Archive of SID.ir

Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 52, No 3, Autumn 2021 (619-632)
DOI: 10.22059/ijhs.2020.278323.1622

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۰ (ص ۶۳۲-۶۱۹)

نشریه پژوهشی:

اثر سویه‌های *سودوموناس* فلورسنس (*Pseudomonas fluorescence*) و اسید هیومیک بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ختمی (*Althaea officinalis* L.)

مهدیه لشکری[۱]، سهراب محمودی[۲*]، حسینعلی علیخانی[۳] و محمدحسن سیاری زهان[٤]
۱ و ۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
۳. استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
٤. دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۲۱)

چکیده
به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و کود آلی اسید هیومیک بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی ختمی (*Altheae officinalis* L.) آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. عامل اول تلقیح بذر با باکتری سودوموناس فلورسنس (*Pseudomonas fluorescence*) در چهار سطح (عدم تلقیح و تلقیح با جدایه های ۵۱، ۷۹ و ۱۶۳) و عامل دوم مصرف اسید هیومیک در چهار سطح (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ٤۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بود. نتایج نشان داد جدایه‌های باکتری *سودوموناس* و غلظت‌های مختلف اسید هیومیک تأثیر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک اندازه گیری شده داشت. بیشترین تأثیر در بین *سویه‌های سودوموناس* از تلقیح با سویه ۱۶۳ حاصل شد، به طوری که با کاربرد آن وزن خشک برگ، سطح برگ، شاخص کلروفیل برگ، میزان کاروتنوئید و غلظت پروتئین برگ نسبت به شاهد افزایش یافت. با افزایش غلظت اسید هیومیک از صفر به ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سطح برگ، شاخص کلروفیل برگ، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و میزان پروتئین برگ نسبت به شاهد افزایش یافت. مصرف توأم جدایه ۱۶۳ با ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک، موجب بیشترین افزایش در وزن خشک برگ، سطح برگ، کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل، کاروتنوئید و میزان فسفر برگ، نسبت به تیمار شاهد شد. با توجه به نتایج حاصل، مصرف کودهای زیستی با منشأ باکتری سودوموناس به همراه اسید هیومیک می‌تواند باعث بهبود صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی ختمی شود.

واژه‌های کلیدی: باکتری حل‌کننده فسفات، کود بیولوژیک، کود آلی، گیاهان دارویی.

Effect of *Pseudomonas fluorescence* strains and humic acid on some morphological and physiological characteristics of marshmallow (*Altheae officinalis* L.)

Mahdiyeh Lashkari[1], Sohrab Mahmoodi[2*], Hossein Ali Alikhani[3] and Mohammad Hassan Sayyari Zohan[4]
1, 2. M. Sc. Graduate and Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
3. Professor, College of Agriculutre & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
4. Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
(Received: Jun. 09, 2019 - Accepted: Nov. 11, 2020)

ABSTRACT
In order to investigate the effect of plant growth promoting rhizo-bacteria (PGPRs) and humic acid on some morphological and physiological characteristics of marshmallow (*Altheae officinalis* L.) a pot experiment was carried out under greenhouse condition at Faculty of Agriculture, University of Birjand, in 2017. The experiment was conducted using a complete randomized blocks design based on factorial arrangement with three replications. First factor was seed inoculation with strains of *Pseudomonas fluorescence* bacteria at four levels (non- inoculation, inoculation with strains 51, 79 and 163) and second factor was humic acid at four levels (0, 150, 300 and 450 mg/kg soil). Results showed that *Pseudomonas fluorescence* strains and humic acid had significant effects on morphological and physiological measured traits. The most effects of inoculation created by strain 163 of *Pseudomonas fluorescenss* bacteria and it increased leaf dry weight, leaf area, leaf chlorophyll index, carotenoids and protoin leaf compare to control. The result also showed that increasing of humic acid concentration up to 150 mg/kg of soil increased, leaf area, leaf chlorophylls index, chlorophyll fluorescence index and protein leaf compare to control. Combination use of *Pseudomonas fluorescenss* bacteria (strain 163) and humic acid (150 mg/kg soil) had the most effect on increasing of leaf fresh weight, leaf area, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids and phosphor leaf compare to control. Due to these results, application of biological fertilizers containing *Pseudomonas fluorescence* and humic acid can improve morphological and physiological characteristics of marshmallow.

Keywords: Bio-fertilizer, medicine plants, organic fertilizer, phosphat-solubilizing bacteria.

* Corresponding author E-mail: smahmoodi@birjand.ac.ir

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مقدمه

امروزه اهمیت گیاهان دارویی و طب سنتی ایران و شناساندن نقش حیاتی آن در پیشبرد هدف‌های ملی، منطقه‌ای و جهانی برای تحقق سلامت و نشاط جامعه، خودکفایی دارویی، توسعه اقتصادی، امنیت غذایی و حفظ ذخایر ژنتیکی و حضور فعال در بازارهای جهانی بر کسی پوشیده نیست (Mirzaie *et al.*, 2011). عوارض جانبی داروهای شیمیایی و تمایل انسان به استفاده هر چه بیشتر از محصولات طبیعی به منظور حفظ سلامت خویش و همچنین مشکلات سیستم دارویی مدرن، باعث توجه هرچه بیشتر بشر به گیاهان دارویی گردیده است (Rahim zadeh *et al.*, 2012). امروزه به دلیل استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی، مواد آلی زمین‌های کشاورزی در ایران کاهش یافته و خصوصیات خاک را نامطلوب ساخته است، در حالی‌که جایگزینی آنها با کودهای آلی و زیستی نقش مهمی را در سلامتی محیط زیست ایفا می‌کند. در این میان کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای زیستی با هدف حذف یا تقلیل مصرف نهاده‌های شیمیایی در راستای حل مشکل بوجود آمده بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است.

از جمله مهم ترین عوامل مؤثر بر پایداری تولید غذا و حفظ حاصلخیزی خاک، کاربرد سیستم‌های تغذیه تلفیقی و همچنین استفاده از کودهای زیستی در نظام تغذیه‌ای گیاه می‌باشد. عنوان کود زیستی منحصراً به مواد آلی از کودهای دامی، بقایای گیاهی، کود سبز و غیره اطلاق نمی‌گردد، بلکه زاد مایه ریز موجودات باکتریایی و قارچی و متابولیت‌های حاصل از فعالیت آنها به‌ویژه با تثبیت نیتروژن، زیست‌فراهمی فسفر و سایر عناصر غذایی، از جمله مهمترین کودهای زیستی محسوب می‌شوند (Rezvani Moghadam *et al.*, 2014). عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را می‌توان از طریق مصرف نهاده‌های زیستی تأمین نمود. در گذشته کودهای شیمیایی مختلف به دلیل مصرف راحت‌تر و اثر بخشی مناسب، بیش‌تر از سایر کودها مصرف شده اند، غافل از اینکه مصرف بیش از حد آنها مشکلاتی و به‌ویژه آلودگی‌های زیست محیطی را به دنبال دارد (Davis *et al.*, 2016). اغلب پژوهشگران بر این باور هستند که با استفاده از کودهای زیستی و ریزسازواره‌ها (Microorganisms) می‌توان شرایط تغذیه‌ای بهتری را برای گیاه فراهم کرد (Zhao *et al.*, 2016).

باکتری‌های محرک رشد گیاه (Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)) می‌توانند از دو راه مستقیم و غیر مستقیم بر رشد و نمو گیاه اثر گذاری داشته باشند. افزایش غیر مستقیم (کنترل زیستی) گیاه زمانی اتفاق می‌افتد که این باکتری‌ها برخی از اثرات مضر میکروارگانیسم‌های پاتوژن را با استفاده از یک یا چندین مکانیسم، حذف یا تعدیل نمایند، در صورتی که افزایش مستقیم رشد گیاه معمولاً مستلزم تولید یک ترکیب خاص و مؤثر بر رشد گیاه و یا تسهیل در جذب عناصر غذایی مورد نیاز توسط این باکتری‌ها است (Goswami *et al.*, 2016). باکتری‌های حل کننده فسفات (Solubilizing bacteria phosphate (PSB)) عمدتاً در ریزوسفر گیاهان یافت می‌شوند. این باکتری‌ها معمولاً از طریق ترشح اسیدهای آلی و مکانیسم آنزیمی همچون تولید فسفاتازها و فیتازها باعث تبدیل فرم‌های نامحلول معدنی و آلی فسفر به فرم‌های قابل جذب می‌شوند. فسفر از جمله عناصر اساسی مورد نیاز گیاه می‌باشد که کمبود آن بر شاخص‌های رشد اثر قابل توجهی داشته و از طرفی به اثبات رسیده که بعضی از گیاهان در سطوح کم فسفر با تولید اسیدهای آلی موجب افزایش برخی از عناصر در خاک به شکل قابل محلول می‌شوند (Wu *et al.*, 2012). افزایش قابلیت جذب و استفاده فسفر برای گیاه احتمالاً مهمترین نقشی است که این باکتری‌ها (در افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی برای گیاهان میزبانشان) دارند (Rathi *et al.*, 2016).

باکتری‌های موجود در کود بیولوژیک علاوه بر تثبیت نیتروژن اتمسفری، انحلال فسفات‌های نامحلول آلی و معدنی، هورمون‌های گیاهی، سیدرفورها و در نتیجه افزایش جذب آهن و دیگر عناصر ریزمغذی مورد نیاز گیاه، ترشح اسیدهای آمینه بعلاوه انواع آنزیم‌های لیز کننده و آنتی‌بیوتیک و سیانید هیدروژن را برعهده دارند (Boroumand *et al.*, 2012). بر اساس نتایج بدست آمده توسط Ahmad *et al.* (2010) تعداد و شاخص سطح

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

برگ آفتابگردان، تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی افزایش معنی‌داری داشت. Ali *et al.* (2009) گزارش کردند که سودوموناس سویه AMK.P6 وضعیت محتوای کلروفیل را در گیاهچه های سورگوم اصلاح می‌کند. همچنین کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفر، محتوای پروتئین در گیاه اسفرزه (*Plantago avata Forsk*) را افزایش داد (Narolia *et al.*, 2013).

با توجه به ملاحظات زیست محیطی اخیراً استفاده از اسیدهای آلی برای بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک کاربرد زیادی یافته و به دلیل وجود ترکیبات هورمونی باعث اثرات مفیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی شده است (Barghmadi & Najafi, 2015). اسید هیومیک بخش خاص و با ثباتی از مواد هوموسی است که دارای تعامل با طیف گسترده‌ای از مواد از جمله فلزات و آلاینده‌های آلی موجود در آب و خاک می‌باشد (Wahyudi *et al.*, 2011).

اسید هیومیک یکی دیگر از کودهای مناسب مورد استفاده در نظام کشاورزی ارگانیک می‌باشد. استفاده از اسید هیومیک باعث رشد اندام های هوایی می‌شود که دلیل آن افزایش جذب عناصر غذایی است (Harper *et al.*, 2000). در پژوهشی Chlik *et al.* (2010) با کاربرد اسید هیومیک دریافتند که این ماده سبب جذب عناصر غذایی روی، مس، آهن، نیتروژن، فسفر، پتاسیم و سایر عناصر غذایی گیاه ذرت می‌شود. همچنین اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می شود (Delfin *et al.*, 2005). در تحقیقی که توسط Ghorbani *et al.* (2010) انجام شد نیز اسید هیومیک تأثیر معنی‌داری بر شاخص سطح برگ و دوام برگ در گیاه ذرت داشت و سبب افزایش آنها شد. این نتایج با یافته‌های دیگر محققین در زمینه افزایش شاخص سطح برگ با مصرف اسید هیومیک مطابقت دارد (Ali *et al.*, 2014؛ Ahmad *et al.*, 2013).

گیاه دارویی ختمی از تیره پنیرک (*Malvaceae*) گیاهی علفی و چند ساله با نام علمی *Althaea officinalis* است. ساقه استوانه‌ای شکل و دارای کرک‌های ریز است و برگهای آن دارای سه تا پنج لب دندانه دار است که به صورت متناوب روی ساقه قرار می‌گیرند. ختمی یکی از مهم ترین گیاهان دارویی و زینتی در اکثر نقاط دنیا می‌باشد که از کلیه قسمت‌های آن استفاده دارویی به عمل می‌آید (Omid Beigi, 2009). برگ تازه ختمی، جهت کاهش درد و التهاب نیش حشرات، مفید بوده و ضماد آن در رفع آماس، التیام زخم‌ها و اولسرها، رفع دانه‌های صورت در داروسازی برای مداوای بیماری‌های مربوط به ناراحتی‌های ریه مؤثر است (Omid Beigi, 2009; Salehi Surmaghi, 2008). از آنجا که کیفیت تولید در گیاهان دارویی اهمیت بسزایی دارد، محصول تولیدی یک گیاه دارویی از نظر اقتصادی زمانی مقرون‌به‌صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد و از آنجایی که بوم‌نظام‌های زراعی نقش تعیین کننده‌ای در زیست ساخت (بیوسنتز) متابولیت‌های ثانویه دارند، لذا بررسی تأثیر شرایط بوم‌نظام بر تولید متابولیتی گیاهان اهمیت فراوانی دارد (Golmohammadzade *et al.*, 2015). در سال‌های اخیر سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (Food & Agriculture Organization (FAO)) طرح توسعه روش‌های تلفیقی مواد غذایی را پیشنهاد کرده است (FAO, 2016). با توجه به بالا بودن اسیدیته خاک و کاهش قابلیت جذب عناصر غذایی و با توجه به تأثیرات مثبت کاربرد کودهای بیولوژیک و آلی برای تأمین این عناصر غذایی و همچنین پایین بودن ماده آلی خاک در مناطق خشک و نیمه خشک ایران، می‌توان با مدیریت صحیح در استفاده تلفیقی از کودهای بیولوژیک و آلی به عنوان مکمل گیاهی ضمن افزایش عملکرد کمی، بهبود شاخص‌های کیفی گیاه ختمی را امکان پذیر نمود. لذا این آزمایش با هدف بررسی کاربرد جداگانه و تلفیقی کود زیستی سودوموناس فلورسنس و اسید هیومیک بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی ختمی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در تیرماه سال ۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

با سه تکرار در ۴۸ گلدان انجام گرفت. عامل اول تلقیح بذر گیاه ختمی با باکتری *سودوموناس فلورسنس* (*Pseudomonas fluorescence*) در سه سطح تلقیح با جدایه‌های ۵۱، ۷۹ و ۱۶۳ و شاهد (عدم تلقیح) و عامل دوم مصرف کود اسید هیومیک در چهار سطح صفر (شاهد)، ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود.

آماده‌سازی زادمایه باکتری

در این آزمایش تعدادی سویه (Strain) باکتری از بانک ژن ریزجانداران مفید خاکزی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران تهیه گردید. جهت تهیه زادمایه از باکتری‌های منتخب (کشت خالص)، ابتدا باکتری‌ها بر روی محیط کشت NA (Nutrient agar) در ظروف پتری دیش باز کشت شدند. پس از ۴۸ ساعت از رشد باکتری‌ها، یک لوپ از کشت تازه هر جدایه به درون یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت NB (Nutrient broth) مایه‌زنی و در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت با شدت ۱۲۰ دور در دقیقه گرماگذاری (Incubation) شدند. سپس یکسان‌سازی جمعیت به نحوی صورت گرفت که سوسپانسیون باکتری (زادمایه) دارای جمعیتی تقریبی ۱×۱۰^{۹} cfu/ml (Colony forming units) بود. سپس مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون کشت تازه هر جدایه به هر بذر اضافه و تلقیح گردید (Merchan *et al*., 2003). جهت کاشت از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۱/۵ و قطر دهانه ۲۳ سانتی‌متر با گنجایش ۵ کیلوگرم خاک استفاده شد. برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در تاریخ ۱ تیر ماه و قبل از اجرای آزمایش نمونه‌برداری از خاک انجام گرفت و نمونه ها به آزمایشگاه خاکشناسی ارسال گردید که نتایج آنالیز آن در جدول۱ ارائه شده است. بذر ختمی مورد نیاز از بخش گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. از پودر اسید هیومیک (Humax 95-WSG) ۹۵ درصد ساخت کشور آمریکا جهت اعمال تیمار اسید هیومیک استفاده گردید. تیمارهای اسید هیومیک با مقادیر مورد نظر در سه سطح ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به صورت جامد با خاک گلدان‌ها مخلوط و قبل از کاشت در تاریخ ۷ تیرماه ۱۳۹۷ در یک مرحله به خاک اضافه شد. یک سطح عدم مصرف اسید هیومیک نیز به عنوان سطح صفر (شاهد) در نظر گرفته شد.

بذرهای ختمی قبل از کاشت ابتدا با محلول هیپو کلریت سدیم ۱۰ درصد (حاوی ۰/۵ درصد کلر فعال) ضدعفونی سطحی شدند و چندین مرتبه با آب مقطر استریل به دقت شستشو داده شد. سپس بذرهای ضدعفونی شده ختمی با زادمایه میکروبی *سودوموناس فلورسنس* طبق تیمارهای آزمایشی تلقیح شدند. در نهایت بذرها در عمق ۲ سانتی متری از سطح خاک با تراکم ۱۵ عدد بذر در هر گلدان کشت شدند. پس از اطمینان از سبز شدن گیاهان در مرحله ۴ برگی گیاهچه‌ها تنک شدند و در نهایت ۵ گیاهچه در هر گلدان باقی ماند. آبیاری بلافاصله پس از کاشت انجام و رطوبت گلدان‌ها به حد ظرفیت زراعی رسید. آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر در حد رطوبت ظرفیت زراعی از طریق توزیع روزانه انجام شد. گلدان‌ها به مدت ۳ ماه در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۵ درجه سانتی‌گراد در شب با طول دوره روشنایی ۱۲ ساعت نگهداری شدند. در طول اجرای آزمایش نیز از هیچ‌گونه علف‌کش و آفت‌کش شیمیایی استفاده نشد.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی خاک مورد استفاده

Table 1. Physico-chemical characteristics of used soil

Soil Texture	pH	EC (dS/m)	OC (%)	OM (%)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)
Sandy loam	8.36	0.96	0.16	0.28	0.032	27.5	126.3

جدول ۲. خصوصیات کود آلی (اسید هیومیک) مورد استفاده

Table 2. Characteristics of used organic fertilizer (Humic acid)

Type of organic fertilizer	Acid humic	Acid follic	Potassium oxid
Humax 95-WSG	80 (%)	15 (%)	12 (%)

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

صفات موردبررسی شامل برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه بودند. صفت شاخص کلروفیل در شروع گلدهی و اندازه گیری رنگدانه های فتوسنتزی، شاخص فلورسانس برگ، سطح برگ و درصد وزن خشک برگ در پایان گلدهی (زمان برداشت) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ از دستگاه SPAD استفاده شد. وزن خشک برگ بعد از برداشت و با ترازوی ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری سطح برگ، دو بوته به آزمایشگاه منتقل و پس از جدا کردن برگ‌ها از ناحیه دمبرگ با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج (Leaf area meter- Model Windias) سطح برگ آنها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی غلظت کلروفیل a ، b ، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها مطابق روش Arnon (1949) صورت گرفت. برای این منظور، ۰/۵ گرم از برگ‌های جوان برداشت کرده و در هاون چینی با استون سابیده شد و سپس ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه گردید. سپس نمونه‌ها در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه قرار گرفت و بعد به طور جداگانه مقدار کلروفیل a در طیف جذبی ۶۶۳ نانومتر ، مقدار کلروفیل b در ۶۴۶ نانومتر و مقدار کاروتنوئیدها در ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. در انتها با استفاده از روابط ۱ تا ۳ به ترتیب میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها، برحسب میلی‌گرم بر وزن تر نمونه به دست آمد.

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A663 - 0.86 \times A645) \times V / 100W \quad (۱)$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A645 - 3.6 \times A663) \times V / 100W \quad (۲)$$

$$\text{Chlorophyll Total} = 100\,(A470) - 3.27(\text{mg chl.a}) - 104\,(\text{mg chl.b}) / 227 \quad (۳)$$

همچنین برای اندازه‌گیری فسفر، ابتدا ۰/۵ گرم نمونه آسیاب شده به مدت چهار ساعت در کوره با دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۶۶۰ نانومتر برای اندازه‌گیری فسفر استفاده شد (Omidbeigi, 2009).

تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد. و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون LSD محافظت شده در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد کاربرد *سودوموناس فلورسنس* موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک برگ ختمی شد (P<۰/۰۱). افزودن جدایه ۱۶۳ به گیاه موجب افزایش ۲۳/۷۵ درصدی وزن خشک برگ در مقایسه با تیمار شاهد (عدم تلقیح) شد (جدول۳). بیشترین وزن خشک برگ مربوط به تیمار تلقیح با جدایه ۱۶۳ با میانگین ۲۱/۹ گرم و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (عدم تلقیح) بود. احتمالاً جدایه ۱۶۳ توانسته موجب افزایش فراهمی فسفر برای گیاه و افزایش وزن خشک گیاه (به دلیل افزایش تولید IAA و توسعه سیستم ریشه) شود. استفاده از باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش حجم ریشه‌ها و در نهایت جذب آب و مواد معدنی بیشتر می‌گردد که در نهایت سبب افزایش وزن تر و خشک گیاه می‌شود (Banchio *et al.*, 2008). بر همین اساس (Montanez *et al.* 2012) تأثیر هشت سویه باکتری را برگیاه ذرت بررسی و گزارش نمودند که تلقیح باکتریایی موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی شد. در پژوهش Bromand *et al.* Sivieri (2021) نیز کاربرد کود زیستی تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن اندام هوایی گیاه دارویی سیاهدانه داشت. مایه‌زنی گیاه آفتابگردان با باکتری آزوسپریلیوم وزن خشک گیاه را به طور قابل توجهی افزایش داد (Gehan & Abo-Baker, 2010). Mahfouz & Sharaf-Eldin (2007) گزارش نمودند کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش رشد رویشی، افزایش وزن خشک در گیاه دارویی رازیانه گردید. Shaharoona *et al.* (2006) با مطالعه اثر سویه‌های مختلف سودوموناس بر رشد ذرت و در شرایط مختلف کودی نشان دادند سویه‌های مختلف این باکتری می‌توانند وزن خشک ذرت را در مقایسه با شاهد افزایش دهد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک نسبت به تیمار شاهد موجب افزایش ۳۹/۴۶ درصدی وزن خشک برگ گیاه شد، اما با افزایش مصرف اسید هیومیک از ۱۵۰ به ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۵). Chamani *et al.* (2015) در تحقیقات خود بیان کردند اسید هیومیک به دلیل توسعه سیستم ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی باعث افزایش تعداد شاخساره گیاه می‌شود. آن‌ها تأثیر اسید هیومیک در افزایش شاخص‌های مذکور را به فعالیت شبه هورمونی آن نسبت دادند. همچنین اثر متقابل جدایه ۱۶۳ و مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک در مقایسه با ترکیب تیماری عدم تلقیح بذر با باکتری و عدم مصرف اسید هیومیک موجب افزایش ۴۶/۳۷ درصدی وزن خشک برگ گردید. Asgari *et al.* (2011) بیان کردند که مصرف همزمان کودهای بیولوژیک و آلی بر وزن خشک اندام هوایی گیاه نعناع فلفلی مؤثر بوده است.

مقایسه میانگین اثر متقابل *سودوموناس* و اسید هیومیک نشان داد در هنگام عدم مصرف اسید هیومیک و مصرف ۴۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک، بین جدایه‌های باکتری *سودوموناس* از نظر سطح برگ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بررسی‌ها نشان داد کاربرد توأم جدایه ۱۶۳ و مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک موجب افزایش ۳۱/۹۱ درصدی و معنی‌دار ($P<0/01$) سطح برگ در مقایسه با تیمار شاهد گردید. بیشترین سطح برگ در ترکیب تیماری جدایه ۱۶۳ و مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک و کمترین سطح برگ در شرایط عدم تلقیح بذر با باکتری و عدم مصرف اسید هیومیک حاصل گردید (جدول ۵). استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد در گیاهان مختلف منجر به افزایش سطح برگ گردیده و این موضوع به توانایی این باکتری‌ها در تولید هورمون‌های گیاهی IAA و افزایش دسترسی عناصر غذایی (به‌ویژه فسفر) نسبت داده شد (Golami *et al.*, 2009). در پژوهشی Shirmardi *et al.* (2010) گزارش کردند تلقیح رقم یوروفلور آفتابگردان با جدایه ۹ سودوموناس، سطح برگ را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین Jahan *et al.* (2013) گزارش کردند کودهای زیستی در گیاه کنجد نسبت به تیمار شاهد باعث تسریع در رسیدن شاخص سطح برگ به مقدار بیشینه شد. در بررسی انجام‌شده توسط Jalili *et al.* (2011) نیز تلقیح گیاه کلزا با سویه‌های *سودوموناس فلورسنس* مولد ACC-دآمیناز باعث افزایش شاخص سطح برگ نسبت به گیاه شاهد شد. این نتایج با یافته‌های دیگر محققان در زمینه اثرگذاری مثبت باکتری‌های محرک رشد بر وزن سطح برگ گیاهان مطابقت دارد (Amal *et al.*, 2010).

مصرف اسید هیومیک موجب افزایش سطح برگ شد. کودهای آلی با قابلیتی که در فراهم کردن عناصر غذایی دارند باعث افزایش رشد رویشی گیاه شده و در نتیجه از طریق افزایش تعداد برگ‌های گیاه، باعث افزایش شاخص سطح برگ گیاه می‌شود (Tahamy Zarandi *et al.*, 2010). در تحقیقی که توسط Rahi *et al.* (2013) انجام شد، مصرف اسید هیومیک موجب افزایش سطح برگ شد. این نتایج با یافته‌های دیگر محققین در زمینه افزایش شاخص سطح برگ با مصرف اسید هیومیک مطابقت دارد (Ahmad *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2014).

براساس نتایج حاصل، کاربرد جدایه‌های *سودوموناس* موجب افزایش شاخص کلروفیل برگ و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در گیاه ختمی شد. تلقیح بذرها با جدایه ۱۶۳ به ترتیب موجب افزایش ۱۷/۰۴ و ۲۷/۵۰ درصدی شاخص کلروفیل برگ و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II برگ ختمی نسبت به تیمار شاهد شد. با توجه به اینکه باکتری‌های محرک رشد مورداستفاده در این پژوهش توانایی تولید اکسین و قابلیت انحلال فسفات‌های معدنی و تولید سیدروفور را داشته‌اند، به نظر می رسد جدایه ۱۶۳ توانسته است با استفاده از مکانیسم‌های ذکر شده در بالا بردن شاخص کلروفیل برگ و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II برگ ختمی مؤثر باشد. Sadat (2007) نیز گزارش کرد استفاده از مایه تلقیح باکتری سودوموناس فلورسنس میزان کلروفیل برگ گندم را افزایش داد. این نتیجه با یافته‌های دیگر محققین در زمینه اثر

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مثبت باکتری‌های محرک رشد بر افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) مطابقت دارد (Hatami *et al., 2021*). بررسی شاخص فلورسانس کوانتومی در شرایط روشنایی نشان داد که بیشترین عملکرد کوانتومی فتوسیستم II مربوط به تیمار جدایه ۱۶۳ بود و نسبت Fv/Fm در آن بالاتر بود. همچنین کمترین عملکرد کوانتومی از تیمار شاهد (عدم تلقیح با باکتری) حاصل گردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقادیر این دو صفت با مصرف ۱۵۰میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک حاصل شد (جدول ۳). مصرف اسید هیومیک از طریق ایجاد شرایط تغذیه‌ای بهتر موجب رشد رویشی و شاخص کلروفیل برگ ختمی گردید. در تحقیقی که توسط Rahi *et al.* (2013) انجام شد، اسید هیومیک با کلات کردن عنصرهای ضروری سبب افزایش جذب عناصر و در نتیجه موجب افزایش سبزینه (کلروفیل) برگ شد (Bahrami, *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد مصرف کودهای آلی از طریق بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک و تولید تنظیم‌کننده‌های رشد توسط این میکروارگانیسم‌ها و نیز در دسترس قرار دادن مقدار بیشتر مواد غذایی برای مصرف گیاه، سبب افزایش مقدار کلروفیل برگ می‌شود که با یافته‌های گزارش شده در مورد رازیانه مطابقت دارد (Darzi *et al.*, 2006).

کاربرد جدایه های *سودوموناس*، موجب افزایش معنی دار غلظت فسفر برگ شد و بیشترین افزایش نسبت به شاهد، در تیمار تلقیح با سویه ۱۶۳ مشاهده شد (شکل ۱). مصرف اسید هیومیک نیز اگر چه موجب افزایش غلظت فسفر برگ شد ولی تأثیر آن با افزایش سطح مصرف، کاهش یافت و بیشترین افزایش غلظت فسفر برگ نسبت به شاهد، در سطح مصرف ۱۵۰ میلی گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک، مشاهده شد (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل *سودوموناس* و اسید هیومیک نشان داد در هنگام عدم مصرف اسید هیومیک و مصرف ۴۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک، بین سویه‌های باکتری *سودوموناس* از نظر غلظت فسفر برگ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳). بررسی‌ها نشان داد کاربرد جدایه ۱۶۳ و مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک در مقایسه با ترکیب تیماری عدم تلقیح با باکتری و عدم مصرف اسید هیومیک، موجب افزایش ۳۶ درصدی غلظت فسفر برگ شد (P<۰/۰۱). بیشترین غلظت فسفر برگ در ترکیب تیماری کاربرد جدایه ۱۶۳ و مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک با میانگین ۳۶ درصد حاصل شد و کمترین غلظت فسفر برگ در شرایط عدم تلقیح بذر با باکتری و عدم مصرف اسید هیومیک حاصل گردید (شکل ۳). از آنجا که فسفر عنصر ضروری و پر مصرف برای رشد گیاه می‌باشد، افزایش جذب آن بواسطه استفاده از کودهای بیولوژیک و آلی می‌تواند در فتوسنتز و تولید گیاه نقش بسزایی داشته باشد. گونه‌های مختلف جنس *سودوموناس* موجود در کودهای زیستی، با ترشح آنزیم های فسفاتاز باعث تجذیه ترکیبات فسفاته آلی و در نتیجه معدنی شدن و قابل جذب شدن آن‌ها می‌شوند. همچنین این باکتری‌ها با کنترل قارچ های بیماری‌زا و از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفور، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های حیاتی و ساخت آنزیم‌های که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند سبب رشد و در نتیجه جذب عناصر غذایی ضروری نظیر فسفر می‌شوند (Abdul-Jalel *et al.*, 2002). نتایج بررسی Fernandez *et al.* (2007) نشان داد که باکتری‌های حل کننده فسفات بطور معنی‌داری باعث افزایش جذب فسفر و عملکرد گیاه سویا گردید. Khaled & Fawy (2011) گزارش کردند محلول‌پاشی با هیومیک اسید، جذب فسفر را در گیاه ذرت افزایش داد. دیگر محققان نیز نقش باکتری‌های حل کننده فسفات معدنی در افزایش جذب فسفر را در گیاهان گزارش کرده‌اند (Perez-Montano *et al.*, 2014).

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر کاربرد سویه‌های سودوموناس فلورسنس و محلول‌پاشی اسید هیومیک بر غلظت پروتئین برگ معنی‌دار شد (P<۰/۰۱)، اما اثر متقابل این فاکتورها معنی‌دار نبود (جدول۳). بیشترین میزان پروتئین برگ مربوط به جدایه ۱۶۳ بود که در مقایسه با تیمار عدم تلقیح با باکتری موجب

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

افزایش ۱۱/۳۷ درصدی پروتئین برگ شد. با توجه به افزایش غلظت پروتئین برگ در پاسخ به اعمال کودهای زیستی می‌توان استنباط کرد کاربرد باکتری‌های محرک رشد، موجب افزایش تثبیت نیتروژن در گیاه شده است. گزارش شده است این باکتری‌ها جذب نیتروژن را به طور مستقیم انجام می‌دهند (Ashrafuzzaman *et al*., 2009). Stancheva & Dinev (2003) بیان کردند کاربرد کودهای زیستی موجب افزایش پروتئین در اندام هوایی ذرت شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد مصرف اسید هیومیک، باعث افزایش معنی دار غلظت پروتئین برگ شد (P<۰/۰۱). با افزایش غلظت اسید هیومیک از صفر به ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، درصد پروتئین برگ به ترتیب ۱۰/۸۴ و ۹/۰۲ درصد افزایش یافت. بیشترین میزان درصد پروتئین برگ مربوط به سطح ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک (با میانگین ۲۰/۴۷ درصد) و کمترین آن مربوط به سطح ۴۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در کیلوگرم خاک (با میانگین ۱۷/۴۴ درصد) بود. در آزمایش مزرعه‌ای روی کنجد نیز مشاهده شد کاربرد اسید هیومیک به صورت محلول‌پاشی میزان پروتئین را افزایش داد (Salwa, 2011). در پژوهش Azarpour *et al.* (2011) نیز محلول‌پاشی اسید هیومیک روی نخود سبب افزایش میزان پروتئین دانه در نخود شد.

مقایسه میانگین اثر متقابل *سودوموناس فلورسنس* و سطوح مختلف اسید هیومیک نشان داد اثر مصرف اسید هیومیک بر میزان کلروفیل a و b در جدایه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس متفاوت بود (P<۰/۰۱) (جدول ۴). بررسی‌ها نشان داد اثر توأم جدایه ۱۶۳ و سطح ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک در مقایسه با تیمار شاهد، به ترتیب موجب افزایش ۵۱/۳۸ و ۵۲/۹۹ درصدی میزان کلروفیل a و b در گیاه ختمی گردید. به نظر می‌رسد جدایه ۱۶۳ موجب افزایش فراهمی فسفر برای گیاه و افزایش رشد گیاه می‌شود، سپس با بهبود شرایط رشد برای گیاه، شاخص‌های رشد از جمله میزان کلروفیل برگ را هم افزایش می‌دهد. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی می‌تواند ناشی از جذب فسفر هم باشد، فسفر در ساختار آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز شرکت دارد و افزایش جذب آن به بالا رفتن میزان فتوسنتز در گیاه کمک می‌کند. محتوای کلروفیل برگ به عنوان یکی از شاخص‌های مهمی که ظرفیت فتوسنتزی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شناخته می‌شود (Ganji Arjenaki *et al*., 2012). Mia *et al*. (2010) نیز افزایش فعالیت های فتوسنتزی را در اثر تلقیح با باکتری‌های سودوموناس فلورسنس گزارش کردند. اسید هیومیک با قدرت کلات کنندگی عناصر غذایی و با کاهش تبخیر و تعرق و در نتیجه با قرار دادن آب و عناصر غذایی بیشتر و مناسب‌تر در اختیار گیاه می‌تواند ساخت رنگیزه‌ها را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را در گیاه راحت‌تر کند (Nasooti miandoab *et al*., 2010).

شاید به همین دلیل در این آزمایش غلظت کلروفیل a و b در تیمار با اسید هیومیک افزایش یافته است. این نتایج با یافته‌های دیگر محققین در زمینه افزایش میزان کلروفیل در اثر کاربرد اسید هیومیک در گیاهان گلایل و همیشه بهار مطابقت دارد (Ahmad *et al*., 2013; Alavi zadeh & Nazari delju, 2014).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر جدایه‌های *سودوموناس فلورسنس* و اسید هیومیک بر خصوصیات مورفولوژیکی ختمی.

Table 3. Results of variance analysis effect of *Pseudomonas fluorescence* strains and humic acid on morphological characteristics of *Althaea officinalis*

Source of variation	df	Mean of squares					
		Leaf dry weight	Leaf area	SPAD index	Chlorophyll fluorescence index	Leaf phosphorus	Leaf protein
Block	2	3.890 ^{ns}	5.958 ^{ns}	3.940 ^{ns}	2.856 ^{ns}	2.325 ^{ns}	41.027 **
Pseudomonas	3	11.590 **	993.890 **	118.524 **	0.003 **	0.004 **	11.831 **
Humic acid	3	36.793 **	854.339 **	128.224 **	0.006 **	0.002 **	25.019 **
*Pseudomonas**Humic acid	9	6.058 **	208.685 **	15.199 ^{ns}	6.934 **	0.004 **	3.039 ^{ns}
Error	30	1.642	4.542	8.324	3.651	8.611	2.063
CV (%)	2	16.13	2.46	7.66	17.83	5.10	7.53

ns، * و **: به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *, **: Non-significantly difference, significantly difference at 5 and 1% of probability level, respectively.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثر جدایه‌های *سودوموناس فلورسنس* و اسید هیومیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه ختمی

Table 4. Results of variance analysis effect of *Pseudomonas fluorescence* strains and humic acid effects on morphological characteristics of *Althaea officinalis*

		Mean of squares			
Source of variation	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoid
Block	2	0.002^{ns}	2.003^{ns}	0.001^{ns}	0.003*
Pseudomonas	3	0.070**	0.007**	0.091**	0.069**
Humic acid	3	0.126**	0.012**	0.137**	0.027**
*Pseudomonas**Humic acid	9	0.012**	0.003**	0.017**	0.001*
Error	30	0.001	6.054	0.004	0.007
CV (%)		8.33	5.79	7.72	6.98

ns، * و **: به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *, **: Non-significantly difference, significantly difference at 5 and 1% of probability level, respectively.

جدول۵. مقایسه میانگین اثرمتقابل جدایه‌های *سودوموناس فلورسنس* و اسید هیومیک بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ختمی.

Table 5. Mean comparison interaction effect of *Pseudomonas fluorescence* strains and humic acid on quantitive characteristics for morphological and photochemical of *Althaea officinalis*.

Pseudomonas fluoresces	Humic acid (mg/kg)	Leaf dry weight (g/plant)	Leaf area (cm^2/plant)	Chlorophyll a (mg/g FW)	Chlorophyll b (mg/g FW)	Total chlorophyll (mg/g FW)	Carotenoid (mg/g FW)
No inoculation	0	6.44^{f}	75.28^{i}	0.356^{g}	0.102^{h}	0.762^{d}	0.272^{h}
	150	7.07^{ef}	78.30^{ghi}	0.403^{fg}	0.120^{def}	0.840^{bcd}	0.293^{gh}
	300	7.95^{de}	75.55^{i}	0.428^{ef}	0.104^{gh}	0.831^{cd}	0.357^{ef}
	450	6.91^{ef}	77.04^{hi}	0.378^{fg}	0.109^{fgh}	0.762^{d}	0.270^{h}
Strain 79	0	6.81^{ef}	80.94^{efg}	0.402^{fg}	0.111^{efg}	0.792^{cd}	0.383^{de}
	150	11.60^{ab}	102.05^{b}	0.704^{ab}	0.180^{b}	1.105^{a}	0.474^{c}
	300	9.51^{bcd}	94.02^{c}	0.605^{c}	0.161^{c}	0.951^{b}	0.479^{bc}
	450	6.47^{f}	82.46^{def}	0.415^{efg}	0.107^{fgh}	0.811^{cd}	0.407^{d}
Strain 163	0	6.72^{def}	77.67^{ghi}	0.401^{fg}	0.104^{gh}	0.757^{d}	0.381^{de}
	150	12.01^{a}	110.56^{a}	0.723^{a}	0.217^{a}	1.113^{a}	0.532^{a}
	300	10.69^{bc}	93.90^{c}	0.655^{bc}	0.181^{b}	1.162^{a}	0.523^{ab}
	450	7.94^{de}	85.24^{d}	0.437^{ef}	0.105^{fg}	0.892^{bc}	0.410^{d}
Strain 51	0	6.70^{ef}	78.07^{ghi}	0.359^{g}	0.111^{fg}	0.743^{d}	0.320^{fg}
	150	9.35^{cd}	85.59^{d}	0.537^{d}	0.129^{d}	0.893^{bc}	0.370^{de}
	300	7.78^{de}	79.77^{fgh}	0.471^{de}	0.124^{de}	0.837^{cd}	0.385^{de}
	450	6.56^{ef}	83.84^{de}	0.393^{fg}	0.113^{efg}	0.770^{d}	0.317^{fg}

در هر ستون، میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد، با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

In each column, means followed by the same letters are not significantly difference at 5% probability level.

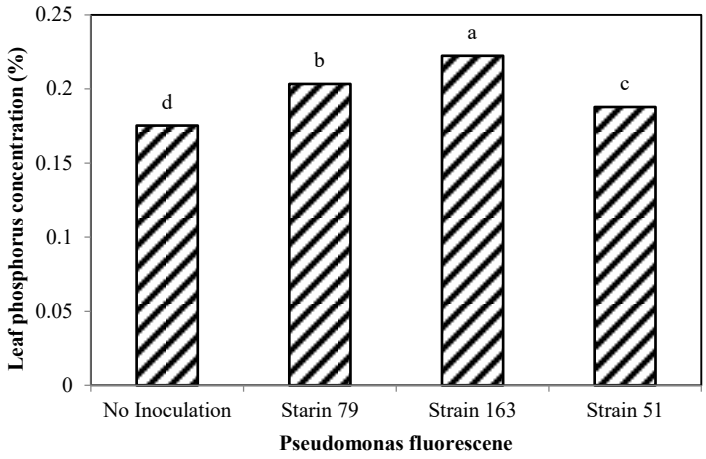
بررسی اثر متقابل عوامل آزمایشی نشان داد کاربرد سویه ۱۶۳ به همراه مصرف ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک به ترتیب موجب افزایش ۳۱/۷۲ و ۳۱/۵۳ درصدی میزان کلرفیل کل در مقایسه با تیمار شاهد شد. بیشترین میزان کلروفیل کل در ترکیب تیماری تلقیح با جدایه ۱۶۳ و مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک بر هرکیلوگرم خاک با میانگین ۱۱/۱۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ و کمترین آن مربوط به ترکیب تیماری تلقیح با جدایه ۵۱ و عدم مصرف اسید هیومیک مشاهده شد. در آزمایش Haghighi *et al.* (2012) فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه کاهو با کاربرد اسید هیومیک افزایش یافت. پاشش اسید هیومیک روی گیاه مارچوبه نیز توانست جذب اغلب عناصر کم مصرف و پر مصرف را هم در اندام‌های هوایی و هم در ریزوم‌ها افزایش دهد (Tejada & Gonzaiez, 2003). این کار باعث افزایش کلروفیل ساقه‌های خوراکی شد. این موضوع خود سبب بهبود فتوسنتز در گیاهان خواهد شد. نتایج مشابه در زمینه افزایش میزان کلروفیل در اثر کاربرد اسید هیومیک در گیاهانی مانند گلایل و همیشه بهار نیز گزارش شده است (Ahmad *et al.*, 2013; Alavi zadeh & Nazari delju, 2014).

مقایسه میانگین اثر متقابل *سودوموناس فلورسنس* و سطوح مختلف اسید هیومیک نشان داد با مصرف اسید هیومیک میزان افزایش کاروتنوئید در سویه‌های باکتری *سودوموناس فلورسنس* متفاوت بود. مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک به همراه

Archive of SID.ir

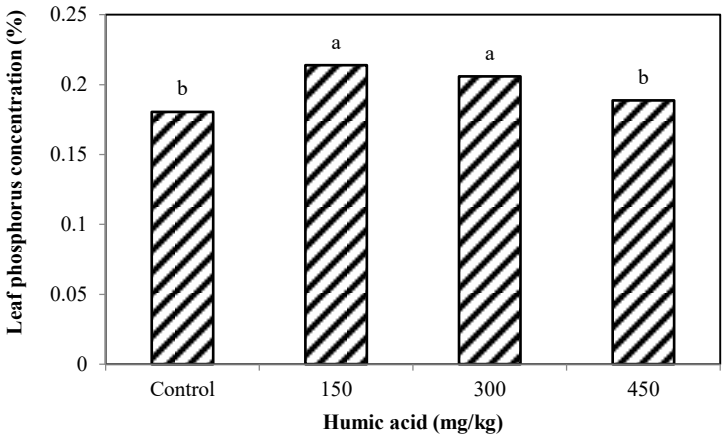
Archive of SID.ir

تلقیح با جدایه ۱۶۳ باکتری سودوموناس، موجب افزایش ۴۷/۱۶ درصدی و معنی‌دار کاروتنوئید در مقایسه با تیمار شاهد شد. احتمالاً باکتری سودوموناس به ویژه جدایه ۱۶۳ به واسطه انحلال فسفات‌های نامحلول، تولید IAA از طریق توسعه‌ی سیستم ریشه‌ای، موجب بهبود جذب آب و عناصر غذایی، افزایش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی و در نتیجه بالا رفتن کارایی فتوسنتزی در گیاه دارویی ختمی می‌شوند. مشابه این نتایج توسط دیگر محققان در زمینه‌ی افزایش میزان کاروتنوئیدها به واسطه کاربرد باکتری‌های محرک رشد در سایر گیاهان گزارش شده است (Nadeem *et al*., 2014). کاروتنوئیدها به منظور حفاظت نوری از فتوسنتز ضروری‌اند و به عنوان پیشگام سیستم انتقال پیام طی مراحل توسعه گیاهی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. لذا افزایش محتوای کاروتنوئیدی گیاهان اهمیت بالایی دارد. اسید هیومیک با قرار دادن بهتر و بشتر آب و عناصر غذایی در اختیار گیاه می‌تواند ساخت کاروتنوئیدها را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را راحت‌تر کند (Delfine *et al*., 2005). در پژوهش (Bromand Sivieri *et al*., 2021) نیز کودهای زیستی توانستند میزان کاروتنوئید در گیاه سیاهدانه را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش دهند. Tejada & Gonzalez (2003) گزارش کردند که با محلول‌پاشی اسیدهای آمینه و مقایسه آن با محلول‌پاشی اسید هیومیک، میزان کلروفیل و کاروتنوئید ساقه‌های خوراکی مارچوبه همراه با اغلب عناصر پرمصرف و کم مصرف افزایش یافت.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر جدایه های سودوموناس فلورسنس بر غلظت فسفر برگ ختمی.

Figure 1. Mean comparison effect of strains of *Pseudomonas fluorescence* on leaf phosphorus concentration of marshmallow.

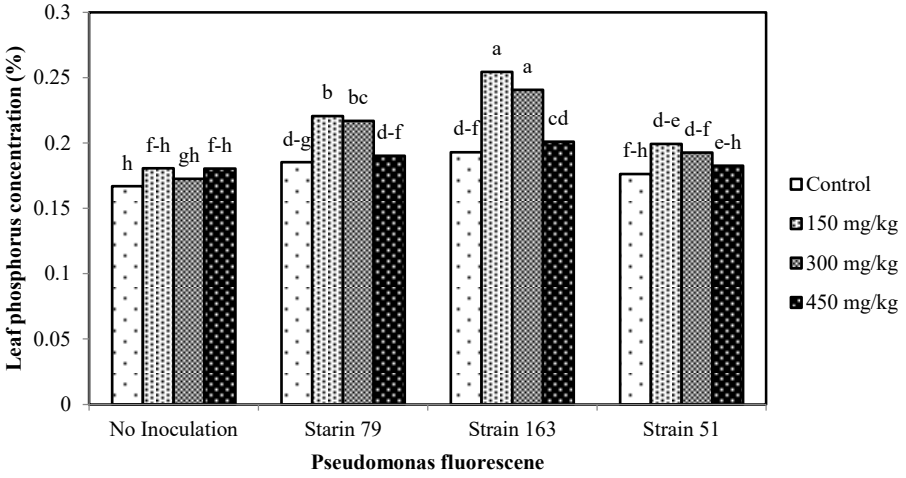


شکل ۲. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک بر غلظت فسفر برگ ختمی.

Figure 2. Mean comparison effect of humic acid on leaf phosphorus concentration of marshmallow.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل جدایه های سودوموناس فلورسنس و اسید هیومیک بر غلظت فسفر برگ ختمی.

Figure 3. Mean comparison interaction effect of *Pseudomonas fluorescence* strains and humic acid on leaf phosphorus concentration of marshmallow.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از زادمایه باکتری *سودوموناس فلورسنس* محرک رشد گیاه موجب افزایش معنی‌داری صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نسبت به گیاه شاهد گردید. مصرف اسید هیومیک نیز علاوه بر بهبود شرایط دسترسی گیاه به آب و مواد غذایی توانست در افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه و تولید محصول سالم دارویی در گیاه دارویی ختمی نقش مؤثری داشته باشد. در این بررسی ترکیب تیماری جدایه ۱۶۳ باکتری *سودوموناس فلورسنس* به همراه مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم اسید هیومیک در هر کیلوگرم خاک بیشترین اثر مثبت را بر صفات مورد بررسی داشت. این تأثیر مثبت می‌تواند نوید بخش امکان تولید پایدار این گیاه دارویی با ارزش باشد. علاوه بر این مصرف کودهای زیستی و آلی از طریق کاهش هزینه‌های تولید و آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، می تواند یکی از راهبردهای مهم برای نیل به کشاورزی اکولوژیک و پایدار باشد.

REFERENCES

1. Abdol-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R. (2002). *Pseudomonas fluorescens* enhances biomas yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60, 7-11
2. Ahmad, A. G., Orabi, S. A. & Gaballah, M. (2010). Effect of bio-N-P fertilizer on the growth, yield and some biochemical components of two sunflower cultivars. *International Journal Academic Research,* 2, 271-277.
3. Ahmad, I., Usman, R. S., Muhammad, S., Ahmad, S. K. & Muhammad, Y. (2013). Humic acid cultivar effects on growth, yield vase life, and corn characteristics of gladiolus. *Chilean Journal of Agricultural Research,* 74(3), 339-344.
4. Ali, A., Rehman, S. U., Reza, S. & Butt, S. J. (2014). Combined effect of humic acid and NPK on growth and flower development of *Tulipa gesneriana* in Faisalabad. *Pakistan Journal of Ornamental Plants,* 4(4), 227-236.
5. Ali, S. K. Z., Sandhya, V., Grover, M., Kishore, N., Rao, L. V. & Venkateswarlu, B. (2009). *Pseudomonas* sp. Strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biology and Fertility of Soils*, 46, 45-55.
6. Allavi zadeh, N. & Nazari Deljou, M. (2014). Effect of humic acid on morph-physiological traits, nutrients uptake and postharvest vase life on pot marigold cut flower (*Calendula officinalis cv. Crysantha*) in hydroponic system. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture,* 5(18), 133-143. (in Farsi).
7. Amal, G. A., Orabi, S. & Gomaa, A. M. (2010). Bio-organic farming of grain sorghum and its effect on growth, physiological and yield parameters and antioxidant enzymes activity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(3), 270-279.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

8. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in (*Beta vulgaris*). *American Society of Plant Physiologists,* 24(1), 1.
9. Asgari, M., Habibi, D., & Brojerdi, G. (2011). Study on the application of vermin compost, growth stimulating bacteria and humic acid on growth index of peppermint in central province. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 7(4), 41-54.
10. Ashrafuzzaman, M. F. A., Hossen, I. M., Razi, H. M., Anamul, I. M., Zahurul, S. M., Shahidullah, M. & Sariah, M. (2009). Efficiency of plant growth- promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnol*ogy, 8, 1247-1252.
11. Azarpour, E., Khosravi Danesh, R., Mohammadi, S., Bozorgi, H. R. & Moraditochaee, M. (2011). Effects of nitrogen fertilizer under foliar spraying of humic acid on yield and yield components of cowpea (*Vigna unguiculata*). *World Applied Sciences Journal.* 13(6), 1445-1449.
12. Bahrami, S., Soleimani, A. & Habibi, F. (2015). The effect of humic acid on the mineral composition level, yield and fruit quality apple variety Granny Smith (*Malus domestica* L. *cv. Granny Smith*). *Journal of Crops*, 17(2), 517-529. (In Farsi).
13. Barghmadi, K. & Najafi, S. H. (2015). Nitroxin and different levels of humic acid on some essential characteristics of small and ajowan (*Trachyspermum copticum* (L.) Link). *Journal of Horticultural Science*, 29, 332-341. (in Farsi).
14. Banchio, E., Bagino, P., Zygadlo, J. & Giordano, W. (2008). Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. *Biochemistry Systemic Ecology*. 36: 766-771.
15. Boroumand, A., Sajedi, N. & Changizi, M. (2012). Combined effects of chemical fertilizers and plant growth promoting bacteriaon yield and yield components of maize in Arak weather conditions. *New Findings in Agriculture*, 4, 296-307.
16. Bromand Sivieri, M., Heidary, M., Gholami, A. & Ghorbani, H. (2021). Effects of foliar application of nano iron oxide and biofertilizers on the activity of antioxidant enzymes and some physiological characteristics of the root and aerial parts in black cumin (*Nigella sativa* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science.* 51(4), 939-953.(in Farsi).
17. Celik, H. A. V., Katkat, B. B., Asik M. A. & Turan, M. A. (2010). Effect for foliar-applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. *Soil Sciences*, *Plant Annual*, 42(2), 29-38.
18. Chamani, A., Bonyadi, M. & Ghanbari, A. (2015). Effect of salicylic acid and humic acid on vegetative indices of periwinkle (*Catharanthus roseus* L.). *Journal of Horticultural Science*, 29(40), 631-641.
19. Darzi, M. T., Ghalavand, A., Rejali, F. & Sefidkon, F. (2006). Effects of biofertilizers application on yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgar* Mill.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(4), 276-292. (in Farsi).
20. Davis, K. F., Gephart, J. A. & Gunda, T. (2016). Sustaining food self-sufficiency of a nation: The case of Sri lanken rice production and related water and fertilizer demands, *Ambio*, 45(3), 302-312.
21. Delfin, S., Tognetti, R., Desideri, E., & Alrin, A. (2005). Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat, *Agronomy for Sustainable Development*, 25, 183-191
22. FAO. (2016). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nation. Available in: *http:// faostat.fao.org/country profiles/.*
23. Farahani, A. & Madani, H. (2014). Evaluate the usefulness of humic acid organic matter in comparison to chemical fertilizer and manure and their combination in summer savory (*Satureja hortensis* L.). *New Finding in Agriculture*, 8(4), 324-337. (in Farsi).
24. Fernandez, L., Zalba, P., Gomez, M. & Sagardoy, M. (2007). Phosphate-solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. *Biology and Fertility of Soil*, 43, 805-809.
25. Ganji Arjenaki, F., Jabbari, R. & Morshedi, A. (2012). Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(11), 726-729.
26. Gehan, G. M. & Abo-Baker A. (2010). Effect bio chemical fertilization on growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) at south valley area. *Asian Journal of Crop Science* 2, 137-146.
27. Gorbani, S., Khazaei, H. R., Kafi, M. & Bannayan Aval, M. (2010). Effects of humic acid application in irrigation water on yield components of maize. *Journal of Agroecology,* (2), 123-131.
28. Golami, A., Shahsavani, S. & Nezarat, M. (2009). The effect of growth promoting rhizobacteria on germination, seedling growth on yield of maize. *International Journal of Biological Life Sciences,* 1(1), 35-40.
29. Golmohammadzade, S., Ghanbari, S., Hosseini, R. & Hasannia, H. (2015). Impact of vermicompost and chemical fertilizer on yield, growth and essential oil of garlic (*Allium sativum* L.). *International Journal of Life Science,* 9(4), 44-48.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

30. Goswami, D., Thakker, J. N. & Dhandhukia, P. S. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 127-500.
31. Haghighi, M., Kafi, M. & Fang, P. (2012). Photosynthetic activity and N metabolism of lettuce as affected by humic acid. *International Vegetable Science*, 18, 182-189. (in Farsi)
32. Hatami, M., Khanizadeh, P., Alsadat Abtahi, F. & Abaszadeh Dehgi, P. (2021). Influence of plant growth promoting rhizobacteria and hydro-priming on some physiological indices of lemonbalm (*Melissa officinalis*). *Iranian Journal of Horticultural Science.* 52(1), 11-21.(in Farsi).
33. Harper, S. M., Kerven, G. L., Edwards, L. & Zostakek Boczyski, Z. (2000). Characterizyion on folic and humic acids from leaves of *eucalyptus comaldulensis* and from decomposed hey. *Soil Biochemistry*, 32, 1331-1336.
34. Jahan, M., Nassiri Mahallati, M., Amiri, M. B. & Ehyayi, H. R. (2013). Radiation absorption and use efficiency of sesame as affected by bio fertilizers inoculation in a low input cropping system. *Industrial Crops and Products*, 43, 606-611.
35. Jalili, F., Khavazy, K. & Asadi Rahmani, E. (2011). The effect of adenosine on fluorescent enzyme activity ACC-canola growth under saline conditions. *Journal of Soil Science*. 2: 175-188.
36. Khaled, H. & Fawy, H. (2011). Effect of different levels of humic acids on the nutrient content, plant growth and soil properties under conditions of salinity. *Soil and Water Research*, 6(1), 21-2.
37. Mahfouz, S. A. & Sharaf-Eldin, M. A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennal (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Indian Agrophysics*. 21, 361-366.
38. Merchan, F., Breda, C., Hormaeche, J. P. Sousa, C., Kondorosi, A., Aguilar, O. M. & Cnespi, M. (2003). A Kruppel-like transcription factor gene is involved in salt stress responses in *Medicaga spp*. *Plant and Soil*, 257(1), 1-9.
39. Mia, M. A. B., Shamusuddin, Z. H., Wahab, Z., & Marziah, M. (2010). Rhizobacteria as bioenhancer and biofertilizer for growth and yield of banana (*Musa spp. Cv. "Berangan"*). *Scientia Horticulturae*, 126, 80-87.
40. Mirzaie, H. & Ebrahemi Monfared, K. (2011). *Medicine herbs: Packaging and marketing*. Iranian Agricultural Press, Tehran. P.192. (in Farsi).
41. Montanez, A., Radriguze- Blanco, A., Barlocco, C., Beracochea, M. & Sicardi, M. (2012). Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and effects *in vitro*. *Applied Soil Ecology*, 58, 21-28.
42. Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A. & Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, 32(2), 429-448.
43. Naghdibadi, H., Omidi, H., Rezazadeh, S. H. & Zeinali Mobarakeh, Z. (2012). Morphological, agronomical and phytochemical changes in borage (*Borago officinalis* L.) under biological and chemical fertilizers. *Journal of Medicinal Plants*, 2(42), 145-156. (in Farsi).
44. Narolia, G. P., Shivran, A. C. & Reager, M. I. (2013). Growth and quality of isabgol (*Plantago ovate* forsk) influenced by phosphorus, PSB and zinc. *International Journal of Plant Science*, 8(1), 160-162.
45. Omidbeigi, R. (2009). *Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants*. Astane-Ghodse-Razavi Publications. Mashhad. 423 P. (in Farsi).
46. Perez-Montano, F., Alias-Villegas, C., Bellogin, R. A., Del Cerro, P., Espuny, M., Jimenez-Guerrero, I. & Cubo, T. (2014). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plant: from microorganism capacities to crop production. *Microbiological Research,* 169(5), 325-336
47. Rahi, A., Davoodifar, M., Azizi, F. & Habibi, D. (2013). Effects of different amounts of humic acid and response curves in the *Dactylis glomerata*. *Agronomy and Plant Breeding Journal*, 8(3), 15-28.
48. Rahimzadeh, S. T., Sohrabi, Y., Heydari, G. R. & Pirzad, A. R. (2012). The effect of application of biofertilizers on some morphological characteristic and yield of *Dracocephalum moldavica* L. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 25(3), 335-343. (in Farsi).
49. Rehman, S. U., Reza, S. & Butt, S. J. (2014). Combined effect of humic acid and NPK on growth and flower development of *Tulipa gesneriana* in Faisalabad. Pakistan. *Journal of Ornamental Plants,* 4(4), 227-236.
50. Rathi, M. & Gaur, N. (2016). Phosphate solubilizating bacteria as biofertilitizer and its applications. *Journal of Pharmancy Research,* 10(3), 146-148.
51. Rezvani Moghadam, P., Lashkari, A., & Amin Ghafouri, A. (2014). Estimation of cardinal temperatures of *Echium amienum* Fisch. with application of regression models. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 12(2), 164-169. (in Farsi).
52. Sadat, A. (2007). Effects of vesicular arbuscular mycorhiza and plant growth promoting bacteria on nutrient uptake and yield of wheat under salinity condition. M.Sc. Thesis, University of Tehran, Iran. (in Farsi).

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

53. Salehi Surmaghi, M. H. (2008). *Medicinal plants and Phytotheraphy* (Vol. 1). Donyaye-Taghziye Press, Tehran, 406p. (in Farsi)
54. Salwa, A. (2011). Effect of amendments humic and amino acids on increases soils fertility yields and seeds quality of peanut and sesame on sandy soils. *Agriculture and Biological Science*, 7(1), 115-125
55. Shirmardi, M., Savaghebi, G. R., Khavazi, K., Akbarzadeh, A., Farahbakhsh, M., Rejali, F. & Sadat, A. (2010). Effect of microbial inoculants on uptake of nutrient elements in two cultivars of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Saline Soils,* 2, 57-66. (in Farsi).
56. Shaharoona, B., Arshad, M., Zahir, Z. A. & Khalid A. (2006). Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 2971-2975.
57. Stancheva, I. & Dinev, N. (2003). Effect of inoculation of maize and species of *Tribe triticeae* with *Azospirillum brasilense*. *Journal of Plant Physiology*. 4, 550-552.
58. Tahamy Zarandi, M., Rezvani Moghadam, P., & Jahan, M. (2010). Comparing the effect of organic and chemical fertilizers on yield and essential oil percentage of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural Ecology*, 2(1), 63-74. (in Farsi).
59. Tejada, M. & Gonzalez, J. L. (2003). Influence of foliar fertilization with amino acids and humics acid on productivity and quality of asparagus. *Biological Agriculture and Horticulture*, 21(3), 277-291.
60. Wahyudi, J., Astuti, I. & Giyanto, R. (2011). Screening of *Pseudomonas* sp. isolated from rhizosphere of soybean plant as plant growth promoter and bio-control Agent. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 6(1), 134-144.
61. Wu, F., Wan, J. H. C., Wu, S. & Wong, M. (2012). Effect of earthworms and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on availability of nitrogen, phosphorus, and potassium in soil. *Journal of Plant Notrition and Soil Science,* 175(3), 423-433.
62. Zhao, J., Ni, T., Li, J., Lu, Q., Fang, Z., Huang, Q. & Shen, Q. (2016). Effects of organic inorganic compound fertilizer with reduced chemical fertilizer application on crop yields, soil biological activity and bacterial community structure in a rice-wheat cropping system. *Applied Soil Ecology*, 99, 1-12.

Archive of SID.ir