasundhara, M. 2008. Influence of biofertilizers on growth, biomass and biochemical constituents of *Ocimum gratissimum*. L. Biomedical Science, 3(2): 123-130.
Roshanpour, N., Darzi, M.T. and Hadi, M.H.S. 2014. Effects of plant growth promoter bacteria on biomass and yield of basil (*Ocimum basilicum* L.). International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2(6): 2077-2085.
Shaalan, M.N. 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of Nigella sativa L. plants. Egyptian Journal of Agricultural Research, 83(2): 811-828.
Tilak, K. V.B.R., Ranganayaki, N., Pal, K.K., De, R., Saxena, A.K., Nautiyal, C.S. and Johri, B.N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current science, 89(1): 136-150.
Vadiraj, B.A., Gangaiah, S. and Poti, N. 1998. Effect of vermicompost on the growth and yield of turmeric. South Indian Horticulture, 46: 176-179.
Van Dam, N.M. and Bouwmeester, H.J. 2016. Metabolomics in the rhizosphere: Tapping into belowground chemical communication. Trends in plant science, 21(3): 256-265.
Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571-586.

Wojdylo, A., Oszmianski, J. and Czemerys, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. Food Chemistry, 1005: 940-949.

دوازدهمین کنگره علوم باغبانی ایران
رفسنجان، ۱۴ لغایت ۱۷ شهریور ماه ۱۴۰۰

Assessment the effects of *Pseudomonas putida* bacteria on morphological and biochemical traits of two basil species

Mojtaba Momeni Monfared[*1], Mohammad Mahmoodi Sourestani[2] and Naimeh Enayatzamir[2]
[1]Graduate Master of medicinal plants (Department of Horticultural, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran)
[2]Professor (Department of Horticultural, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran)
[*]*Corresponding Author: ac.mojtaba_momeni@yahoo.com*

Abstract

To evaluate the effect of Pseudomonas putida bacteria in meet the needs of two species of basil, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in research greenhouses of Shahid Chamran University. The first factor involves the type of plant and the second factor is the type of fertilizer (0%, 50% and 100% superphosphate, only bacteria, bacteria + 50% superphosphate and bacteria + 100% superphosphate). The measured traits: Height, number of inflorescence, leaf area, fresh and dry weight, leaves phosphorus, flavones and flavonols, flavonoids, phenols and the percentage inhibition of free radicals. According to the results shown for both basilicum and sanctum species respectively the Maximum height, number of inflorescence, leaf area, fresh and dry weight of shoot And the highest leaves phosphorus (4.92 and 4.82 mg.g-1DW), flavones and flavonols (10.6 and 7.76 mg qr.g DW), flavonoids (49.72 and 48.82 mg Ga.g DW), phenols (9.62 and 14.18 mg qr.g DW) and percentage inhibition of free radicals (67.42% and 75.26%). Pseudomonas bacteria led to improve the quality and quantity of basil can be a viable alternative to chemical fertilizer phosphorus in the production of medicinal plants.

Keywords: Basil, Phenolic compounds, Phosphorus, Pseudomonas