جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی تغییرات محتوی و عملکرد تروپان آلکالوییدهای هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره گیاه بذرالبنج (*Hyoscyamus niger*) تحت تاثیر باکتری‌های ریزوسفری سودوموناس و تنش کم آبی

منصور قربانپور[۱]*، ناصر مجنون‌حسینی[۲]، شمسعلی رضازاده[۳]، منصور امیدی[۲]، کاظم خاوازی[٤]، مهرناز حاتمی[٥]

۱- استادیار، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک
۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران
۳- استادیار پژوهش، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
٤- استادیار، گروه میکروبیولوژی، موسسه خاک و آب، کرج
٥- دانشجوی دکترای باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت
*آدرس مکاتبه: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه گیاهان دارویی،
کدپستی: ۸۳٤۹ – ۸ – ۳۸۱٥٦
پست الکترونیک: m-ghorbanpour@Araku.ac.ir، m_ghorbanpour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/٦/۲۱ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۷/۱۸

چکیده

مقدمه: علاوه بر نقش عوامل فیزیکی از قبیل تنش‌های اسمزی در تولید ترکیبات ثانویه، مسیرهای خاص ساخت این متابولیت‌ها با تلقیح میکروارگانیسم‌ها نیز تحریک می‌شود.

هدف: هدف این مطالعه، بررسی اثرات محرک رشدی سویه‌های فلورسنس و پوتیدا به همراه تنش کم آبی روی رشد ریشه‌ها و افزایش محتوی و عملکرد هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره گیاه بذرالبنج می‌باشد.

روش بررسی: ۲ گرم از ماده خشک گیاهی با ترکیب کلروفرم- متانول- آمونیاک ۲۵ درصد به نسبت ۱: ۵: ۱۵ و به مدت ۱۰ دقیقه در معرض اولتراسونیک قرار گرفت. سپس ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ نرمال به آن اضافه و کاملاً هم زده شد. پس از استخراج آلکالوئیدها، نمونه حاصل قبل از آنالیز با دستگاه **GC** در ۱ میلی‌لیتر متانول **HPLC** حل شد.

نتایج: نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر محتوی آلکالوئید در ریشه (هیوسیامین: ۰/۲٦ درصد ماده خشک و اسکوپولامین: ۰/۱۲ درصد) و شاخساره (هیوسیامین: ۰/۸۵ درصد و اسکوپولامین: ۰/٤۸ درصد) در گیاهان تحت تیمار فلورسنس در شرایط تنش شدید کم آبی (تخلیه ۹۰ درصد رطوبت مزرعه) به دست آمد. در مقابل، حداکثر عملکرد آلکالوییدها در ریشه (هیوسیامین: ۱/۹۲ میلی‌گرم در گیاه و اسکوپولامین: ۰/۸۳ میلی‌گرم در گیاه) و شاخساره (هیوسیامین: ۵/۸۸ میلی‌گرم در گیاه و اسکوپولامین: ۳/۰٦ میلی‌گرم در گیاه) در گیاهان تحت تیمار پوتیدا در شرایط تنش خفیف کم آبی (تخلیه ۳۰ درصد رطوبت مزرعه) حاصل شد.

نتیجه‌گیری: باکتری‌های ریزوسفری با تولید هورمون‌های رشد به عنوان محرک درسنتز تروپان آلکالوئیدها عمل می‌کنند که در نتیجه آن محتوی و عملکرد آلکالوییدها افزایش پیدا می‌کند.

گل‌واژگان: بذرالبنج، تروپان آلکالوییدها، هیوسیامین، اسکوپولامین، باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، تنش کم آبی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

گیاه بذرالبنج (*Hyoscyamus niger*) از تیره سیب‌زمینی (Solanaceae) گیاهی دارویی است که از نظر وجود آلکالوییدهای تروپان اهمیت به سزایی دارد. هیوسامین و اسکوپولامین دو آلکالویید اصلی تروپان در گیاهان خانواده سیب‌زمینی هستند [۱]. دایره محیطیه در ریشه‌های جوان و ریشه‌هایی که فاقد رشد ثانویه هستند مکان بیوسنتزی این تروپان آلکالوییدها بوده و آنزیم‌های عمده مسیر ساخت آنها در این محل قرار دارند [۲]. مقدار زیادی از این تروپان آلکالوییدها پس از سنتز به اندام‌های هوایی منتقل و در واکوئل بافت‌های مختلف متمرکز می‌شوند [۳]. تروپان آلکالوییدهای هیوسیامین و اسکوپولامین ترکیباتی با خاصیت پاراسمپاتولیتیک می‌باشند و به طور گسترده در درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند [٤]. از این ترکیبات برخی داروهای مهم از قبیل اسکوپولامین هیدروبرمید و هیوسیامین سولفات که داروهایی‌آنتی اسپاسمودیک، آنتی‌کلینرژیک و مسکن هستند تولید شده است. سنتز صنعتی این ترکیبات به دلیل ساختمان شیمیایی پیچیده آنها از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نبوده و این ترکیبات هنوز از برخی گیاهان متعلق به تیره سیب زمینی از قبیل شابیزک، داتوره و سایر تیره‌های گیاهی مانند شب بو استخراج می‌شوند [۵]. تحقیقات بسیار زیادی در زمینه تولید درون شیشه‌ای آلکالوییدها و نیز مهندسی متابولیک آنها به منظور دستیابی به لاین‌های سلولی پر بازده (تولید اسکوپولامین بیشتر) در طی سال‌های گذشته صورت گرفته است. نتایج حاصل از این تحقیقات نشان داده که میزان تولید تروپان آلکالوییدها در کشت سلول‌های تمایز نیافته (کشت کالوس و سوسپانسون سلولی) در گیاهان مختلف تیره سیب‌زمینی بسیار ناچیز بوده و یا مواد مذکور در این کشت‌ها اصلاً تولید نمی‌شود [٦]. امروزه تلاش‌های زیادی در زمینه کشت درون شیشه‌ای ریشه‌های مویین گیاهان مذکور به منظور تولید تروپان آلکالوییدها انجام می‌شود ولی متأسفانه تلاش‌های مذکور هنوز به نقطه عطف اقتصادی مطلوب نرسیده است. بنابراین هنوز هم تولید این متابولیت‌ها در سطح وسیع و گیاه کامل تنها روش موفق و اقتصادی به نظر می‌رسد. تاکنون محرک‌های زیادی از قبیل تنش‌های محیطی و غیره به منظور دستیابی سریع به آلکالوییدها گزارش شده است. اگر چه این تنش‌ها، رشد و نمو گیاهان زراعی را به طور معکوس تحت تاثیر قرار می‌دهند اما محتوی متابولیت‌ها اکثراً از طریق اثرات مثبتی که تنش‌ها روی مسیرهای متابولیکی ساخت ترکیبات موثره گیاهان دارویی دارند افزایش می‌یابد [۷]. همچنین تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌های ریزوسفری مسیرهای خاص متابولیت‌های ثانویه را تحریک می‌کنند [۸]. این باکتری‌ها می‌توانند با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی به طور مستقیم در افزایش رشد و عملکرد گیاه ایفای نقش کنند. افزایش انحلال عناصر غذایی کم محلول مانند فسفر، تولید ACC – دآمیناز، تولید هورمون‌های رشد گیاهی مانند اکسین، تثبیت نیتروژن و تولید سیدروفور از مهم‌ترین مکانیسم‌های مورد استفاده در این روش می‌باشند. در سال‌های اخیر، بسیاری از آزمایش‌ها روی نقش میکروبی و همزیستی قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های محرک رشد تحت شرایط تنش خشکی در برخی گیاهان زراعی انجام شده است [۹]، اما مطالعه جامعی که اثرات این باکتری‌ها را تحت تنش کم آبی روی گیاهان دارویی و تولید متابولیت‌های ثانویه نشان دهد انجام نشده است. پیشینه تحقیق نشان می‌دهد که در اکثر مطالعات انجام شده، عملکرد متابولیت‌های ثانویه تحت تیمارهای مربوطه مورد توجه قرار نگرفته و صرفاً محتوی و غلظت این متابولیت‌ها در یک اندام خاص بررسی شده است. از آنجا که یکی از مشکلات اساسی صنعت داروسازی ایران تهیه مواد اولیه مورد نیاز این صنعت می‌باشد، تحقیق روی مواد موثره موجود در گیاهان دارویی بومی کشور و افزایش مقدار آنها کمک ارزنده‌ای در رسیدن به خودکفایی دارویی است. هدف این مطالعه بررسی اثرات محرک رشدی سویه‌های فلورسنس و پوتیدا (محرک‌های بیولوژیک) به همراه تنش کم آبی (محرک فیزیکی) روی رشد و افزایش محتوی و عملکرد آلکالوییدهای هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره گیاه بذرالبنج می‌باشد.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مواد و روش‌ها

آماده سازی و جوانه‌زنی بذر

بذر گیاه بذرالبنج از مزرعه کلکسیون گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان فراهم شد. بذر این گیاه تحت شرایط طبیعی، جوانه‌زنی کم و غیریکنواختی دارد، بنابراین به منظور شکست خواب بذر، تسریع در جوانه‌زنی و همچنین داشتن درصد سبز یکنواخت، بذرها در دمای اتاق (۰/۵ ± ۲۵) تحت تیمار اسید جیبرلیک (۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ٤٨ ساعت) قرار داده شدند. سپس بذرها به مدت ۲ دقیقه با اتانول ۷۰ درصد و ۱۰ دقیقه با سفید کننده شیمیایی ۲۵ درصد که حاوی ٦ درصد هیپوکلریت سدیم بود استریل سطحی شدند. بذرها درون ظروف آزمایشگاهی پوشیده با دو لایه کاغذ صافی (شماره ۱) و مرطوب کشت شدند، بذرها بعد از ۳ روز بیش از ۹۰ درصد جوانه‌زنی داشتند و زمانی که طول ریشه چه به ۱ تا ۲ میلی‌متر رسید با سوپانسیون مایه تلقیح باکتری‌ها تیمار شدند.

سویه‌های باکتری و شرایط رشد

دو سویه سودوموناس فلورسنس ۱۸۷ و پوتیدا ١٦٨ با خصوصیات محرک رشدی متفاوت انتخاب شدند (جدول شماره ۱). برای تهیه مایه تلقیح از این سویه‌ها، یک لوپ از هر سویه باکتری برداشته شد و به طور اسپتیک به ظروف ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع (Tryptone TSB (Soybean Broth انتقال داده شد. سپس این ظروف روی شیکر با دور ۱۲۰ و دمای ۲۸ درجه قرار داده شدند. پس از ۷۲ ساعت رشد باکتری‌ها در این محیط مایه تلقیح سویه‌ها آماده مصرف بودند. علاوه بر این، ظروف تلقیح نشده نیز در همان شرایط قرار داده شدند و از آنها به عنوان شاهد استفاده شد. در این آزمایش، ریشه‌چه‌ها به میزان ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مایه تلقیح سویه‌های مربوطه تیمار شدند.

آزمایش گلخانه‌ای

سوسپانسیون مایه تلقیح باکتری‌ها با استفاده از سرنگ و به میزان ۵۰۰ میکرولیتر برای هر گیاهچه، روی ریشه‌چه‌ها و اطراف بستر کشت گیاهچه‌ها در گلدان (حفره‌های به عمق ۱ سانتی‌متر) اعمال شد. بعد از تلقیح، دو گیاهچه درون گلدان‌های پلاستیکی (۱۵ × ۲۰ سانتی‌متر، حاوی ٤ کیلوگرم خاک) کشت شدند. بعد از ٤٥ روز پس از کشت گیاهان به مدت ٤٥ روز نیز در معرض تنش کم آبی قرار گرفتند. میزان رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای (Field Capacity) با استفاده از دستگاه صفحه فشاری (Pressure Plate Apparatus) تعیین شد (۱۲/۵ درصد). برای اعمال تیمارهای تنش کم آبی، ابتدا وزن گلدان‌ها در حد رطوبت ظرفیت مزرعه و همچنین سطوح مختلف مصرف آب قابل استفاده خاک محاسبه و سپس تمام گلدان‌ها با آب مقطر آبیاری شدند تا به حد رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای رسیدند. پس از این مرحله و با توزین روزانه گلدان‌ها، مقدار آب مصرفی آنها محاسبه و پس از رسیدن رطوبت به حد مجاز تعیین شد. در هر تیمار، آبیاری گلدان برای رسیدن به حد ظرفیت مزرعه انجام گرفت. برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان‌ها توسط یونولیت پلاستیکی سفید رنگ پوشیده شد. پس از ۹۰ روز از کشت، گیاهان برداشت و نمونه‌برداری‌های مربوطه انجام شد. این تحقیق بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با دو عامل تنش کم آبی در ۳ سطح (۳۰، ٦۰ و ۹۰ درصد تخلیه رطوبت از حد ظرفیت مزرعه‌ای) و ۲ سویه سودوموناس به همراه تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتری) در سه تکرار به اجرا در آمد. تمام گلدان‌ها پس از کشت و قبل از اعمال تنش کم آبی در حد رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای تا ٤٥ روز حفظ شدند.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه

ریشه

نیمی از کل گلدان‌ها در مرحله رشد رویشی، پس از ٤٥ روز اعمال تنش کم آبی یعنی ۹۰ روز پس از کشت برداشت شدند. (بقیه گلدان‌ها جهت بهاره‌سازی گیاهان و بررسی تیمارها در مرحله گلدهی، به مدت ۳۰ روز به سردخانه ٤ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند). بوته‌های برداشت شده، به بخش‌های ریشه و شاخساره جدا و ریشه پس از شستشوی کامل به دو قسمت ریشه‌های ظریف (با

جدول شماره ۱- برخی از خصوصیات محرک رشدی سویه‌های پوتدا ۱٦۸ و فلورسنس ۱۸۷ (بانک میکروبی موسسه خاک و آب)

سویه‌ها ی باکتری	منشای اکولوژیکی جداسازی سویه‌ها *	ویژگی‌های محرک رشدی سویه‌های باکتری				
		حل کنندگی فسفات	فعالیت آنزیم ACC دی آمیناز	تولید سیدروفور (قطر هاله به کلونی)	تولید اکسین (mg/l)	تولید HCN
پوتیدا – ۱٦۸	ریزوسفر گندم رقم گاسکوژن	–	–	۲/۲۵	۱۷/۹۲۱	نسبتاً زیاد
فلورسنس – ۱۸۷	ریزوسفر گندم رقم آذر	+	–	۱/۵۵	۵/۱۵۲	–

* رقم گاسکوژن یک رقم پاییزه و پا کوتاه بوده که به صورت آبی در مناطق سردسیر کشت می‌شود در حالی‌که رقم آذر یک رقم پاییزه و مقاوم به خشکی است که به صورت دیم در مناطق سردسیر و معتدل کشت می‌شود. (– و + به ترتیب فاقد و دارای ویژگی محرک رشدی).

قطر مساوی و کمتر از ۱ میلی‌متر) و ضخیم (با قطر بیشتر از ۱ میلی‌متر) تقسیم و وزن تر و خشک آنها اندازه‌گیری شد.

تعداد و سطح برگ

بخش شاخساره به دو قسمت برگ‌های طوقه‌ای و دمبرگ جدا شدند. پس از شمارش تعداد برگ‌ها، سطح آنها با دستگاه نوری اندازه‌گیری سطح برگ (LICOR Photoelectric Area Meter) تعیین شد.

برداشت و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

نمونه‌های ریشه و شاخساره بلافاصله پس از برداشت در سایه در معرض خشک شدن قرار گرفتند. عمل خشک کردن باید تا زمان تسهیل در پودر شدن گیاه ادامه یابد. رطوبت اندام‌ها در این حالت حدود ۲ درصد است. پس از پودر کردن مواد گیاهی با آسیاب برقی، جهت الک کردن آن از توری (Mesh) آزمایشگاه (اندازه ۳۰ و قطر منافذ ۵٤۵ میکرومتر) استفاده شد.

استخراج و آنالیز آلکالوییدها

استخراج آلکالوییدها به روش اختصاصی و به وسیله حلال‌های مختلفی انجام شد [۱۰]. در این روش ۲ گرم از ماده خشک گیاهی با ترکیب کلروفرم- متانول- آمونیاک ۲۵ درصد به نسبت ۱: ۵: ۱۵ و به مدت ۱۰ دقیقه در معرض اولتراسونیک قرار گرفت. سپس نمونه به حمام آب گرم (٤۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱ ساعت انتقال داده شد. عصاره حاصل، از کاغذ صافی عبور داده شد و روی صافی دو بار با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم شستشو شد. فاز کلروفرمی به کمک دستگاه تبخیر کننده دوار خشک شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ نرمال به آن اضافه و کاملاً به هم زده شد. بعد فاز کلروفرمی جدا و دور ریخته شد و فاز آبی حاوی آلکالوییدها تا ۱۱ – ۱۰= pH با محلول آمونیاک ۲۵ درصد تنظیم شد. آلکالوییدها یک‌بار با ۲۵ میلی‌لیتر و دو بار با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم استخراج شدند. محلول حاصل با سدیم سولفات انیدر آبگیری و صاف شد. روی صافی با ۲۰ – ۱۰ میلی لیتر کلروفرم شستشو و نمونه حاصل قبل از آنالیز با دستگاه GC در ۲ – ۱ میلی‌لیتر متانول HPLC حل شد. آلکالوییدهای استخراج شده پس از آماده‌سازی به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC تزریق شدند تا نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آنها مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Acme 6000 GC با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5 MS بود. برنامه دمایی ستون شامل: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد، و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. شناسایی آلکالوییدهای هیوسیامین و اسکوپولامین بر اساس مقایسه زمان بازداری (Retention Time) دستگاه GC با داده‌های طیف جرمی (Mass Spectra) و استانداردهای مربوطه آنها انجام شد.

عملکرد آلکالوییدها با توجه به محتوی آنها و تولید بیوماس گیاهی از رابطه زیر به دست آمد.

(میلی‌گرم) وزن خشک × (درصد ماده خشک) محتوی آلکالویید = (میلی‌گرم در گیاه) عملکرد آلکالویید

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات و محاسبات آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری حاصل از اندازه‌گیری صفات، تعیین انحراف استاندارد (±SD) و همچنین ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی از نرم‌افزار SAS و MSTAT-C استفاده شد. مقایسات میانگین صفات موردنظر به روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام شد.

نتایج

تولید ماده خشک گیاهی (بیوماس ریشه و شاخساره)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پارامترهای رشد به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش کم آبی و باکتری‌های سودوموناس قرار گرفتند. وزن خشک کل شاخساره (برگ + دمبرگ) در شرایط تنش خفیف (W1) به طور معنی‌داری با تیمار سویه‌های پوتیدا (۳۳ درصد) و فلورسنس (۲۵ درصد) در مقایسه با تیمار بدون تلقیح باکتری (C) در همان شرایط رطوبتی (W1) افزایش یافت (جدول شماره ۲). این شاخص تحت شرایط تنش متوسط (W2) نیز با تیمار پوتیدا (۵۳ درصد) و فلورسنس (٦٠ درصد) در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط رطوبتی مربوطه زیاد شد. در شرایط تنش شدید (W3) وزن خشک کل شاخساره در تیمارهای پوتیدا و فلورسنس به ترتیب ٦٢ و ۸۳ درصد در مقایسه با تیمار بدون تلقیح در همان شرایط رطوبتی افزایش یافت. وزن خشک کل شاخساره به طور معنی‌داری با افزایش سطوح تنش کاهش یافت. درصد کاهش در گیاهان تلقیح نشده (٤٨ درصد) در مقایسه با تیمارهای پوتیدا (٣٦ درصد) و فلورسنس (۲۳ درصد) خیلی محسوس و قابل توجه بود (جدول شماره ۲). وزن خشک کل ریشه (ریشه‌های ظریف + ریشه‌های ضخیم) در گیاهان تحت تیمار پوتیدا و فلورسنس در همه تیمارهای تنش کم آبی به طور معنی‌داری بیشتر از وزن خشک کل شاخساره بود در حالی که این روند در گیاهان شاهد بدون تلقیح باکتری‌ها مشاهده نشد. استفاده از سویه‌های باکتری محرک رشد، اثرات منفی تمام سطوح تنش کم آبی روی گیاه را کاهش داد (جدول شماره ۲). نقش سودوموناس پوتیدا در تحریک رشد شاخساره در شرایط تنش کم آبی خفیف بسیار برجسته تر به نظر می‌رسد. در صورتی که در شرایط تنش شدید، حداکثر افزایش وزن خشک شاخساره در تیمار سودوموناس فلورسنس به دست آمد. در این شرایط (تنش شدید کم آبی، W3) تعداد برگ در گیاهان تحت تیمار فلورسنس به اندازه ۳۸/۵ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود و به همین دلیل وزن خشک شاخساره در این تیمار افزایش ۱/۸۳ برابری داشت. تنش کم آبی همچنین باعث کاهش وزن خشک ریشه شد اما نسبت ریشه به شاخساره را افزایش داد. تلقیح سویه‌های پوتیدا و فلورسنس در شرایط تنش کم آبی باعث افزایش معنی‌داری در رشد ریشه در مقایسه با تیمار بدون تلقیح باکتری شد. در شرایط حداکثر رطوبتی (W1) تیمار پوتیدا و فلورسنس در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب باعث افزایش ۵۸ درصد و ۵۱ درصد وزن خشک ریشه شد. در شرایط تنش شدید، تیمار پوتیدا و فلورسنس به ترتیب باعث افزایش ۹۲ درصد و ۱۱۵ درصد وزن ریشه در مقایسه با تیمار بدون تلقیح باکتری شد.

تغییرات معنی‌داری در وزن خشک ریشه‌های ظریف و ضخیم در ارتباط با تیمارهای مختلف مشاهده شد (جدول شماره ۲). وزن خشک ریشه‌های ظریف و ضخیم تحت تیمار تنش کم آبی کاهش یافت. تنش شدید در مقایسه با تنش خفیف برای ریشه‌های ظریف مضرتر بود. به عبارت دیگر وزن ریشه‌های با قطر کمتر از ۱ میلی‌متر کاهش شدیدتری (۵۳/۹ درصد) نسبت به ریشه‌های ضخیم (٣٤/٩ درصد) در گیاهان بدون تلقیح باکتری داشت. تلقیح سودوموناس‌های پوتیدا و فلورسنس اثر منفی تنش کم آبی روی رشد ریشه را تخفیف داد. درصد کاهش وزن ریشه‌های ظریف در تیمار پوتیدا و فلورسنس در شرایط تنش شدید در مقایسه با تنش خفیف به

جدول شماره ۲- میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و سودوموناس‌ها بر روی وزن خشک ریشه و شاخساره گیاه بذرالبنج (انحراف معیار ± میانگین مربعات)

تیمار		وزن خشک (گرم در گیاه)			وزن خشک (گرم در گیاه)		
		برگ	دمبرگ	کل شاخساره	ریشه‌های ظریف	ریشه‌های ضخیم	کل ریشه
	سودوموناس PP	۵/۳٤±۰/۱۰	۱/۷۳±۰/۰٤	۷/۰۷±۰/۱٤۰	۲/۷٤±۰/۱٤۰	۵/۱۷±۰/۱٦۹	۷/۹۰±۰/۳۰۸
تنش کم آبیW1	سودوموناس PF	۵/۰٦±۰/۱۱	۱/۵۷±۰/۰۲	٦/٦۳±۰/۱۳٦	۲/۵٦±۰/۱۲۷	٤/۹۹±۰/۱۵۱	۷/۵۵±۰/۲۷۷
	شاهد	٤/۰۷±۰/۱۳	۱/۲۳±۰/۱۱	۵/۳۰±۰/۲۳٤	۱/٦۳±۰/۲٤۸	۳/۳۵±۰/۳۲۰	٤/۹۸±۰/۵۵٦
	سودوموناس PP	٤/۱۰±۰/۰۹	۱/٤۱±۰/۰۷	۵/۵۲±۰/۰۹۲	۲/۱٤±۰/۱۰۰	٤/۱٦±۰/۱٦۱	٦/۲۹±۰/۲٦۰
تنش کم آبیW2	سودوموناس PF	٤/۲۹±۰/۰۵	۱/٤٦±۰/۰۳	۵/۷۵±۰/۰۸۵	۲/۳۲±۰/۱۱۳	٤/۵۸±۰/۱۱۷	٦/۹۰±۰/۲۳۰
	شاهد	۲/٦٤±۰/۰۹	۰/۹۵±۰/۱۰	۳/۵۹±۰/۱٦٦	۰/۹۸±۰/۰۵۵	۲/٦۲±۰/۲۵۱	۳/٦۰±۰/۲۳۸
	سودوموناس PP	۳/٤۷±۰/۱۷	۰/۹۹±/۰۳	٤/٤٦±۰/۱٤۰	۱/۷۸±۰/۰۹۲	۳/۸۷±۰/۰۹۱	۵/٦۵±۰/۱۰۹
تنش کم آبیW3	سودوموناس PF	۳/۹۰±۰/۰۵	۱/۱۵±۰/۱۱	۵/۰٤±۰/۰٦۱	۲/۱۰±۰/۱۰۸	٤/۲۱±۰/۱۳۵	٦/۳۱±۰/۲٤۲
	شاهد	۲/۰۹±۰/۰۸	۰/٦٦±۰/۱۱	۲/۷۵±۰/۱٦٤	۰/۷۵±۰/۰۵۵	۲/۱۸±۰/۱۹۰	۲/۹۳±۰/۱۹۹

W1، W2 و W3 به ترتیب تنش کم آبی تا تخلیه ۳۰، ٦۰ و ۹۰ درصد رطوبت مزرعه‌ای

PP : ۱٦۸- Pseudomonas putida و PF : ۱۸۷- Pseudomonas fluorescence

ترتیب ۳۵ و ۱۷/۹ درصد به دست آمد. در مورد ریشه‌های ضخیم، درصد این کاهش در تیمار پوتیدا و فلورسنس در شرایط تنش شدید در مقایسه با تنش خفیف به ترتیب ۲۵ درصد و ۱۵/٦ درصد شد. افزایش وزن خشک ریشه‌های ظریف در گیاهان تحت تیمار پوتیدا در مقایسه با گیاهان شاهد در شرایط تنش خفیف ٦۸ درصد برآورد شد.

تولید آلکالوییدهای هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره

اگر چه محتوی هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش کم آبی و سویه‌های سودوموناس قرار گرفت، اما اثرات متقابل آنها از نظر آماری معنی‌دار نبود، در حالی‌که اثر متقابل تنش کم آبی و باکتری‌ها روی عملکرد آلکالوییدهای ریشه و شاخساره معنی‌دار بود. محتوی هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه تحت شرایط تنش شدید در تیمار بدون تلقیح باکتری در مقایسه با شرایط تنش خفیف به ترتیب ۹/٦ و ۲۳/۸ درصد افزایش داشت (جدول شماره ۳). استفاده از سویه‌های پوتیدا و فلورسنس نیز جداگانه به ترتیب باعث افزایش محتوی هیوسیامین (۹/٤ و ۱۲/۱ درصد) و اسکوپولامین (۱۲/۲ و ۱۸/٤ درصد) ریشه شد. حداکثر محتوی هیوسیامین (۰/۸۵ درصد ماده خشک) و اسکوپولامین (۰/٤۸ درصد ماده خشک) شاخساره در گیاهان تحت تیمار فلورسنس در شرایط تنش شدید مشاهده شده است. به عبارت دیگر با استفاده از تیمار فلورسنس در مقایسه با تیمار بدون تلقیح در شرایط تنش خفیف و تنش شدید محتوی اسکوپولامین شاخساره به ترتیب باعث افزایش ۳۵/۵ درصد و ۲۷/۳ درصد شد (جدول شماره ۳). عملکرد آلکالوییدهای (هیوسیامین و اسکوپولامین) ریشه و شاخساره با افزایش تنش کم آبی تحت تیمارهای پوتیدا، فلورسنس و شاهد کاهش یافت (جدول شماره ٤). کاربرد سویه‌های سودوموناس در مقایسه با شاهد تا حدودی اثرات مضر تنش کم آبی روی رشد گیاه را تعدیل و پارامترهای رشد را تحت تنش کم آبی بهبود بخشید و باعث افزایش عملکرد آلکالوییدها شد. میزان کاهش عملکرد کل آلکالوییدهای (هیوسیامین + اسکوپولامین) ریشه در تیمار بدون تلقیح در مقایسه با تیمارهای پوتیدا و فلورسنس در شرایط تنش شدید به ترتیب ۲/۵ و ۳ برابر بود.

عملکرد آلکالوییدهای (هیوسیامین + اسکوپولامین) شاخساره در گیاهان تحت تیمار پوتیدا در شرایط تنش خفیف و متوسط به ترتیب ۱/۷۵ و ۱/۹۳ برابر بیشتر از گیاهان شاهد بدون تلقیح بود. بیشترین عملکرد آلکالوییدهای ریشه، شاخساره و کل گیاه در تیمار پوتیدا و در شرایط تنش خفیف حاصل شد. نتایج نشان داد که تیمار پوتیدا ۱٦۸ یک سویه برتر در شرایط تنش کم آبی خفیف بوده در حالی که سویه

جدول شماره ۳- میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و سودوموناس‌ها بر روی محتوی هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره گیاه بذرالبنج (انحراف معیار ± میانگین مربعات)

تیمار		نسبت ریشه به شاخساره (R/S)	محتوی هیوسیامین (درصد ماده خشک)		محتوی اسکوپولامین (درصد ماده خشک)	
			ریشه	شاخساره	ریشه	شاخساره
	سودوموناس PP	۱/۱۱۸±۰/۰۲۸	۰/۲٤٤±۰/۰۰۵	۰/۸۳۳±۰/۰۰٦	۰/۱۰٦±۰/۰۰۵	۰/٤۳٤±۰/۰۰۵
تنش کم آبیW1	سودوموناسPF	۱/۱۳۸±۰/۰۳۱	۰/۲۳۹±۰/۰۰۵	۰/۸۲۸±۰/۰۰٦	۰/۱۰۳±۰/۰۰٤	۰/٤۳۱±۰/۰۰۷
	شاهد	۰/۹٤۲±۰/۱۲۰	۰/۱۸۷±۰/۰۰۸	۰/٦۸۵±۰/۰۰۹	۰/۰٦۳±۰/۰۱۲	۰/۳۵٤±۰/۰۱۳
	سودوموناس PP	۱/۱٤۱±۰/۰۵٦	۰/۲۵٤±۰/۰۰۵	۰/۸۳۷±۰/۰۰۵	۰/۱۱۱±۰/۰۰۲	۰/٤٤۱±۰/۰۰٤
تنش کم آبیW2	سودوموناسPF	۱/۲۰۰±۰/۰۵۷	۰/۲۵۱±۰/۰۰۸	۰/۸۳۹±۰/۰۰۵	۰/۱۱۲±۰/۰۰٦	۰/٤٤۳±۰/۰۰٤
	شاهد	۱/۰۰٦±۰/۱۰۵	۰/۱۹۲±۰/۰۱۰	۰/۷۰۱±۰/۰۱۱	۰/۰۷۰±۰/۰۱۳	۰/۳٦۳±۰/۰۰۸
	سودوموناس PP	۱/۲٦۷±۰/۰۱۹	۰/۲٦۷±۰/۰۰۵	۰/۸٤۸±۰/۰۰۵	۰/۱۱۹±۰/۰۰۳	۰/٤٦۳±۰/۰۰٤
تنش کم آبیW3	سودوموناسPF	۱/۲۵۱±۰/۰٦۱	۰/۲٦۸±۰/۰۰٦	۰/۸۵۵±۰/۰۰۵	۰/۱۲۲±۰/۰۰٦	۰/٤۸۰±۰/۰۰٤
	شاهد	۱/۰٦۸±۰/۰۵۹	۰/۲۰۵±۰/۰۰۹	۰/۷۲۲±۰/۰۱۰	۰/۰۷۸±۰/۰۱۱	۰/۳۷۷±۰/۰۰۷

W1، W2 و W3 به ترتیب تنش کم آبی تا تخلیه ۳۰، ٦۰ و ۹۰ درصد رطوبت مزرعه‌ای

PP: ۱٦۸- Pseudomonas putida و PF: ۱۸۷- Pseudomonas fluorescence

جدول شماره ٤- میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و سودوموناس‌ها بر روی عملکرد هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره گیاه بذرالبنج (انحراف معیار ± میانگین مربعات).

تیمار		عملکرد هیوسیامین (میلی‌گرم در گیاه)		عملکرداسکوپولامین (میلی‌گرم در گیاه)		عملکرد کل آلکالوئید (هیوسیامین+اسکوپولامین) (میلی‌گرم در گیاه)
		ریشه	شاخساره	ریشه	شاخساره	
	سودوموناس PP	۱/۹۲۷±۰/۱۱۵	۵/۸۸۷±۰/۱٤۹	۰/۸۳۵±۰/۰۵٦	۳/۰٦۷±۰/۰۹۵	۱۱/۷۱٦±۰/٤۰
تنش کم آبیW1	سودوموناسPF	۱/۸۰۷±۰/۱۰۵	۵/٤۹۳±۰/۱٤٤	۰/۷۸۰±۰/۰٤۲	۲/۸٦۱±۰/۰۸۸	۱۰/۹٤۱±۰/۳٤
	شاهد	۰/۹۳۳±۰/۱٤۵	۳/٦۳۰±۰/۱۹۲	۰/۳۱٦±۰/۰۹۲	۱/۸۷۸±۰/۰۹۸	٦/۷۵۷±۰/٤۳
	سودوموناس PP	۱/۵۹۷±۰/۰۹۷	٤/٦۱۵±۰/۰٦۷	۰/۷۰۱±۰/۰۳۷	۲/٤۳۵±۰/۰٤۰	۹/۳٤۸±۰/۱۹
تنش کم آبیW2	سودوموناسPF	۱/۷۳۵±۰/۱۱۱	٤/۸۲۵±۰/۰٤۱	۰/۷۷۳±۰/۰٤٤	۲/۵۵۰±۰/۰۱۲	۹/۸۸۳±۰/۰۹
	شاهد	۰/٦۹٤±۰/۰۷۸	۲/۵۱۷±۰/۱٤۷	۰/۲۵۲±۰/۰۵۷	۱/۳۰٤±۰/۰۵٦	٤/۷٦۷±۰/۲٤
	سودوموناس PP	۱/۵۱۰±۰/۰۵۷	۳/۷۸٤±۰/۱٤۱	۰/٦۷۳±۰/۰۳۲	۲/۰٦۵±۰/۰۸۲	۸/۰۳۲±۰/۳۰
تنش کم آبیW3	سودوموناسPF	۱/٦۹۱±۰/۰۹٦	٤/۳۱۰±۰/۰۲٦	۰/۷٦۹±۰/۰٤٤	۲/٤۱۹±۰/۰۰۸	۹/۱۸۹±۰/۰۹
	شاهد	۰/٦۰۰±۰/۰۵٦	۱/۹۸۳±۰/۰۹۰	۰/۲۳۰±۰/۰٤۳	۱/۰۳٦±۰/۰٤۵	۳/۸٤۹±۰/۱۷

W1، W2 و W3 به ترتیب تنش کم آبی تا تخلیه ۳۰، ٦۰ و ۹۰ درصد رطوبت مزرعه‌ای

PP: ۱٦۸- Pseudomonas putida و PF: ۱۸۷- Pseudomonas fluorescence

فلورسنس ۱۸۷ بیشترین کارآیی در بهبود رشد و تولید آلکالویید گیاه را در شرایط تنش شدید اعمال می‌کند.

بحث

در این آزمایش افزایش وزن خشک ریشه در مقایسه با شاخساره در گیاهان تحت تیمار پوتیدا و فلورسنس در تمام سطوح تنش می‌تواند به هورمون‌های گیاهی نسبت داده شود که الگوی تخصیص مواد فتوسنتزی در گیاهان را تغییر می‌دهند و از این طریق روی رشد ریشه تاثیر می‌گذارند و در نتیجه ریشه‌هایی انبوه با انشعاب زیاد حاصل می‌شوند و این ممکن است عامل اصلی افزایش بیوماس ریشه به شاخساره در تلقیح باکتری‌ها باشد، این نتایج با گزارش بسیاری از محققان مطابقت دارد [۱۱]. اثرات مفید باکتری‌های محرک رشد و مکانسیم‌های

متداول سازش گیاهان به تنش کم آبی همیشه و به صورت متقابل با تغییرات استثنایی در مرفولوژی ریشه مانند طول ریشه، مساحت سطح ریشه، وزن خشک ریشه، رشد تارهای کشنده و انشعاب‌سازی ریشه مرتبط است [۱۲]. مارسلو و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که لوبیای تلقیح شده با آزوسپریلوم (*Azospirillum brasilense*) که به عنوان یک باکتری محرک رشد و تثبیت کننده نیتروژن است، طول و سطح ریشه را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داده و سیستم ریشه‌ای با ریشه‌های نازک تر و طویل‌تر حاصل شده است [۱۳]. طبق گزارش اسموکر (۱۹۹۳) گیاهانی که دارای ریشه‌های خیلی ظریف هستند به دلیل مساحت بیشتر سطح ویژه ریشه در جذب آب و مواد غذایی کارآمدتر هستند [۱٤]. علت عمده کاهش رشد ریشه (خصوصاً ریشه‌های ظریف) با افزایش شدت تنش کم آبی می تواند تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species (ROS)) باشد که در شرایط تنش کم آبی ایجاد می‌شوند و به بافت‌های گیاهی مخصوصاً ریشه (به دلیل حساسیت زیاد فعالیت مریستم ریشه به گونه‌های فعال اکسیژن) آسیب می‌رسانند [۱۵]. به منظور کاهش اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم‌های تقویت کننده آنتی‌اکسیدانت (مثل کاربرد باکتری‌های محرک رشد) ضروری می‌باشد [۱٦] و کاربرد این سویه‌ها اثرات منفی تنش کم آبی روی رشد ریشه‌های ظریف را کاهش می‌دهد. به این صورت که باکتری‌های محرک رشد، روی تارهای کشنده و اپیدرم ریشه گیاهان کلونیزه کرده [۱۷] و در نتیجه باعث تخفیف آسیب اکسیداتیوی از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت کاتالاز می‌شوند [۱۸]. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سویه فلورسنس ۱۸۷ کارآیی بهتری نسبت به سویه پوتیدا ۱٦۸ در شرایط تنش متوسط و شدید داشته است. دلیل آن می‌تواند به ویژگی‌های چند گانه محرک رشد این سویه‌ها (جدول شماره ۱) نسبت داده شود. نتایج مشابه‌ای نیز از نقش منشای اکولوژیکی سویه‌ها به عبارت دیگر مناطقی که سویه‌ها از آن جداسازی می‌شوند، روی کارآیی آنها توسط مایاکا (۲۰۰٤) گزارش شده است [۱۹].

ریشه در گیاهان خانواده سیب‌زمینی مکان بیوسنتز تروپان آلکالوییدها است و این متابولیت‌ها با مراحل نموی گیاه و شرایط رشد تغییر می‌کنند. دلیل عمده افزایش تولید آلکالوییدها در تیمار باکتری‌ها این است که این میکروارگانیسم‌ها با تولید هورمون‌های رشد به عنوان یک محرک در ساخت تروپان آلکالوییدها عمل می‌کنند. طبق گزارش محققان، هورمون‌های رشد و تنش‌های اسمزی به ترتیب به عنوان محرک‌های شیمیایی و فیزیکی در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی عمل می‌کنند [۲۰،۲۱]. در این تحقیق مقدار ریشه‌های ظریف، در تیمار سودوموناس‌ها در مقایسه با تیمار عدم تلقیح بیشتر بود (جدول شماره ۲) و این ممکن است علت اصلی افزایش تولید آلکالوییدهای هیوسیامین و اسکوپولامین در تیمار سودوموناس‌ها باشد چونکه طبق گزارش ناکانیشی و همکاران (۲۰۰۰) رشد ریشه، یکی از عوامل مهم تعیین‌کننده ترکیب تروپان آلکالوییدها بوده و میزان این ترکیبات بر مبنای قطر ریشه متفاوت می‌باشد [۲۲]. همچنین گیاهان تحت تیمار پوتیدا در شرایط تنش خفیف در مقایسه با سایر تیمارها بیشترین نسبت از ریشه‌های ظریف را داشتند که ممکن است باعث عملکرد زیاد هیوسیامین و اسکوپولامین اندام‌ها شده باشد. دلیل دیگر افزایش این متابولیت‌ها در اندام‌های ریشه و شاخساره گیاهان تحت تیمار سودوموناس‌ها ممکن است افزایش فعالیت آنزیمی به واسطه تولید هورمون‌های گیاهی و تخفیف تنش باشد. تنش کم آبی نیز اثر مثبتی (اما نه به اندازه سودوموناس‌ها) روی محتوی آلکالوییدهای اندام‌ها داشت. گزارش شده که افزایش اسیدهای آمینه آزاد، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های محلول از جمله عواملی هستند که در گیاهان تحت تنش کم آبی سبب افزایش محتوی آلکالوییدها می‌شوند [۲۳]. اما تنش، به طور معنی‌داری باعث کاهش بیوماس گیاه (که نقش اصلی را در تعیین عملکرد آلکالویید دارد) می‌شود. آزمایش‌های قبلی توسط محققان نشان داد که تولید ایندول آلکالوییدها می‌تواند با محرک‌های قارچی تحریک شود [۲٤]. نتایج مشابهی از افزایش ایندول آلکالوییدها مانند آجمالاسین در گیاه پروانش در نتیجه تیمار سودوموناس فلورسنس در شرایط تنش خشکی گزارش نموده‌اند [۲۵]. اثر متقابل بین محرک‌ها و گیرنده‌ها در سطح سلول از دلایل اصلی عمل ترشح متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شود که در نتیجه آن تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش می‌یابد [۲۰]. در مطالعه

حاضر اندام شاخساره بذرالبنج در تمام تیمارها تجمع آلکالوییید بیشتری نسبت به ریشه داشت. بدیهی است که ریشه‌ها محل بیوسنتز و ذخیره آلکالوییدها محسوب می‌شوند اما ممکن است در اثر شرایط ایجاد شده، این متابولیت‌ها به اندام‌های هوایی گیاه منتقل شده باشند، در برخی موارد انتقال فعال این آلکالوییدها مشاهده شده اما عمدتاً از طریق آوندهای چوبی صورت می‌گیرد [۲۶]. سویه‌های باکتری استفاده شده در این آزمایش از نظر تولید اکسین، سیدروفور و انحلال فسفر متفاوت بودند (جدول شماره ۱). ظرفیت زیاد در تولید اسید آلی (حلالیت زیاد فسفر) توسط سویه فلورسنس ممکن است یکی از مکانیسم‌های عمده افزایش محتوی آلکالوییید در استفاده از این سویه در شرایط تنش باشد. نتایج مشابهی نیز در ارتباط با تولید ارگوت آلکالوییید در ریشه‌های تلقیح شده گیاه فستوکای بلند که مستقیماً با فراهمی فسفر در خاک افزایش پیدا کرد پیشتر توسط مالینووسکی و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده است [۲۷]. همبستگی نزدیکی نیز بین محتوی فسفر و تحمل تنش کم آبی توسط سوبرامانیان و همکاران (۱۹۹۵) گزارش شده است [۲۸]. سویه پوتیدا در شرایط تنش متوسط و شدید در مقایسه با فلورسنس و شرایط تنش خفیف، ضعیف‌تر عمل نمود. آزمون بیوشیمایی نشان داد که سویه پوتیدا یک سویه کارآمد در تولید اسید سیانیدریک است. هر چند این ماده در رشد و نمو گیاه نقشی اعمال نمی‌کند اما به عنوان یک عامل فیتوتوکسیک بوده که قادر به بازداری آنزیم‌های دخیل در فرآیندهای متابولیک است.

در آزمایش حاضر یک رابطه خطی و معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) بین وزن خشک کل ریشه و محتوی آلکالوییدهای ریشه (هیوسیامین و اسکوپولامین) در مرحله رشد رویشی گیاه بذرالبنج تحت سطوح مختلف تنش کم آبی و سویه‌های سودوموناس یافت شد. بین عملکرد کل آلکالوییدها و وزن خشک کل شاخساره نیز یک رابطه خطی و معنی‌داری ($R^2= ۰/۸۹$) مشاهده شد. همچنین بین عملکرد اسکوپولامین شاخساره و وزن خشک ریشه‌های ظریف بیشترین همبستگی مثبت مشاهده شد ($p < ۰/۰۱$، $r = ۰/۹۹$). بیشترین نسبت اسکوپولامین به هیوسیامین (۰/۵۳) که معیاری از کیفیت آلکالوییید است و همچنین بیشترین محتوی آلکالوییدهای ریشه و شاخساره، در تیمار فلورسنس تحت شرایط تنش شدید مشاهده شد. مطابق نتایج این آزمایش، افزایش ۶۳ درصد عملکرد اسکوپولامین شاخساره گیاه بذرالبنج در مرحله رشد رویشی با کاربرد سویه پوتیدا ۱۶۸ به همراه تخلیه ۳۰ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای قابل دستیابی است.

تشکر و قدردانی

از تمامی اعضای هیات علمی و کارمندان محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی دانشگاه تهران، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی و مؤسسه تحقیقات خاک وآب کشور قدردانی می‌شود.

منابع

1. Nussbaumer P, Kapetanidis I, and Christen PH. Hairy roots of Datura Candia XD. Aurea: effect of calture medium composition on growth and alkaloid biosynthesis. *Plant cell Reports*. 1998; 17: 405 - 9.

2. Oksman Caldentey KM, Hiltunen R. Transgenic crops for improved pharmaceutical products. *Field Crop Res*. 1996; 45: 57 - 69.

3. Gritothe G and Drager B. Tropane alkaloids metabolic response to carbohydrate signal in root cultures of *Atropa belladonna*. *Plant Sci*. 2002; 163: 979 - 85.

4. Zayed R and Wink M. Induction of tropane alkaloid formation in transformed root cultures of *Brugmansia suaveolens* (Solanaceae). *Z. Naturforsch* 2004; 59: 863 - 7.

5. Willaman JJ, Li HL. Alkaloid bearing plants and their contained alkaloids. *J. Nat. Prod*. 1970; 30: 1 – 4.

6. Dobbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Broek AV, Vanderleyden J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant Soil*. 1999; 212: 155 - 64.

7. Selmar D. Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. Landbauforschung - vTI Agriculture and *Forestry Res*. 2008; 58: 139 - 44.

8. Sanchez BJ, Trinitario M, Ferradez M, Angeles M, Asuncio M, Juan JA. Variations in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions. *J. Plant Physiol*. 2004; 161: 675 – 82.

9. Wu QS, Xi RX, Zou YN. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three *Arbuscular mycorrhizal* fungi under drought stress. *Europ. J. of Soil Biol*. 2008; 44: 122 - 8.

10. Kamada H, okamura N, Satake M, Harada H, Shimomura K. Alkaloid production by hairy root cultures in *Atropa belladonna*. *Plant Cell Rep*. 1986; 5: 239 - 42.

11. Potters G, Pasternak TP, Guisez Y, Palme KJ, Jansen MAK. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends in Plant Science*. 2007; 12: 98 – 105.

12. Okon Y, Vanderleyden J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *ASM News* 1997; 63: 366 - 70.

13. Marcelo AG, Saul B, Okon Y, Jaime K. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. *Biol. Fertil. Soils*. 2000; 32: 259 – 64.

14. Smucker AJM. Soil environmental modifications of root dynamics and measurement. *Annu. Rev. Phytopathol*. 1993; 31: 191 – 212.

15. Foreman J, Demidchik V, Bothwell JHF, Mylona P, Miedema H, Torres MA, Linstead P, Costa S, Brownlee C, Jones JDG, Julia MD, Liam D. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*. 2003; 422: 442 - 6.

16. Foyer CH, Lelandais M, Kunert KJ. Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*. 1994; 92: 696 – 717.

17. Campbell R, Greaves MP. Anatomy and community structure of the rhizosphere, In Lynch, JM., Ed., the rhizosphere. John Wiley and Sons Ltd: Chichester, 1990, pp: 11 - 34.

18. Kohler J, Hernandez JA, Caravaca F, Roldan A. PGPR and AM fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water stressed plants. *Funct. Plant Biol*. 2008; 35: 141 – 51.

19. Mayaka S, Tsipora T, Bernard R, Glick BR. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Science* 2004; 166: 525 – 30.

20. Vasconsuelo A, Boland R. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science* 2007; 172: 861 – 75.

21. Jaleel CA, Gopi R, Panneerselvam R. Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. *C. R. Biologies* 2008; 331: 272 - 7.

22. Nakanishi F, Sasaki K, Shimomura K. Kinetics of littorine content in various developing stages of regenerates of *Atropa belladonna*. *Plant Cell Reports* 2000; 19: 1021 – 6.

23. Brodbeck B, Strong D. Amino acid nutrition of herbivorous insects and stress to host plants; In Barbosa P, Shultz JC., Eds., Insect Outbreaks. Academic Press: San Diego, CA, 1987, pp: 347-364.

24. Karthikeyan B, Jaleel CA, Gopi R, Deiveekasundaram M. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seedpriming with native diazotrophs. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2007; 8: 453 – 7.

25. Jaleel CA, Manivannan P, Sankar B, Kishorekumar A, Gopi R, Somasundaram, R, Panneerselvam R. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids Surf. B: Bio*. 2007; 60: 7 – 11.

26. Rafael Z, Bernardo H, Manuel C, Antonio T. Tropane alkaloid distribution in *Atropa baetica* plants. *J. of Chemical Ecol*. 1997; 23 (8): 2059 - 66.

27. Malinowski DP, Belesky NS, Hill VC, Baligar Fedders JM. Influence of phosphorus on the growth and ergot alkaloid content of *Neotyphodium coenophialum*-infected tall fescue (*Festuca arundinacea Schreb*.). *Plant and Soil*. 1998; 198: 53 – 61.

28. Subramanian KS, Charest C. Influence of *Arbuscular mycorrhizae* on the metabolism of maize under drought stress. *Mycorrhiza.* 1995; 5: 273 - 8.