فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۲، شماره ۵۴، خرداد و تیرماه ۱۴۰۲ صفحه: ۳۵۳-۳۶۹

مقاله پژوهشی

تأثیر باکتری *Peribacillus simplex* بر رشد نعنا فلفلی در شرایط مختلف آبی

اسماعیل کریمی

گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، ایران

(تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۶/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۹/۲۲)

چکیده

باکتری‌های محرک رشد می‌توانند نقش حمایتی از گیاهان میزبان در برابر تنش آبی به عنوان شایع‌ترین تنش غیرزیستی به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک داشته باشند. نعنا فلفلی جز گیاهان دارویی باارزشی است که تحت تأثیر تنش آبی افت عملکرد پیدا می‌کند. جهت بررسی نقش حمایتی این باکتری‌ها از گیاه نعنا فلفلی در شرایط مذکور آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای مورد مطالعه عبارت بودند از: مایه‌زنی نشا نعنا فلفلی با باکتری *Peribacillus simplex* 54-1 و بدون مایه‌زنی با باکتری، سه سطح آبی شامل حالت مطلوب، تنش آبی متوسط (قطع آبیاری ۱۰ روز قبل از برداشت) و تنش آبی شدید (قطع آبیاری ۲۰ روز قبل از برداشت) نتایج حاصله نشان دادند که مایه‌زنی باکتری *P. simplex* 54-1 توانست در شرایط مطلوب آبی عملکرد تر و خشک گیاه را به ترتیب ۵۹٪ و ٪ ۴۷، در تنش آبی متوسط ۷۴٪ و ۵۸٪ و در تنش آبی شدید آبی ۶۴٪ و ۳۹٪ افزایش دهد. وزن خشک ریشه در شرایط مایه‌زنی باکتری در شرایط مطلوب آبی ۸۴٪ و در شرایط رخداد تنش آبی به طور متوسط ۴۲٪ نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی در هر سطح آبی افزایش یافت. مایه‌زنی با باکتری توانست باعث کاهش تولید مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو به میزان ۲/۲۶ و ۴/۱۸ برابر به ترتیب برای تنش آبی متوسط و شدید نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی با باکتری گردد. این امر احتمالاً ناشی از تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه با افزایش تولید آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و کاتالاز بود. لذا می‌توان از این باکتری به‌عنوان کاندیدای مطلوبی در تهیه کود زیستی برای مقابله با تنش آبی در گیاه نعنا فلفلی و افزایش تولید آن استفاده نمود.

کلمات کلیدی: اکسین میکروبی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سطح برگ، وزن خشک برگ، پرولین

مقدمه

کمبود آب قابل استفاده در کشاورزی، به دلیل بروز سال‌های کم‌آبی به‌عنوان یک ویژگی اقلیمی مهم‌ترین عامل محدودکننده تولید در کشور ایران به شمار می‌رود. بر مبنای اظهارات Bodner و Robles (۲۰۱۷) افزایش دما و کاهش بارندگی‌های فصلی ناشی از پدیده تغییر اقلیم در سطح جهان، احتمال وقوع و شدت خشکسالی‌ها به‌ویژه در روزهای پایانی تولید محصول را افزایش داده است. لذا بهره‌گیری از رهیافت‌های علمی برای تولید محصولات کشاورزی در شرایط بروز تنش آبی در سطح جهانی از جمله کشور ما بایستی بیش از گذشته مورد توجه قرار گیرد.

تلاش برای زنده نگه داشتن گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی، برای بهره‌برداری از ترشحات ریشه به‌عنوان منبع غذایی توسط باکتری‌های محرک رشد ریزوسفری باعث

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ka80@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

شکل‌گیری ارتباط تنگاتنگ میان باکتری و گیاه میزبان شده است (Timmusk *et al.*, 2014). باکتری‌های محرک رشد گیاهان می‌توانند با تولید انواع هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، تولید آنزیم آمینوسیکلو پروپان کربوکسیلات دآمیناز، ایجاد مقاومت سیستمیک و تولید انواع مختلف پلیمرهای پلی‌ساکاریدی و غیرپلی‌ساکاریدی باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش آبی شده و عملکرد اقتصادی آنها را افزایش دهند (kim *et al.*, 2013). بنابراین، این باکتری‌ها به عنوان عنصری کلیدی در پژوهش‌های نوین کشاورزی برای توانمندسازی گیاهان در مواجهه با خشکسالی‌ها مورد توجه قرار گرفته و مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد ریزوسفری جهت جلوگیری از تخریب سلول‌های در شرایط بروز تنش آبی یکی از راهبردهای پیشنهادی برای تولید محصول در شرایط کم‌آبی است (Babalola and Enebe, 2018). این رهیافت ارزان قیمت در مقایسه با کاربرد نهاده‌های شیمیایی در کشاورزی مرسوم و صنعتی که از نظر تولید، مصرف و اثر باقیمانده تهدیدی بر محیط‌زیست و بقای آن هستند، می‌تواند به‌عنوان روشی سازگار با محیط‌زیست در عرضه افزایش تولید محصولات کشاورزی مورد توجه قرار گیرد. جداسازی و انجام مطالعات مایه‌زنی باکتری‌های محرک رشد برای دستیابی به کودهای زیستی که علاوه بر حمایت گیاه میزبان از نظر مواد غذایی می‌توانند با تولید متابولیت‌ها بر افزایش تحمل به تنش‌های آبی اثرگذار باشند، جز مطالعات معمول در حوزه میکروب و گیاه است (Dimkpa *et al.*, 2009).

عوارض ناخواسته حاصل از داروهای شیمیایی سبب شده تا تقاضای جهانی در خصوص بهره‌گیری از گیاهان دارویی در صنایع بهداشتی و دارویی افزایش یابد. بررسی گردش مالی حاصل از این نوع سرمایه‌گذاری‌ها به‌خوبی نشان می‌دهد که در مقایسه با سایر گیاهان زراعی می‌توانند ارزش افزوده قابل توجهی ایجاد نمایند (عمویی و کاملی، ۱۳۹۴). نعنا فلفلی (*Mentha piprita* L.) متعلق به خانواده لامیاسه (Lamiaceae) یکی از شناخته شده‌ترین گیاهان دارویی است که اغلب به علت ویژگی ضداسپاسم و ضدنفخ مورد توجه بوده و با مصرف جهانی هفت‌هزار تن در سال به‌عنوان پرکاربردترین گیاه دارویی به شمار می‌رود (زرگری، ۱۳۶۷). نیاز آبی گیاه نعنا فلفلی در قیاس با خیلی از گیاهان دارویی بالا بوده (قمرنیا و موسی بیگی، ۱۳۹۳) و برای ایجاد عملکرد مطلوب نیازمند تأمین آب کافی است. با توجه به جذابیت کشت آن لازم است برای مقاوم‌سازی آن نسبت به شرایط تنش آبی ضمن حفظ عملکرد بهینه اقدام نمود.

بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های اندوفیت بر رشد و عملکرد نعنا فلفلی منجر به بروز پاسخ‌های مفیدی از سوی این گیاه شده است. محمودزاده و همکاران (۱۳۹۴) نشان داده‌اند که باکتری‌های *Pseudomonas*، *Bacillus* و *Azotobacter* و قارچ همزیست اندوفیت *Glumos* می‌توانند در صورت مایه‌زنی به افزایش دریافتی عناصر معدنی توسط گیاه نعنا از خاک کمک نموده و از طریق این سازوکار باعث افزایش عملکرد و اجزای عملکرد آن گردند. وفایی و همکاران (۱۳۹۸) با مایه‌زنی گونه‌ای از قارچ‌های *Piriformospora* و *Trichoderma* نشان دادند که امکان افزایش عملکرد و اسانس نعنا فلفلی با به کارگیری پتانسیل‌های زیستی در شرایط کمبود فسفر و آب وجود دارد. نتایج تحقیقات نامبردگان همچنین نشان داد که توانایی هر یک از این میکروب‌ها در حصول نتایج مطلوب عملکردی متفاوت است. بنابراین آزمون انواع میکروب‌ها می‌تواند در روش‌های به‌زراعی در کنار توجه به ارقام پرمحصول نعنا فلفلی جهت افزایش عملکرد این محصول مفید واقع شود.

اغلب گونه‌های جنس *Bacillus* و جنس‌های وابسته به آن که در ریزوسفر گیاهان زندگی می‌کنند، واجد ویژگی‌های محرک رشدی در گیاهان تشخیص داده شده‌اند. توانایی آنها در تشکیل اسپورهای دوره استراحتی مقاوم به گرما و خشکی بر خلاف باکتری‌های گرم منفی ضامن بقای آنها در شرایط نامساعد محیطی بوده و علاوه بر این می‌تواند عامل مهمی در توزیع آنها در خاک باشد. این ویژگی‌ها به لحاظ تهیه مایه تلقیح‌های تجاری بسیار ارزشمند محسوب می‌شوند (Fravel, 2005). اگر چه اطلاعات زیادی در خصوص گونه سیمپلکس

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

از لحاظ محرک رشدی وجود ندارد ولی گزارش‌های اندک منتشر شده نشان می‌دهند که توانایی چشمگیری در بهبود عملکرد گیاه می‌تواند داشته باشد (Schwartz *et al.*, 2013). اطلاعاتی از نتایج مایه‌زنی باکتری *P. simplex* بر گیاه نعنا فلفلی وجود ندارد. بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی پاسخ این گیاه به مایه‌زنی با باکتری مذکور با اندازه‌گیری برخی از ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی نعنا فلفلی در شرایط مختلف آبی بود تا در صورت موفقیت بتوان با این راهکار به تولید نعنا فلفلی در شرایط تنش آبی کمک نموده و نیازهای کشور را برطرف نمود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از باکتری *Peribacillus simplex* 54-1 با کد ثبتی (Deposit Number) DSM113968 با توانایی تولید هورمون اکسین از نوع ایندول استیک اسید و تولید آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دآمیناز استفاده شد. باکتری مذکور از ریزوسفر گیاهان علفی غیر زراعی توسط کریمی و همکاران (۱۳۹۸) جداسازی و شناسایی شده است که در مجموعه باکتری‌های آزمایشگاه بیولوژی خاک دانشگاه مراغه نگهداری می‌شود.

ارزیابی توان تولید اکسین در محیط‌کشت لوریا برتانی (LB) حاوی ۵ میلی‌مولار تریپتوفان و ارزیابی آن با معرف سالکووکسی (سالکوفسکی) پس از ۷۲ ساعت (Bent *et al.*, 2000)، ارزیابی فعالیت ACC- دآمینازی با استفاده از آمینوسیکلوپروپان به‌عنوان منبع نیتروژن و کربن و ارزیابی آلفا کتوبوتیرات تولید شده در مدت ۳۶ ساعت (Khan and Lee, 2016)، توان رشد باکتری در شرایط تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۱۰ درصد در محیط‌کشت نوترینت آگار (Verslues and Bray, 2004) و توان تشکیل بیوفیلم در محیط کشت تریپتیک سوی براث (TSB) رقیق شده تا نصف غلظت نحوه تهیه محیط‌کشت، براساس روش Srdjan و همکاران (۲۰۰۰) در مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت.

کشت و مطالعات گلخانه‌ای: در این مرحله به‌منظور بررسی اثر مایه‌زنی باکتری *P. simplex* 54-1 بر رشد و نمو نعنا فلفلی در شرایط آبی مختلف، آزمایش گلدانی در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی در چهار تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای مورد مطالعه عبارت بودند از: مایه‌زنی با باکتری و بدون مایه‌زنی با باکتری و شرایط مختلف آبی شامل بدون تنش آبی آبیاری مداوم و مطلوب (W1)، تنش آبی متوسط با قطع آبیاری به مدت ۱۰ روز (W2) و تنش آبی شدید قطع آبیاری به مدت ۲۰ روز (W3) قبل از برداشت محصول. بذر نعنا فلفلی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و پس از ضدعفونی سطحی به مدت پنج دقیقه در وایتکس ۱۰٪ و سه بار شستشو با آب‌مقطر استریل و سپس غوطه‌ورسازی در الکل ۷۰٪ به مدت ۴۵ ثانیه و سه بار شستشو با آب‌مقطر استریل در سینی-های نشا کشت شدند. پس از رسیدن نشاها به مرحله پنج تا شش برگی، عمل انتقال آنها به گلدان‌های چهار کیلویی حاوی سه کیلوگرم خاک با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مطابق جدول ۱ انجام شد.

پس از آماده شدن نشاها و قبل از انتقال به گلدان‌ها، ریشه نشاها به مدت ۲۰ دقیقه در سوسپانسیون مایه تلقیح قرار گرفت تا عمل مایه‌زنی باکتری به طور کامل انجام شود. مایه تلقیح باکتری به شرح زیر آماده شده و مورد استفاده قرار گرفت: یک لوپ از اسلنت حاوی باکتری در ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت مغذی مایع (Nutrient broth) مایه‌زنی شده و پس از رسیدن تراکم باکتری، به میزان 10^8 سلول در میلی‌لیتر، سوسپانسیون باکتریایی در ۱۰۰۰۰ دور به‌مدت دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب حاصل به آرامی در ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۱ درصد، مجدداً سوسپانسیون شد.

بلافاصله پس از انتقال نشاهای نعنا فلفلی به گلدان‌ها، آبیاری انجام گرفته و آب وزنی گلدان‌ها با ترازویی با دقت ۰/۱ گرم در حد ظرفیت مزرعه تنظیم شده و تا مرحله ۲۰ برگی نعنا فلفلی در این حد از رطوبت نگه‌داری شد. برای اعمال تنش آبی، آبیاری گلدان‌ها برای بخشی به مدت ۲۰ روز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش گلدانی

شوری (dS/m)	اسیدیته	درصد مواد خنثی‌شونده	مواد آلی	نیتروژن کل	فسفر قابل دسترس	پتاسیم قابل دسترس	شن	سیلت	رس
			(٪)		(mg Kg^{-1})			(٪)	
۳/۵۸	۷/۶	۱۰/۵	۱/۵	۰/۰۹	۱۸/۲	۴۴۰	۵۳	۲۴	۲۳

و برای بخشی دیگر به مدت ۱۰ روز کاملا قطع شد. در طول رشد گیاه دمای گلخانه در محدوده ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۶۰٪ تنظیم شد. در پایان آزمایش ویژگی‌های رشدی نعنا فلفلی به شرح زیر اندازه گرفته شدند:

اندازه‌گیری وزن خشک و وزن تر کل گیاه، ساقه و برگ: ۵۰ روز پس از شروع آزمایش برداشت محصول هر گلدان انجام شد و اندام‌های مختلف گیاه (برگ، ساقه و ریشه) تفکیک شده و وزن تر آنها یادداشت شدند. وزن خشک آنها پس از خشک کردن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت به دست آمد. وزن خشک ریشه نیز پس از شستشوی خاک گلدان‌ها و جمع آوری ریشه تمیز شده و عاری از خاک مثل اندام‌های هوایی به دست آمد.

تعداد برگ‌ها در هر گلدان پس از برداشت قبل از اندازه‌گیری‌های بالا شمارش شده و شاخص‌های مهم برگی نسبت سطح برگ (Leaf area ratio, LAR) با استفاده از رابطه (۱)، وزن ویژه برگ (Specific leaf weight, SLW) از رابطه (۲) و نسبت وزن برگ (Leaf weight ratio, LWR) از رابطه (۳) به شرح زیر محاسبه شدند (Lin, 2016):

رابطه (۱)

$$\text{نسبت سطح برگ (LAR)} = \frac{\text{سطح برگ (cm}^2\text{)}}{\text{وزن خشک کل اندام هوایی (g)}}$$

رابطه (۲)

$$\text{وزن ویژه برگ (SLW)} = \frac{\text{سطح برگ (cm}^2\text{)}}{\text{وزن خشک کل برگ (g)}}$$

رابطه (۳)

$$\text{نسبت وزن برگ (LWR)} = \frac{\text{وزن خشک کل برگ (g)}}{\text{وزن خشک کل اندام هوایی (g)}}$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: جهت استخراج آنزیم کاتالاز و آنزیم گایاکول پراکسیداز، ۰/۵ گرم از نمونه برگی قبل از برداشت محصول با استفاده از هاون چینی سرد و نیتروژن مایع هموژن شده و سپس به آن ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد (pH =۷/۵) محتوی EDTA ۰/۵ میلی‌مولار اضافه گشت. هموژن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Sairam *et al.*, 2002). استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشابه آنزیم‌های ذکر شده بود با این تفاوت که به محلول استخراج، پلی‌وینیل پیرولیدین (۵ درصد، وزنی- حجمی) و آسکوربات ۲ میلی‌مولار اضافه شد. اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز طبق روش Aebi (۱۹۸۴)، گایاکول پراکسیداز با روش Tang و Newton (۲۰۰۵) و پلی‌فنل اکسیداز با روش Mishra و Manoranjan (۱۹۷۶) انجام شد. همچنین، میزان پروتئین محلول با روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری میزان مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن: برای تعیین محتوی پراکسید هیدروژن، از روش Sergiev و همکاران (۱۹۹۷) با اندکی تغییر استفاده شد. ۰/۲گرم از بافت تازه برگی با ۳ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد در هاون چینی ساییده شده و عصاره حاصل در ۱۲۰۰۰ دور، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی برداشت شده و به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه شد. جذب آن در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد و در نهایت میزان پراکسید هیدروژن با لحاظ نمودن ضریب خاموشی ۱۲۸ mM^{-1} cm^{-1} به صورت نانومول بر گرم وزن تر برگ بیان شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) با روش Heath و Parker (۱۹۶۸) انجام شد. برای این منظور ۰/۱ گرم برگ تازه در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد و عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰، سانتریفیوژ شد. ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ با ۷۵۰ میکرولیتر محلولی که حاوی تری‌کلرو استیک اسید۲۰ درصد و تیوباربیتوریک اسید ۰/۵ درصد بود، مخلوط شد. مخلوط حاصل ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آبی قرار داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شده و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد. میزان جذب این محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر، خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از مقدار حاصل کسر شد. برای محاسبه میزان مالون دی‌آلدئید، از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}\ Cm^{-1}$ استفاده شده و به صورت نانومول بر گرم وزن تر برگ گزارش شد.

اندازه‌گیری غلظت پرولین: برای سنجش غلظت پرولین ابتدا ۰/۲ گرم از نمونه برگ تازه با ۵ میلی‌لیتر اسید سولفو سالیسیک ۳٪ درون هاون چینی ساییده شد. عصاره به‌دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و ۲ میلی‌لیتر نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال به آن اضافه شد و به مدت یک ساعت درون حمام آبی حرارت داده شد. بعد به سرعت لوله‌های حاوی عصاره درون یخ (برای متوقف شدن واکنش‌ها) به مدت ۲ دقیقه قرار داده شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به لوله‌ها اضافه شده و با ورتکس مخلوط شدند. در این حالت دو فاز از هم جدا شد، فاز بالایی جدا و میزان جذب نوری آن در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر ثبت شد. مقدار پرولین نمونه‌های گیاهی با استفاده از منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates *et al.*, 1973).

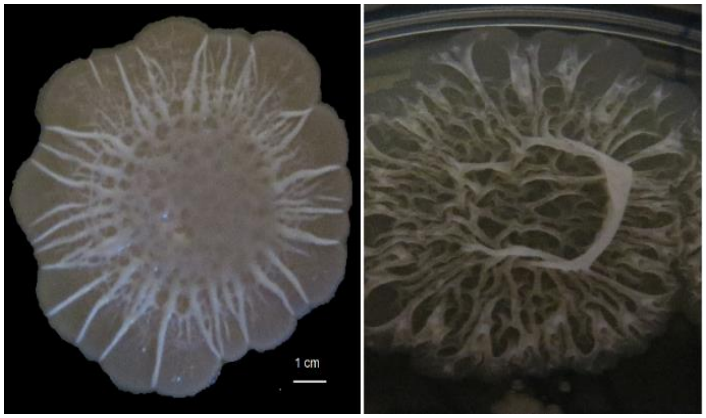
داده‌های به‌دست آمده از این پژوهش پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC نسخه ۴ انجام شده و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

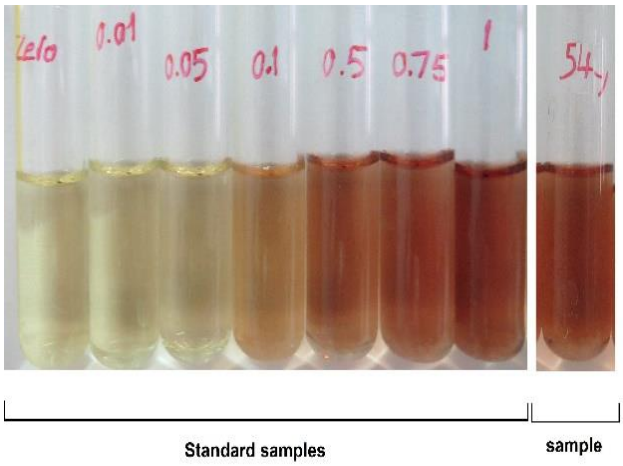
ارزیابی برخی از ویژگی‌های محرک رشدی باکتری *P. simplex* 54-1 در شرایط برون تنی: نتایج حاصل از مطالعه باکتریایی نشان داد که توانایی رشد در شرایط تنش آبی شبیه‌سازی شده با پلی‌اتیلن گلیکول (شکل ۱) و توانایی مطلوب تولید اکسین (شکل ۲) و تولید آنزیم ACC- دآمیناز (شکل ۳) از ویژگی‌های باکتری *P. simplex* 54-1 هستند. نتایج بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم نیز در خصوص باکتری مورد مطالعه مثبت ارزیابی گردید (شکل ۴). باکتری‌های محرک رشد می‌توانند با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اسید آبسیزیک و ایندول-۳- استیک اسید، تولید آنزیم ACC- دآمیناز برای کاهش سطح اتیلن در ریشه، تحمل سیستمیک ناشی از متابولیت‌ها و اگزوپلی‌ساکاریدهای باکتریایی در مدیریت تنش‌های زیستی و غیرزیستی به گیاهان کمک نمایند (Xia *et al.*, 2005). از میان این باکتری‌ها، باکتری‌هایی با توانایی تشکیل بیوفیلم به دلیل توان کلنیزاسیون مطلوب ریشه گیاهان و مقاومت در برابر انواع تنش¬های زیستی و غیرزیستی در خاک برای تولید کودهای زیستی مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته‌اند (Seneviratne *et al.*, 2008). تشکیل بیوفیلم توسط باکتری¬های ریزوسفری گیاهان وحشی در مناطق غیرزراعی که انواع تنش¬های محیطی را در طول چرخه زندگی خود تجربه می¬نمایند توسط پژوهشگران متعددی مانند Timmusk و همکاران (۲۰۱۴) گزارش شده است. تشکیل بیوفیلم ضمن تأیید ایجاد ارتباط میان باکتری و گیاه میزبان، بیانگر توان کلنیزاسیون باکتری است که از معیارهای مهم موفق بودن کودهای زیستی به‌شمار می‌آید (Seneviratne *et al.*, 2008).

براساس نتایج بررسی ویژگی‌های محرک رشدی، باکتری *P. simplex* 54-1 از نظر ویژگی‌های محرک رشدی مطلوب

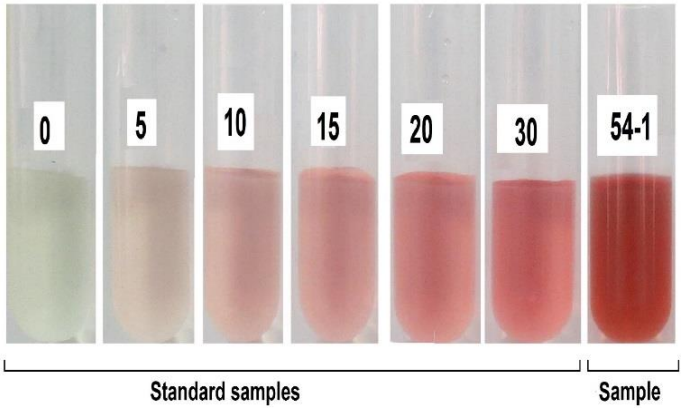
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]



شکل ۱- تغییر شکل کلنی باکتری *P. simplex* 54-1 در محیط نوترینت آگار (سمت چپ) و محیط نوترینت آگار حاوی پلی‌اتیلن گلیگول ۱۰٪ (سمت راست). در شرایط حضور پلی‌اتیلن گلیگول اندازه کلنی بزرگتر شده و ترکیبات لزج در ساختار کلنی بیشتر مشاهده می‌گردد.



شکل ۲- فعالیت ACC دآمینازی باکتری *P. simplex* 54-1 پس از ۳۶ ساعت رشد در محیط‌کشت معدنی حداقل Dworking and Foster (DF)حاوی ۳ میلی‌مولار ۱- آمینوسیکلوپروپان- ۱- کربوکسیلیک اسید (ACC). محلول‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی‌مولار آلفا-کتوبوتیرات به‌عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

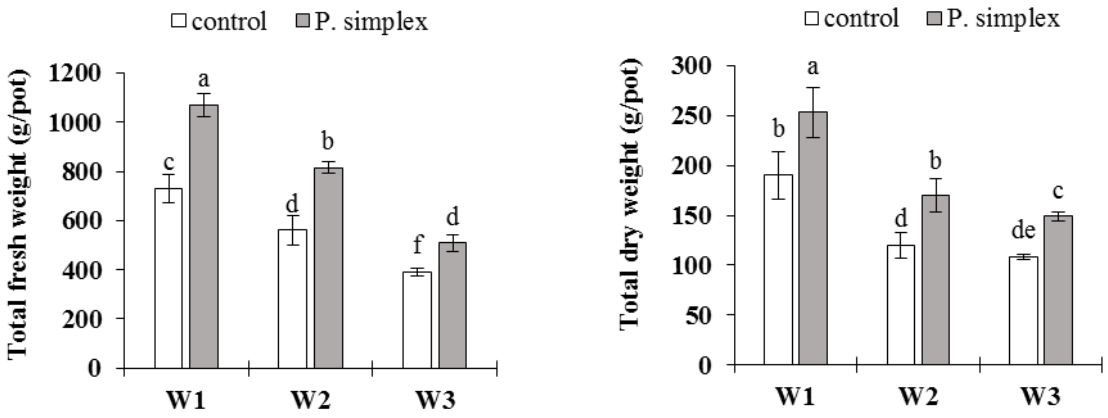


شکل ۳- ارزیابی تولید ایندول استیک استیک توسط باکتری *P. simplex* 54-1 پس از ۷۲ ساعت رشد در محیط‌کشت لوریا بریتانی (LB) حاوی ۵ میلی‌مولار تریپتوفان با استفاده از معرف سالکووکسی. محلول‌های صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اکسین به‌عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

شکل ۴- ارزیابی توانایی تشکیل بیوفیلم باکتری *P. simplex* 54-1 در یک لوله شیشه‌ای پس از ۱۸ ساعت رشد در دو میلی‌لیتر محیط‌کشت TSB دو برابر رقیق شده.



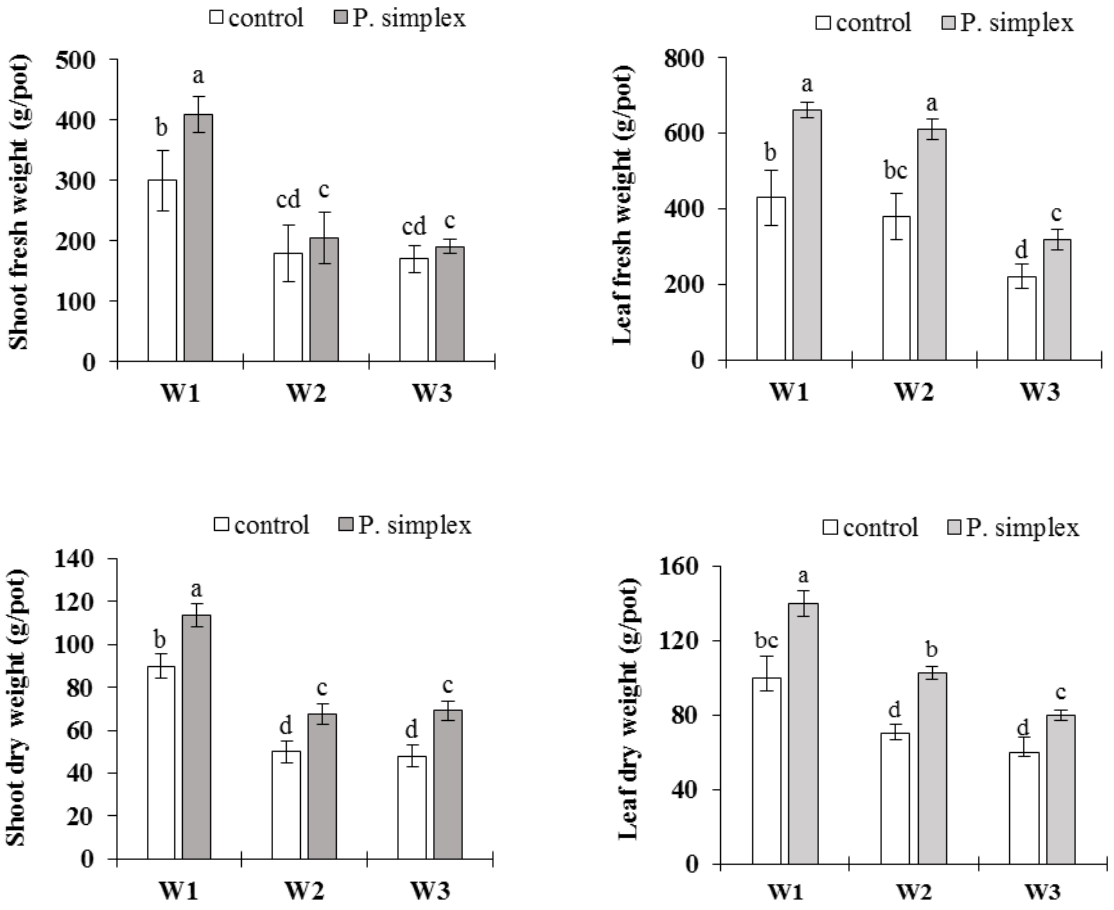
شکل ۵- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد ماده تر و خشک کل گیاه نعنا فلفلی. W1، W2 و W3 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

ارزیابی شد و انتظار می‌رفت که بتواند باعث افزایش رشد گیاه نعنا فلفلی در شرایط مختلف آبی شد.

تأثیر تیمارهای آبی و مایه‌زنی باکتری *P. simplex* 54-1 در شرایط درون‌تنی بر ویژگی‌های رشدی نعنا فلفلی: نتایج حاصله نشان دادند که رخداد تنش آبی در سطح تنش آبی متوسط و در سطح تنش آبی شدید می‌تواند وزن تر کل گیاه را به‌ترتیب ۲۴٪ و ۴۷٪ و وزن خشک کل را به ترتیب ۳۷٪ و ۴۴٪ در مقایسه با شرایط مطلوب آبی کاهش دهد (شکل ۵). مایه‌زنی باکتری محرک رشد *P. simplex* توانست در تمامی سطوح آبی اثر مثبتی را بر عملکرد تر و خشک گیاه نعنا فلفلی داشته باشد و در شرایط مطلوب آبی عملکرد تر گیاه ۵۹٪، تنش آبی متوسط ۷۴٪ و تنش شدید آبی ۶۴٪ و در شرایط مطلوب آبی عملکرد خشک گیاه ۴۷٪، تنش آبی متوسط ۵۸٪ و تنش شدید آبی ۳۹٪ در اثر مایه‌زنی با باکتری نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی در هر سطح آبی افزایش یافت.

اجزای عملکرد نیز به طور متفاوتی از تنش آبی و مایه‌زنی باکتری بسته به شدت تنش آبی متأثر شدند. در شرایط مطلوب آبی وزن تر برگ گیاه ۵۹٪، تنش آبی متوسط ۷۴٪ و تنش شدید آبی ۶۴٪ در اثر مایه‌زنی با باکتری نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی در هر سطح آبی افزایش یافت (شکل ۶). در شرایط مطلوب آبی وزن خشک برگ گیاه ۵۹٪، تنش آبی متوسط ۷۴٪ و تنش شدید آبی ۶۴٪ در اثر مایه‌زنی با باکتری نسبت به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]



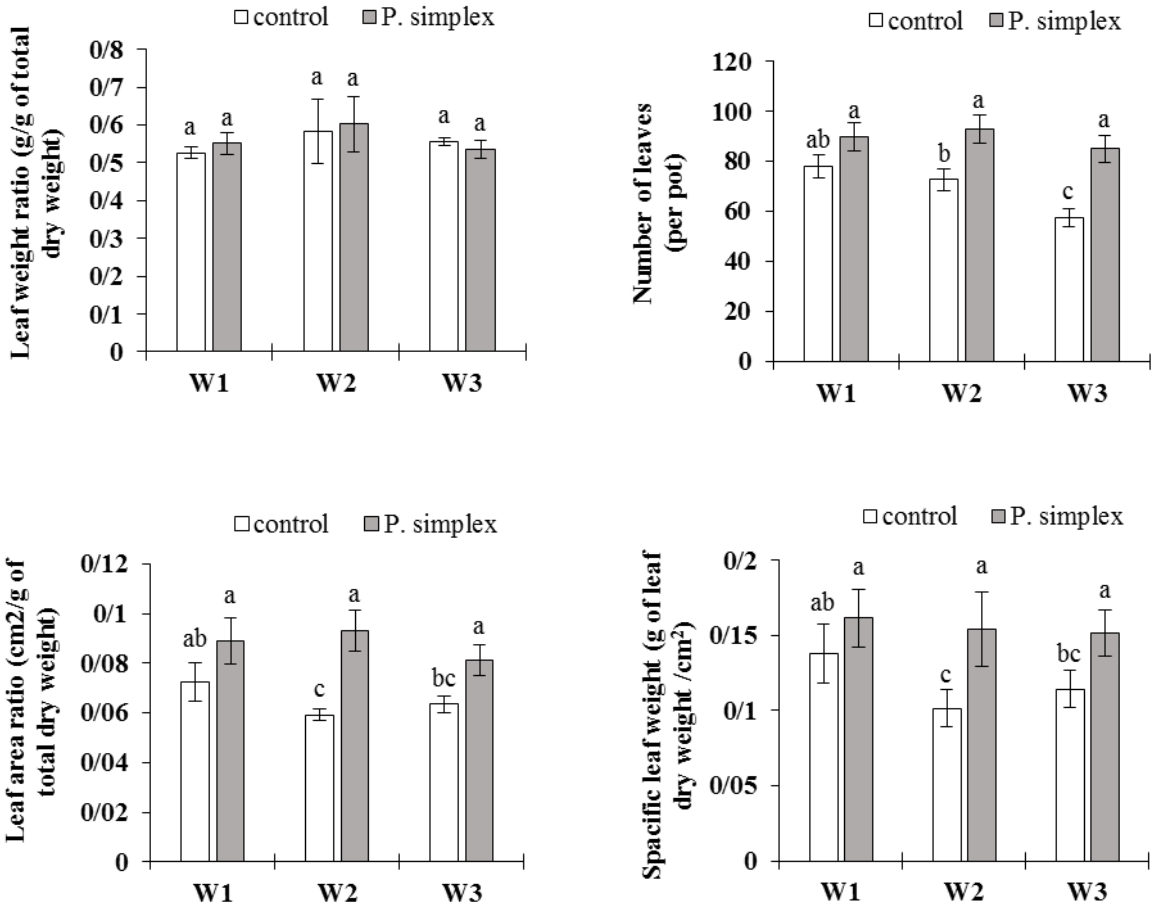
شکل ۶- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد وزن خشک و تر ساقه و برگ گیاه نعنا فلفلی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

شرایط عدم مایه‌زنی در هر سطح آبی افزایش یافت. افت ۸۳٪ وزن تر ساقه در شرایط بروز تنش در مقایسه با شرایط مطلوب آبی مشاهده گردید. در شرایط مطلوب آبی وزن تر ساقه گیاه ۲۵٪، تنش آبی متوسط ۳۴٪ و تنش شدید آبی ۴۳٪ در اثر مایه‌زنی با باکتری نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی در هر سطح آبی افزایش یافت (شکل ۶). بروز شرایط تنش آبی به طور متوسط ۷۰٪ باعث کاهش وزن خشک ساقه شد. در شرایط مطلوب آبی وزن‌خشک ساقه گیاه ۳۶٪ و در شرایط تنش آبی ۱۲٪ در اثر مایه‌زنی با باکتری نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی در هر سطح آبی افزایش یافت (شکل ۶).

شاخص‌های برگی: اگر چه نسبت وزنی برگ در این مطالعه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (شکل ۷) ولی مایه‌زنی باکتری توانست ۱۵٪، ۲۷٪ و ۴۸٪ در شرایط مطلوب، متوسط و شدید تنش آبی نسبت به عدم مایه‌زنی در شرایط آبی مشابه تعداد برگ را افزایش دهد. نسبت سطح برگ (LAR) در شرایط بروز تنش آبی متوسط و شدید به طور متوسط ۱۵٪ باعث کاهش این صفت نسبت به شرایط مطلوب آبی شده و تلقیح با باکتری به ترتیب باعث افزایش ۲۳٪، ۵۷٪ و ۲۸٪ در شرایط مطلوب و تنش ملایم و شدید شد (شکل ۷). وزن ویژه برگ (SLW) در شرایط بروز تنش آبی متوسط و شدید به طور متوسط ۲۲٪ باعث کاهش این صفت نسبت به شرایط مطلوب آبی شده و تلقیح با باکتری به ترتیب باعث افزایش ۱۷٪، ۵۲٪ و ۳۲٪ در شرایط مطلوب و تنش ملایم و شدید شد (شکل ۷).

اگر چه نسبت وزنی برگ (LAR) که بیانگر توزیع ماده خشک در برگ‌ها نسبت به کل اندام‌های هوایی بوده و در واقع

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

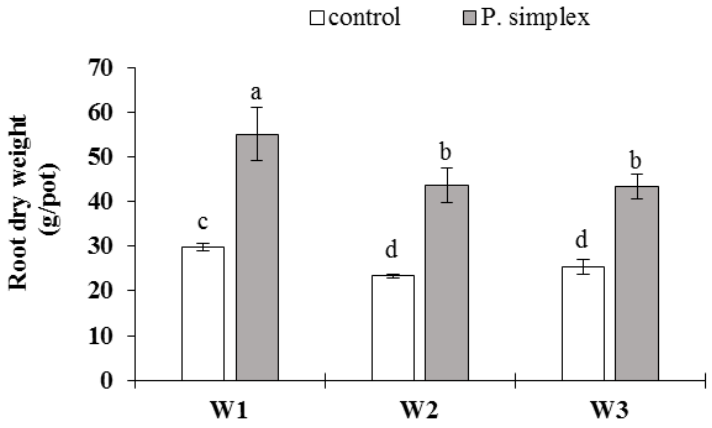


شکل ۷- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر نسبت سطح برگ (Leaf area ratio)، وزن ویژه برگ (Specific leaf weight)، تعداد برگ‌ها (Number of leaves) و نسبت وزن برگ (Leaf weight ratio) نعنا فلفلی. W1، W2 و W3 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

مجموع بافت‌های فتوسنتزکننده و تنفس‌کننده را نشان می‌دهد. در هیچ یک از تیمارها تغییر معنی‌داری نداشت. ولی تنش آبی باعث کاهش سطح اختصاص یافته به ازای ماده خشک برای سطح فتوسنتزی گردید و باعث کاهش وزن ویژه برگ (SLW)، که نسبت سطح فتوسنتزکننده از میزان زی‌توده برگی را نشان می‌دهد، شد. مایه‌زنی با باکتری به ویژه در سطوح تنش توانست باعث اختصاص ماده خشک به سطح فتوسنتزی شود. همچنین در اثر مایه‌زنی باکتری نسبت سطح برگ (LAR) نیز افزایش یافت. به نظر می‌رسد افزایش تعداد برگ‌ها در تیمارهای مایه‌زنی با باکتری در نتیجه اختصاص سطح بیشتر از دلایل مهم تغییرات یاد شده باشد. بر طبق نتایج Costa و همکاران (۲۰۱۳) صفات یاد شده از کاربرد کودهای آلی نیز در نعنا تأثیرپذیر بوده و می‌توانند تغییر پیدا کنند. همچنین Zhang و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که مایه‌زنی میکروبی می‌تواند شمار برگ در گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد. تاکنون درک دقیقی از سازوکار این تغییرات توسط مایه‌زنی باکتری‌ها ارائه نشده است.

وزن ریشه گیاه: نتایج حاصل‌شده نشان دادند که رخداد تنش آبی در سطح متوسط و شدید می‌تواند وزن خشک ریشه گیاه نعنا فلفلی را به طور متوسط ۲۱٪ کاهش دهد (شکل ۸). وزن خشک ریشه در شرایط مایه‌زنی باکتری محرک رشد *P. simplex* در شرایط مطلوب آبی ۸۴٪ و در شرایط رخداد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]



شکل ۸- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن خشک ریشه گیاه نعنا فلفلی. W1، W2 و W3 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

تنش آبی به طور متوسط ۴۲٪ نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی در هر سطح آبی افزایش یافت.

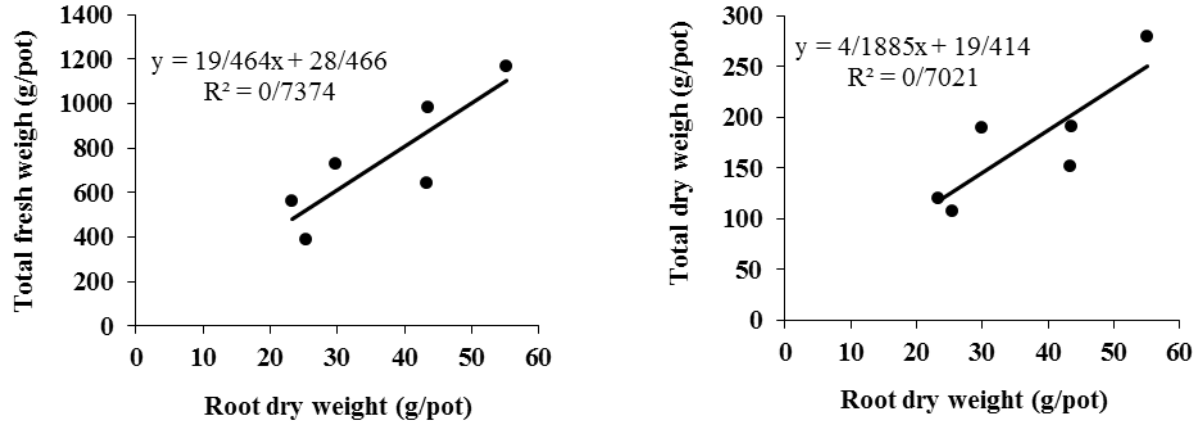
تنش آبی عامل تولید اتیلن در گیاه است که علاوه بر اثر منفی مستقیم از طریق غیرمستقیم با کاهش تولید اکسین در گیاه از عوامل بازدارنده رشد گیاه و کاهش عملکرد به‌شمار می‌آید (Rajkumar *et al.*, 2013). با توجه به نتایج مطالعات آزمایشگاهی (شکل‌های ۱، ۲ و۳) در مورد ویژگی‌های محرک رشدی باکتری مورد مطالعه به نظر می‌رسد توان ایجاد بیوفیلم توسط باکتری و بهبود ویژگی‌های ریشه تحت تأثیر متابولیت‌های باکتری مانند تولید اکسین و توانایی تولید آنزیم ACC- دآمیناز از عومل افزایش وزن خشک ریشه به شمار روند. زیرا اکسین باعث گسترش ریشه شده و آنزیم یاد شده قادر به کاهش غلظت اتیلن گیاه از طریق دآمیناسیون اسید ۱- آمینو سیکلو پروپان -کربوکسیلیک بوده و مانع تولید اتیلن تنشی می‌شود. ناصری و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کردند که مایه‌زنی باکتری *Pseudomonas putida* در دو رقم گندم کراس سبلان و ساجی می‌تواند ویژگی‌های ریشه آنها مانند وزن تر، وزن خشک، حجم، سطح، طول مخصوص، تراکم طول، حجم مخصوص، تراکم بافت، تراکم حجم، چگالی سطح و تعداد و طول ریشه‌های بذری و گره¬ای را به طور معنی¬داری در شرایط متفاوت تغذیه‌ای تغییر دهد. بنابر این افزایش وزن ریشه تحت تأثیر مایه‌زنی با باکتری در شرایط این مطالعه دور از ذهن نیست. برقراری رابطه رگرسیونی بین وزن خشک ریشه با صفات وزن خشک کل و وزن کل تر گیاه نعنا (شکل ۹) نشان داد که رابطه خطی و مستقیمی بین آنها وجود دارد به این مفهوم که اثر باکتری در افزایش عملکرد را تا حدودی می‌توان به تأثیر آن بر وزن ریشه به‌عنوان مکانیسم اثر نسبت داد.

اثر اکسیداتیو تنش خشکی: براساس مقایسه میانگین، بروز شرایط تنش آبی در حالت متوسط باعث افزایش ۶۱٪ و در حالت شدید باعث افزایش ۲/۲ برابری غلظت مالون دی‌آلدئید در برگ‌های گیاه نعنا فلفلی نسبت به شرایط مطلوب آبی می‌شود. مایه‌زنی با باکتری توانست باعث کاهش تولید این ماده به میزان ۲/۲۶ و ۴/۱۸ به ترتیب برای تنش متوسط و شدید نسبت به شرایط عدم مایه‌زنی شود. در شرایط مطلوب آبی مایه‌زنی باکتری تدثیری بر میزان تولید این ماده نداشت (شکل ۱۰). غلظت پراکسید هیدروژن نسبت به شرایط مطلوب آبی ۲/۰۸ و ۲/۶ برابر در شرایط تنش آبی متوسط و شدید ۲/۰۸ و ۲/۶ افزایش یافت.

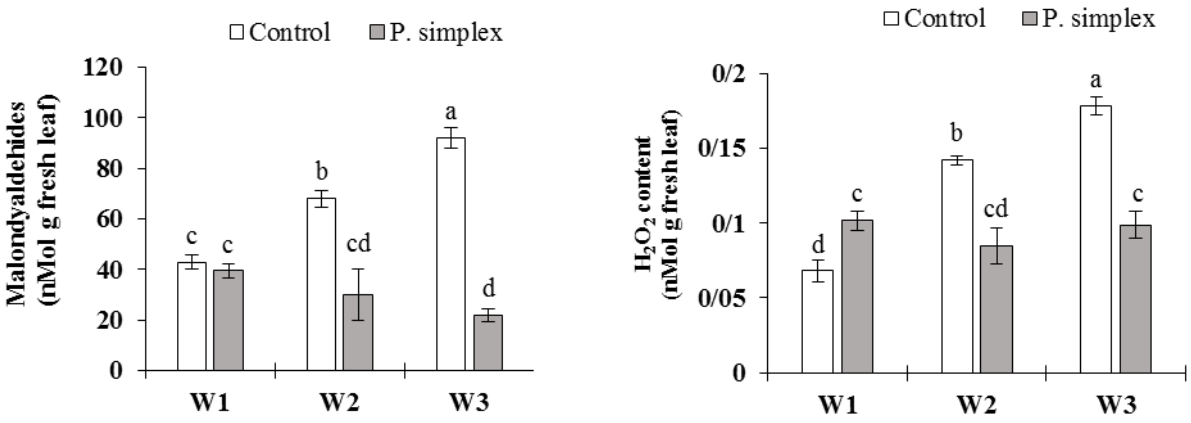
تحت شرایط تنش آبی بسته به شدت تنش در حالت متوسط و شدید به ترتیب فعالیت آنزیم کاتالاز ۱۵٪ و ۲۳٪ افزایش، پلی‌فنل اکسیداز ۳۱٪ و ۳۴٪ افزایش می‌یابد درحالیکه فعالیت آسکوربات پراکسیداز ۶٪ و ۹۵٪ کاهش می‌یابد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]



شکل ۹- رابطه رگرسیونی بین وزن خشک ریشه با وزن خشک و وزن تر گیاه. مدل رگرسیونی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار است.

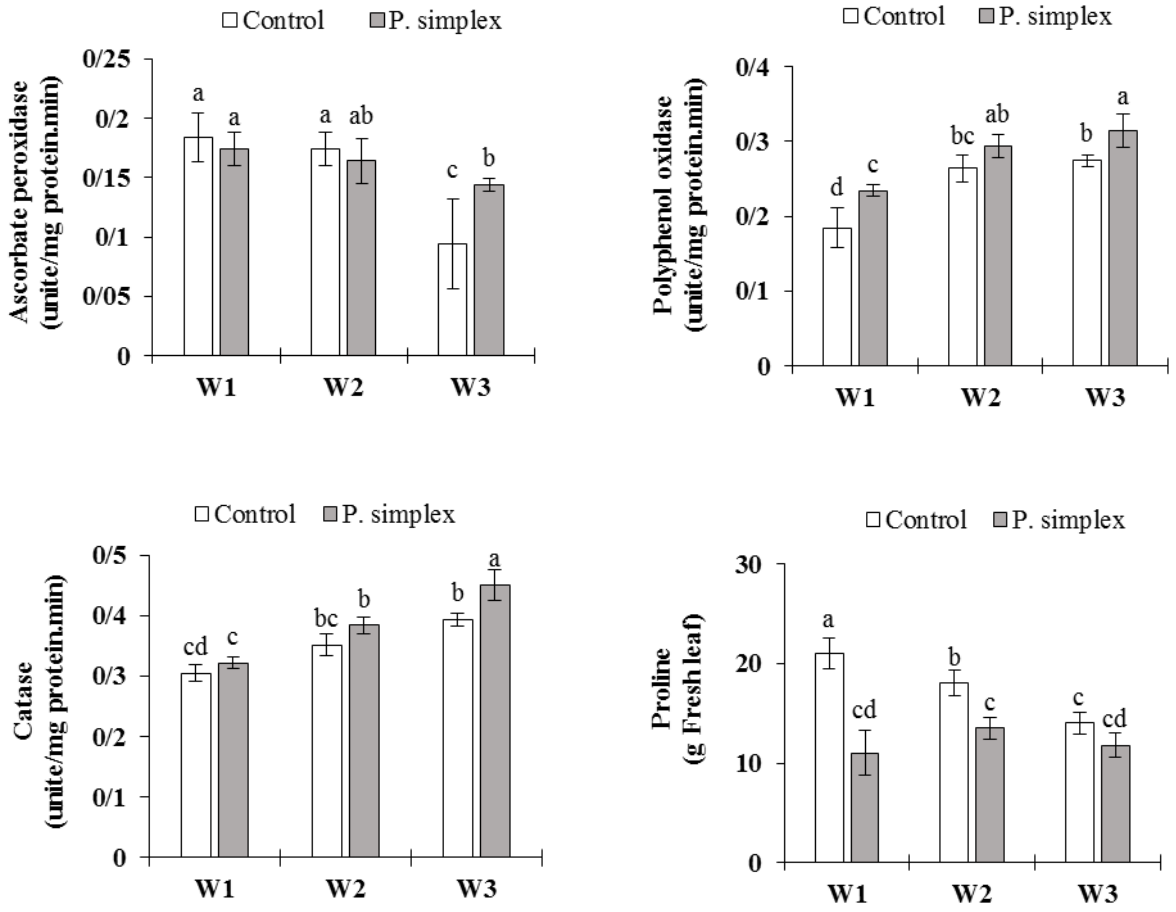


شکل ۱۰- غلظت مالون دی‌آلدئید و غلظت پراکسید هیدروژن در برگ گیاه نعنا فلفلی در تیمارهای مختلف آزمایشی. W1، W2 و W3 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

مایه‌زنی باکتری محرک رشد توانست موجب تغییر محتوای آنزیم‌های یاد شده شود، که میزان تغییرات متأثر از شدت تنش بود. در حالت مطلوب، تنش متوسط و تنش شدید آنزیم‌های کاتالاز به ترتیب ۵٪، ۹٪ و ۱۴٪ و پلی‌فنل اکسیداز ۲۷٪، ۱۱٪ و ۱۴٪ نسبت به شرایط مشابه آبی هر سطح در شرایط عدم مایه-زنی با باکتری افزایش یافت. روند تغییر در مورد آنزیم آسکوربات پراکسیداز متفاوت بود به این ترتیب که در سطح مطلوب و تنش متوسط آبی به طور متوسط غلظت آن ۶٪ کاهش یافت ولی در تنش شدید ۵۳٪ نسبت به شرایط مشابه آبی هر سطح در شرایط عدم مایه‌زنی با باکتری افزایش یافت. غلظت پرولین در شرایط تنش آبی بدون مایه‌زنی با باکتری در حالت متوسط و شدید به ترتیب ۱۷٪ و ۵۰٪ کاهش یافت. مایه‌زنی با باکتری موجب گردید تا غلظت آن در شرایط مطلوب، تنش متوسط و شدید به ترتیب ۴۸٪، ۲۵٪ و ۱۶٪ کاهش پیدا کند.

اولین واکنش گیاهان در هنگام تنش خشکی کاهش فشار آماس و در پی آن بستن روزنه‌ها برای جلوگیری از اتلاف آب از طریق تعرق است. این پدیده باعث کاهش ورود دی¬اکسید کربن به برگ‌ها و در نتیجه کاهش سرعت فتوسنتز می‌شود که در اثر آن تولیدات فتوسنتزی کاهش پیدا کرده و عملکرد گیاه (شکل‌های ۵ و ۶) کمتر می‌شود. سطوح پایین دی‌اکسید کربن در داخل سلول، واکنش‌های چرخه کالوین را کاهش می‌دهد و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]



شکل ۱۱- غلظت مالون دی‌آلدئید و غلظت پراکسید هیدروژن در برگ گیاه نعنا فلفلی در تیمارهای مختلف آزمایشی. W1، W2 و W3 به ترتیب بیانگر شرایط آبی مطلوب، تنش متوسط آبی و تنش شدید آبی هستند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

منجر به مصرف کمتر NADPH و ATP می‌شود. این پاسخ منجر به عدم بازیافت پذیرنده‌های الکترون مانند $NADP^+$، NAD^+، FAD مانع تسهیل انتقال الکترون‌ها از زنجیره انتقال الکترون به اکسیژن شده و منجر به تولید بیشتر گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (شکل ۱۰) می‌شود (Mittler and Blumwald, 2015). تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال باعث آسیب به ساختارهای پروتئینی و مهار آنزیم‌ها و همچنین اکسیدکننده درشت مولکول‌ها مانند لیپیدهای غشای سلولی و DNA می‌شود و در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود. آسیب به اسیدهای چرب غشای سلولی می‌تواند هیدروکربن‌های کوچکی مانند مالون دی‌آلدئید (شکل ۱۰) تولید کند. این هیدروکربن محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی و نشانه آسیب¬های سلولی غشایی است (Gharibi *et al*, 2016). به منظور از بین بردن ROS تولید شده در سلول‌ها، مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی توسط گیاه ایجاد می‌شود که می‌تواند به صورت آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (PX) و غیرآنزیمی (ترکیبات فنلی، پرولین و غیره) طبقه‌بندی شود. میزان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها تحت تنش آبی در بین گونه‌های گیاهی و حتی بین دو رقم از یک گونه بسیار متغیر است (Reddy *et al*., 2004). علاوه بر این، تنش آبی می‌تواند بر تجمع پرولین در گیاهان تأثیر بگذارد (کمالی و همکاران، ۱۳۹۷). معمولاً این اثر افزایشی بوده و تجمع پرولین در شرایط تنش آبی زیاد می‌شود که در شرایط این مطالعه اتفاق نیفتاد. در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

مجموع مایه‌زنی با باکتری با تقویت سیستم‌های حفاظتی آنتی‌اکسیدانی و تعدیل اثرات منفی حاصل از تولید اکسیدانت‌ها می‌توانند موجب بهبود عملکرد گیاهان و در شرایط این مطالعه گیاه نعنا فلفلی گردند. بررسی روابط میان وزن خشک ریشه با میزان تولید مالون دی‌آلدئید نشان داد که با ضریب همبستگی (R=0.52)، افزایش وزن خشک ریشه می‌تواند باعث کاهش تولید مالون دی‌آلدئید در برگ‌های نعنا فلفلی گردد.

ترکیبات فنولی به‌طور مستقیم با حفاظت نوری و یا به‌طور غیرمستقیم به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت می‌توانند در مدیریت تنش و بقای گیاه به آن کمک نمایند (Khalil *et al.*, 2018). این ترکیبات به پاکسازی رادیکال‌های آزاد به واسطه ویژگی احیاکنندگی‌شان کمک نموده و به‌عنوان دهنده الکترون یا هیدروژن یا مهار اکسیژن فعال عمل می‌کنند (Riachi and De Maria, 2015). نتایج این مطالعه با آنچه که در سایر گزارشات علمی و با سایر گیاهان در شرایط تنش آبی گزارش شده است همخوانی دارد (Cappellari *et al.*, 2013). رحیمی و همکاران (۱۳۹۸) در گیاه نعنا فلفلی تحت تنش‌های ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ رطوبت مزرعه‌ای کاهش در محتوای فنلی را گزارش کرده‌اند. در ارتباط با این موضوع بایستی عنوان نمود که عوامل محیطی متعددی در ساخت ترکیبات فنولی دخیل هستند. اما به هر حال گزارش شده در نعنا فلفلی در شرایط تنش آبی محتوای فنلی تا ۳/۵ برابر افزایش پیدا کرده و مایه‌زنی میکروبی نیز بر این میزان ۳۰ درصد اضافه نموده است (Chiappero *et al.*, 2019).

بر طبق رابطه رگرسیونی غلظت مالون دی‌آلدئید در برگ گیاه نعنا فلفلی رابطه معکوس و مستقیمی با وزن خشک آن نشان داد (شکل ۱۱). بنابراین به نظر می‌رسد که توانمندسازی ریشه گیاه در جذب آب به‌عنوان تنها مانع بازدارنده مورد بررسی در این مطالعه می‌تواند سازوکار مهمی در توجیه افزایش عملکرد با توجه به کاهش اکسیداسیون چربی‌های غشایی تلقی شود.

پرولین اسیدآمینه‌ای است که علاوه بر نقش اسمولیتی در زیرساخت¬های سلول مانند پروتئین، غشا سلولی، حذف رادیکال‌های آزاد سلول و ایجاد توازن هموئستازی سلولی و بافر نمودن پتانسیل اکسیداسیون و احیا تحت شرایط تنش عمل می‌نماید (Szabados and Savoure, 2009). از این رو افزایش میزان این اسیدآمینه به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های دفاعی در حفظ بقای گیاه در شرایط تنش مورد توجه است. در این مطالعه غلظت پرولین تحت شرایط تنش آبی کاهش یافت و مایه‌زنی با باکتری نیز در همه سطوح آبی مورد بررسی نسبت به شرایط مشابه باعث کاهش آن گردید. اگر چه کاهش جذب نیترات در شرایط تنش آبی توسط ریشه و پیامد آن کمبود نیتروژن مورد نیاز در سنتز این اسیدآمینه یکی از دلایل این پدیده گزارش شده است (Figueroa-Perez *et al.*, 2014). ولی با توجه به تقویت سیستم ریشه‌ای و احتمال جذب بالای نیترات نمی‌توا ن این توجیه را در شرایط این مطالعه صادق دانست لذا مطالعات تکمیلی مورد نیاز هست.

نتیجه‌گیری

مایه‌زنی نعنا فلفلی با باکتری *P. simplex* در تمام سطوح آبی مورد بررسی توانست عملکرد نعنا فلفلی را افزایش دهد. بیشترین میزان افزایش در تیمار تنش آبی متوسط مشاهده گردید. یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های افزایش عملکرد افزایش، وزن ریشه است که به شدت تحت تأثیر مایه‌زنی با باکتری قرار گرفت. علاوه بر این بهبود عملکرد آنتی اکسیدانت‌ها در شرایط تنش آبی از نتایج مایه‌زنی نعنا فلفلی با باکتری مذکور شناخته شد. بهبود عملکرد برگ و ویژگی‌های آن از مکانیسم‌های دیگری بود که احتمالاً با بهبود وضعیت تولیدات فتوسنتزی توانست به تولید ماده خشک کل کمک نماید. در مجموع به نظر می‌رسد که نعنا فلفلی یکی از گیاهان بسیار خوبی است که امکان زراعت آن در کشور با بهره‌گیری از پتانسیل میکروبی در شرایط کم آبی که معضل شایع کشور است، وجود دارد .

منابع

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

رحیمی، ی.، طالعی، ع. و رنجبر، م. (۱۳۹۸) تأثیر تنش خشکی بر روی تغییرات بیوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). علوم گیاهان زراعی ایران ۵: ۷۵-۵۹.

زرگری، ع. (۱۳۶۷) گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران.

عمویی، ع. م. و کاملی، م. (۱۳۹۴) بسته کارآفرینی کشت گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) در ایران. انتشارات اسرار علم.

قمرنیا، ه. و موسی بیگی، ف. (۱۳۹۳) برآورد نیاز آبی، ضرایب گیاهی یک جزیی و دو جزیی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۸: ۶۷۸-۶۷۰.

کریمی، ا.، علی اصغرزاد، ن.، نیشابوری، م. و اسفندیاری، ع. (۱۳۹۸) جداسازی، شناسایی مولکولی و ارزیابی ویژگی‌های محرک رشدی باکتری‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم از ریزوسفر گیاهان غیرزراعی در شمال غرب ایران. تحقیقات کاربردی خاک ۷: ۲۸-۱۴.

کمالی، م.، شور، م.، نعمتی، س. ح.، لکزیان، ا. و خزاعی، ح. ر. (۱۳۹۷) تأثیر تنش آبی بر صفات فیزیومورفولوژیک و محتوای پرولین سه رقم گل اطلسی. علوم باغبانی ۳۲: ۵۲۹-۵۱۹.

محمودزاده، م.، رسولی صدقیانی، م. ح. و عسگری لجایر، ح. (۱۳۹۴) تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا بر خصوصیات ریخت‌شناسی و غلظت عناصر پرمصرف گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط گلخانه‌ای. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۲۱: ۵۶-۴۰.

ناصری، ر.، براری، م.، زارع، م.، خاوازی، ک. و طهماسبی، ز. (۱۳۹۸) ارزیابی خصوصیات ریشه و عملکرد دانه ارقام گندم تحت تأثیر باکتری‌های حل‌کننده فسفات و قارچ میکوریزا در شرایط دیم. پژوهش‌های زراعی ایران ۱۷: ۹۸-۸۳.

وفایی رستمی، ص.، عباسی، ر.، پیردشتی، ه. و قاجارسپانلو، م. (۱۳۹۸) تأثیر قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma harzianum* بر صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در سطوح مختلف فسفر و آبیاری. دانش کشاورزی و تولید پایدار ۲۹: ۵۰-۳۷.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bent, E., Tuzan, S., Chanway, C. P. and Enebak, S. (2000) Alteration in plant growth and in root hormone levels of *lodgeplepines* inoculated with rhizobacteria. Canadian Journal of Microbiology 47: 793-800.

Bodner, G. S. and Robles, M. D. (2017) Enduring a decade of drought: Patterns and drivers of vegetation change in a semi-arid grassland. Journal of Arid Environments 136: 1-14.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Cappellari, L. R., Santoro, M. V., Nievas, F., Giordano, W. and Banchio, E. (2013) Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth promoting growth promoting rhizobacteria. Applied Soil Ecology 70: 16-22.

Chiappero, J., del Rosario Cappellari, L., Alderete, L. G. S., Palermo, T. B. and Banchio, E. (2019) Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. Industrial Crops and Products 139: 111553.

Costa, A. G., Bertolucci, S. K. V., Chagas, J. H., Ferraz, E. O. and Pinto, J. E. B. P. (2013) Biomass production, yield and chemical composition of peppermint essential oil using different organic fertilizer sources. Ciencia e Agrotecnologia, Lavras 37: 202-210.

Dimkpa, C., Weinand, T. and Asch, F. (2009) Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant Cell and Environment 32: 1682-1694

Enebe, M. C. and Babalola, O. O. (2018) The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance to abiotic stress: A survival strategy. Applied Microbiology and Biotechnology 102: 7821-7835.

Figueroa Perez, M. G., Rocha-Guzman, N. E., Mercado-Silva, E., Loarca-Pina, G. and Reynoso-Camacho, R. (2014) Effect of chemical elicitors on peppermint (*Mentha piperita*) plants and their impact on the metabolite profile and antioxidant capacity of resulting infusions. Food Chemistry 156: 273-278.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

Fravel, D. (2005) Commercialization and implementation of biocontrol. Annual Review of Phytopathology 43: 337-359.

Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G. and Goli, S. A. H. (2016) Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species. Applied Biochemistry and Biotechnology 178: 796.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Khalil, N., Fekry, M., Bishr, M., El-Zalabani, S. and Salama, O. (2018) Foliar spraying of salicylic acid induced accumulation of phenolics, increased radical scavenging activity and modified the composition of the essential oil of water stressed *Thymus vulgaris* L. Plant Physiology and Biochemistry 123: 65-74.

Khan, L. A. and Lee, I. J. (2016) Indol acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. Electronic Journal of Biotechnology 21: 58-64.

Kim, Y. C., Glick, B., Bashan, Y. and Ryu, C. M. (2013) Enhancement of plant drought tolerance by microbes. In: Plant Responses to Drought Stress (ed. Aroca, R.) Pp. 101-130. Springer Verlag, Berlin.

Lin, L. C. (2016) Growth effect of *Cinnamomum kanehirae* cuttings associated with its dark septate endophytes. Pakistan Journal of Biological Sciences 19: 299-305.

Manoranjan, K. and Bandhu-Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase and poly phenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Biochemistry and Enzymology 57: 315-319.

Mittler, R. and Blumwald, E. (2015) The roles of ROS and ABA in systemic acquired acclimation. Plant Cell 27: 64-70.

Rajkumar, M., Ma, Y. and Freitas, H. (2013) Improvement of Ni phytostabilization by inoculation of Ni resistant *Bacillus megaterium* SR28C. Journal Environmental Management 128: 973-980.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202.

Riachi, L. G. and De Maria, C. A. B. (2015) Peppermint antioxidants revisited. Food Chemistry 176: 72-81.

Sairam, R., Veerabhadra Rao, K. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.

Schwartz, A. R., Ortiz, I., Maymon, M., Herbold, C. W., Fujishige, N. A., Vijanderan, J. A., Villella, W., Hanamoto, K., Diener, A. and Sanders, E. R. (2013) *Bacillus simplex* a little known PGPB with anti-fungal activity alters Pea Legume root architecture and nodule morphology when co-inoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. Viciae. Agronomy 3: 595-620.

Seneviratne, G., Kecskes, M. L. and Kennedy, I. R. (2008) Biofilmed biofertilisers: Novel inoculants for efficient nutrient use in plants. In: Efficient Nutrient Use in Rice Production in Vietnam Achieved Using Inoculants Biofertilisers (eds. Kennedy, I. R., Choudhury, A. T. M. A., Kecskes, M. L. and Rose M. T.) Pp. 126-130. Proceedings of a project (SMCN/2002/073) workshop in Hanoi, Vietnam.

Sergiev, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Comptes Rendus Academic Bulgare Science 51: 121-124.

Srdjan, S., Dragana, V., Ivana, D., Branislava, S. and Milena, S. V. (2000) A modified microtiterplate test for quantification of *Staphylococcal* biofilm formation. Journal of Microbiological Methods 40: 175-179.

Szabados, L. and Savoure, A. (2009) Proline: A multifunctional amino acid. Trends in Plant Science 15: 89-97.

Tang, W. and Newton, R. J. (2005) Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regulation 46: 31-43.

Timmusk, S., Abd El-DaimI, A., Tanilas, T., Kannaste, A., Behers, L., Nevo, E., Seisenbaeva, G., Stenstrom, E. and Niinemets, U. (2014) Drought tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: Enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. PLOS One 9: e96086.

Verslues, P. E. and Bray, E. A. (2004) LWR1 and LWR2 are required for osmoregulation and osmotic adjustment in Arabidopsis. Plant Physiology 136: 2831-2842.

Xia, J., Liu, M. Y. and Jia, S. F. (2005) Water security problem in north china: Research and perspective. Pedosphere 15: 563-575.

Zhang, H. H., Tang, M., Chen, H. and Wang, Y. J. (2012) Effects of dark-septate endophytic isolate LBF-2 on medicinal plant *Lycium barbarum* L. Journal of Microbiology 50: 91-96.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]

The effect of *Peribacillus simplex* bacterium on the growth of *Mentha piprita* L. in different watering regimes

Esmaeil Karimi

Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran
(Received: 24/08/2022, Accepted: 13/12/2022)

Abstract

Growth promoting bacteria can support host plants against water stress as the most common abiotic stress, especially in arid and semi-arid regions. Peppermint is one of the valuable medicinal plants that can lose yield under water stress conditions. To end this, a factorial greenhouse experiment as randomized complete blocks with three replications was conducted. Treatments included: inoculation and non-inoculation of the Peribacillus simplex 54-1 bacterium on peppermint seedlings and three rates of watering: normal, moderate water stress with stopping watering 10 days before harvesting and severe water stress with stopping watering 20 days before harvesting. The results showed that P. simplex inoculation could increase the fresh and dry yield of the peppermint by 59% and 47%, respectively, in normal watering, as well as by 74% and 58% in moderate water stress and by 64% and 39% in severe water stress. The dry weight of the root was 84% increased under normal watering conditions and averagely 42% increased under water stress conditions in respect to their controls. Bacterium inoculation was able to decrease the production of malondialdehyde as an index of oxidative stress by 2.26 and 4.18 times in moderate and severe stress, respectively, in respect to non-inoculation conditions. Improving the peppermint antioxidant system by increasing the rate of polyphenol oxidase and catalase could be among the possible reasons for this situation. Therefore, this bacterium can be used as a suitable candidate in the preparation of biological fertilizer to deal with water stress in peppermint and increase its production.

Key words: Microbial auxin, Antioxidant enzymes, Leaf surface, Leaf dry weight, Proline

Corresponding author, Email: ka80@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.22.2]