

## بررسی تغییرات میزان آتروپین واسکوپولامین و ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی *Atropa belladonna* L. تحت تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی

محمد اینانلو<sup>۱</sup>، مصطفی حیدری<sup>۲</sup>، حسنعلی نقدی‌بادی<sup>۳\*</sup>، مجید تولیت ابوالحسنی<sup>۴</sup>،  
حسن مکاریان<sup>۲</sup>، محمدرضا عامریان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.

<sup>۲</sup>دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.

<sup>۳</sup>دانشیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران.

<sup>۴</sup>استادیار، جهاد دانشگاهی، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۱۸ : تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۲۵

### چکیده

امروزه بکارگیری باکتری‌های محرک رشد (PGPR)<sup>۲</sup> یکی از راهکارهای بهبود رشد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی گیاهان دارویی می‌باشد. این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی در سال ۱۳۹۵ به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. باکتری‌های محرک رشد شامل عدم تلقیح، سودوموناس، ازتوباکتر، سودوموناس+ ازتوباکتر، تیوباسیلوس+ گوگرد به‌عنوان عامل اول، و کود شیمیایی شامل عدم مصرف کود شیمیایی یا شاهد، ۵۰ درصد و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده به‌عنوان عامل دوم این آزمایش بودند. آلکالوئیدهای گیاه در مرحله گلدهی و با استفاده از حلال‌های کلروفرم، متانول و آمونیاک استخراج و مقدار آتروپین و اسکوپولامین با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که کودهای زیستی و شیمیایی و اثر متقابل آنها بر صفات رشدی و میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه تأثیر معنی‌داری داشته‌اند ( $p < 0.01$ ). بیشترین مقدار عملکرد بیولوژیک در تیمار سودوموناس با ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده مشاهده شد. بیشترین میزان آتروپین و اسکوپولامین در برگ به‌ترتیب مربوط به تیمار سودوموناس با ۵۰ درصد کود توصیه شده و تیمار عدم استفاده از کود زیستی با ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده بود. بیشترین میزان آتروپین ریشه مربوط به تیمار سودوموناس با عدم استفاده از کود شیمیایی توصیه شده بود و بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه در تیمار سودوموناس با ۱۰۰ درصد کود توصیه شده مشاهده شد. بنابراین بیشترین عملکرد بیولوژیک و میزان آتروپین در برگ و ریشه و همچنین میزان اسکوپولامین ریشه در گیاه شایبک با کاربرد باکتری سودوموناس حاصل شده است.

**واژه‌های کلیدی:** آلکالوئید، آتروپین، اسکوپولامین، باکتری‌های محرک رشد، شایبک.

\*نویسنده مسئول: naghdbadi@yahoo.com

## مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری‌ها با تاریخ زندگی انسان هم زمان بوده است. اگر چه در ۵۰ سال گذشته استفاده از داروهای شیمیایی و سنتزی رواج زیادی یافته، ولی آثار زیانبار آنها بر سلامت انسان سبب گرایش مجدد به کاربرد گیاهان دارویی شده است. بنابراین در طول تاریخ، استفاده از گیاهان دارویی یکی از روشهای مهم در درمان بیماری‌ها بوده است (Omidbeigi, 2015). اگرچه مصرف گیاهان دارویی با توسعه صنایع شیمیایی محدود شده است، اما چشم‌انداز مقدار استفاده از این گیاهان رو به افزایش است و پژوهش‌های علمی، اثربخشی و ایمنی برخی از روش‌های طب مکمل از جمله گیاهان دارویی را در درمان برخی بیماریها به اثبات رسانده است (Nourhosseini et al., 2017).

تیره سیب‌زمینی نزدیک به ۲۰۰۰ گونه دارد که برخی از آنها دارای آلکالوئیدهای مهمی مانند آتروپین و اسکوپولامین هستند (Ghahreman, 2008). گیاه شایبک (*Atropa belladonna* L.) یکی از گیاهان این تیره است که به دلیل داشتن آلکالوئیدهای مهم به عنوان گیاه دارویی استفاده می‌شود (Zhang et al., 2004). شایبک با نام‌های انگلیسی Death cherries، Deadly nightshade، Belladonna، Devil's berries است پایا، چند ساله، که از قدیم به عنوان گیاه دارویی در طب سنتی استفاده شده است. خواص دارویی آن مربوط به آلکالوئیدهای موجود در این گیاه است. شایبک با بوی نامطبوع، دارای آلکالوئیدهای مشتق از تروپان ( $C_8H_{15}N$ ) شامل آتروپین و اسکوپولامین است (Latif and Gray, 2006). آلکالوئیدهای آتروپین و اسکوپولامین جزء مهمترین آلکالوئیدهای تروپانی می‌باشند که به عنوان داروهای ضدکولیک و اسپاسمولیتیکی در دستگاه گوارش و دفع ادرار مورد استفاده قرار می‌گیرند. آتروپین، آلکالوئید اصلی در

ریشه‌های گیاه شایبک *Atropa belladonna* است و بیشتر به خاطر اثرات آنتیکولینرژیک (Anti-cholinergic) که روی گیرندگان موسکارین (Muscarinic receptors) عمل می‌کند، شناخته می‌شود. اسکوپولامین نیز مانند آتروپین به‌عنوان آنتی‌موسکارین (Anti-Muscarin) عمل می‌کند، اما تأثیر بیشتری روی سیستم عصب مرکزی دارد (Navasi et al., 2019).

امروزه باکتری‌ها توجه زیادی را به عنوان تقویت کننده رشد گیاه به خود جلب کرده‌اند. این ریزوباکتری‌ها اثر متقابل بر خاک و ریشه گیاه دارند و بر رشد گیاه تأثیر مثبت دارند و به همین دلیل به آنها تحریک کننده‌های رشد (PGPR) می‌گویند. این باکتری‌ها مستقیماً باعث تحریک رشد می‌شوند و یا بصورت غیرمستقیم از طریق کنترل بیماری‌ها به عملکرد گیاه کمک می‌کند. به دلیل این ویژگی‌های مهم، امروزه به عنوان راهبردی مطمئن برای افزایش عملکرد، حفاظت از گیاهان زراعی، جایگزینی مناسب و بوم سازگار برای کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌های شیمیایی برای آینده معرفی می‌شود. باکتری‌های آزادی در برخی فرآیندهای کلیدی بوم نظام مانند فرآیندهای دخیل در کنترل بیولوژیکی پاتوژن‌های گیاهی، چرخه عناصر غذایی و استقرار گیاهچه نقش دارند (Wu et al., 2005). بنابراین بکارگیری مواد بیولوژیک، دارای کارکردهای چند منظوره‌ای در بوم نظام‌های زراعی هستند بطوریکه بالقوه سبب بهبود کیفیت فیزیکی خاک (از طریق گسترش ریشه‌های قارچ یا کلنی‌های باکتریایی)، کیفیت شیمیایی خاک (از طریق افزایش جذب عناصر غذایی) و کیفیت بیولوژیکی خاک (از طریق شبکه غذایی خاک) می‌گردند (Emam, 2007). به‌رحال مصرف کودهای زیستی روی ذرت، اثر مثبت بر جذب عناصر غذایی و عملکرد دارد (Ehteshami et al., 2008).

تلقیح شده بود مشخص گردید که یک رابطه همکاری مثبت بین قارچ‌های میکوریزای و بعضی از سویه‌های باکتری وجود دارد سبب افزایش عملکرد گیاه عدس شده‌است (Zarei et al., 2006).

باکتری‌های جنس تیوباسیلوس از مهمترین و رایجترین انواع باکتری‌های اکسیدکننده گوگرد است و گوگرد موجود در خاک را به صورت  $SO_4$  قابل جذب برای گیاهان در می‌آورد (Ravichandra et al., 2007). تیوباسیلوس‌ها اثرات قابل ملاحظه‌ای بر pH محیط دارند و با تولید اسید توسط، حلالیت عناصر افزایش یافته و قابلیت دسترسی آنها تسهیل می‌گردد (Fallah et al., 2010). بهرحال کاهش اسیدیته خاک، یکی از روشهای مؤثر مقابله با کمبود فسفر و ریزمغذیها در خاک‌های آهکی و قلیایی به شمار می‌رود (Doroudian et al., 2010).

با توجه به اهمیت آکالوئیدهای مهم موجود در گیاه دارویی شایبک و از آنجاییکه تاکنون پژوهشی زراعی در خصوص اثر کودهای زیستی و مصرف توام آنها با کودهای شیمیایی بر آکالوئیدهای این گیاه انجام نشده است، این تحقیق در راستای تولید پایدار این گیاه با هدف ارزیابی خصوصیات رشدی و فیتوشیمیایی گیاه شایبک در شرایط مزرعه‌ای انجام شده است.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در کرج انجام شده است. قبل از انجام آزمایش، از خاک نمونه برداری و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن تعیین شد (جدول ۱).

کودهای زیستی نیتروژن از طریق ترشحات حل‌کننده و کاهش pH، عناصر مختلف غذایی بیشتر را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار داده و با تولید بیشتر مواد فتوسنتزی در افزایش تولید مؤثر واقع می‌شود (Han et al., 2006). اگرچه این عنصر می‌تواند به صورت کوددهی شیمیایی و زیستی در اختیار گیاه قرار گیرد ولی مصرف نامتناسب و بی‌رویه کودهای شیمیایی نیتروژن، نتیجه‌ای جز کاهش کیفیت محصول، افزایش هزینه تولید و افزایش آلودگی منابع آب زیرزمینی در بر نخواهد داشت (Mohammedvarzi, 2010). فلاح نصرت‌آباد و همکاران (Fallah Nosratabad et al., 2014) در بررسی تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم نشان دادند که برهمکنش کود زیستی حاوی ازتوباکتر، آزوسپیریوم، سودوموناس و باسیلوس با کود شیمیایی نیتروژن، به‌طور قابل توجهی منجر به افزایش عملکرد دانه شده‌است.

باکتری‌های حل‌کننده فسفات، گروهی از ریز موجودات را در بر می‌گیرند که قادرند فسفر نامحلول در خاک را به فرم محلول قابل دسترس گیاه تبدیل کنند. از مهم‌ترین جنس‌های این خانواده می‌توان به *Bacillus* و *Pseudomonas* اشاره کرد. گونه‌های مختلف جنس *Pseudomonas* در کنترل قارچ‌های بیماریزا مؤثر بوده و *P.fluorescens* از طریق ساز و کارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها، سنتز آنتی بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌گردد (Abdul-Jaleel et al., 2007). در مطالعه‌ای که گیاه عدس به سویه‌های باکتری سودوموناس فلورسنس و قارچ میکوریزای آربسکولار

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه تا عمق ۳۰ سانتی متری

کلاس بافت خاک	درصد اجزاء			شوری (dS/m)	اسیدیته (pH)	ازت کل (درصد)	مواد آلی (درصد)	فسفر قابل جذب (mg.kg <sup>-1</sup> )	پتاسیم قابل جذب (mg.kg <sup>-1</sup> )
	رس	سیلت	شن						
لوم سیلتی	۸	۱۳	۷۹	۰/۹۵	۸/۲	۰/۰۷۱	۰/۸۲	۴۸/۹	۳۳/۶

جدول ۲: مشخصات اقلیمی و جغرافیایی مزرعه تحقیقاتی

میانگین سالیانه دما (سانتی گراد)	میانگین بارندگی (میلی متر)	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۱۳/۲۱	۲۶۳	۱۴۲۶	۳۵° ۳۶'	۵۰° ۵۶'

جدول ۳: میانگین برخی شاخص‌های آب و هوایی منطقه کشت گیاه شایبک در طول دوره رشد گیاه (سال ۲۰۱۷-۲۰۱۸)

ماه	میانگین دمای ماهانه (°C)	ماکزیمم دمای ماهانه (°C)	مینیمم دمای ماهانه (°C)	مجموع بارش ماهانه mm
January	2.1	13.3	-8.6	46.4
February	0.9	13.2	-12.3	77.7
March	7.2	17.9	-3.1	81.8
April	13.1	25.2	-1.8	97.1
May	20.6	31.1	8.3	35.2
June	24.9	35.2	9.1	0
July	27.4	37.8	12.9	0.6

سانتی متر کشت گردیدند در نهایت در مرحله گلدهی، گیاهان جهت اندازه‌گیری صفات برداشت شدند. در آخرین مرحله آماده سازی مزرعه برای کاشت نشاء شایبک و همزمان با آماده سازی کرت‌ها، مقدار ۵۰ درصد توصیه کودی هر تیمار به خاک اضافه شد. اعمال تیمار تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در تاریخ ۱۳۹۶/۰۱/۱۵ همزمان با کشت نشاء صورت پذیرفت. ۵۰ درصد توصیه کودی نیز در ۱۳۹۶/۰۲/۳۰ قبل از شروع مرحله گلدهی به مزرعه داده شد. در این آزمایش، سایر عملیات زراعی برحسب نیاز انجام شد. نمونه برداری و اندازه‌گیری صفات نیز با به گل رفتن گیاه در تیرماه ۱۳۹۶ آغاز گردید. صفات مورد اندازه‌گیری شامل ارتفاع بوته، طول برگ، عرض برگ، عملکرد بیولوژیک، قطر ساقه، میزان سبزی‌نگی برگ، میزان آتروپین و اسکوپولامین گیاه بودند. برای خشک

این آزمایش به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری‌های محرک رشد: عدم تلقیح (N)، سودوموناس (*Pseudomonas putida*) (strain P<sub>3</sub>; S)، ازتوباکتر (*Azotobacter vinelandii* strain O<sub>4</sub>; A)، سودوموناس + ازتوباکتر (SA)، تیوباسیلوس (*Thiobacillus* spp.) + گوگرد (T) به عنوان عامل اول و کود شیمیایی در سه سطح: عدم مصرف کود شیمیایی «شاهد» (F<sub>1</sub>)، ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده (F<sub>2</sub>) و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده (F<sub>3</sub>) به عنوان عامل دوم بودند. بذر گیاه شایبک در تاریخ ۱۳۹۵/۱۱/۰۱ در بستر گلخانه کشت و در تاریخ ۱۳۹۶/۰۱/۱۵ نشاءها به زمین اصلی مزرعه منتقل گردیدند. در این آزمایش کرت‌های آزمایش به ابعاد ۲×۲ متر ایجاد و نشاهای شایبک در فواصل ۵۰×۲۰

۱۰cc کلروفرم استخراج و جمع‌آوری شد. برای آبگیری از محلول حاصل، به محلول کلروفرمی جمع-آوری شده، سدیم سولفات انیدرید اضافه و سپس به وسیله کاغذ صافی صاف شد. سپس با دستگاه روتاری، حلال آن کاملاً خارج شد و مواد باقیمانده با ۵cc متانول ویژه HPLC جمع‌آوری شد. برای انحلال کامل رسوب در متانول، به مدت چند دقیقه در اولتراسونیک قرار داده شد. به این ترتیب نمونه‌ها برای تزریق به دستگاه HPLC آماده شد.

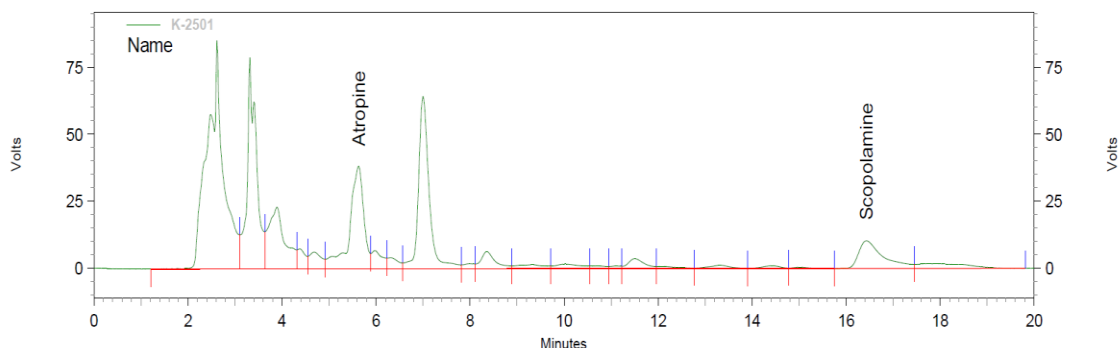
#### مشخصات دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی

**بالا (HPLC):** روش کروماتوگرافی مورد استفاده جهت جداسازی و تعیین مقدار آتروپین و اسکوپولامین موجود در گیاه شایبک، روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) (performance High chromatography liquid) بود. در بین روش‌های گوناگون آنالیز آلکالوئیدها، روش HPLC با ردیاب ماورای بنفش، به دلیل گزینش‌پذیری مناسب و حساسیت بالا، بیشتر مورد توجه قرار می‌گیرد. در این تحقیق برای آنالیز عصاره از دستگاه HPLC مدل Knauer با rate Flow ۲ میلی‌لیتر در دقیقه و ترکیب فاز متحرک به کار برده شده، آمونیوم استات 100 mM، دی‌اکسان، استونیتریل، به نسبت (۴۰:۵۰:۵۰:۸۶۰) با استیک اسید pH= ۵/۶ و دکتور UV با طول موج ۲۵۴ nm ستون CN 5micrometer (4.9\*250) استفاده شد. حجم هر بار تزریق ۵۰ میکرولیتر بود. میزان دو آلکالوئید آتروپین و اسکوپولامین در نمونه‌های گیاه براساس سطح زیرمنحنی به دست آمده (شکل ۱) و با استفاده از منحنی استاندارد آنها محاسبه شد. منحنی استاندارد نیز براساس سطح زیرمنحنی دو ترکیب استاندارد (آتروپین سولفات و اسکوپولامین هیدروبروماید) در ۴ غلظت ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ترسیم شد.

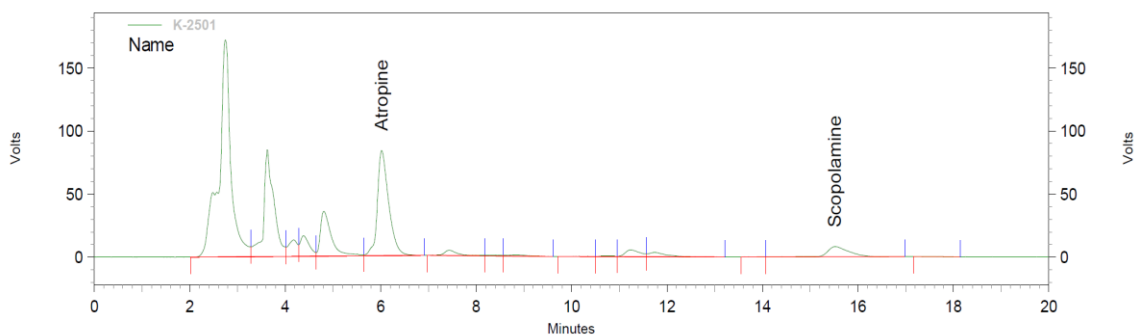
کردن اندام هوایی گیاه جهت محاسبه عملکرد بیولوژیک و نیز حفظ کیفیت، نمونه‌ها بصورت یکنواخت در قفسه‌ها پخش گردیده و در دمای اتاق خشک گردید. میزان سبزیگی برگ‌ها با استفاده از دستگاه SPAD (مدل MINOLTA-502 JAPAN) تعیین شد.

برای سنجش آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه از عصاره نمونه‌ها از روش فاچینی و دلوکا (Facchini and De Luca, 1995) و فریک و همکاران (Frick et al., 2004) استفاده شد. بر اساس این روش، مقدار یک گرم از پودر گیاه شایبک را به ارلن ۲۵۰cc انتقال داده و به آن ۵cc آمونیاک ۲۵ درصد، ۲۵ cc متانول و ۷۵ cc کلروفرم به آن اضافه شد و درب آن بسته و به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک قرار داده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در مکانی تاریک قرار نگهداری شد و بعد به وسیله کاغذ صافی و پنبه صاف شد و به کمک ۱۰cc کلروفرم محتویات باقیمانده در ارلن نیز از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول صاف شده، در یک بالن ۲۰۰cc به دستگاه روتاری متصل شد تا حلال‌های آن تبخیر و خارج شود. به رسوب حاصل، ۲۵cc کلروفرم و ۱۰cc اسید سولفوریک یک نرمال اضافه شد. برای بهتر حل شدن رسوب میتوان از دستگاه اولتراسونیک برای مدت زمان کوتاهی استفاده کرد. محلول فوق را به یک دکانتور منتقل کرده و پس از ایجاد دو فاز مجزا، فاز پایینی که فاز کلروفرمی بود، از دکانتور خارج و فاز بالایی را که فاز آبی بود، نگه داشته شد. در صورت ایجاد اینترفاز (یک لایه بین دو فاز آبی و کلروفرمی) از چند میلی‌لیتر محلول آب نمک اشباع برای جداسازی بهتر دو فاز استفاده گردید. با استفاده از چند قطره محلول آمونیاک pH محلول بین ۱۱ - ۱۰ تنظیم شد. در این مرحله فاز کلروفرمی (فاز پایینی) در بالنهای کوچکتر جمع‌آوری و فاز آبی مجدداً با

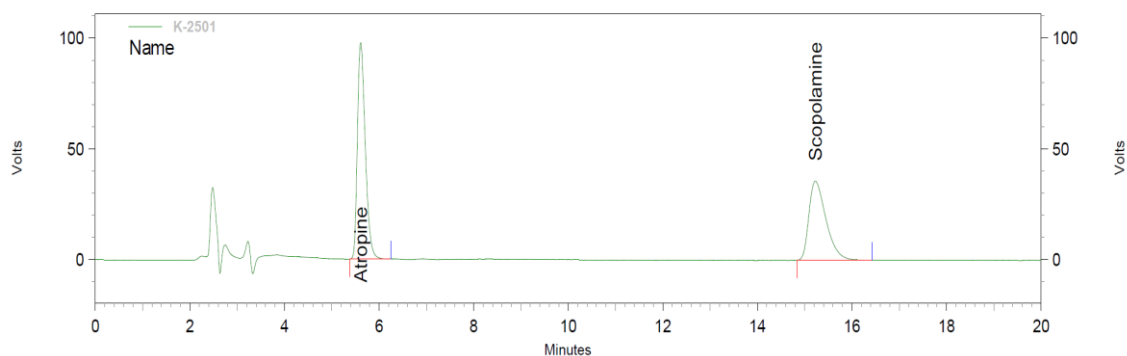
تجزیه داده‌ها: مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح ۵ درصد و آنالیز داده‌های این تحقیق توسط نرم‌افزار SAS ver 9.1 انجام شد.



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۱: نمونه کروماتوگرام HPLC آتروپین و اسکوپولامین اندام هوایی (الف)، ریشه (ب) و محلول استاندارد (ج)

## نتایج

بیولوژیکی و میزان سبزی‌نگی برگ داشت (جدول ۴). بیشترین مقدار ارتفاع بوته (۶۴ سانتی‌متر) در تیمار F<sub>2</sub>S (سودوموناس + ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و کمترین مقدار ارتفاع بوته (به ترتیب ۳۶ و ۳۷ سانتی‌متر) در تیمارهای F<sub>1</sub>T (تیوباسیلوس + گوگرد و

صفات رشدی: نتایج آزمایش بیانگر آن بود که کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ( $p \leq 0.01$ ) بر صفات کمی شامل ارتفاع بوته، قطر ساقه، طول برگ، عرض برگ، عملکرد

صفات فیتوشیمیایی: کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها بر میزان آتروپین برگ، آتروپین ریشه، اسکوپولامین برگ و اسکوپولامین ریشه تأثیر معنی‌داری ( $p \leq 0.01$ ) داشتند (جدول ۴). بیشترین میزان آتروپین برگ (۲۷/۵ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار  $F_2S$  (سودوموناس و ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و کمترین آن (۴/۰۵ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار  $F_3SA$  (سودوموناس + اسکوپولامین ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) مشاهده شد (جدول ۵). بیشترین و کمترین میزان آتروپین ریشه (۱۱/۵ و ۷/۵ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) به ترتیب در تیمار  $F_1S$  (سودوموناس و عدم استفاده از کود شیمیایی) و تیمار  $F_2N$  (عدم تلقیح کود زیستی و ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) حاصل گردید (جدول ۵).

بیشترین میزان اسکوپولامین برگ (۱۰/۴ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار  $F_2N$  (عدم تلقیح کود زیستی و ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و کمترین آن (۰/۰۳ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) از تیمارهای  $F_2T$  (تیوباسیلوس + گوگرد و ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و  $F_1SA$  (سودوموناس + اسکوپولامین ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) مشاهده شد (جدول ۵). بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه (۱/۷۷ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار  $F_3S$  (سودوموناس و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و کمترین آن (۰/۵۶ و ۰/۴۸ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) به ترتیب از تیمارهای  $F_2N$  (عدم تلقیح کود زیستی و ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و  $F_2S$  (سودوموناس و ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) حاصل گردید (جدول ۵).

عدم استفاده از کود شیمیایی) و  $F_1A$  (ازتوباکتر و عدم استفاده از کود شیمیایی) مشاهده شد (جدول ۵). بیشترین و کمترین مقدار قطر ساقه (به ترتیب ۱۵/۳۳ و ۸/۵۱ میلی‌متر) مربوط به تیمارهای  $F_2S$  (سودوموناس + ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و  $F_1A$  (ازتوباکتر و عدم استفاده از کود شیمیایی) بود (جدول ۵). بیشترین مقدار طول برگ و عرض برگ (به ترتیب ۲۳/۹۴ و ۱۲/۷۵ سانتی‌متر) از تیمار  $F_3T$  (تیوباسیلوس + گوگرد و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و کمترین مقدار طول برگ و عرض برگ (به ترتیب ۱۴/۹۷ و ۷/۷۸ سانتی‌متر) از تیمار  $F_1A$  (ازتوباکتر و عدم استفاده از کود شیمیایی) حاصل گردید (جدول ۵). بیشترین عملکرد بیولوژیک (۸۷۰۱ و ۸۶۷۴ کیلوگرم در هکتار) به ترتیب در تیمار  $F_3S$  (سودوموناس و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و  $F_3SA$  (سودوموناس + ازتوباکتر و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و کمترین عملکرد بیولوژیک (۵۰۲۲ کیلوگرم در هکتار) در تیمار  $F_1A$  (ازتوباکتر و عدم استفاده از کود شیمیایی) مشاهده گردید (جدول ۵). حداکثر میزان سبزی‌نگی برگ (۴۶/۲) در تیمار  $F_2A$  (ازتوباکتر و ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و کمترین میزان سبزی‌نگی برگ مربوط به تیمارهای  $F_1T$  (تیوباسیلوس + گوگرد و عدم استفاده از کود شیمیایی)،  $F_3T$  (تیوباسیلوس + گوگرد و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده)،  $F_1N$  (عدم تلقیح کود زیستی و عدم استفاده از کود شیمیایی)،  $F_1A$  (ازتوباکتر و عدم استفاده از کود شیمیایی) و  $F_1S$  (سودوموناس و عدم استفاده از کود شیمیایی) بود (جدول ۵).

جدول ۴: تجزیه واریانس پاسخ‌های رشدی و فیتوشیمیایی گیاه شایبزرک به کودهای زیستی و شیمیایی در شرایط زراعی

میانگین مربعات (MS)						درجه آزادی (D.F)	منابع تغییرات (S.O.V)
میزان سبزیگی برگ	عملکرد بیولوژیک	عرض برگ	طول برگ	قطر ساقه	ارتفاع بوته		
۰/۷۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۳۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۱ <sup>ns</sup>	۲	تکرار (R)
۵/۴۵ <sup>**</sup>	۵/۱۲ <sup>**</sup>	۲۸/۷۵ <sup>**</sup>	۳۸/۰۱ <sup>**</sup>	۴۵/۱۲ <sup>**</sup>	۱۳/۵۳ <sup>**</sup>	۴	کود زیستی (B)
۲/۹۳ <sup>**</sup>	۸/۲۵ <sup>**</sup>	۵/۳۷ <sup>**</sup>	۱۱/۷۰ <sup>**</sup>	۱۱/۰۶ <sup>**</sup>	۹/۱۲ <sup>**</sup>	۲	کود شیمیایی (F)
۱/۱۵ <sup>**</sup>	۴/۱۷ <sup>**</sup>	۱۱/۰۸ <sup>**</sup>	۵۴/۶۲ <sup>**</sup>	۵۱/۴۲ <sup>**</sup>	۲۸/۴۱ <sup>**</sup>	۸	اثر متقابل F × B
۰/۰۴۵	۰/۱۴۳	۰/۲۲۱	۰/۳۱۱	۰/۰۸۹	۰/۱۱۴	۲۸	خطا (E)
۱۱/۸۶	۱۲/۹۶	۱۶/۴۹	۱۳/۲۵	۱۵/۳۴	۱۵/۸۶	---	ضریب تغییرات (C.V درصد)

\*\* و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و عدم معنی داری

ادامه جدول ۴:

میانگین مربعات (MS)				درجه آزادی (D.F)	منابع تغییرات (S.O.V)
اسکوپولامین ریشه	اسکوپولامین برگ	آتروپین ریشه	آتروپین برگ		
۰/۱۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۲ <sup>ns</sup>	۲	تکرار (R)
۱۹/۴۱ <sup>**</sup>	۶/۱۲ <sup>**</sup>	۲۵/۰۸ <sup>**</sup>	۱۳/۲۷ <sup>**</sup>	۴	کود زیستی (B)
۱۰/۱۳ <sup>**</sup>	۴/۷۵ <sup>**</sup>	۶/۴۳ <sup>**</sup>	۳/۰۹ <sup>**</sup>	۲	کود شیمیایی (F)
۳۰/۰۴ <sup>**</sup>	۲/۲۶ <sup>**</sup>	۷/۱۲ <sup>**</sup>	۰/۸۴۳ <sup>**</sup>	۸	اثر متقابل F × B
۰/۲۰۴	۰/۲۸۶	۰/۳۴۴	۰/۳۱۵	۲۸	خطا (E)
۱۲/۰۶	۱۱/۷۳	۱۴/۶۲	۱۳/۹۷	---	ضریب تغییرات (C.V درصد)

\*\* و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و عدم معنی داری





## بحث

فتوستتزی، رشد رویشی گیاه افزایش یافته است (Saikia et al., 2010). در مطالعه‌ای بر روی گیاه نعناع فلفلی مشخص شد که بیشترین میزان طول و عرض برگ در استفاده از تیمار تیوباسیلوس حاصل شده است (Kheiry et al., 2018).

بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک (وزن خشک گیاه) نیز از تیمار سودوموناس با ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده حاصل گردید (جدول ۵). افزایش عملکرد بیولوژیک در گیاهان تحت تیمار باکتری سودوموناس عمدتاً ممکن است به دلیل تولید مواد تحریک کننده رشد گیاه مانند اکسین و سایتوکینین باشد که موجب توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه شده و در نتیجه گیاه توانسته از حجم بیشتری از خاک استفاده کند و موجب افزایش بازده جذب آب و مواد غذایی شده است (Alipour and Sobhanipour, 2012). در مطالعه‌ای، تلقیح گندم با باکتری سودوموناس تحت شرایط تنش محیطی موجب کاهش جذب یون‌های سمی، افزایش تولید هورمون اکسین و پروتئینهای مخصوص در گیاه شد و در نتیجه سبب تحریک رشد گیاه و افزایش عملکرد بیولوژیک گردید (Davoodifard et al., 2011).

در این آزمایش، بیشترین میزان سبزیگی برگ از تیمار ازتوباکتر با ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد (جدول ۵). از باکتری‌های موجود در کودهای زیستی می‌توان به ازتوباکتر به‌عنوان باکتری تثبیت کننده نیتروژن اشاره کرد که دارای میکروارگانیسم‌های مفید برای تامین مواد مغذی به ویژه نیتروژن است. بارزترین ویژگی آن نیز قابلیت تثبیت نیتروژن جو از طریق فرآیند تثبیت بیولوژیکی نیتروژن است. علاوه بر این از طریق سنتز مواد محرک رشد گیاهی سبب بهبود رشد گیاه می‌شود. ازتوباکترها مواد مغذی خاص مانند کربن، نیتروژن، فسفر و گوگرد را از طریق تسریع معدنی شدن از بقایای آلی

نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین میزان ارتفاع بوته و قطر ساقه مربوط به تیمار سودوموناس با ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده بود (جدول ۵). سودوموناس با تأثیر بر روی سیستم ریشه سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی در گیاه می‌شود، همچنین از طریق تولید هورمون‌هایی مانند جیبرلین که روی رشد طولی سلولها به ویژه میانگره‌های ساقه نقش دارد و یا اکسین و سایتوکینین که روی تقسیم سلولی نقش دارند، تأثیر گذاشته و در نتیجه سبب افزایش ارتفاع گیاه شده است. باکتری‌های محرک رشد بخصوص سودوموناس‌ها ممکن است از طریق مکانیسم‌های دیگری همچون تولید آنزیم ACC دآمیناز یا افزایش فراهمی فسفر موجب تحریک رشد و افزایش ارتفاع و قطر بوته گیاهان شوند (Ehteshami et al., 2014). به‌رحال ریزجانداران حل کننده فسفات موجب تحریک رشد و افزایش ارتفاع گیاه می‌شوند (Larsen et al., 2009). افزایش ارتفاع و قطر بوته‌های گندم در پاسخ به استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات نیز قبلاً گزارش شده است (Ramezani, 2005).

این تحقیق نشان داد که بیشترین طول و عرض برگ گیاه شابیزک مربوط به تیمار تیوباسیلوس + گوگرد با ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده می‌باشد (جدول ۵). تأثیر کاهش pH محیط و اسیدی شدن آن بر اثر استفاده از تیوباسیلوس و در نتیجه افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی گزارش شده است (Fallah et al., 2014). بنابراین افزایش طول و عرض برگ ممکن است ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن به سبب تأثیر باکتری‌های تیوباسیلوس باشد. زیرا افزایش نیتروژن باعث افزایش پروتوپلاسم و تقسیم سلولی و در نتیجه اندازه سلول و سطح برگ شده و در نهایت با بالا رفتن فعالیت

مختلف رشد گیاه یا آنزیم‌هایی که رشد و نمو گیاه را تنظیم می‌کنند تحت تأثیر خود قرار می‌دهند. این نتایج در راستای گزارش بسیاری از محققان مبنی بر تأثیر مثبت باکتری‌های ریزوسفری روی شاخص‌های رشد گیاهان تحت تلقیح آنها می‌باشد (Glick et al., 2007). گزارش‌های متعددی از آثار مثبت سودوموناس بر عملکرد کتان، ذرت، گندم، جو، تنباکو و خردل وجود دارد که نشان داده این باکتری‌ها موجب افزایش تثبیت نیتروژن، افزایش جذب عناصری چون فسفر، پتاسیم و آهن، بهبود وضعیت آب گیاه و تولید فیتوهورمون‌ها در این گیاهان شده‌اند (Ehteshami et al., 2008).

#### نتیجه‌گیری نهایی

بطور کلی نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد بیولوژیک مربوط به تیمارهای F<sub>3</sub>S (کاربرد باکتری سودوموناس + ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده) و F<sub>3</sub>SA (باکتری سودوموناس + ازتوباکتر و ۱۰۰ درصد کود شیمیایی) است. همچنین بیشترین میزان آتروپین برگ و ریشه و همچنین اسکوپولامین ریشه گیاه شایبک با کاربرد باکتری سودوموناس حاصل شده‌است. با توجه به اینکه میزان آلکالوئیدهای آتروپین و اسکوپولامین در برگ بسیار بیشتر از ریشه می‌باشد، نتایج نشان می‌دهد که بیشترین عملکرد بیولوژیک و فیتوشیمیایی از کاربرد سودوموناس حاصل شده است.

#### تشکر و قدردانی

از گروه محترم پژوهشی کشت و توسعه گیاهان دارویی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی که تجهیزات و امکانات لازم را در اجرای انجام این تحقیق و پژوهش فراهم آوردند تشکر می‌گردد.

خاک در دسترس گیاه قرار داده و از جذب فلزات سنگین نیز جلوگیری می‌کنند (Zhang et al., 2013). نیتروژن به سبب تأثیر قابل توجهی که در تشکیل رنگدانه‌های فتوسنتزی فعال از طریق افزایش مقدار استروما و پروتئین تیلاکوئید در برگ دارد سبب افزایش میزان کلروفیل گیاهان می‌شود. همچنین اثرات مثبت منابع نیتروژن بر تشکیل کلروپلاست برگ نیز گزارش شده است (Hong et al., 2012). در تحقیقی نیز مشخص شد که تیمار تلقیح با ازتوباکتر به تنهایی و همچنین به صورت توأم با کود نیتروژن باعث افزایش معنی‌داری در غلظت کلروفیل برگها در گندم گردید (Haji Boland et al., 2013).

بیشترین میزان آتروپین ریشه از تیمار سودوموناس در عدم استفاده از کود شیمیایی و بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه نیز از تیمار سودوموناس بعلاوه ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده حاصل گردید. بیشترین میزان آتروپین برگ از تیمار سودوموناس به همراه ۵۰ درصد از کود شیمیایی توصیه شده و بیشترین میزان اسکوپولامین برگ نیز از تیمار عدم استفاده از کود زیستی به همراه ۵۰ درصد از کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد (جدول ۵). سنتز آتروپین و اسکوپولامین ابتدا در ریشه گیاه بوده و پس از تولید مقدار توجهی از آن به اندام هوایی گیاه منتقل شده و تجمع می‌یابد (Samanani and Facchini, 2006). این باکتری‌ها با مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم خود، نقش اساسی در رشد و فیزیولوژی گیاه بازی می‌کنند. این مکانیسم‌ها مانند افزایش انحلال عناصر غذایی کم‌محللول مانند فسفر، تولید ACC-دآمیناز، تولید سیدروفور (از دیدگاه افزایش قابلیت جذب آهن)، ترشح هورمون‌های رشد از قبیل اکسین، سیتوکنین و جیبرلین می‌باشند که مراحل

## References

1. Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces*, 60: 7-11.
2. Alipour, Z.T. and Sobhanipour, A. 2012. The Effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescens* inoculation on maize growth and Fe uptake. *Annals of Biological Research*, 3: 1661-1666.
3. Davoodifard, M., Habibi, D., Paknejad, F., fazeli, F. and Farhanipad F. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and foliar application of amino acids and silicic acid on antioxidant enzyme activity of wheat under drought stress. *Journal of Agriculture and Plant Breeding*, 4: 11-36.
4. Doroudian, H.R., BesharatiKelayeh, H., FallahNosrat Abad, A.R., Heidary Sharif Abadi, H., Darvish, F. and Allahverdi, A. 2010. Study of absorbable *phosphorus* changes in lime soils and its impact on corn yield. *Agricultural Modern Knowledge (Modern Knowledge of Sustainable Agriculture)*, 6(18): 27-35.
5. Ehteshami, S.M.R., AghaAlikhani, M., Khavazi, K. and Chaichi, M.R. 2008. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on quantitative and qualitative of corn under water deficit stress. *Iranian Journal of Crop Science*, 40(1): 15-27.
6. Ehteshami, S.M., Kashani, M. and Yousefi Rad, M. 2014. Effect of Seed inoculation with *Pseudomonas* and *Azotobacter* bacteria on quantitative and qualitative yield of two sesame cultivars. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 3(3): 47-57.
7. Ehteshami, S.M., Agha Alikhani, R.M., Chaichi, M.R. and Khavazi, K. 2008. Effect of biological phosphate fertilizer on qualitative and quantitative properties of maize (*Zea mays L.*)(SC 704) in the water deficit stress condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 40(1): 15-26.
8. Emam, Y. 2007. Cereal production. 3<sup>rd</sup> edition. Shiraz University Press, 190 P.
9. Facchini, P.J. and De Luca, V. 1995. Phloem-specific expression of tyrosine/dopa decarboxylase genes and the biosynthesis of isoquinoline alkaloids in opium poppy. *The Plant Cell*, 7(11): 1811-1821.
10. Fallah Nosratabad, A., Momeni, S. and Shariati, S. 2015. The effect of bio-fertilizers and nitrogen on yield and yield components of wheat in greenhouse condition. *Journal of Agricultural Engineering*, 37(2): 73-86.
11. Fallah, A., Besharati, H. and Khosravi, H. 2009. *Soil Microbiology*. 2<sup>nd</sup> edition. Abizh press: Tehran, Iran, 136 P.
12. Frick, S., Chitty, J.A., Kramell, R., Schmidt, J., Allen, R.S., Larkin, P.L. and Kutchan, T.M. 2004. Transformation of opium poppy (*Papaver somniferum L.*) with antisense berberine bridge enzyme gene (anti-bbe) via somatic embryogenesis results in an altered ratio of alkaloids in latex but not in roots. *Transgenic Research*, 13: 607-613.
13. Ghahreman, A. 1994. *Plant Systematics: Chromophytes of Iran*. Volume 3. Iran University Press, 775 P.
14. Glick, B.R., Todorovic, B., Czamy, J., Cheng, Z., Duan, J. and McConkey, B. 2007. Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 26: 227-242.
15. Haji Boland, R., Aliasgharzadeh, N. and Mehrfar, Z. 2013. Ecological study of *Azotobacter* in two Zrbayhan Highland region and its effect on growth and mineral nutrition of plants inoculated wheat. *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 2(8): 75-89.
16. Han, H., Supanjani, S. and lee, K.D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium soluble bacteria on mineral uptake and growth of popper and cucumber. *Plant Soil and Environment*, 52: 130-137.

17. Hong, L., Li, M., Luo, J., Cao, X., Qu, L., Gai, Y., Jiang, X., Liu, T., Janz, H., Bai, D., Polle, A., Peng, C. and Luo, Z.B. 2012. N fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen physiology, and wood properties of slow- and fast-growing *Populus* species. *Journal of experimental botany*, 63: 6173-6185.
18. Kheiry, A., Babakhani, R., Sanikhani, M. and Razavi, F. 2018. Effects of Nitroxine and *Thiobacillus* biofertilizers on morphological and phytochemical properties of *Mentha piperita* L. *Journal of Plant Ecophysiology*, 10(33): 34-42.
19. Larsen, J., Cornejo, P. and Míquel Barea, J. 2009. Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the plant growth promoting rhizobacteria *Paenibacillus polymyxa* and *P.macerans* in the mycorrhizosphere of *Cucumis sativus*. *Soil Biology and Biochemistry*, 41: 286-292.
20. Sarker, S.D., Latif, Z. and Gray, A.I. 2006. *Natural Product Isolation*. Humana Press: Totowa, New Jersey, USA, 507 P.
21. Mohammedvarzi, R. 2010. The effect of microbial fertilizers (Nitroxin and Biospher) and nitrogen on the qualitative and quantitative characteristics of sunflower, MSc. Thesis, Islamic Azad University of Karaj, Iran.
22. Navasi, F., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A., Rezazadeh, S., Mustafavi, S. and Ghorbanpour, M. 2019. A Comprehensive Overview on Valuable Tropane Alkaloids: Scopolamine, Atropine, and Hyoscyamine. *Journal of Medicinal Plants*, 2(70): 21-44.
23. Noorhosseini, S.A., Fallahi, E., Samizadeh, M. and Beheshtipoor, N. 2017. The relative priority of medicinal plants, herbal and chemical medicines by consumers based on economic and treatment criteria: Case study of Rasht district. *Journal of Agricultural Economics Research*, 9: 71-99.
24. Omidbeigi, R. 2015. *Production and processing of medicinal plants*. Volume 1. Astan Ghods Razavi press, Mashhad, Iran, 348 P.
25. Ramezani, A. 2005. Role of reproducer ACC deaminase enzyme rhizobium bacteria on moderation the adverse effect of ethylene stress in wheat. M.Sc. Thesis in soil science, University of Tehran.
26. Ravichandra, P., Gopal Mugeraya, A., Gangagni Rao, M., Ramakrishna, V. and Annapurna Jetty, Y. 2007. Isolation of *Thiobacillus* sp. from aerobic sludge of distillery and dairy effluent treatment plants and its sulfide oxidation activity at different concentrations. *Journal of Environmental Biology*, 28(4): 819-823.
27. Saikia, S.P., Dutta, S.P., Goswami, A., Bhau, B.S. and Kanjilal, P.B. 2010. Role of *Azospirillum* in the improvement of legumes. *Microbes for Legume Improvement*, 389-408.
28. Samanani, N. and Facchini, P.J. 2006. Compartmentalization of plant secondary metabolism. In: Romeo, J.T. (ed) *Recent advances in phytochemistry*, vol 40. Elsevier Ltd., Amsterdam, 54 P.
29. Wu, S.C., Caob, Z.H., Lib, Z.G., Cheunga, K.C. and Wong, M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and Ksolubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 125: 155-166.
30. Zarei, M., Saleh-Rastin, N., Alikhani, H.A. and Aliasgharzadeh, N. 2006. Responses of lentil to co-Inoculation with phosphate-solubilizing rhizobial strains and arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal Plant Nutrition*, 29: 1509-1522.
31. Zhang, W., Franco, C., Curtin, C. and Conn, S. 2004. To stretch the boundary of secondary metabolite production in plant cell-based bioprocessing: Anthocyanin as a case study. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5: 264-271.
32. Zhang, N., Wang, D., Liu, Y., Li, S., Shen, Q. and Zhang, R. 2013. Effects of different plant root exudates and their organic acid components on chemotaxis, biofilm formation and colonization by beneficial rhizosphere - associated bacterial strains. *Plant and Soil*, 374: 689-700.

## Study on Changes of Atropine and Scopolamine Content and Growth Characteristics of *Atropa belladonna* L. affected by Bio-fertilizers and Chemical-fertilizers

Inanloo Far, M.<sup>1</sup>, Heidari, M.<sup>2</sup>, Naghdi Badi H.<sup>3\*</sup>, Tolyat Abulhassani, S.M.<sup>4</sup>,  
Makarjian, H.<sup>2</sup>, Amerian, M.R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. student., Department of Plant Physiology, Faculty of Agronomy, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran.

<sup>2</sup>Associate Prof., Faculty of Agronomy, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran.

<sup>3</sup>Associate Prof., Medicinal Plants Research Centre, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran.

<sup>4</sup>Assistant Prof., Iranian Biological Resource Center (IBRC), ACECR, Tehran, Iran.

Received: 2019-8-9 ; Accepted: 2019-12-16

### Abstract

Nowadays, the use of Plant Growth Promoting Rhizobacter (PGPR) as a biofertilizers is one of the ways to improve growth and phytochemical characteristics of medicinal plants. This study was carried out as a factorial experiment based on randomized complete block design with a randomized complete block design with 3 replications in the research farm of the Institute of Medicinal Plants - ACECR in 2017. The growth-promoting bacteria as a first factor were non-inoculation, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* + *Azotobacter*, and *Thiobacillus* + Sulfur. The chemical fertilizers as a second factor were no fertilizer or control, 50% recommended fertilizer and 100% recommended fertilizer. At flowering stage, the alkaloids were extracted by using chloroform, methanol and ammonia solvents. The amount of atropine and scopolamine was measured by High-performance liquid chromatography (HPLC). The biological and chemical fertilizers, as well as their interaction effect had significant effect ( $p < 0.01$ ) on growth traits, atropine and scopolamine content of leaf and root. The maximum biological yield was observed in *Pseudomonas* with 100% of recommended fertilizer. The highest amount of leaves atropine and scopolamine was related to *Pseudomonas* with 50% fertilizer and non-biofertilizer treatment with 50% recommended fertilizer, respectively. The highest amount of root atropine was related to *Pseudomonas* without chemical fertilizer application. The highest content of root scopolamine was observed in treatment of *Pseudomonas* with 100% recommended. Therefore, the highest biological yield and the amount of atropine in leaves and roots, as well as the scopolamine content of the root were obtained using *Pseudomonas* application.

**Keywords:** Alkaloids, *Atropa belladonna* L., Atropine, Plant growth-promoting rhizobacteria, Scopolamine.

\*Corresponding author; naghdiyadi@yahoo.com