بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

رساله دکتری مهندسی زراعت

تأثیر باکتری های محرک رشد گیاهی و کاربرد کود شیمیایی بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی شابیزک

محمد اینانلوفر

اساتید راهنما :

دکتر مصطفی حیدری

دکتر حسنعلی نقدی بادی

اساتید مشاور :

دکتر مجید تولیت ابوالحسنی

دکتر حسن مکاریان

دکتر محمدرضا عامریان

بهمن ۱۳۹۸

شماره: ۱۱۴/ر
تاریخ: ۱۳۹۹/۴/۱۴
ویرایش:

باسمه تعالی

مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره ۱۲: صورت جلّسه نهایی دفاع از رساله دکتری (Ph.D)

بدینوسیله گواهی می شود آقای محمد اینانلوفر دانشجوی دکتری رشته زراعت – فیزیولوژی گیاهان زراعی به شماره دانشجویی ۹۳۰۰۲۰۵ ورودی مهر سال ۱۳۹۳ در تاریخ ۱۳۹۸/۱۱/۱۳ از رساله **نظری**☐ / **عملی**☐ خود با عنوان : **تأثیر باکتری های محرک رشد گیاهی و کاربرد کود شیمیایی بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی شاپیزک**

دفاع و با اخذ نمره ...(۱۸/۵۰)... به درجه : ...خیلی خوب... نائل گردید.

جدول تعیین درجه نمره رساله برای ورودیهای ۹۴ و ماقبل

الف) درجه عالی: نمره ۲۰-۱۹ ☐ ب) درجه خیلی خوب: نمره ۱۸/۹۹ – ۱۷ ☑

ج) درجه خوب: نمره۱۶/۹۹– ۱۵☐ د) مردود: کمتر از ۱۵ ☐

ردیف	هیئت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱	دکتر مصطفی حیدری	استاد راهنما	دانشیار	
۲	دکتر حسنعلی نقدی بادی	استاد راهنما	دانشیار	
۳	دکتر مجید تولیت ابوالحسنی	مشاور	استادیار	
۴	دکتر حسن مکاریان	مشاور	دانشیار	
۵	دکتر محمدرضا عامریان	مشاور	دانشیار	
۶	دکتر مهدی برادران	استاد مدعو داخلی	دانشیار	
۷	دکتر احمد غلامی	استاد مدعو داخلی	دانشیار	
۸	دکتر خدایار همتی	استاد مدعو داخلی / خارجی	دانشیار	
۹	دکتر خلیل اژدری	سرپرست (نماینده) تحصیلات تکمیلی دانشکده	دانشیار	

مدیر محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه:

ضمن تأیید مراتب فوق مقرر فرمائید اقدامات لازم در خصوص انجام مراحل دانش آموختگی **آقای محمد اینانلوفر** بعمل آید.

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده : دکتر محمدرضا عامریان

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

تقدیم به :

با تمام عشق دستان پدر و مادرم را می‌بوسم که همواره دعای خیرشان را بدرقه راهم کرده‌اند و همه موفقیت خود را بعد از عنایت خدا و محبت اهل بیت علیهم السلام، از لطف بی دریغ و تلاشهای آنها می‌دانم.

تقدیم به همسر فداکار و مهربانم که همواره دلگرمی و محبت ایشان، انگیزه و توانایی انجام کارهای بزرگ را به من می‌دهد. صمیمانه از حضور گرم و پر مهر ایشان تشکر می‌نمایم.

تقدیم به فرزندان گلم که با قلبهای مهربانشان انگیزه انجام این کار را به من دادند.

سپاسگزاری :

خدای بزرگ و بی‌همتا را شاکرم که به این بنده حقیر توفیق تحصیل و درک علم را عطا نمود. بی‌شک الطاف الهی و محبت ائمه معصومین (علیهم السلام) انگیزه و توانایی انجام این کار را برای بنده فراهم نمود.

شایسته است از همه کسانی که در انجام این امر، بنده را همراهی نمودند مراتب تقدیر و تشکر خود را بیان نمایم.

از اساتید فرهیخته و ارجمند جناب آقای دکتر حیدری و دکتر نقدی بادی، به عنوان اساتید راهنما صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم که در تمام طول مدت پروژه از توصیه‌ها و راهنمایی‌های ارزشمندشان اینجانب را بی‌نصیب نگذاشتند.

از جناب آقای دکتر تولیت، دکتر مکاریان و دکتر عامریان که اساتید مشاور اینجانب بودند به خاطر کمک‌های فکری و معنوی که به اینجانب نمودند مراتب تقدیر و تشکر خود را اعلام می‌دارم.

از سایر اساتید دانشگاه شاهرود آقایان دکتر غلامی، دکتر برادران، دکتر اصغری دکتر عباس‌دخت و دکتر قلی‌پور که افتخار کسب علم و دانش از محضرشان را داشتم کمال تشکر و امتنان را دارم.

از مدیریت پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی و همچنین از حمایت جناب آقای دکتر نقدی بادی که امکان استفاده از شرایط و امکانات لازم را جهت اجرای انجام پایان نامه به اینجانب دادند کمال تشکر و امتنان را دارم.

تعهد نامه

اینجانب **محمد اینانلوفر** دانشجوی دوره دکتری رشته فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان‌نامه **تأثیر باکتری های محرک رشد گیاهی و کاربرد کود شیمیایی بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی شابیزک** تحت راهنمائی **دکتر مصطفی حیدری** متعهد می شوم:

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « **Shahrood University of Technology**» به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

لیست مقالات مستخرج از رساله تا تاریخ دفاع :

۱- **اینانلوفر م.، حیدری م.، نقدی‌بادی ح.، تولیت ابوالحسنی م.، مکاریان ح و عامریان م.** ۱۳۹۸. بررسی تغییرات میزان آتروپین و اسکوپولامین و ویژگیهای رشدی گیاه دارویی شابیزک (*Atropa belladonna* L.) تحت تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی. **مجله اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی**. (دارای گواهی پذیرش مقاله «**Article Acceptance**»).

۲- **اینانلوفر م.، حیدری م.، نقدی‌بادی ح.، تولیت ابوالحسنی م.، مکاریان ح و عامریان م.** ۱۳۹۸. پاسخ‌های فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی گیاه دارویی شابیزک(*Atropa belladonna* L.) به باکتری‌های محرک رشد در شرایط گلخانه‌ای. **فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی**. دوره۴، شماره۷۲. ص ۲۴۱-۲۲۸ . (دارای گواهی پذیرش مقاله «**Article Acceptance**»).

۳- **اینانلوفر م.، حیدری م.، نقدی‌بادی ح.، تولیت ابوالحسنی م.، مکاریان ح و عامریان م.** ۱۳۹۷. بررسی اثر دما و نور بر صفات جوانه زنی بذر گیاه دارویی شابیزک (*Atropa belladonna* L.). **سومین کنگره بین‌المللی و پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.**

٤- **اینانلوفر م.، حیدری م.، نقدی‌بادی ح.، تولیت ابوالحسنی م.، مکاریان ح و عامریان م.** ۱۳۹۷. ارزیابی رشد گیاهچه گیاه دارویی شابیزک (*Atropa belladonna* L.) تحت تأثیر دما و نور. **سومین کنگره بین‌المللی و پانزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.**

چکیده :

به منظور بررسی تأثیر باکتری های محرک رشد گیاهی و کاربرد کود شیمیایی بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی شابیزک سه آزمایش بصورت مزرعه‌ای، گلدانی و آزمایشگاهی در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی در حصارک کرج در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ انجام گردید. در آزمایشگاه جهت ارزیابی تأثیر نور در شرایط مختلف دمایی بر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و تعیین دمای کاردینال، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل دما در ۷ سطح دمایی: ۵ ، ۱۰ ، ۱۵ ، ۲۰ ، ۲۵ ، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد به عنوان عامل اول و ۳ سطح نوری: روشنایی کامل، تاریکی کامل و ۸ ساعت تاریکی + ۱۶ ساعت روشنایی به عنوان عامل دوم در رطوبت ۷۵-۷۰ درصد لحاظ شدند. نتایج نشان داد در محدوده دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد اکثر صفات بیشترین عملکرد را داشتند. در این آزمایش همبستگی مثبت و معنی داری بین درصد و سرعت جوانه‌زنی با شاخص بنیه بذر و وزن خشک گیاهچه بدست آمد. دمای کاردینال بذور از سه مدل خطوط متقاطع یا دو تکه‌ای، مدل مسطح یا دندان مانند و مدل بتا(β) محاسبه گردید که میانگین ۳، ۲۰ و ۴۰ در دمای مینیمم، اپتیمم و ماکزیمم بدست آمد. در هر دو آزمایش مزرعه و گلدانی، آزمایش بصورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل عدم استفاده از باکتری‌های محرک رشد (شاهد)، سودوموناس، ازتوباکتر، سودوموناس+ ازتوباکتر و تیوباسیلوس+گوگرد به عنوان عامل اول و تیمار کود شیمیایی در سه سطح شامل: عدم مصرف کود شیمیایی یا شاهد ، ۵۰٪ کود توصیه شده و ۱۰۰٪ کود توصیه شده به عنوان عامل دوم بودند. نتایج نشان داد در آزمایش گلدانی بیشترین حجم، قطر و وزن خشک ریشه در تیمار ازتوباکتر با ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد. بیشترین میزان آتروپین و اسکوپلامین در برگ به ترتیب ۱۹/۵۸ و ۷/۷۷ میلی گرم بر گرم ماده خشک در تیمار عدم تلقیح باکتری با ۵۰٪ کود توصیه شده حاصل شد. بالاترین میزان آتروپین ریشه برابر ۷/۶۹ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک مربوط به تیمار تیوباسیلوس+گوگرد با ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده بود. و بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه (۵/۶۹ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) در تیمار عدم تلقیح با ۵۰٪ کود توصیه شده مشاهده شد. در آزمایش مزرعه‌ای تیمار برتر تیمار سودوموناس بود. حداکثر عملکرد کل گیاه از تیمار سودوموناس با ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد. بالاترین سطح آتروپین و اسکوپلامین برگ به ترتیب ۲۷/۵ و ۱۰/۴ میلی گرم بر گرم ماده خشک مربوط به تیمار سودوموناس با ۵۰٪ کود توصیه شده و تیمار عدم استفاده از کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده بود. در این بین بیشترین حداکثر میزان آتروپین ریشه (۱۱/۵ میلی گرم بر گرم ماده خشک) مربوط به تیمار سودوموناس با عدم استفاده از کود شیمیایی توصیه شده بود و بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه (۵/۶۹ میلی گرم بر گرم ماده خشک) در تیمار سودوموناس با ۱۰۰٪ کود توصیه شده مشاهده شد.

کلمات کلیدی : آلکالوئید ، آتروپین ، اسکوپولامین.

﴿فهرست مطالب﴾

عنوان	صفحه
فصل ۱ : مقدمه و کلیات	
۱-۱- مقدمه	۲
۱-۲-گیاه دارویی شابیزک	۴
۱-۲-۱- تاریخچه	۴
۱-۲-۲- اسامی گیاه	۵
۱-۲-۳- گیاهشناسی	۵
۱-۲-۴- اکولوژی	۷
۱-۲-۵- پراکنش	۸
۱-۳- اثرات دارویی گیاه شابیزک	۸
۱-۴- ترکیبات طبیعی گیاه دارویی شابیزک	۸
۱-۴-۱- تروپان	۹
۱-۴-۲- بیوسنتز آتروپین و اسکوپولامین	۱۰
۱-۴-۳- آتروپین(هیوسیامین)	۱۰
۱-۴-۴- اسکوپولامین(هیوسین)	۱۱
۱-۴-۵- بررسی کیفی آتروپین و اسکوپولامین	۱۲
۱-۴-۶- محل ساخت آتروپین و اسکوپولامین	۱۳
۱-۵- سمیت و عوارض جانبی	۱۳
۱-۶- محصولات مهم دارویی گیاه شابیزک	۱۳
۱-۶-۱- قطره چشمی سولفات آتروپین	۱۳
۱-۶-۲- آمپول های خودتزریق سولفات آتروپین	۱۴
۱-۷- اهمیت استفاده از کودهای زیستی	۱۴
۱-۸- چالش ها و فرصت های پیش روی صنعت گیاهان دارویی	۱۵
۱-۹- چشم انداز صنعت گیاهان دارویی کشور در افق ۱۴۰۴	۱۶
۱-۱۰- فرضیه ها	۱۷
۱-۱۱- اهداف طرح	۱۷

فصل ۲ : بررسی منابع

۲۰ ۲-۱- جوانه زنی

۲۱ ۲-۱-۱- تأثیرات دما بر جوانه زنی

۲۲ ۲-۱-۲- دماهای کاردینال جوانه زنی

۲۳ ۲-۱-۳- نور و جوانه زنی

۲۳ ۲-۲- کودهای زیستی

۲۳ ۲-۲-۱- ظهور کودهای زیستی

۲۵ ۲-۲-۲- دسته بندی کودهای زیستی با توجه به نوع میکروارگانیسم ها

۲۶ ۲-۲-۳- مهم ترین کودهای زیستی بر اساس نقش میکروارگانیسم ها

۲۶ ۲-۲-۴- مزایای استفاده از کودهای زیستی

۲۷ ۲-۲-۵- معایب استفاده از کودهای زیستی

۲۸ ۲-۲-۶- کودهای زیستی باکتریایی **PGPR**

۲۹ ۲-۲-۷- مزایای استفاده از کودهای زیستی باکتریایی **PGPR**

۳۰ ۲-۲-۸- انواع تأثیر **PGPR** بر گیاهان

۳۱ ۲-۲-۹- تحقیقات علمی در خصوص تأثیر کودهای زیستی بر رشد گیاهان

۳۹ ۲-۲-۱۰- **PGPR** و روش های افزایش دهنده عملکرد در گیاهان

۳۹ ۲-۲-۱۰-۱- توانایی حل فسفات‌های معدنی نامحلول

۳۹ ۲-۲-۱۰-۲-توانایی حل فسفات‌های آلی نامحلول

۴۰ ۲-۲-۱۰-۳-توان تولید سیدروفور

۴۰ ۲-۲-۱۰-۴-تولید فیتوهورمونها

۴۱ ۲-۲-۱۰-۵-کاهش تولید اتیلن در گیاه

۴۱ ۲-۲-۱۰-۶-تولید آنزیم **ACC** -دآمیناز

۴۲ ۲-۲-۱۰-۷- بیوسنتز ریزوبیتوکسین

۴۲ ۲-۲-۱۰-۸-تولید سیانید

۴۳ ۲-۳- کودهای شیمیایی

۴۳ ۲-۳-۱- تحقیقات علمی در خصوص تأثیر کودهای شیمیایی بر رشد گیاهان

۵۰ ۲-۳-۲- معایب استفاده از کودهای شیمیایی

۵۰ ۲-۳-۲-۱- هزینه بالای تولید کودهای شیمیایی

۲-۲-۳-۲- خسارت های ناشی از مصرف کودهای شیمیایی ۵۱
۲-۳-۲- آسیب کودهای شیمیایی به محیط زیست ۵۲
۲-۳-۴- آسیب کودهای شیمیایی به سلامتی انسان ۵۲
۲-۴- بررسی عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان ۵۴
۲-۴-۱- نیتروژن (**N**) ۵۴
۲-۴-۱-۱- ازتوباکتر و مکانیسم عملکرد ۵۵
۲-۴-۱-۲- ویژگی های اکولوژیک ازتوباکتر ۵۶
۲-۴-۲- فسفر (**P**) ۵۹
۲-۴-۲-۱- سودوموناس و مکانیسم عملکرد ۶۰
۲-۴-۳- گوگرد (**S**) ۶۲
۲-۴-۳-۱- تیوباسیلوس و مکانیسم عملکرد ۶۳
فصل ۳ : مواد و روشها
۳-۱- مشخصات طرح آزمایشی ۶۶
۳-۲- آزمایش جوانه زنی ۶۶
۳-۲-۱- روش های اندازه گیری صفات ۶۷
۳-۲-۱-۱ درصد جوانه‌زنی ۶۷
۳-۲-۱-۲ سرعت جوانه‌زنی ۶۷
۳-۲-۱-۳ میانگین مدت زمان جوانه‌زنی ۶۷
۳-۲-۱-۴ شاخص بنیه بذر ۶۷
۳-۲-۱-۵ اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و ریشه‌چه ۶۸
۳-۲-۱-۶ اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه ۶۸
۳-۲-۱-۷ دمای کاردینال ۶۸
۳-۳- آزمایش مزرعه ای ۷۰
۳-۳-۱- روش های اندازه گیری صفات ۷۳
۳-۳-۱-۱ اندازه‌گیری وزن خشک برگ و ساقه ۷۳
۳-۳-۱-۲ اندازه‌گیری میزان سبزینگی برگ‌ها ۷۳
۳-۳-۱-۳ محاسبه آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه ۷۳
۳-۳-۱-۴ اندازه‌گیری مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ ۷۵

۵-۱-۳-۳ اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات محلول برگ ۷۶
۶-۱-۳-۳ اندازه‌گیری ارتفاع بوته ۷۷
۷-۱-۳-۳ عملکرد کل گیاه ۷۷
۸-۱-۳-۳ تعداد گل آذین و انشعابات بوته ۷۷
۴-۳- آزمایش گلخانه ای ۷۸
۱-۴-۳- روش های اندازه گیری صفات ۸۰
۱-۱-۴-۳ حجم ریشه ۸۰
۲-۱-۴-۳ قطر ریشه ۸۰
۳-۱-۴-۳ اندازه‌گیری طول ریشه اصلی ۸۰
۵-۳- تحلیل آماری ۸۰

فصل ۴ : نتایج و بحث
۱-۴- آزمایش جوانه زنی ۸۲
۱-۱-۴- درصد جوانه زنی ۸۲
۲-۱-۴- سرعت جوانه زنی ۸۲
۳-۱-۴- میانگین مدت زمان جوانه زنی ۸۳
۴-۱-۴- شاخص بنیه بذر ۸۳
۵-۱-۴- طول ریشه چه ۸۶
۶-۱-۴- طول ساقه چه ۸۶
۷-۱-۴- نسبت طول ساقه چه به ریشه چه(ضریب آلومتری) ۸۷
۸-۱-۴- وزن خشک گیاهچه ۸۸
۹-۱-۴- دمای کاردینال ۹۰
۱-۹-۱-۴- مدل خطوط متقاطع یا دو تکه ای ۹۰
۲-۹-۱-۴- مدل مسطح یا دندان مانند ۹۱
۳-۹-۱-۴- مدل بتا(β) ۹۲
۱۰-۱-۴- ضریب همبستگی ساده پیرسون در صفات آزمایش جوانه‌زنی ۹۳
۲-۴- آزمایش مزرعه ای ۹۷
۱-۲-۴- ارتفاع بوته ۹۷

۲-۲-۴- عملکرد کل گیاه ۹۷
۳-۲-۴- وزن خشک برگ ۹۸
۴-۲-۴- وزن خشک ساقه ۹۹
۵-۲-۴- تعداد گل آذین بوته ۹۹
۶-۲-۴- تعداد انشعابات بوته ۱۰۰
۷-۲-۴- میزان سبزینگی برگ ۱۰۰
۸-۲-۴- مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ ۱۰۱
۱-۸-۲-۴- مقدار عنصر نیتروژن ۱۰۱
۲-۸-۲-۴- مقدار عنصر فسفر ۱۰۲
۳-۸-۲-۴- مقدار عنصر پتاسیم ۱۰۳
۹-۲-۴- میزان کربوهیدرات محلول برگ ۱۰۳
۱۰-۲-۴- مقدار آتروپین(هیوسیامین) و اسکوپولامین(هیوسین) ۱۰۵
۱-۱۰-۲-۴- مقدار آتروپین برگ ۱۰۵
۲-۱۰-۲-۴- مقدار آتروپین ریشه ۱۰۵
۳-۱۰-۲-۴- مقدار اسکوپولامین برگ ۱۰۵
۴-۱۰-۲-۴- مقدار اسکوپولامین ریشه ۱۰۵
۱۱-۲-۴- ضریب همبستگی ساده پیرسون در صفات آزمایش مزرعه ای ۱۰۸
۳-۴- آزمایش گلخانه ای ۱۱۲
۱-۳-۴- حجم ریشه ۱۱۲
۲-۳-۴- قطر ریشه ۱۱۲
۳-۳-۴- طول ریشه اصلی ۱۱۳
۴-۳-۴- وزن خشک ریشه ۱۱۴
۵-۳-۴- وزن خشک اندام هوایی ۱۱۴
۶-۳-۴- نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه ۱۱۵
۷-۳-۴- مقدار آتروپین(هیوسیامین) و اسکوپولامین(هیوسین) ۱۱۷
۱-۷-۳-۴- مقدار آتروپین برگ ۱۱۷
۲-۷-۳-۴- مقدار آتروپین ریشه ۱۱۷
۳-۷-۳-۴- مقدار اسکوپولامین برگ ۱۱۷

۴-۷-۳-۴- مقدار اسکوپولامین ریشه ۱۱۷
۸-۳-۴- مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ ۱۱۹
۱-۸-۳-۴- مقدار عنصر نیتروژن ۱۱۹
۲-۸-۳-۴- مقدار عنصر فسفر ۱۱۹
۳-۸-۳-۴- مقدار عنصر پتاسیم ۱۲۰
۹-۳-۴- ضریب همبستگی ساده پیرسون در صفات آزمایش گلخانه ای ۱۲۲
۴-۴- نتیجه‌گیری ۱۲۶
۵-۴- پیشنهادات ۱۲۸
پیوست ۱۲۹
منابع ۱۳۱
چکیده انگلیسی ۱۵۹

﴿فهرست جداول﴾

عنوان	صفحه
جدول ۲-۱- طبقه بندی ازتوباکتر	۵۸
جدول ۲-۲- گونه های مختلف جنس ازتوباکتر	۵۸
جدول ۳-۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه تا عمق ۳۰ cm	۷۰
جدول ۳-۲- مشخصات اقلیمی(میانگین ۲۰ ساله دما و بارندگی) و مشخصات جغرافیایی مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی	۷۰
جدول ۳-۳- میانگین برخی شاخص‌های آب و هوایی منطقه کشت گیاه شابیزک در طول دوره رشد (۲۰۱۷)	۷۱
جدول ۴-۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) ویژگی‌های صفات جوانه‌زنی گیاه دارویی شابیزک در سطوح مختلف دما و نور	۸۵
جدول ۴-۲- مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی گیاه دارویی شابیزک تحت تأثیر اثر متقابل دما و نور	۸۵
جدول ۴-۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) ویژگی‌های صفات گیاهچه گیاه دارویی شابیزک در سطوح مختلف دما و نور	۸۹
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین صفات گیاهچه گیاه دارویی شابیزک تحت تأثیر اثر متقابل دما و نور	۸۹
جدول ۴-۵- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش جوانه‌زنی	۹۶
جدول ۴-۶- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط مزرعه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی	۱۰۴
جدول ۴-۷- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در آزمایش مزرعه‌ای	۱۰۴
جدول ۴-۸- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط مزرعه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی	۱۰۷
جدول ۴-۹- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به تغییرات میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه گیاه شابیزک در آزمایش مزرعه‌ای	۱۰۷

جدول ۴-۱۰- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش مزرعه‌ای ۱۱۰
جدول ۴-۱۱- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش مزرعه‌ای ۱۱۱
جدول ۴-۱۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی ۱۱۶
جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای ۱۱۶
جدول ۴-۱۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی ۱۲۱
جدول ۴-۱۵- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای ۱۲۱
جدول ۴-۱۶- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش گلخانه‌ای ۱۲۴
جدول ۴-۱۷- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش گلخانه‌ای ۱۲۵

﴿فهرست تصاویر﴾

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱– شماتیک گیاه شابیزک ***Atropa belladonna* L.**	۷
شکل ۱-۲- ساختار اتمی آتروپین	۱۱
شکل ۱-۳- ساختار اتمی اسکوپولامین	۱۲
شکل ۲-۱- مهمترین اثرات و عمل‌های فیزیولوژیکی در گیاه تحت تأثیر محرکهای زیستی گیاهی	۳۰
شکل ۳-۱- نمونه کروماتوگرام **HPLC** آتروپین و اسکوپولامین اندام گیاهی (الف) و محلول استاندارد (ب)	۷۵
شکل ۴-۱- مدل خطوط متقاطع یا دو تکه‌ای	۹۰
شکل ۴-۲- مدل مسطح یا دندان مانند	۹۱
شکل ۴-۳- مدل بتا(**β**)	۹۲
شکل ۴-۴- محیط کشت جوانه‌زنی گیاه شابیزک	۱۲۹
شکل ۴-۵- آماده سازی بستر کشت و کاشت گیاه شابیزک در گلدان و مزرعه	۱۲۹
شکل ۴-۶- نمونه برداشت شده جهت اندازه‌گیری صفات	۱۳۰
شکل ۴-۷- محیط خشک کردن نمونه‌های برداشت شده مزرعه و گلخانه	۱۳۰

فصل اوّل
مقدّمه وکلیّات

۱-۱- مقدّمه

رویکرد و میزان استفاده و مصرف داروهای گیاهی و گیاهان دارویی در سراسر جهان روز به روز در حال افزایش است(فلاحی و همکاران، ۲۰۰۸). در حال حاضر یک سوم داروهای مورد استفاده بشر را داروهایی با منشاء گیاهی تشکیل می‌دهند. نیاز روزافزون کارخانه‌های داروسازی و لزوم حفظ منابع طبیعی گیاهی، اهمیت مطالعه روی کشت و زرع و تولید گیاهان دارویی و معطر را دو چندان نموده است(بقالیان و نقدی بادی، ۱۳۷۹). و علاقه برای تولید گیاهان دارویی و معطر و تقاضا برای محصولات طبیعی به طور مداوم در جهان رو به افزایش است(کاروبا و همکاران، ۲۰۰۲). به گونه‌ای که قرن بیستم را قرن بازگشت به طبیعت و قرن استفاده از داروهای گیاهی نام‌گذاری نموده‌اند. بر پاشدن نهضت جهانی انقلاب سبز و اعلام ممنوعیت سازمان بهداشت جهانی مبنی بر عدم استفاده از رنگ‌ها و اسانس‌های مصنوعی و عوارض جانبی داروهای شیمیایی در سال های اخیر سبب رونق کشت و کار گیاهان دارویی شده است. در حال حاضر در کشورهای در حال توسعه داروهای سنتی اساس درمان ۸۰ درصد مردم، یعنی بیش از ۳ میلیارد انسان را تشکیل می‌دهند و تنها در چین ۵۱۰۰ گونه گیاهی در این زمینه استفاده می‌شود(کوچکی، ۱۳۷۶).

تخمین زده می‌شود که حدود ۲۵٪ از کلیه داروهای جدید به طور مستقیم یا غیرمستقیم از گیاهان عالی مشتق شده‌اند. همچنین در برخی موارد ویژه مانند داروهای ضد سرطانی و ضد میکروبی، در حدود ۶۰٪ از داروهای موجود در بازار از گیاهان عالی مشتق شده‌اند(فلچر و همکاران، ۲۰۱۰). کشور ایران از تنوع اقلیمی و زیستی بالایی برخوردار است، به طوری که در کشور ایران حدود ۱۱۰۰ گونه مختلف از گیاهان دارویی وجود دارد و برخی معتقدند تا حدود ۲۳۰۰ گونه گیاه دارویی در ایران قابل رویش است. متاسفانه در کشور ایران تنها حدود ۳ تا ۴ درصد از داروهای مورد استفاده منشاء گیاهی دارند در حالی که بیش از ۳۰ درصد داروهای مورد استفاده در کشورهای اروپایی با استفاده از گیاهان دارویی ساخته می‌شوند و در پرجمعیت ترین کشور جهان (چین) به بیش از ۸۰ درصد می‌رسد. بازار جهانی داروهای گیاهی و فراورده‌های طبیعی سالانه به صدها میلیارد دلار بالغ می‌شود و سهم کشور ایران از

این تجارت جهانی تنها ۶۰ تا ۹۰ میلیون دلار است که بخش عمده‌ای از آن مربوط به صادرات زعفران است(وجدانی، ۱۳۸۱).

در تعریف گیاه دارویی، گیاه دارویی به گیاهی گفته می‌شود که تمام آن یا اجزایی از آن به صورت تازه، خشک شده یا فرآوری شده جهت تشخیص، درمان، پیشگیری، کمک به اعمال فیزیولوژیک و حفظ بهداشت بدن انسان یا حیوانات و دیگر گیاهان به کار می‌رود (حیدری، ۱۳۸۵). این گیاهان بخش مهمی از گیاهان اقتصادی جهان را تشکیل می‌هند. و شامل گونه‌ها و ارقام متعددی هستند که حاوی ترکیبات فعال می‌باشند و در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. متابولیت‌های ثانویه‌ای که توسط این گیاهان تولید می‌شوند، علاوه بر صنعت داروسازی، در صنایع دیگر از جمله در صنایع غذایی، مواد آرایشی و بهداشتی، رنگ سازی و در صنایع نساجی و قالیبافی و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه در جوامع علمی، مصرف گیاهان دارویی به این شیوه نیست که این گیاهان از طبیعت جمع‌آوری شده و فقط در بسته‌های متفاوت به فروش برسد، بلکه تلاش بر آن است، تا با بکارگیری استراتژی‌های خاص زراعی همگام با حفظ استعدادهای اصیل ژنتیکی بر غنای ترکیبات موثره آن بیافزایند و سپس با انجام فرایندهای استخراج و فرمولاسیون، داروی استاندارد مورد نظر را تولید، و به جامعه عرضه نمایند. اگرچه مواد موثره گیاهان دارویی با هدایت فرایندهای ژنتیکی در گیاه تولید می شوند، ولی ساخت آنها به طور آشکاری تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. این عوامل سبب تغییراتی در رشد و نمو، همچنین کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان دارویی(نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و اسانس‌ها) می‌شود(امیدبیگی، ۱۳۸۴).

از آن‌جایی که گیاهان دارویی به عنوان یک منبع طبیعی و ثروت ملی از اهمیت زیادی برخوردار هستند، استفاده مستقیم از گیاهان دارویی حاصل از دست‌رنج طبیعت به جای استفاده از انواع قابل کشت و توسعه آن‌ها در سطح زراعی و آزمایشگاهی توصیه نمی‌شود. در صورت عدم کشت و هم‌چنین بهره‌برداری یک جانبه و مفرط گیاهان دارویی از طبیعت، در آینده‌ای نه چندان دور با بحران زیست محیطی روبه‌رو شده و چه بسا انقراض برخی از گونه‌های با ارزش گیاهی را نیز به دنبال خواهد

داشت(امیدبیگی، ۱۳۸۴). بنابراین طبیعت محل استخراج دارو نیست، بلکه بیشتر جای ردپای شناسایی و مدل‌بندی برای استفاده اصولی از آن است و از این رو باید به عنوان منبع عظیم ژن‌ها و ذخایر بیوشیمیایی به‌طور جدی تحت مراقبت‌های مستمر علمی و نمونه‌گیری صحیح قرار گیرد. ضمن اینکه با افزایش جمعیت کنونی و فشاری که بر عرصه‌های طبیعی وجود دارد، اصولاً حجم تقاضای گسترده کنونی جواب داده نخواهد شد مگر با روش‌های مناسب تولید زراعی این گیاهان از عمده اهداف و انگیزه‌های کشاورزان در انتخاب گیاه دارویی به عنوان یک گیاه زراعی، افزایش بهره‌وری آن‌ها در مقایسه با سایر محصولات زارعی می‌باشد به ویژه آن‌که برخی از انواع این گیاهان در شرایط آب وهوایی نامساعد و محدود نیز قابلیت کشت و تولید را دارند(نادری، ۱۳۸۶).

علاوه بر موارد اشاره شده، سایر محاسن کشت گیاهان دارویی به شرح ذیل است :

۱- کشت مقدار زیادی از گیاهان دارویی در یک مساحت محدود امکان پذیر بوده و به آسانی می‌توان به آنها دسترسی پیدا کرد.

۲- کیفیت و کمیت مواد متشکله این گیاهان را می‌توان به راحتی به وسیلهٔ کشت نژادها و بذرهای اصلاح شده بالا برد. زیرا فراهم کردن شرایط اقلیمی از قبیل: اصلاح نوع خاک، آب و هوا و شرایط دیگری مثل جلوگیری از آفت، حشرات و قارچ‌ها به موقع و به آسانی انجام‌پذیر می‌باشد(صمصام شریعت، ۱۳۸۲).

۱-۲-گیاه دارویی شابیزک

۱-۲-۱- تاریخچه

نام آتروپا بلادون توسط کارل لینه در کتاب گونه‌های پلانتاروم(Species Plantarum) در سال ۱۷۵۳ معرفی شد. پیش از قرون وسطا، از این گیاه به عنوان داروی بیهوشی عمل جراحی استفاده می‌شد؛ رومیان باستان از آن به عنوان یک سم استفاده می‌کردند و قبل از این تاریخ نیز به منظور ساخت سرنیزه‌های سمی به کار می‌رفت. نام "*آتروپا*" از آتروپوس که یکی از سه تقدیر در افسانه‌های یونان

است می‌آید. نام "*بلادونا*" نیز در زبان ایتالیایی به معنای زن زیبا است و علت انتخاب این نام برای این محصول استفاده از آن توسط زنان بوده است. قطره به دست آمده از گیاه بلادونا برای گشاد کردن مردمک چشم زنان مورد استفاده قرار می‌گرفت. باور بر این بوده است که مردمک بزرگ چشم اثری جذاب و مسحور کننده دارد. قطره‌های بلادون مانند یک ضد موسکارینی رفتار می‌کنند و سد راه گیرنده‌های درون ماهیچه چشم که کوچک کننده اندازه مردمک چشم هستند، قرار می‌گیرند. در حال حاظر این گیاه مصرف آرایشی ندارد چرا که دارای اثرات منفی از جمله تأثیر نامطلوب ایجاد اختلالات بینایی جزئی، ایجاد ناتوانی در تمرکز بر روی اشیا نزدیک، و افزایش ضربان قلب است. گزارش شده است که استفاده طولانی مدت باعث از دست رفتن بینایی می‌شود(داتا و پائول، ۲۰۱۱).

۱-۲-۲- اسامی گیاه

علمی : Atropa belladonna L. **عربی :** ست الحسن **فرانسوی :** Belladone

مترادف : Atropa lethalis و Atropa acuminate (صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰).

فارسی : شاه‌بیزک، شابیزک، بلادون (صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰) ، مردم گیاه، مهر گیاه (معین، ۱۳۸۸).

انگلیسی :

Death cherries، Devil's berries، Belladona، Deadly nightshade (لطیف و گری، ۲۰۰۶)

۱-۲-۳- گیاهشناسی

تیرهٔ سیب‌زمینی یکی از تیره‌های مهم با ۵۸ جنس و نزدیک به ۲۰۰۰ گونه است که ۹۰۰ گونهٔ آن را جنس سولانوم تشکیل می‌دهد. تیرهٔ سیب زمینی را از نظر کاربرد دارویی و غذایی باید یکی از تیره‌های بسیار مهم نهاندانگان به شمار آورد(قهرمان، ۱۳۷۳). شابیزک گیاهی است چند ساله(وکیلی، ۱۳۸۹) از تیرهٔ سیب‌زمینی و خانواده Solanaceae و جنس Atropa است(احمدیان، ۱۳۸۷).

❖ **ارتفاع** ؛ گیاهی است علفی پایا(ایستاده) و به ارتفاع ۱ تا ۱/۵ متر.

❖ **ساقه** ؛ ساقه‌های آن استوانه‌ای، پوشیده از تار و در انتها دارای تقسیمات دوتایی یا سه تایی است.

❖ **ریشه** ؛ دارای ریشه‌هایی دراز، منشعب، ضخیم، گوشتدار و به رنگ حنایی است.

❖ **وزن هزار دانه** ؛ وزن هزار دانه آن ۱/۰۷ تا ۱/۱۶ گرم است(النا و همکاران، ۱۹۹۷).

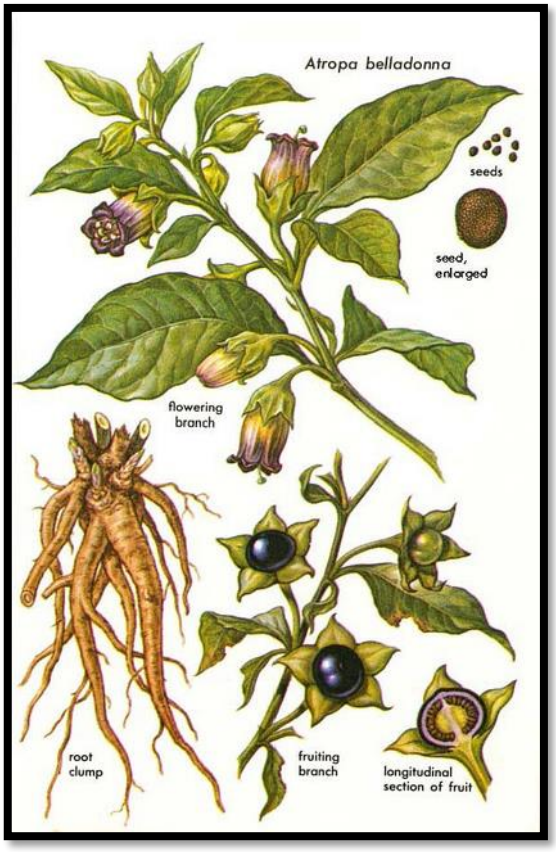
❖ **برگ** ؛ برگ‌ها به شکل بیضی نوک‌تیز با کناره‌های تقریباً ناصاف و فرورفتگی‌های جزئی می‌باشند. این برگ‌ها با دمبرگ کوتاه و به صورت منفرد و متناوب بر روی شاخه‌ها قرار دارند که اندازه آنها در قسمت‌های فوقانی گیاه متفاوت است و به شکل بزرگ و کوچک در کنار هم هستند.

❖ **گل** ؛ گل‌ها در کنار برگ‌ها می‌رویند، به شکل استوانه بوده و به پنج لب کوچک برگشته ختم می‌شوند. رنگ گلها قهوه‌ای کمرنگ و در انتهای جام گل مایل به بنفش است. پس از تبدیل گل به میوه، کاسبرگ به صورت ستاره‌ای ۵ پر در پشت آن قرار می‌گیرد.

❖ **میوه** ؛ میوه این گیاه از نوع سته‌ای و حاوی تعدادی دانه تیره رنگ است که پس از رسیدن به اندازه گیلاس می‌شود. این میوه ابتدا سبز رنگ بوده ولی پس از رسیدن کامل به رنگ بادمجانی در می‌آید(صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰).

❖ **وضعیت کروموزومی** ؛ شابیزک بلحاظ تعداد کروموزومی($2n=72$) است(بابیکوک و همکاران، ۱۹۹۲).

❖ **قسمت‌های مورد استفاده** ؛ قسمت‌های کاربردی این گیاه برگ، ریشه، میوه و دانه آن است که کلیه آنها سمی هستند(روسی و دراگر، ۲۰۰۲).



شکل ۲-۱- شماتیک گیاه شابیزک .Atropa belladonna L

۱-۲-۴- اکولوژی

شابیزک در طول رویش به شرایط آب و هوایی مرطوب و آب فراوان نیاز دارد. این گیاه در مناطق خشک به کندی رشد می‌کند، از این رو کاشت شابیزک در شرایط مرطوب و در مناطقی که رطوبت هوا زیاد باشد موفقیت‌آمیز خواهد بود. خاک‌های مناسب برای کاشت و تکثیر شابیزک، خاک‌های شنی غنی از ترکیبات کلسیم‌دار و خاک‌هایی که حاوی مقادیر فراوان مواد و ترکیبات هوموسی می‌باشند. به علت گسترش زیاد ریشه(طول ریشه به ۶۰-۴۰ سانتی‌متر می‌رسد) برای کشت شابیزک باید از زمین‌هایی با خاک زراعی عمیق استفاده نمود(هورنوک، ۱۹۸۷). گرما و نور فراوان باعث افزایش آلکالوئیدهای آن می‌شود و نور یکی از عوامل مؤثر بر پراکنش این گیاه می‌باشد(احمدیان، ۱۳۸۷). زمان گل‌دهی این گونه بهار و زمان میوه‌دهی تابستان و پاییز است(داتا و پائول، ۲۰۱۱).

۱-۲-۵- پراکنش

پراکندگی جغرافیایی جهانی گیاه شابیزک در اروپا، شمال آفریقا و غرب آسیا است(داتا و پائول، ۲۰۱۱). محل رویش آن در ایران مناطق شمالی از جمله طوالش، اسالم ، اسالم به خلخال و اطراف آستارا است(صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰).

۱-۳- اثرات دارویی گیاه شابیزک

در طب سنتی به عنوان آرام بخش اعضای متورم به خصوص معده و روده مورد استفاده قرار می‌گیرد. ضد اسپاسم عضلات صاف، تخدیرکننده، کاهش عرق و مسکن است. در بیماری پارکینسون برای کاهش لرزش و سختی اعضا و افزایش قدرت تکلم و حرکت همچنین به عنوان داروی بی هوشی تجویز می‌شود(زرگری، ۱۳۷۲). از دیگر خواص درمانی گیاه دارویی شابیزک می‌توان به درمان بیماری‌های مختلفی مانند آسم، سیاه سرفه، گشاد کننده مردمک چشم، صرع، دفع غیر عادی ادرار، سرعت انزال، درد معده، یبوست‌های مقاوم، دردهای آپاندیسیت، سرگیجه، قولنج‌های کبدی و کلیوی، ترشح فراوان عرق و تعرق شبانه مسلولین اشاره نمود(اُکسمان و همکاران، ۱۹۹۱).

۱-۴- ترکیبات طبیعی گیاه دارویی شابیزک

ترکیباتی که از منابع طبیعی استخراج می‌شوند را ترکیبات طبیعی می‌نامند. که در عصاره گیاهی می‌توان به آلکالوئیدها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، لیگنان‌ها، استروئیدها، قندها، ترپنوئیدها و غیره اشاره کرد. امروزه بیش از۵۵۰۰ آلکالوئید(قلیا مانند) شناخته شده است. برای اولین بار کلمه آلکالوئید توسط یک داروشناس آلمانی به کار گرفته شد که یکی از مهمترین و بزرگترین گروه‌های فرآورده‌های ثانویه متابولیسمی در گیاهان می‌باشند. آلکالوئیدها مواد قلیایی هستند که در ملکول خود یک یا چند اتم نیتروژن دارند و معمولاً در حلقه هتروسیکل واقع شده‌اند و دارای ساختارهای شیمیایی مختلفی بوده و در گیاه به صورت بازهای آزاد، نمک و یا N-اکسید وجود دارند(لطیف و گری، ۲۰۰۶).

آلکالوئیدهای گیاهی، یکی از بزرگترین گروه متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی و صنعتی هستند که در بسیاری از گیاهان بررسی شده‌اند. تعدادی از گیاهان خانواده سیب‌زمینی، از جمله شابیزک(Atropa belladonna) بنگ‌دانه(Hyoscyamus niger)، تاتوره(Datura stramonium) و مهرگیاه(Mandragora officinarum) نیز در ایران به حالت خودرو می‌رویند که به دلیل داشتن آلکالوئیدهای باارزش دارای خاصیت دارویی هستند(زرگری، ۱۳۷۵). شابیزک از قدیم در طب سنتی مورد توجه بوده است و این ویژگی به آلکالوئیدهای موجود در آن مربوط می شود(زمان،۱۳۷۰). ریشه و برگ گیاه حاوی هیوسیامین، آتروپین، اسکوپولامین و هیوسین است. ریشه همچنین حاوی بلادونین، کوسکوهیگرین و آپوآتروپین می‌باشد. ترکیبات مهم دیگر گیاه شامل پیریدین، تانن، اسید سوکسی‌نیک، آسپاراژین، کولین و فیتوسترول است(صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰). برخی از سولاناسه‌ها را "میدریاتیک" گویند، زیرا دارای آلکالوئیدهایی مانند اسکوپولامین و آتروپین هستند که بازکنندهٔ مردمک چشم است(قهرمان، ۱۳۷۳).

۱-۴-۱- تروپان

با فرمول $C_8H_{15}N$ مشتق شده از آلکالوئیدها بوده که به طور عمده در خانواده سیب‌زمینی و همچنین گیاه شابیزک یافت می‌شوند. از معروف‌ترین تروپان آلکالوئیدها می‌توان اسکوپولامین(هیوسین) و آتروپین(هیوسیامین) را نام برد. مشخصه تروپان آلکالوئیدها یک گروه متیل متصل به اتم نیتروژن می‌باشد که این‌چنین ساختمانی در استیل کولین که انتقال دهنده امواج عصبی در سلول‌های مغز می‌باشد مشاهده شده است((محمد، ۱۹۹۸) و (لارسون و مارلی، ۱۹۸۴)). مسیر بیوسنتز تروپان با اورنیتین آغاز می‌شود و در نهایت تولید اسکوپولامین(هیوسین) و آتروپین(هیوسیامین) می‌کند که البته بخشی از مسیر با مسیر بیوسنتزی نیکوتین یکی است(هاشیموتو و یامادا، ۱۹۹۴).

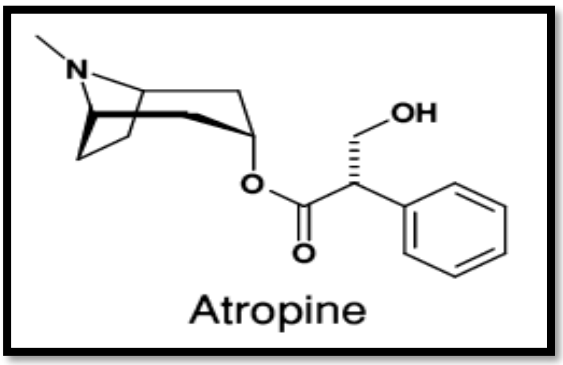
۱-۴-۲- بیوسنتز آتروپین و اسکوپولامین

بیوسنتز تروپان آلکالوئیدها مانند آتروپین(هیوسیامین) و اسکوپولامین(هیوسین) با تشکیل یون N-متیل پیرولینیوم از آمینواسیدهای اورنیتین و آرژنین آغاز می شود(استفن و دیوید، ۲۰۰۲). پوترسین N-متیل ترانسفراز آنزیم دخیل در برداشت پوترسین از مخزن پلی‌آمین می‌باشد و N-متیلاسیون دی‌آمین را به شکل N-متیل پوترسین کاتالیز می‌کند. این مرحله اولین مرحله مشترک در بیوسنتز تروپان آلکالوئیدها و نیکوتین می‌باشد و منجر به تولید یک ترکیب حد واسط دارای بار مثبت(N-متیل پیرولینیوم) می‌گردد. سپس مسیر تروپان آلکالوئیدها از مسیر تولید نیکوتین جدا می‌شود. ترکیب متیل پیرولینیوم با استواستیک اسید منجر به تولید تروپینون می‌گردد، که اولین ترکیب دارای حلقه تروپان می‌باشد و توسط آنزیم تروپینون ردوکتاز-I به تروپین تبدیل می‌شود و سپس با ترکیب شدن تروپین با یکی از مشتقات حاصل از فنیل آلانین به نام تروپیک اسید، آتروپین(هیوسیامین) تشکیل می‌شود(مارسی و همکاران، ۱۹۹۶). در آخرین مرحلهٔ مسیر بیوسنتزی تروپان الکالوئیدها، هیوسیامین توسط آنزیم هیوسیامین β-6 هیدروکسیلاز(H6H) ، یک دی‌اکسیژناز وابسته به ۲-اکسوگلوتارات، هیدروکسیلاسیون هیوسیامین را به β-6 هیدروکسی هیوسیامین و نیز اپوکسیداسیون β-6 هیدروکسی هیوسیامین را به اسکوپولامین (هیوسین)، کاتالیز می‌کند(مرادی و همکاران، ۱۳۹۰).

۱-۴-۳- آتروپین(هیوسیامین)

آتروپین ($C_{17}H_{23}NO_3$) با نام آیوپاک : (۱R ، ۵S-۸-متیل-۸-آزابی سایکلو(۳،۲،۱) -اکتان-۳-ایل-۳هیدروکسی-۲-فنیل پروپانوات) یک استر آلی است که توسط ترکیبی از اسید آروماتیک(اسید تروپیک) و یک باز آلی(تروپین) تشکیل می‌شود(بوداواری و ویندهولز، ۱۹۹۶). وزن ملکولی آن ۲۸۹/۳۷۵ گرم بر مول است. این ماده بصورت کریستال یا پودر سفید رنگ یا بصورت ماده ابریشم نما، با ساختار ۴ ضلعی دیده می‌شود(مرسک، ۱۹۷۶). آتروپین تحت شرایط خلاء و در دمای ۱۱۰-۹۳ درجه سانتی‌گراد تصعید شده و نقطه ذوب آن ۱۱۶-۱۱۴ درجه سانتی‌گراد است(لید، ۲۰۰۰). حلالیت آتروپین در آب بسیار

کم(تقریباً ۱ گرم در ۴۵۵ میلی‌لیتر آب) است ولی در الکل، اتر، بنزن و کلروفرم حلالیت بالایی دارد(وست، ۱۹۷۹). آتروپین مخلوط راسمیک L وD هیوسیامین است که از راسمیزاسیون هیوسیامین در حین استخراج حاصل می‌شود و سبب فلج کامل الیاف اعصاب محیطی پاراسمپاتیک می‌گردد و اثرات گسترده‌ای روی سیستم اعصاب مرکزی(CNS = Central Nervous System) دمای بدن، چشم-ها، دستگاه گوارش، قلب و افزایش فشار خون دارد(میرالدی، ۲۰۰۱). آتروپین قادر است انقباضاتی را که در اثر بکار بردن گلوکوزیدهای ملیّن در روده‌ها ایجاد می‌شود بدون کم کردن اثر مسهلی آنها برطرف نماید(اُکسمان و همکاران، ۱۹۹۱). آتروپین(هیوسیامین) همچنین اثر قوی آنتی‌کولینرژیک براعصاب پاراسمپاتیک داشته و در درمان دردهای حاد شکمی نیز به کار می‌رود(زرگری، ۱۳۷۲).

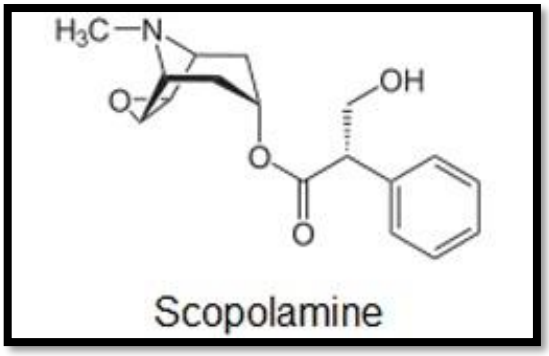


شکل ۲-۲- ساختار اتمی آتروپین

۱-۴-۴- اسکوپولامین(هیوسین)

اسکوپولامین ($C_{17}H_{21}NO_4$) با نام آیوپاک : (۱R، ۲R، ۴S، ۵S، ۷S)-۹-متیل-۳-آزاتریسیکلو (۳،۳،۱،۰) نون-۷-ایل (۲S) -۳-هیدروکسی-۲-فنیل پروپانوات) که وزن ملکولی برابر با ۳۰۳/۳۵۸ گرم بر مول دارد. این ترکیب در ساختار خود دارای یک مکان دهنده و پنج مکان گیرنده برای پیوند هیدروژنی است. اسکوپولامین مایع چسبناکی بوده که دارای نقطه ذوب ۵۹ درجه سانتی‌گراد است. قابلیت حل شدن در آب بالا و حدود ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است و در الکل، اتر، کلروفورم و استون به راحل حل شده ولی در بنزن حلالیت کمی دارد. با افزایش دمای آب، حلالیت این ماده نیز افزایش

پیدا می‌کند(اونیل، ۲۰۰۶). این ماده دارای فشار بخار برابر با $7/18\times10^{-9}$ میلی‌متر جیوه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد است و همچنین بایستی در دمای اتاق بین ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود(لید، ۲۰۰۷). این ماده از ارزشمندترین آلکالوئیدهای تروپانی است که به اسکوپولامین چپ گرد نیز معروف بوده و نوع راسمیزه آن را آتروسین نیز می‌گویند. این ترکیب در روان پزشکی(در درمان بیماری‌های اعصاب شامل اثرات آرام کنندگی و ضد تشنج) و همچنین در تهیه داروهای ضد تهوع و ضد دریازدگی کاربرد فراوانی دارد. این آلکالوئید خواب‌آور و مسکن بوده و برای گشاد کردن مردمک چشم کاربرد دارد((محمد، ۱۹۹۸) و (میرالدی، ۲۰۰۱)).



شکل ۲-۳- ساختار اتمی اسکوپولامین

۱-۴-۵- بررسی کیفی آتروپین و اسکوپولامین

در شابیزک مانند بیشتر گیاهان تیره سیب‌زمینی آتروپین(هیوسیامین) آلکالوئید اصلی است؛ در حالی که اسکوپولامین(هیوسین) کمتر تولید می‌شود. اسکوپولامین(هیوسین) به خاطر آثار فیزیولوژیک مطلوب‌تر و عوارض جانبی کمتر نسبت به آتروپین(هیوسیامین) ارزش دارویی بیشتری دارد و برای مصارف دارویی ترجیح داده می‌شود(کای و همکاران، ۲۰۰۷). از آنجا که اسکوپولامین(هیوسین) نسبت به آتروپین(هیوسیامین) تأثیر بیشتری بر روی سیستم عصبی مرکزی دارد، تقاضا برای تولید این ترکیب بیشتر بوده و تقاضای جهانی آن ده برابر بیشتر از آتروپین(هیوسیامین) است((محمد، ۱۹۹۸) و (میرالدی، ۲۰۰۱)).

۱-۴-۶- محل ساخت آتروپین و اسکوپولامین

اسکوپولامین و آتروپین در ریشه‌های جوان ساخته می‌شوند. مکان بیوسنتزی آلکالوئیدهای تروپانی دایره محیطیه در ریشه‌های جوان و ریشه‌هایی که فاقد رشد ثانویه هستند می‌باشد(سمانانی و فاچینی، ۲۰۰۶) وآنزیم‌های عمده مسیر ساخت آنها تنها در این محل قرار دارند. مقدار زیادی از این آلکالوئیدها پس از سنتز به اندامهای هوایی منتقل و در واکوئل بافت‌های مختلف متمرکز و ذخیره می‌شوند((زانگ و همکاران، ۲۰۰۴) و (کوچان و همکاران، ۲۰۰۸)).

۱–۵– سمیت و عوارض جانبی

شیره شابیزک می‌تواند باعث درماتیت روی پوست شود. افرادی که با دانه‌های گیاه سرو کار دارند ممکن است بر روی پوست آنها تاول یا جوشهایی به وجود آید. مسمومیت با بلادون با مقادیر کم مورفین از بین می‌رود. خوردن سه عدد میوه شابیزک می‌تواند باعث مرگ کودکان شود. همچنین خوردن ۳ تا ۲۰ عدد دانه این گیاه در عرض ۱۵ دقیقه باعث خشکی دهان، سوزش گلو، احساس سوختگی در معده، تهوع و استفراغ، حالت توهم‌زایی و تشنگی می‌گردد. در چنین حالتی فرد مسموم باید وادار به استفراغ یا خوردن محلول اسیدتانیک ۴ درصد شود. اداره دارو و غذای آمریکا شابیزک را جزء گیاهان سمی طبقه‌بندی کرده و مصرف پیلوکارپین و یا فیزوسیتگمین را برای درمان مسمومیت با آن توصیه می‌کند(صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰).

۱–۶– محصولات مهم دارویی گیاه شابیزک

۱-۶-۱- قطره چشمی سولفات آتروپین؛ یکی از محصولات بسیار مهمی که از آتروپین این گیاه تهیه می‌شود، قطره چشمی سولفات آتروپین است که در چشم پزشکی اهمیت خاصی دارد. از زمانی که این قطره وارد عرصه چشم پزشکی جهان شده، تحولی در این رشته ایجاد نموده و با گشاد کردن

مردمک چشم به طور موقت می‌توان داخل کره‌ی چشم را بررسی کرد و خطرات احتمالی را به راحتی تشخیص داد(صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰).

۱-۶-۲- آمپول‌های خودتزریق سولفات آتروپین؛ محصول دیگر استراتژیک تهیه شده از آتروپین گیاه شابیزک آمپول‌های خودتزریق سولفات آتروپین است که طی جنگ در اختیار سربازان قرار می‌گیرد تا در صورت بمباران شیمیایی آن را فوراً به خود تزریق کنند و از عوارض جانبی و مسمومیت‌های شدید یا منجر به مرگ مواد شیمیایی در امان بمانند(صالحی‌سورمقی، ۱۳۹۰).

۱-۷- اهمیت استفاده از کودهای زیستی

به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، عملیات زراعی متعددی نظیر مصرف کودهای شیمیایی صورت می‌گیرد. نتیجه این فعالیت‌ها طی سال‌های اخیر بحران آلودگی‌های محیط زیست و بویژه آلودگی منابع خاک و آب بوده که زنجیره‌وار به منابع غذایی انسان‌ها راه یافته و سلامت جامعه بشری را مورد تهدید قرار داده است. به این منظور تلاش‌های گسترده‌ای با هدف یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک، محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها آغاز شده است. کاهش این مخاطرات زیست محیطی همگام با افزایش عملکرد گیاهان زراعی نیازمند بکارگیری تکنیک‌های نوین زراعی است. از جمله این تکنیک‌ها، استفاده از محرک‌های زیستی می‌باشد که شامل خالص سازی پروتئین از منابع طبیعی و تبدیل آن به الیگوپپتیدهای اختصاصی است. به طور کلی پایه فرمولاسیون محرک‌های زیستی و رشدی در نهاده‌های جدید از اسیدهای‌آمینه و یا اسیدهای‌آمینه در اختلاط با مواد مغذی، پروتئین‌های هیدرولیز شده، اسید هیومیک، عصاره جلبک‌ها و گیاهان دریایی و دیگر متابولیت‌ها می‌باشند(گاورونسکا، ۲۰۰۸).

از این رو کیفیت، کارآیی و احترام به طبیعت، دراین فرآیند کاملاً تضمین شده‌اند. بکارگیری این روش باعث شده است که محصولات به دست آمده نه تنها دارای اثرات باروری و زایندگی برای سلول‌های گیاهی باشند بلکه خود با ورود در پروسه پروتئین سازی گیاهی ، باعث ایجاد نظم در عمل سوخت و

ساز و متابولیسم سلولی شوند. این مواد همچنین به عنوان عامل افزاینده نسخه برداری سلولی از روی ماده ژنتیکی DNA نیز عمل می‌کنند. از طرفی این مواد از نظر ساختار، ترکیب و کاربرد به صورت طبیعی بازیافت شده و بر خلاف عموم کودهای شیمیایی موجود در بازار نهاده های کشاورزی با محیط زیست کاملاً سازگار می‌باشند. طی سالیان دراز مصرف بی رویه انواع سموم دفع آفات گیاهی و کودهای شیمیایی، باعث انباشته شدن فلزات سنگین و ترکیبات غیر قابل تجزیه در خاک شده و منجر به نابودی میکروارگانیسم‌های زنده مفید در آن شده‌اند. زیست محرک‌های بیولوژیک به دلیل سازگاری بالای زیستی که دارند و با کاهشی که در نیاز به کودهای شیمیایی ایجاد نموده‌اند نه تنها اثرات بد استفاده از کودهای شیمیایی و حیوانی را کاهش می‌دهند بلکه به کمک این کودها و با ایجاد طراوت و شادابی در نسوج خاک، باعث جذب، احیاء و پالایش این مواد می‌شوند(ایناگروپارس، ۲۰۱۰).

۱–۸– چالش‌ها و فرصت‌های پیش روی صنعت گیاهان دارویی

مهم‌ترین چالش‌های و فرصت‌های پیش‌روی صنعت گیاهان دارویی در کشور که در برگیرندۀ فرصت‌ها، تهدیدها، نقاط قوت و نقاط ضعف می‌باشد، به شرح زیر قابل بیان است :

۱. مزیت رقابتی کاشت گیاهان دارویی از نظر تنوع در ایران؛
۲. افزایش اقبال عمومی جهانی به استفاده از گیاهان دارویی؛
۳. سهم بازار پایین محصولات تولیدی صنعت گیاهان دارویی به نسبت رقبای مصنوعی و صنعتی در سبد مصرف ایرانی؛
٤. سهم بازار بسیار کم در بازارهای جهانی، علی رغم وجود مزیت رقابتی و گرایش مصرف کنندگان به استفاده از این محصولات؛
٥. توجه نکردن به استانداردهای ملی و بین المللی در فرایند تامین بذر، کاشت، داشت، برداشت و تبدیل گیاهان دارویی در صنعت گیاهان دارویی؛
٦. توجه نکردن به صنعت گیاهان دارویی به عنوان بخشی تولیدی و با ارزش افزوده بسیار زیاد، در صنعت کشاورزی کشور(حسینی، ۱۳۹۵).

۱–۹– چشم انداز صنعت گیاهان دارویی کشور در افق ۱۴۰۴

با توجه به ظرفیت و توان ایران در سطح زیر کشت و تولید محصولات گیاهان دارویی، برنامه ها و طرح هایی برای بهره مندی از فرصت ها و مزیت های رقابتی صنعت گیاهان دارویی در نظر گرفته شده است که از جمله آنها طرح توسعه کشت دیم گیاهان دارویی در اراضی شیب دار و کم بازده به عنوان یکی از پروژه‌های پیش‌بینی شده در راستای اقتصاد مقاومتی و همچنین سند ملی صنعت گیاهان دارویی در افق ۱۴۰۴ می‌باشد که انتظار است اهداف زیر را برای کشور محقق سازد :

۱. کسب سهم ۲۰ درصد ارزش بازار داروی کشور توسط محصولات تأیید شده مبتنی بر داروهای گیاهی و محصولات طبیعی؛
۲. کسب سهم ۲۰ درصد از ارزش بازار داروی حوزه دامپزشکی کشور توسط محصولات تأیید شده مبتنی بر داروهای گیاهی و محصولات طبیعی؛
۳. افزایش صادرات گیاهان دارویی و فرآورده های دارویی گیاهی و فرآورده های گیاهی برای حضور در بین ۱۰ کشور اول جهان؛
٤. کسب ۳٪ سهم تولید علم حوزه گیاهان دارویی و فرآورده های دارویی گیاهی در عرصه جهانی؛
٥. کسب ۱٪ سهم ثبت اختراع جهانی در حوزه گیاهان دارویی و فرآورده های بومی آن و یا در حال انقراض گیاهان دارویی کشور در سازمان های حفاظت ملی؛
٦. کاهش سطح برداشت رسمی و غیررسمی از عرصه‌های طبیعی به ۲۰۰ هزار هکتار در افق ۱۴۰۴؛
۷. افزایش سطح زیر کشت گیاهان داوریی و اسانس دار به ۵۰۰ هزار هکتار در افق ۱۴۰۴؛
۸. افزایش تولید و صادرات گیاهان دارویی و احیاء اراضی شیب دار و کم بازده دیم و مراتع تخریب یافته با کشت گیاهان دارویی سازگار و با ارزش، به حدود ۲۸۳۹۶۷ هزار هکتار در افق ۱۴۰۴؛
۹. سطح توسعه دیم در اراضی شیب دار و کم بازده به ۴۵۵۰۰ هکتار در افق ۱۴۰۴؛
۱۰. همچنین، در برنامه ششم توسعه، افزایش سطح زیرکشت گیاهان دارویی دیم به ۱۱۷۳۷ هکتار و گل محمدی به ۱۱۰۱۳ هکتار پیش‌بینی شده است(حسینی، ۱۳۹۵).

۱–۱۰– فرضیه ها

۱- تناوب‌های مختلف دمایی و نور سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شابیزک می‌شوند.

۲- باکتری‌های محرک رشد به همراه سطوح مختلف کود شیمیایی، سبب بهبود رشد و افزایش عملکرد کمی در گیاه دارویی شابیزک می شوند.

۳- کاربرد تلفیقی باکتری‌های محرک رشد و سطوح مختلف کود شیمیایی عملکرد کیفی و خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه شابیزک را در دو بخش هوایی و ریشه بهبود می دهند.

۱–۱۱– اهداف طرح

۱. تعیین اثر نور در شرایط مختلف دمایی بر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و نیز تعیین دمای کاردینال در گیاه شابیزک.

۲. ارزیابی تاثیر باکتری‌های محرک رشد گیاهی و سطوح مختلف کود شیمیایی بر عملکرد کمی و میزان آلکالوئیدهای آتروپین و اسکوپولامین در دو بخش هوایی و ریشه گیاه شابیزک در دو شرایط مزرعه‌ای و گلخانه‌ای.

۳. ارزیابی اثر باکتری‌های محرک رشد گیاهی و کاربرد سطوح مختلف کود شیمیایی بر صفات مختلف ریشه گیاه شابیزک.

فصل دوّم

بررسی منابع

۲-۱- جوانه زنی

شروع رشد و به دنبال آن استقرار گیاهچه مهمترین مرحله در چرخهٔ زندگی گیاهان است(الکبلاوی و حسن، ۲۰۰۶). یکی از مهمترین عوامل تعیین کنندهٔ موفقیت یا عدم موفقیت در استقرار گیاهچه، دما و نور است(خان و آنگار، ۲۰۰۱). به طوری که دما، بیشتر از دو عامل تهویه و رطوبت بر فرآیند جوانه‌زنی مؤثر است(وو، ۱۹۹۵). دما تأثیر معنی‌داری بر پتانسیل و سرعت جوانه زنی دارد، زیرا بر روی جذب آب و سرعت اعمال متابولیک داخل بذر اثر می‌گذارد و اندامک‌های درون سلول‌های بذر برای فعالیت‌های خود به درجهٔ حرارت مطلوب نیاز دارند، همچنین سرعت جوانه‌زنی نسبت به درصد جوانه‌زنی حساسیت بیشتری نسبت به دما دارد(خان و آنگار، ۲۰۰۱). جوانه‌زنی به‌عنوان فعالیتی حیاتی به درجهٔ حرارت‌های بالا و پایین حساس است، مطلوب‌ترین دما برای جوانه‌زنی دمایی است که در آن بهترین جوانه‌زنی وجود داشته باشد و پس از آن جوانه‌زنی کاهش می‌یابد که مفهوم آن آستانهٔ تحمل می‌باشد(خائف و همکاران، ۱۳۸۹).

جوانه‌زنی کم و نامنظم یکی از مشکلات اصلی تکثیر خیلی از گیاهان دارویی می‌باشد این امر به خصوص در بهار در اثر دمای پایین ممکن است رخ دهد(مک نیلی و دوران، ۱۹۹۲). دمای پایین در محدوده بین ۰ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد باعث ایجاد تنش سرما و خسارت به گیاهان مناطق گرمسیری و معتدله می‌شود(شهارونا و همکاران، ۲۰۰۶). در تنش سرما به دلیل تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، و در نتیجه سرعت واکنش ها و متابولیسم مواد حد واسط شامل (هورمون ها و سایر مولکول های سیگنالینگ) جوانه‌زنی بذر تغییر می‌کند و رشد گیاهچه کاهش می‌یابد(کاپلان و همکاران، ۲۰۰۳).

از طرف دیگر گزارش شده که جوانه‌زنی بذور می‌تواند بوسیله کاربرد کودهای زیستی بهبود یابد(جیانگ و همکاران، ۲۰۰۸). از جمله کودهای زیستی می توان به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه اشاره کرد. این گروه از باکتری‌ها در منطقه ریزوسفر از طریق مکانیزم‌های مختلفی باعث افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه در شرایط تنش می‌شوند. یکی از مکانیزم‌های مستقیم تاثیرگذار تولید

فیتوهورمون‌هایی از قبیل اکسین، سیتوکنین و جیبرلین و جلوگیری از تولید هورمون اتیلن می‌باشد(چینوسامی و همکاران، ۲۰۰۴). در کل می‌توان بیان نمود که جوانه‌زنی مجموعه‌ای از فرآیند فیزیولوژیکی است که توسط عوامل محیطی متعددی مانند دما(درجه حرارت)، رطوبت و نور تحت تأثیر قرار می‌گیرد.

۲-۱-۱- تأثیرات دما بر جوانه‌زنی

دما تاثیر مهمی بر خواب و جوانه‌زنی بذر دارد(الواردو و برادفورد، ۲۰۰۲). شروع، درصد و سرعت جوانه‌زنی وابسته به دما می‌باشد(جامی و کافی، ۲۰۰۷). سرعت متابولیسم و به دنبال آن سرعت رشد و توسعه در گیاهان تحت تاثیر دما قرار می‌گیرد(رومان و همکاران، ۱۹۹۹). بنابراین دما از بحرانی‌ترین عواملی است که موفقیت یا عدم موفقیت استقرار گیاه را تعیین می‌کند(جامی و کافی، ۲۰۰۷). دما می‌تواند درصد و سرعت جوانه‌زنی را از طریق تاثیر بر زوال بذر، کاهش خواب بذر و کلیه فرآیندهای جوانه‌زنی تحت تاثیر قرار دهد(کبراب و مرداک، ۱۹۹۹). بنیه بذر، سرعت جوانه‌زنی و توسعه سریع گیاهچه از شرایط لازم برای استقرار مناسب گیاه لازم می‌باشند. عوامل محیطی مانند دما و رطوبت خاک می‌توانند بر این خصوصیات تاثیرگذار باشند(یانوکی و همکاران، ۲۰۰۰). رشد سریع باعث می‌شود که ریشه‌چه قبل از خشک شدن سطح خاک بتواند وارد خاک شده و استقرار یابد(اِورس، ۱۹۹۱). علاوه بر این جوانه‌زنی سریع تحت شرایط نامطلوب دمایی یعنی زمانی که علف‌های هرز قادر به رقابت نیستند، مناسبترین راه برای استقرار گیاه می‌باشد (یانوکی و همکاران، ۲۰۰۰). با این حال واکنش شاخص های جوانه‌زنی به دما به عواملی مانند گونه گیاهی، منطقه رویش و کیفیت توده بذری بستگی دارد. رابطه بین دما و سرعت جوانه‌زنی به صورت تابع خطی برازش داده شده است و معمولاً از رگرسیون خطی برای توصیف رابطه بین دما و سرعت جوانه‌زنی استفاده می‌کنند(رامین، ۱۹۹۷). طاهرآبادی و همکاران(۱۳۹۴) در تحقیقی که بر روی گیاه بنگ‌دانه(Hyoscyamus Niger L.) داشتند بیان کردند که بیشترین درصد جوانه‌زنی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و کمترین درصد جوانه‌زنی نیز

در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد حاصل گردید. بالا بودن درصد جوانه‌زنی بنگ‌دانه در دماهای بالا، نشان دهندهٔ این است که این گیاه نیاز حرارتی بالاتری برای جوانه‌زنی دارد.

۲-۱-۲- دماهای کاردینال جوانه زنی

اثر دما روی جوانه‌زنی به صورت دماهای کاردینال توصیف می‌شود. بذور هر گونه مشخص می‌توانند در این دامنه از دماها جوانه بزنند(بِولی و بلاک، ۱۹۹۴). دماهای کاردینال جوانه‌زنی عموماً بستگی به دامنه سازگاری محیطی یک گونه دارد و تطابق زمان جوانه‌زنی با شرایط مطلوب برای مراحل بعدی، رشد و توسعه گیاهچه را تضمین می‌نماید(آندروسی و همکاران، ۲۰۱۲).

به طور کلی سه دما (کمینه، بهینه و بیشینه) دماهای کاردینال نامیده می‌شوند، و بذر هر گونه‌ی گیاهی می‌تواند در دامنه دمای کمینه تا بیشینه جوانه بزند(بِولی و همکاران، ۲۰۱۲). دمای کاردینال شامل دمای حداقل یا پایه(در کمتر از آن جوانه‌زنی صورت نمی‌گیرد)، دمای مطلوب(بیشترین درصد جوانه‌زنی در کوتاهترین زمان در این دما اتفاق می‌افتد) و دمای حداکثر(در بیشتر از آن جوانه‌زنی صورت نگرفته و پروتئین‌های ضروری برای جوانه‌زنی تجزیه می‌شوند) هستند(کامکار و همکاران، ۲۰۰۶). درجه حرارت‌های کاردینال برای جوانه‌زنی در بیشتر گیاهان زراعی تقریباً مشابه درجه حرارت‌های کاردینال لازم برای رشد رویشی می‌باشد. با وجود این برای برخی گونه‌ها، چنین شباهتی مشاهده نمی‌شود(آدام و همکاران، ۲۰۰۷). تعیین دماهای کاردینال برای ارقام و ژنوتیپ‌ها نیز درتصمیم‌گیری دقیق زمان کاشت و تعیین محدوده‌های جغرافیایی مناسب برای کشت یک رقم یا ژنوتیپ اهمیت قابل توجهی دارد(ناقدی نیا و رضوانی مقدم، ۱۳۸۸). جهت محاسبه دماهای کاردینال گیاه بنگ دانه بذر گیاه در تیمارهای دمایی ۰،۵،۱۰،۱۵،۲۰،۲۵،۳۰،۳۵ مورد بررسی قرار گرفتند که به ترتیب ۰/۶۶ ، ۳۱ ، ۴۱ درجه سانتی‌گراد برآورد شدند(طاهرآبادی و همکاران، ۱۳۹۴).

۲-۱-۳- نور و جوانه زنی

نور در انگیزش خفتگی و حذف آن در بذر دخالت دارد، مکانیزمی برقرار می‌کند که گیاهان را به تیمار نور طبیعی خاصی سازگار می‌کند و اغلب با دما برهمکنش نشان می‌دهد. جوانه‌زنی بسیاری از گیاهان تحت تأثیر نور قرمز، اما جوانه‌زنی برخی از گیاهان نظیر سیکلامن در تاریکی صورت می‌گیرد(ری و براون، ۱۹۹۵). بیشترین میزان جوانه‌زنی در نور قرمز صورت می‌گیرد. نور آبی و نور مادون قرمز موجب کاهش جوانه زنی می‌شوند(کیگل، ۱۹۹۵). بذور ریز نسبت به بذور درشت‌تر در جوانه‌زدن حساسیت بیشتری به نور دارند(خائف و همکاران، ۱۳۸۹). به علاوه گزارش شده گونه‌هایی که دارای پوسته سخت می‌باشند برای جوانه‌زنی وابسته به نور نیستند(چاوهان و همکاران، ۲۰۰۶b). بازیار و همکاران(۱۳۹۴) در تحقیقی که بر روی جوانه‌زنی گیاه دارویی تاتوره(Datura stramonium L.) در تأثیر دما و نور و تاریکی در خاکهای خشک و مرطوب داشتند، بیان کردند که در شرایط وجود نور با افزایش درجه حرارت تا دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد در خاکهای مرطوب، جوانه‌زنی افزایش یافت.

۲-۲- کودهای زیستی

۲-۲-۱- ظهور کودهای زیستی

در حدود ۳۰۰ سال قبل از میلاد، یکی از شاگردان ارسطو به نام تئوفراستوس، نظر داد که افزودن مخلوطی از خاک‌های حاصلخیز بـه خاک‌های غیرحاصلخیز موجب اصلاح این نوع از خاک‌ها می‌شود. همچنین حدود ۳۰ سال قبل از میلاد جئورجیکس به اثرات مفید بقولات در تناوب با سایر کشت‌ها اشاره نموده است. در زمان‌های قدیم کشاورزان برای تقویت زمینهای کشاورزی، گیاهانی از تیره لگومینوز را کشت می‌کردند و بر این باور بودند که با کشت این گیاهان میزان حاصلخیزی خاک افزایش پیدا می‌کند. در بسیاری از نوشته‌های تاریخی نیز کاشت گیاهانی نظیر شبدر و باقلای مصری به عنوان تقویت کننده خاک مورد تأیید قرار گرفته است. لیونهوک؛ پدر علم میکروبیولوژی درسـال ۱۶۸۳ میلادی اولین

بار در زیر میکروسکوپ، میکروب را کشف نمود. اولین کود میکروبی در حدود ۱۲۰ سال پیش به نام نیتراژین که یک مایه تلقیح ریزوبیومی بود به عنوان یک فرآورده تجاری وارد عرصه کشاورزی شد(ارشد و همکاران، ۱۹۹۱).

کشت و کار پیوسته از یک طرف به مرور سبب کاهش باروری خاکها گردید وافزایش تدریجی جمعیت موجب آن گردید تا غذای تولیدی بواسطه کشاورزی سنتی آن روزگار که بقایای گیاهی تنها عامل حاصلخیز کننده خاک بحساب می‌آمدند کافی نباشد. به مرور نقش آیش در تداوم باروری خاکها مشخص شد و بشر دریافت که افزایش مواد آلی و بقایای گیاهی و جانوری سبب بهبود تولید محصول می‌گردد. انقلاب صنعتی اروپا و متعاقب آن ورود ابزار آلات صنعتی به عرصه کشاورزی، بهره‌کشی بیشتر از خاکها را در پی داشت. پیشرفت علم شیمی موجبات درک بهتر از نیازهای تغذیه‌ای گیاهان را در پی داشت. بوسینگالت در سال ۱۸۳۴ نشان داد که عناصر شیمیایی در ساختار گیاهان نقش اساسی دارند(اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۹۱).

امروزه بکارگیری و استفاده از جانداران مفید خاکزی تحت عنوان کودهای زیستی بعنوان طبیعی‌ترین و مطلوب‌ترین راه حل برای زنده وفعال نگهداشتن سیستم حیاتی خاک در اراضی کشاورزی مطرح می‌باشد. امروزه عقیده بر این است که روابط متقابل بین ریشه گیاه و ریزموجودات خاک توسط مداخلات انسان از طریق فعالیتهای کشاورزی و صنعتی تحت تاثیر قرار گرفته است(لینچ، ۲۰۰۲). کیفیت خاک نه تنها به خصوصیات فیزیکی و شیمیائی آن وابسته است بلکه ارتباط بسیار نزدیکی با خصوصیات بیولوژیکی آن دارد(اِبهین ماستو، ۲۰۰۶). کودهای معدنی پس از استفاده در ابتدای فصل زراعی، ممکن است فرم شیمیایی قابل استفاده عنصر برای گیاه به فرم های دیگر تبدیل شود و یا از طریق آبشوئی از دسترس گیاه خارج گردد(چِر و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین جهت افزایش کارائی مصرف عناصر غذایی (NUE[1])، روشهای مصرف کود باید به گونه ای تغییر کند که مواد غذایی مورد نیاز گیاه در طول یک

[1] Nutrient Use Efficiency

مدت طولانی و بدون تلفات در اختیار گیاه قرار گیرد(جاگاییس واران و همکاران، ۲۰۰۶). استفاده از کودهای زیستی حل کننده فسفر و تثبیت کننده نیتروژن از جمله روشهای عملیات زراعی بهینه (BMP[1]) است که می‌تواند این نقص را بر طرف نماید(هان و همکاران، ۲۰۰۴). کود زیستی، ماده‌ای حاوی ریزجاندارانی است که هنگامی که بر روی بذر، سطح ریشه و یا در خاک استفاده شود موجب تحریک و افزایش رشد گیاه می‌گردد. ریزجانداران موجود در یک کود زیستی ممکن است در خاک ریزوسفری، روی سطح ریشه و یا در داخل ریشه و حتی در ساقه و برگ گیاه به حالت اندوفیت ایجاد کلنی نمایند. مصرف کودهای زیستی موجب کاهش مصرف کودهای شیمیایی می‌شود و به حفظ محیط زیست، حاصلخیزی زمین‌های کشاورزی و عملکرد زراعی بیشتر و بهتر گیاهان می‌انجامد(بالغ و همکاران، ۱۳۹۰). در حال حاضر کودهای بیولوژیک به عنوان گزینه‌ای برای کودهای شیمیائی، بمنظور افزایش حاصلخیزی خاک در تولید محصولات در کشاورزی پایدار مطرح شده‌اند(وو، ۲۰۰۵).

۲-۲-۲- دسته‌بندی کودهای زیستی با توجه به نوع میکروارگانیسم‌ها

۱. ریزاندامگان کارآ(میکروارگانیسم‌های سودمند EM).
۲. کودهای زیستی باکتریایی(ریزوبیوم- ازتوباکتر- آزوسپریلیوم-...).
۳. کودهای زیستی قارچی(میکوریزا).
٤. کودهای زیستی جلبکی(جلبک‌های سبز- آبی و آزولا).
٥. کودهای زیستی اکتینومیست‌ها(فرانکیا) (سیدشریفی و نامور، ۱۳۹۴).

[1] Best Management Practices

۲-۲-۳- مهم‌ترین کودهای زیستی بر اساس نقش میکروارگانیسم‌ها

۱. تثبیت کننده ازت هوا.

۲. قارچ‌های میکوریزی، که با ریشه بعضی از گیاهان ایجاد همزیستی کرده و اثرات مفیدی ایجاد می‌کند.

۳. میکرو ارگانیزم‌های حل کننده فسفات، که فسفات نا محلول خاک را به فسفر محلول و قابل جذب گیاه تبدیل می‌کنند.

٤. اکسیدکننده گوگرد(تیوباسیلوس)، کودی که دارای باکتری تیوباسیلوس بوده و باعث اکسایش بیولوژیکی گوگرد می‌شود.

۵. کرم‌های خاکی، در تولید هوموس مورد استفاده قرار می‌گیرند و نوعی کود کمپوست به نام ورمی‌کمپوست (Wermy compost) تولید می‌کنند(سیدشریفی و نامور، ۱۳۹۴).

۲-۲-۴- مزایای استفاده از کودهای زیستی

۱. تثبیت نیتروژن و تأمین بخشی از نیاز نیتروژن گیاه، کمک به جذب فسفر و احیاء پتاس.

۲. حفاظت از گیاه در مقابل عوامل بیماری‌زا و تنش‌های زنده و غیرزنده.

۳. تولید مواد محرک رشد.

٤. افزایش جوانه‌زنی بذر و محافظت در برابر حملات قارچی.

۵. کمک به افزایش جمعیت میکروبی مفید خاک.

٦. کاربرد حجم کمتری از کود زیستی (کاربرد کودهای زیستی تا ۳۰ درصد مقدار کودهای شیمیایی)، به تنهایی می‌تواند تأثیر بسزایی در کاهش هزینه‌های حمل و نقل، انبارداری و توزیع داشته باشد.

۷. افزایش حجم ریشه، رشد قسمت هوایی بوته و نیز افزایش سبزینگی.

۸. افزایش عملکرد کمّی و کیفی محصول و کاهش میزان مصرف کود شیمیایی نیتروژنه و فسفاته به نصف یا کمتر.

۹. کاهش هزینه‌های حمل و نقل و انبارداری.

۱۰. کودهای بیولوژیک علاوه بر صرفه اقتصادی، موجب پایداری منابع خاک، حفظ توان تولید در دراز مدت و جلوگیری از آلودگی محیط زیست می‌شود و هیچ‌گونه مواد سمی یا میکروبی در چرخه غذایی وارد نمی‌کنند.

۱۱. جلوگیری از توسعه بیماری‌های ناشی از مصرف آب و محصولات آلوده به ترکیبات نیتروژنی که در اثر کاربرد کودهای شیمیایی به ویژه کودهای نیتروژنه ایجاد می‌شوند. سرطان دستگاه گوارش و مت‌هموگلوبینیا از این دسته بیماری‌ها به شمار می‌روند.

۱۲. حفظ و توسعه باروری خاک به موازات افزایش حاصل‌خیزی خاک. تکثیر خود به خودی این کودها نیاز به استفاده دائم و مکرر از آن‌ها را مرتفع می‌سازد(سیدشریفی و نامور، ۱۳۹۴).

۲-۲-۵- معایب استفاده از کودهای زیستی

۱. به دلیل حساسیت به نور خورشید، عملیات تلقیح باید در سایه انجام شود.

۲. لزوم نگهداری محصول در دمای ۴ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد.

۳. به طور کامل جایگزین کود شیمیایی نمی‌شود.

٤. نبود فرهنگ تلقیح بذر بوسیله کشاورزان.

٥. عدم سهولت در استفاده و عدم پاسخ سریع و اقتصادی.

٦. پیچیدگی روابط بین میکروارگانیسم‌ها و واکنش‌های آنتاگونیستی(سیدشریفی و نامور، ۱۳۹۴).

۲-۲-۶- کودهای زیستی باکتریایی PGPR[1]

در بین مایه‌زنی کننده‌های میکروبی، باکتری‌ها، توجه زیادی را به عنوان تقویت کننده رشد گیاه از دو دهه گذشته به خود جلب کرده‌اند. ریزوباکتری‌هایی که اثر متقابل بر خاک و ریشه گیاه دارند، بر رشد گیاه تأثیر مثبت دارند، به همین دلیل به آنها "تحریک کننده‌های رشد" یا PGPR می‌گویند. در تعریف کاربردی PGPR می‌توان گفت که یا مستقیماً باعث تحریک رشد قابل مشاهده می‌شود 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 آزاد زی در برخی فرآیندهای کلیدی بوم نظام مانند فرآیندهای دخیل در کنترل بیولوژیکی پاتوژنهای گیاهی، چرخه عناصر غذائی و استقرار گیاهچه نقش دارند(وو، ۲۰۰۵). بنابراین بکارگیری مواد بیولوژیک، دارای کارکردهای چند منظوره‌ای در بوم نظام‌های زراعی هستند بطوریکه بالقوه سبب بهبود کیفیت فیزیکی خاک(از طریق گسترش ریسه‌های قارچ یا کلنی‌های باکتریایی)، کیفیت شیمیائی خاک(از طریق افزایش جذب عناصر غذائی) و کیفیت بیولوژیکی خاک(از طریق شبکه غذائی خاک) می‌گردد(امام، ۲۰۰۷). کودهای زیستی نیتروژن از طریق ترشحات حل‌کننده باکتری‌های کاهش pH توانسته است عناصر مختلف غذایی بیشتر را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار دهند و با تولید بیشتر مواد فتوسنتزی در افزایش تولید مؤثر واقع شده‌اند(هان و همکاران، ۲۰۰۶). مصرف مقادیر بهینه کود نیتروژن برای تولید حداکثر عملکرد و کاهش آثار منفی زیست محیطی مهم می‌باشد(انگلیش، ۱۹۹۶). پژوهش‌ها نشان دادند که مصرف زیادتر از حد بهینه نیتروژن، نه تنها به بهبود عملکرد دانه نمی‌انجامد، بلکه باعث هدر روی کود، کاهش سود دهی کشت گیاه زراعی و افزایش آبشوئی نیترات و آلودگی آبهای زیر زمینی می‌شود. از طرفی، مصرف کم نیتروژن، دلیل کاهش رشد و عملکرد محصول ذرت شناخته

[1] Plant growth promoting Rhizobacter

شده است(اولگار، ۱۹۹۷). احتشامی و همکاران(۱۳۸۶) گزارش کردند، که مصرف کودهای زیستی روی ذرت باعث می‌شود میکروریز و ریزجانداران افزایش یابد و اثر مثبت بر جذب عناصر غذایی و عملکرد دارد.

۲-۲-۷- مزایای استفاده از کودهای زیستی باکتریایی PGPR

از جمله سایر نقش‌های مفید PGPRs می‌توان به موارد زیر اشاره کرد :

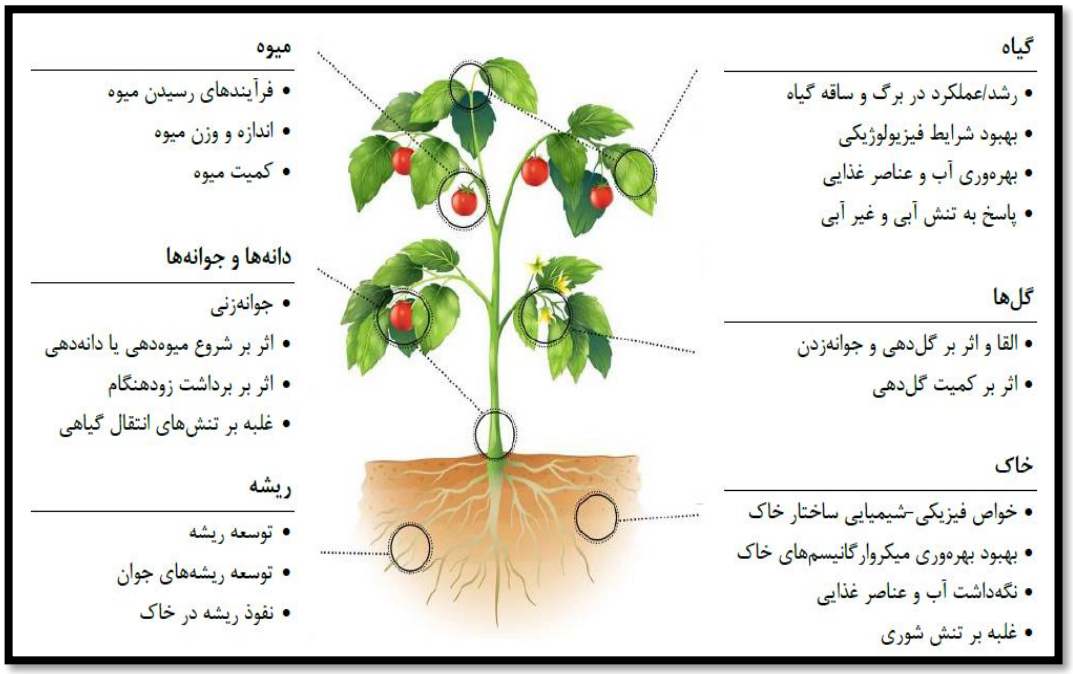
۱. تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه که نتیجه آن بهبود جذب آب وعناصر غذایی توسط گیاه است.
۲. تأثیر بر روی بهبود جوانه زنی و ظهور گیاهچه.
۳. تأثیر سینرژیستی با ریزوبیوم‌ها، که باکتری‌های مسئول این امر را NPR[1] می‌نامند.
٤. تولید بعضی ترکیب‌های آنتی‌بیوتیک مانند؛ باکتریوسینها برای حذف عوامل بیماریزا و همین طور تحریک ژن‌های دفاعی گیاه برای فعال شدن مکانیسم‌های دفاع طبیعی در گیاهان.
۵. مصرف مواد اولیه لازم برای رشد پاتوژن‌ها که آنها را با کمبود مواد غذایی لازم روبه‌رو می‌سازد.
٦. کمک به گیاه برای رشد در شرایط تنش‌های محیطی.

سایر مکانیزم‌هایی که به وسیله آنها باکتری‌ها موجب بهبود رشد در شرایط تنش می‌شوند عبارتند از بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه، توسعه سیستم ریشه و جلوگیری از ریزش اندام هوایی، افزایش گره‌زایی و تثبیت زیستی نیتروژن مولکولی است(رنات و همکاران، ۲۰۰۴). کنترل بیماری‌ها توسط PGPRs از نظر کیفی کمتر از مواد شیمیایی می‌باشد ولی در سیستم‌هایی که استفاده از مواد شیمیایی به حداقل رسیده، می‌تواند مفید باشد. همچنین استفاده از PGPRs باعث توانائی بهتر گیاه برای رشد در محیط‌های با سمیت بالا و آلودگی‌های محیطی و شرایط تنش می‌شود((شیمون و همکاران،

[1] Nodulation promoting rhizobacteria

۲۰۰۴) و (کوکالیس بوریلی و همکاران، ۲۰۰۶)). فعالیت‌ها و اثرات ویژه محرک‌های زیستی گیاهی شامل افزایش رشد ریشه و ساقه، تلرانس و مقاومت گیاهان به تنش‌های آبیوتیک، بهره‌وری و دسترسی بیشتر آب و کاهش شوک انتقال گیاهی هستند(پووِرو و همکاران، ۲۰۱۶).

خلاصه‌ای از اثرات سودمند محرک‌های زیستی گیاهی در شکل زیر گزارش شده است :



شکل ۲-۱- مهمترین اثرات و عمل‌های فیزیولوژیکی در گیاه تحت تأثیر محرک‌های زیستی گیاهی

۲-۲-۸- انواع تأثیر PGPR بر گیاهان

دو نوع ارتباط عمده بین PGPR و گیاهان وجود دارد : ارتباط داخلی و ارتباط ریشه‌ای.

الف) ارتباط داخلی : در این حالت باکتری به فضای آپوپلاست گیاهی(درون سلولی) سرایت می‌کند.

ب) ارتباط ریشه‌ای : در این حالت باکتری‌ها در منطقه ریزوسفر جمع می‌شوند که در واقع با سطح ریشه در تماس هستند.

ارتباطات داخلی بیشتر از ارتباطات ریشه‌ای مطرح هستند، چون در این حالت باکتری‌ها به فضای درون گیاه نفوذ نموده و سیستم دفاعی گیاه را مختل می‌نمایند. ارتباط از نوع داخلی PGPRs در تمام قسمت‌های گیاه میزبان(برگ، ساقه، میوه و ریشه) یافت شده است. آنها در فضای آپوپلاستی همچون فضای برون سلولی در پارانشیم غشاء(دونگ و همکاران، ۱۹۹۷) یا آوند چوبی(جیمز و همکاران، ۲۰۰۱). دیده شده‌اند. گیاه از ارتباط و نفوذ با این باکتری‌ها سود می‌برد ولی بایستی کاملاً تنظیم شده صورت پذیرد تا مفید واقع گردد نه اینکه مضر بوده و دارای اثر بیماری‌زایی باشد. به عنوان مثال برای لگوم‌ها، همزیستی لگوم و ریزوباکتر کاملاً مفید است(گوآلتیری و بیسلینگ، ۲۰۰۰).

۲-۲-۹- تحقیقات علمی در خصوص تأثیر کودهای زیستی بر رشد گیاهان

باکتری تیوباسیلوس از طریق اکسیداسیون گوگرد، به تغذیه گیاه از نظر گوگرد، جذب بیشتر عناصر غذایی مانند فسفر، آهن و روی، اصلاح خاک‌های شورسدیمی، و به دنبال آن به افزایش عملکرد گیاه کمک می‌کند(خاوازی و همکاران، ۱۳۸۴) و (بشارتی و همکاران، ۲۰۰۷). در تحقیقی بر روی گونه‌ای از گیاه دارویی کهور مشاهده شد که کاربرد باکتری ریزوبیوم، ارتفاع بوته و بیوماس گیاهی را در مقایسه با شاهد افزایش داد(قاسمی‌ده‌کردی، ۲۰۰۷). رائی و همکاران(۲۰۰۴) نیز با تحقیق بر روی گیاه دارویی کهور پاکستانی نتیجه مشابه گرفتند. نصرآبادی و همکاران(۱۳۸۱) کاربرد همزمان گوگرد و کود میکروبی تیوباسیلوس در گیاه سویا، میانگین وزن دانه، وزن غلاف و عملکرد بیولوژیک در تمام سطوح گوگرد نسبت به شاهد بدون گوگرد را افزایش داده است.

طبق مطالعه دهقانی مشکانی و همکاران(۱۳۸۹) آنچه در این تحقیق مشاهده شد این که کودهای بیولوژیک نسبت به تیمارهای کود شیمیایی کامل و شاهد به طور معنی داری سبب افزایش ارتفاع بوته و قطر کاپیتول ها و تعداد کاپیتول در گیاه دارویی بابونه شده‌اند. مطالعات متعددی نشان داده که کودهای بیولوژیک علاوه بر افزایش جذب عناصر غذایی در گیاه، با بیوسنتز هورمون‌های گیاهی، کنترل پاتوژن‌های گیاهی و همچنین برخی مکانیسم‌های دیگر سبب بهبود رشد و عملکرد گیاه شده‌اند(خلید

و همکاران، ۲۰۰۴) و (مهانا و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین در مطالعه دیگری مشخص شده است که باکتری‌های ریزوسفری از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفر، افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی در ناحیه ریزوسفر، افزایش سطح تماس ریشه، تولید تنظیم کننده‌های رشد و بهبود هم زیستی مفید با گیاه میزبان در مراحل مختلف رشد سبب افزایش رشد و عملکرد می‌شوند(کالرا ، ۲۰۰۳). فاتما و همکاران(۲۰۰۶) در تحقیقی بر روی گیاه دارویی مرزنجوش گزارش کردند کودهای بیولوژیک ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باکتری‌های حل کننده فسفات می‌توانند جایگزین کودهای معدنی نیتروژن و فسفر در زراعت این گیاه شوند و ضمن کاهش هزینه های تولید ناشی از مصرف این کودها از آسیب وارد شدن به محیط زیست جلوگیری به عمل آید. عبدالجلیل و همکاران(۲۰۰۷) در تحقیقی بر روی گیاه دارویی پروانش(Cathrantus roseus L.) گزارش کرده‌اند باکتری محرک رشد سودوموناس فلورسنس در گیاه سبب افزایش عملکرد زیست توده و میزان آلکالوئید در گیاه در شرایط تنش آب شد. همچنین این محققان حضور باکتری‌های سودوموناس، آزتوباکتر و آزواسپریلیوم در محیط ریشه برخی گیاهان دارویی از جمله پروانش، ریحان، کولئوس(Coleus forskohlii L.) و صبر زرد(آلئوورا) را گزارش کرده‌اند، به طوری که جمعیت این باکتری‌ها در هر چهار گونه گیاه دارویی در مقایسه با محیط غیرریشه‌ای گیاهان بیشتر بود. وزن‌تر بوته تعدادی از گیاهان دارویی تحت تأثیر کودهای بیولوژیک قرار گرفت به طوری که بالاترین وزن‌تر اندام‌های هوایی در تیمار سوپرنیتروپلاس مشاهده شد(کارتیکیان و همکاران، ۲۰۰۷).

نتایج تحقیق کوچکی و همکاران(۱۳۸۷) حاکی از آن است که کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی ریزموجودات باکتریایی و یا قارچی، به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر، در بهبود ویژگی‌های رشدی و عملکرد گیاه دارویی زوفا(Hyssopus officinalis L.)، تأثیر مثبتی داشته است. با توجه به ضرورت تولید این قبیل گیاهان در نظام‌های زراعی از یک طرف و لزوم توجه به کشت این گیاهان در نظام‌های کم نهاده، به نظر می‌رسد کودهای بیولوژیک جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی در تولید این قبیل گیاهان باشند. درزی و همکاران(۱۳۸۶) نتایج بدست آمده از تجزیه مرکب سال‌های آزمایش بیانگر آن بود که تأثیر هر سه عامل به تنهایی و اثر متقابل دو عامل فسفات زیستی و ورمی کمپوست و نیز اثر

متقابل هر سه عامل فسفات زیستی، ورمی کمپوست و میکروریزا با هم در سطح یک درصد بر میزان اسانس در دانه گیاه دارویی رازیانه افزایش معنی دار نشان داد و در خصوص اجزای عملکرد نیز تأثیر معنی‌داری روی تعداد چتر در بوته، وزن هزار دانه، شاخص برداشت و عملکرد دانه نبود ولی اثر معنی‌داری بر ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیک داشت. تحقیق آنامالایی و همکاران(۲۰۰۴) نیز مبین بهبود معنی‌دار عملکرد دانه در اثر مصرف باکتری‌های حل کننده فسفات در یک گیاه دارویی از خانواده فرفیون با نام علمی(فیلانتوس آماروس) در مقایسه با تیمار شاهد بود. کاپور و همکاران(۲۰۰۴) گزارش کرده‌اند که همزیستی ریشه رازیانه با دو گونه قارچ VAM به طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد و اجزای عملکرد رازیانه شد. کومار و همکاران(۲۰۰۱) در تحقیقی بهبود رشد و عملکرد گندم و لین و همکاران(۱۹۸۳) نیز بهبود رشد و عملکرد ذرت و سورگوم را همگام با مصرف باکتری‌های محرک رشد گزارش کرده‌اند.

در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثر تلقیح گیاه دارویی بشقابی(Centella asiatica L.) با مایکوریزا توسط جوشی و همکاران(۲۰۰۷) انجام شد، تلقیح باعث افزایش رشد ریشه و به طور کلی افزایش توان رشد گیاه در خاک‌های با مقادیر کم فسفر گردید. در بررسی دیگری که توسط لیتی و همکاران(۲۰۰۶) بر روی گیاه دارویی رزماری انجام شد تلقیح با باکتری ازتوباکتر باعث افزایش ارتفاع و درصد اسانس نسبت به تیمار شاهد گردید. استفاده از کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در گیاه دارویی مریم گلی باعث افزایش ارتفاع بوته و وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه شد(وانده بروک و همکاران، ۱۹۹۹). در گیاه دارویی پروانش تلقیح گیاهچه‌ها با باکتری سودوموناس فلورسنس باعث افزایش میزان بیوماس تولیدی و میزان آلکالوئید گیاه در شرایط تنش آبی گردید(عبدالجلیل و همکاران،۲۰۰۷). همچنین نتایج بررسی راتی و همکاران(۲۰۰۱) نشان داد که کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا با باکتری‌های آزوسپریلیوم و باسیلوس باعث افزایش میزان بیوماس تولیدی در گونه‌ای از گیاه دارویی علف لیمو(Cymbopogon martinii L.) گردید. به طور کلی نتایج بدست آمده از این بررسی نشان داد که مصرف کودهای بیولوژیک چه به صورت منفرد و چه به صورت تلفیقی باعث افزایش

عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و برخی از اجزای عملکرد دانه و نیز افزایش عملکرد اسانس می‌شود. تیمارهای کود بیولوژیک اعمال شده در اکثر موارد قابل رقابت با تیمار کود شیمیایی و در برخی شاخص‌ها مقادیر بیشتری را نسبت به مصرف کود شیمیایی نشان دادند که نشان‌دهنده کارایی این ریزموجودات و لزوم توجه بیشتر به آن‌ها در سیستم‌های کشاورزی می‌باشد(سعیدنژاد و رضوانی مقدم، ۱۳۸۹). رحیم‌زاده و همکاران(۱۳۸۹) در تحقیقی بر روی گیاه دارویی بادرشبو دریافتند که کودهای بیولوژیک اثر معنی داری روی تعداد سر شاخه گل دار، تعداد انشعابات ساقه، وزن خشک بوته و درصد اسانس داشت ولی از نظر ارتفاع بوته اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت. بالاترین میزان اسانس(۰/۴۸ درصد) و همچنین بیشترین تعداد انشعابات ساقه(۹/۷۵) در تیمار نیتروکسین + بیوسولفور+ فسفاته بارور ۲ حاصل گردید. نتایج تحقیق قریب و همکاران(۲۰۰۸)، حاکی از آن است که استفاده از باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفات در گیاه داروئی مرزنجوش سبب افزایش درصد و عملکرد اسانس گردید. بشارتی و همکاران(۲۰۰۷) به دنبال کاربرد بیوسوپر که حاوی سنگ فسفات، گوگرد و باکتری‌های تیوباسیلوس می‌باشد، افزایش معنی داری در میزان ماده خشک و میزان جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر در اندام‌های هوایی گیاه ذرت مشاهده کردند.

نیاکان و همکاران(۱۳۸۳) وجود میزان کافی عناصر نیتروژن و فسفر و همچنین فتوسنتز کافی برای تشکیل این ترکیبات اخیر ضروری است و کود زیستی مخلوط نیتروکسین، بیوسولفور و فسفاته بارور ۲ از طریق کمک به جذب نیتروژن، فسفر و گوگرد و نقشی که این عناصر در تولید کلروفیل و تأمین آنزیم‌های مورد نیاز گیاه دارند باعث افزایش میزان بافت‌های فتوسنتز کننده و نهایتاً افزایش اسانس شده‌اند. در گیاه ریحان تیمار شاهد(بدون کود) از لحاظ لینالول و نرول بیشتر و بر عکس تیمارهای کودی از لحاظ ترکیب سیترال‌های بالاتر بودند(امیدی و همکاران، ۱۳۸۹). ایشان همچنین دریافتند که در نتیجه تحقیق کاربرد با هم کودهای شیمیایی و زیستی به هر میزان در مقایسه با کاربرد جداگانه هر یک از آن‌ها عملکرد اسانس و میزان اسانس بالاتری را حاصل کرد خصوصاً با بهتر شدن وضعیت خاک و بهبود شرایط تغذیه گیاه به نسبت عملکرد بهتری حاصل شد. سعیدنژاد و همکاران(۱۳۸۹) نشان دادند

که کودهای بیولوژیک تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته گیاه دارویی مرزه داشتند طوریکه تمام تیمارهای کودهای بیولوژیک باعث افزایش ارتفاع بوته شدند. تیمار مخلوط کودهای بیولوژیک حل کننده فسفات و نیتروکسین و تیمار نیتروژن + فسفر کمترین تأثیر را بر ارتفاع بوته مرزه گذاشتند. سانچزگوین و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی در کشور کوبا اثر کودهای بیولوژیک را روی دو گیاه دارویی بابونه و همیشه بهار مورد بررسی قرار دادند، نتایج حاکی از آن بود که کاربرد این کودها در همیشه بهار باعث افزایش عملکرد گل و بهبود کیفیت دارویی شد و در بابونه عملکرد گل افزایش یافت اما بر کیفیت اثری نداشت ولی عملکرد کاپیتول (وزن‌تر و خشک کاپیتول در هکتار) در تیمار کود بیولوژیک بیوسولفور به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود. از آنجا که کود بیوسولفور حاوی مجموعه‌ای از مؤثرترین میکروارگانیسم‌های اکسید کننده گوگرد است که با مصرف این کود همگام با گوگرد، گوگرد توسط باکتری‌های موجود در کود بیوسولفور اکسید شده و اسیدسولفوریک تولید می‌شود و در نتیجه pH محیط ریشه کاهش و قابلیت دسترسی عناصر به ویژه فسفر، آهن و روی افزایش می‌یابد(روجاس و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین به نظر می‌رسد که کود بیولوژیک بیوسولفور با کاهش pH خاک در بهینه سازی تغذیه گیاه بابونه و در نتیجه افزایش رشد گیاه نقش مثبت و مؤثری داشته است.

کالرا(۲۰۰۳) اثر تیمارهای مختلف کودی بر درصد اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی را بررسی کرد، نتایج این آزمایش نشان داد عملکرد اسانس در تیمارهای ورمی کمپوست کود گاوی و ترکیب ازتوباکتر و آزوسپریلیوم با تیمار شاهد برابری می‌کرد، ایشان همچنین گزارش کردند که در گیاه نعناع با کاربرد مخلوط ازتوباکتر و ازوسپریلیوم عملکرد اسانس حدود ۱۲۵ کیلو گرم در هکتار بدست آمد که معادل ۸۵ درصد عملکرد حاصل از کرت‌هایی بود که در آن‌ها از کود شیمیایی استفاده شده بود. درزی و همکاران(۱۳۸۷) در آزمایشی گزارش کردند که کود بیولوژیک بیوفسفات روی ارتفاع و عملکرد بیولوژیکی رازیانه اثر معنی داری داشته و همچنین موجب بهبود کمیت و کیفیت اسانس در مقایسه با تیمار شاهد گردید و نیز باعث افزایش معنی‌دار مواد فنکون و لیمونن موجود در اسانس گیاه دارویی رازیانه گردید. شریفی و حق نیا(۱۳۸۶) بیان کردند که کود بیولوژیک نیتروکسین بر عملکرد و اجزای

عملکرد گندم مؤثر است به طوری که این کود بر عملکرد دانه و کاه ارتفاع بوته طول سنبله تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در متر مربع اثر مثبت داشت. احتشامی و همکاران(۱۳۸۶) بیان کردند که باکتری‌های حل کننده فسفات در گیاه ذرت باعث افزایش عملکرد شد و راثی‌پور و علی‌اصغرزاده(۱۳۸۶) نیز در سیب زمینی نتایج مشابهی را گرفتند. فلاحی و همکاران(۱۳۸۸) در تحقیق خود بر روی گیاه دارویی بابونه آلمانی دریافتند که باکتری‌های حل کننده فسفات از نظر عملکرد اسانس در هکتار و کود بیولوژیک نیتروکسین از نظر میزان کامازولن بهترین واکنش را نشان دادند. مرادی و همکاران (۱۳۸۸) دریافتند که کودهای بیولوژیک تأثیر معنی‌داری در ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد در گیاه دارویی رازیانه شدند. استفاده از مخلوط ازتوباکتر و سودوموناس به ترتیب ۱۷ و ۴ درصد کاهش عملکرد نسبت به استفاده جداگانه از ازتوباکتر و سودوموناس را باعث شد این امر می‌تواند به دلیل رقابت سودوموناس و ازتوباکتر بر سر استقرار و مواد غذایی و یا تأثیر منفی(اثر آنتاگونیستی) آن‌ها بر همدیگر به دلیل ترشح مواد بازدارنده خاص باشد که البته نیاز به تحقیقات بیشتر دارد. به نظر می‌رسد شرایط اکولوژیکی زمین مورد استفاده، دور آبیاری، نوع واریته گیاه و ترشحات ریشه آن، شرایط تلقیح و خصوصیات خاک بر روی اثرات ترکیبی این دو باکتری تأثیر متفاوتی داشته است. بیکر(۲۰۰۵)، باکتری‌های محرک رشد و مخصوصاً سودوموناس‌های فلورسنت اغلب سبب افزایش تحرک عناصر معدنی نامحلول در خاک می‌گردند و در نتیجه با جذب بهتر این عناصر توسط گیاه به بهبود و افزایش عملکرد در سیب‌زمینی کمک می‌کنند. نتایج مشابهی نیز توسط هووی و اچاندی(۱۹۸۳) مبنی بر افزایش عملکرد سیب زمینی به واسطه تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گزارش شده است.

ورانی(۲۰۰۸) گزارش کرد که تلقیح غده های جوان سیب زمینی با باکتری‌های محرک رشد عملکرد را ۱۱ درصد و تلقیح بذر سیب زمینی با این باکتری‌ها عملکرد را بین ۴ تا ۳۰ درصد افزایش داد. دفریتاس و همکاران(۱۹۹۷) در مورد کلزا، چکمکچی و همکاران(۱۹۹۹) در مورد چغندرقند و شاهین و همکاران(۲۰۰۴) در مورد جو و چغندر قند آزمایش‌هایی را انجام داده و همگی به این نتیجه رسیده‌اند که تلقیح محصولات توسط این باکتری‌ها موجب افزایش معنی دار عملکرد و اجزاء عملکرد و

جذب عناصر غذایی مخصوصاً فسفر شده است. چکمکچی و همکاران(۲۰۰۶) افزایش عملکرد ریشه و اندام‌های هوایی چغندر قند را گزارش نموده‌اند. اوراشیما و هوری(۲۰۰۳) نیز افزایش رشد ریشه و ماده خشک کل اسفناج را بوسیله تلقیح با باکتری‌های حل کننده فسفات گزارش کرده‌اند. کود زیستی شاخص‌های رشد، کیفیت و مقدار اسانس رزماری را بهبود بخشید و مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در رزماری افزایش داد. همچنین کود زیستی از رشد گیاه رزماری در شرایط کمبود آب حمایت کرد(عبدالعزیز و همکاران، ۲۰۰۷). در این حیطه، تحریک رشد گونه های بسیاری از محصولات در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای به اثبات رسیده است. مطالعه دیگری نشان داد که استفاده از این باکتری‌ها سبب بهبود جذب عنصر فسفر و کاهش مصرف کودهای شیمیایی بر روی محصولاتی همچون گندم، سیب زمینی، چغندر قند، نیشکر، ذرت در هندوستان و کاهو شده و همچنین اثرات مفید این گروه از باکتری‌ها به خوبی بارز شده است(دوکورا و همکاران، ۲۰۰۲). در تحقیق دیگری تأثیر باکتری تیوباسیلوس و سولفور بر روی گیاه ذرت در خاکی که از نظر فسفر فقیر بود مورد ارزیابی قرار گرفت و مشاهده شد که باعث افزایش وزن ماده خشک، فسفر، آهن و روی در ساقه‌ها شد و خاک و در pH این باکتری‌ها به همراه سولفور باعث کاهش نتیجه محلول سازی فسفر و قابل استفاده نمودن آن شده‌اند. هان و همکاران(۲۰۰۶) گزارش کرده‌اند باکتری‌های محلول کننده فسفات و پتاسیم باعث افزایش جذب عناصری نیتروژن، فسفر، پتاسیم و در نتیجه افزایش رشد دو گیاه خیار و فلفل شده‌اند. در آزمایش دیگری بر روی گیاه کدو، تأثیر کودهای زیستی از نوع باسیلوس که محلول کننده فسفات بودند مشخص شد، رشد رویشی شامل(طول ساقه، قطر ساقه، تعداد برگ، سطح برگ و وزن خشک گیاه)، جذب عناصر شامل (بور، منیزیوم، نیتروژن، فسفرو پتاسیم) میزان کل پروتئین بافت‌های گیاه و مقدار رنگیزه‌های گیاهی شامل کلروفیل a و کارتنوئیدها افزایش یافت(ابوالیزید و همکاران، ۲۰۰۷).

در مطالعه دیگری بر روی گیاه اسفناج وحشی مشخص شد استفاده از کود زیستی سیانوباکتری باعث افزایش پارامترهای رشدی همچون قطر ساقه، تعداد شاخه، تعداد برگ و تعداد گل شد(آبراهیم و همکاران، ۲۰۰۷). استفاده از باسیلوس FS که یک نوع باکتری محلول کننده فسفر بوده بر روی گیاه

گوجه فرنگی به همراه انواع کودهای شیمیایی فسفاته نشان داد که تأثیر معنی داری بر وزن خشک ساقه، ریشه و جذب عنصر در گیاهان گوجه فرنگی داشت(تورام و همکاران، ۲۰۰۷). در آزمایش گلخانه‌ای که بر روی گیاه جو با نوع باکتری تثبیت کننده نیتروژن، نوع باکتری محلول کننده فسفات و تیمارهای کنترل شده انجام گرفت افزایش جذب عنصر فسفر در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محلول کننده فسفات مشاهده شد(کاکمک و همکاران، ۲۰۰۷). در مطالعه‌ای بر روی گندم مشخص شد که پس از تلقیح با باکتری آزوسپیریلیوم براسیلنس با افزایش ظرفیت پنجه‌زنی و میزان جذب مواد غذایی توسط گیاه، عملکرد محصول نیز افزایش یافته است(رینده‌رس و همکاران، ۱۹۸۲). ویو و همکاران(۲۰۰۵) در تحقیق خود بر روی ذرت گزارش کرده‌اند که مصرف کودهای بیولوژیک علاوه بر بهبود وضعیت غذایی گیاه باعث بهبود خصوصیات خاک هم شده است.

نتایج تحقیق یوسف و همکاران(۲۰۰۴) نشان می‌دهد که استفاده از کودهای بیولوژیک آزوسپیریلیوم و آزتوباکتر در گیاه دارویی مریم گلی سبب افزایش در ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه گردید. این محققان اظهار داشتند که کودهای بیولوژیک حاوی ریزموجودات و جایگزینی آنها با تنظیم کننده‌های رشد مصنوعی در بهبود ویژگیهای رشدی و ترکیبات اسانس گیاه مریم گلی کارایی بالایی دارند. تحقیقات عباس‌زاده و همکاران(۱۳۸۵) نشان می دهد که با کاربرد کود شیمیایی نیتروژنه در گیاه دارویی بادرنجبویه باعث افزایش درصد اسانس گردید ولی درصد ترکیبات موجود در اسانس کاهش یافت. نتایج تحقیقات محفوظ و شرف‌الدین(۲۰۰۷)، بدران و سفوات(۲۰۰۴) در روی گیاه دارویی رازیانه نشان می دهد که تعداد گل با استفاده از کود بیولوژیک نسبت به شاهد(عدم استفاده از این کود) افزایش معنی دار داشت. امیدی و همکاران(۱۳۸۸) دریافتند که مصرف کود بیولوژیک نیتروکسین باعث افرایش میزان ترکیبات موجود در اسانس زعفران شده است.

۲-۲-۱۰- PGPR و روش‌های افزایش دهنده عملکرد در گیاهان

باکتری‌های ریزوبیومی علاوه بر نقش بسیار با اهمیت خود در موازنه نیتروژن بیوسفر می‌توانند به صورت‌های متفاوت دیگری نیز افزایش رشد و عملکرد گیاهان را موجب شوند که عبارتند از :

۲-۲-۱۰-۱- توانایی حل فسفات‌های معدنی نامحلول:

گزارشات متعددی وجود دارد که توانایی سویه های مختلف باکتریایی را برای انحلال ترکیبات معدنی فسفات‌های نامحلول نشان می‌دهد(گولد استئن، ۱۹۸۶). مکانیزم اصلی انحلال فسفات‌های معدنی در نتیجه اثر اسیدهای آلی تولید شده به وسیله باکتری‌های خاک تشخیص داده شده است. تولید اسیدهای آلی موجب اسیدی شدن محیط اطراف سلول‌های باکتری شده و در نتیجه فسفر عنصری می‌تواند در اثر جایگزینی یون H^+ با یون‌های کلسیم در محیط آزاد گردد ایلمر و اسچینر، ۱۹۹۵). از میان اسیدهای آلی به نظر می‌رسد که اسید گلوکونیک فراوان‌ترین عامل در انحلال فسفات‌های معدنی باشد(دالال، ۱۹۷۷). هالدر و همکاران(۱۹۹۰) نشان دادند که اسیدهای آلی جداشده از محیط کشت باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم موجب انحلال فسفات‌های معدنی می‌گردد، ضمناً مقدار فسفات‌های محلول شده در نتیجه اثر این اسیدها در محلول‌های فاقد سلول باکتری تقریباً مشابه مقدار فسفات‌های انحلال یافته در محیط‌های کشت حاوی سلول‌های باکتری ریزوبیوم لگومینوزاروم بوده است. با توجه به نتایج تحقیقات مشخص شده است که انحلال فسفات‌های معدنی یک فرایند آنزیمی نمی‌باشد.

۲-۲-۱۰-۲-توانایی حل فسفات‌های آلی نامحلول:

خاک حاوی طیف وسیعی از مواد آلی است که می‌تواند به عنوان یک منبع فسفر مورد استفاده گیاه قرار گیرد. برای اینکه فسفر آلی به فرم قابل جذب گیاه در آید باید ابتدا از طریق هیدرولیز مواد آلی به فرم معدنی تبدیل گردد. معدنی شدن اغلب ترکیبات آلی فسفره توسط آنزیم‌های فسفاتاز که فسفرهیدرولازها نیز نامیده می‌شوند انجام می‌پذیرد(رودریگز و فراگار، ۱۹۹۹). توانایی باکتری‌های خاکزی از جنس‌های مختلف ریزوبیا، سودوموناسها و باسیلوس‌ها در تولید مقادیر قابل توجه آنزیم‌های

فسفاتاز ثابت شده است(کریکنر و همکاران، ۱۹۹۳). کابوت و همکاران(۱۹۹۶) ثابت کردند که توانایی حل فسفات در باکتری‌های ریزوبیومی مهم‌ترین مکانیزم تحریک رشد گیاه در خاک‌های با حاصلخیزی متوسط تا زیاد می‌باشد.

۲-۲-۱۰-۳-توان تولید سیدروفور

سیدروفورها ترکیب‌های آلی با وزن مولکولی کم و لیگاندهای شیمیایی با میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای پیوند شدن با آهنIII هستند(گورینوت، ۱۹۹۱). نقش باکتری‌های مولد سیدروفورهای میکروبی در افزایش رشد گیاه می‌تواند به صورت غیر مستقیم و از طریق بیوکنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و یا تحریک مستقیم رشد گیاه به واسطه افزایش جذب آهن توسط گیاه باشد(آنتون و کلوپر، ۲۰۰۲). در سال‌های اخیر توانایی تولید سیدروفور توسط سویه‌های متعددی از گونه‌های مختلف باکتری‌های ریزوبیومی به اثبات رسیده است. اهمیت ویژه سیدروفورها در بین انواع متابولیت‌های میکروبی که در ریزوسفر آزاد می‌شوند، از یک سو به دلیل نقش کلیدی آهن در فرایندهای متابولیک حیاتی در گیاهان و از سوی دیگر ویژگی‌های خاص عنصر آهن در خاک ارتباط پیدا می‌کند. نقش سویه‌های توانمند در تولید سیدروفور در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی نیز به اثبات رسیده است(گورینوت، ۱۹۹۱).

۲-۲-۱۰-۴-تولید فیتوهورمونها

برخی از سویه‌های باکتری‌های محرک رشد قادرند از طریق دخالت در غلظت فیتوهورمون‌های شناخته شده، رشد و نمو گیاهان را افزایش دهند(گلیک، ۱۹۹۵). این فیتوهورمون‌ها روی الگوی رشد ریشه گیاه تأثیر گذاشته و باعث تولید ریشه های بزرگ‌تر، با انشعابات و سطح مؤثر بیشتر می‌گردد (ویسی، ۲۰۰۳). در برخی از موارد مشاهده شده است که حتی در سطوح و مقادیر کافی کودهای نیتروژنی، تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش رشد و نمو گیاهان شده است که در این صورت قطعاً وجود مکانیزم‌های دیگر از جمله تولید مواد تنظیم کننده رشد(مانند ایندول استیک اسید) توسط باکتری های محرک رشد عامل افزایش رشد گیاه بوده است(ارشد و فرنکن‌برگر، ۱۹۹۱).

بسیاری از گونه‌های ریزوبیومی توانایی تولید ایندول استیک اسید از خود نشان داده‌اند و برخی از مطالعات نشان می‌دهد که هورمون اکسین نقش کلیدی در گره زایی گیاهان لگوم و به طور کلی برقراری همزیستی ریزوبیا- لگوم به عهده دارد. همچنین ثابت شده است که فلاونوئیدها(محرک ژن‌های گره‌زایی) نیز تولید هورمون ایندول استیک اسید توسط ریزوبیوم‌ها را تشدید می‌کند. به علاوه مشخص شده که ریشه‌های گره‌دار در مقایسه با ریشه‌های فاقد گره حاوی مقادیر بیشتری هورمون ایندول استیک اسید می‌باشند و این هورمون در توسعه سیستم ریشه و نگهداری آن ایفای نقش می‌نماید. تحقیقات مختلف ثابت می‌کند که تولید ایندول استیک اسید بیشتر در گره های ریشه ای باید منشأ ریزوبیومی داشته باشد(بادنوک، ۱۹۸۳). به تازگی تولید سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها توسط باکتری‌های محرک رشد نیز به اثبات رسیده است(ویسی، ۲۰۰۳).

۲-۲-۱۰-۵-کاهش تولید اتیلن در گیاه

بیش از یک دهه است که تأثیر بازدارندگی اتیلن بر گره‌زایی گیاه لگوم مشخص شده است. لیجر و همکاران(۱۹۸۶) اعلام کردند که افزایش شدید تولید اتیلن در ریشه های گیاه یونجه بلافاصله پس از تلقیح با باکتری سینوریزوبیوم ملیلوتی باید نشانه ای از پاسخ دفاعی گیاه لگوم در مقابله با تهاجم باکتری به سلول‌های ریشه گیاه باشد. به نظر می‌رسد که آلودگی ریزوبیومی لگوم‌ها همانند دیگر استرس‌های محیطی گیاه را وادار به ساخت و تجمع اتیلن اضافی می‌کند که اتیلن تنشی نامیده می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که باکتری‌های ریزوبیومی می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن در گیاهان لگوم و غیر لگوم جلوگیری نموده و سبب کاهش اثرات منفی این هورمون در رشد و توسعه اندام‌های گیاهی به ویژه ریشه شوند(گلیک و همکاران، ۱۹۹۸). این عمل حداقل از دو طریق شناخته شده، اول تولید آنزیم ACC-دآمینازو دوم بیوسنتز ریزوبیتوکسین انجام می‌پذیرد.

۲-۲-۱۰-۶-تولید آنزیم ACC -دآمیناز

آنزیم ۱-آمینو سیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک اسید (ACC) دآمیناز تجزیه ماده ACC و تبدیل آن به آمونیوم و آلفاکتوبوتیریک اسید را کاتالیز می‌کند(گلیک و همکاران، ۱۹۹۸). از آنجا که ACC

پیش ماده تولید اتیلن در گیاهان عالی است، بنابراین با حذف این ماده، مقدار اتیلن در گیاه کاهش یافته و به تبع از اثرات منفی آن نیز کاسته می‌شود. این آنزیم تاکنون فقط در میکرواورگانیزم‌ها شناسایی شده و سویه‌های ریزوبیومی حاوی آن توانسته‌اند به طور موفقیت‌آمیزی بر اثرات منفی اتیلن بر گره‌زایی و طویل شدن ریشه‌ها در گیاهان لگوم و غیر لگوم غلبه نمایند.

۲-۲-۱۰-۷- بیوسنتز ریزوبیتوکسین

ریزوبیتوکسین از نظر شیمیایی عبارت از ۲-آمینو-۴-هیدروپروپوکسی-ترانس بوت-۳-انوئیک اسید می‌باشد که باکتری بردی ریزوبیوم الکانی و نیز یک پاتوژن گیاهی قادر به بیوسنتز آن می‌باشند. محل تأثیرگذاری ریزوبیتوکسین بر آنزیم ACC-سنتاز و جلوگیری از تولید ACC می‌باشد که به موجب آن از تولید اتیلن اضافی در گیاه ممانعت می‌کند(یاستوتا، ۱۹۹۹).

۲-۲-۱۰-۸-تولید سیانید

روش غیرمستقیم کارکرد باکتری‌های محرک رشد عبارت از بیوکنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌باشد. از جمله مکانیزم‌های بازدارندگی این باکتری‌ها می‌توان تولید متابولیت‌های ثانویه همچون HCN را نام برد.HCN تولید شده سیستم تنفسی قارچ‌های بیماری‌زا را مختل نموده و از این طریق موجب توقف رشد و فعالیت آن‌ها می‌شود(باگناسکو، ۱۹۹۸). اخیراً برخی از محققان سویه‌های ریزوبیومی را نیز به عنوان باکتری‌های مولد سیانید معرفی نموده‌اند(آنتون و کلوپر، ۲۰۰۲). به عقیده باگناسکو(۱۹۹۸) سویه های مول دHCN می‌توانند به صورت مطمئن در بیوکنترل عوامل بیماری‌زای خاکزی مورد استفاده قرار گیرند زیرا تأثیر سوء بر دیگر جوامع میکروبی خاک و یا بر رشد گیاهان ندارند. کریمر و سوئیسی(۲۰۰۱) پیشنهاد کرده‌اند که توانایی تولید HCN توسط باکتری‌های محرک رشد یک قابلیت بالقوه و مکانیزمی مناسب برای کنترل بیولوژیک علف‌های هرز می‌باشد که باید به عنوان یک جنبه جدید در روش‌های تقویت و تحریک رشد گیاه و افزایش عملکرد محصول مورد توجه بیشتر قرار گیرد.

۲-۳- کودهای شیمیایی

عوامل خاکی نیز برای گیاهان دارویی اهمیت زیادی دارند و در بین عوامل مربوط به خاک، نقش عناصر غذایی از اهمیت بیشتری برخوردار است. زیرا این عوامل براحتی قابل تغییرند و می‌توان با تغییر آنها، تغییرات قابل توجهی را در کمیت و کیفیت گیاهان دارویی ایجاد نمود. نیتروژن اصلی‌ترین عنصر غذایی است که در مناطق خشک و نیمه خشک کمبود آن مشاهده می‌شود. این بدان دلیل است که مقدار مواد آلی که عمده‌ترین منبع ذخیره نیتروژن محسوب می‌شود، در این مناطق ناچیز است(کافی و همکاران، ۱۳۸۱). بر اساس نوع و محل رشد اندام گیاه، میزان نیتروژن که برای رشد مطلوب لازم است، بین دو تا پنج درصد وزن گیاه خواهد بود. افزایش میزان مصرف نیتروژن نه تنها باعث تاخیر در پیری و تحریک رشد می‌شود، بلکه در حالتی مشخص باعث تغییر شکل ظاهری گیاه نیز می‌شود. به ویژه اگر فراهم بودن نیتروژن در محیط ریشه در مراحل آغازین رشد زیاد باشد، طویل شدن بخش‌های هوایی گیاه افزایش می‌یابد ولی از رشد طولی ریشه‌ها جلوگیری می‌شود و به طور کلی رشد بخش‌های هوایی گیاه بیشتر از ریشه تحت تاثیر قرار می‌گیرد و گیاهانی که دچار کمبود نیتروژن هستند، زودتر گل داده و نمو رویشی کمتری دارند(ملکوتی، ۱۳۷۸).

۲-۳-۱- تحقیقات علمی در خصوص تأثیر کودهای شیمیایی بر رشد گیاهان

کامی و همکاران(۲۰۰۳) بیان کردند که کمبود نیتروژن، نمو فنولوژیکی مراحل رویشی و زایشی را به تاخیر می‌اندازد و سرعت جوانه‌زنی برگ، سرعت گسترش برگ و دوام سطح برگ را کاهش می‌دهد. در این شرایط راندمان استفاده از نور خورشید نیز کاهش می‌یابد. نیتروژن به لحاظ تحت تاثیر قرار دادن عملکرد تمام سلول‌های گیاهی و ساختمان آنها، اغلب اوقات عملکرد محصولات زراعی را محدود می‌سازد. اِمونگو و چاویا، (۱۹۹۲) اثرات سطوح مختلف نیتروژن بر گیاه بابونه را مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد که با افزایش کاربرد نیتروژن از ۰ تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار ، عملکرد گل و اسانس افزایش

یافت و در ۶۰ کیلوگرم نیتروژن به حداکثر رسید و نتیجه گرفتند که کاربرد نیتروژن به میزان ۱۵ میلی‌گرم در هر گلدان ۲/۷ لیتری به طور معنی‌داری باعث افزایش عملکرد گل خشک ، میزان اسانس و همچنین میزان آلفابیسابولول و کامازولن شد، اما میزان آلفابیسابولول A و B در اسانس کاهش یافت. نتایج حاصل از تحقیقات لچامو و وومل(۲۰۰۱)، بر روی رشد و عملکرد بابونه آلمانی نشان می‌دهد که با افزایش نیتروژن، فلاونوئیدها و اسانس در گل‌ها بیشتر شد و اگرچه ارتفاع بوته و تعداد گل‌ها نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر فصل کاشت قرار می‌گیرد ولی با افزودن نیتروژن بیشتر می‌شوند. جوهری و همکاران(۲۰۰۲)، اثر سطوح مختلف نیتروژن (۰، ۷۵، ۱۵۰ و ۲۲۵ کیلوگرم در هکتار) بر بابونه مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که نیتروژن بطور معنی‌داری میزان اسانس گل خشک را افزایش داده است. ولی در بالاتر از ۱۵۰ کیلوگرم ، اسانس بطور معنی‌داری کاهش یافته است. کاهش عملکرد اسانس ناشی از سمیت یون‌های آمونیوم است. نیتروژن بطور معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد کامازولن و آلفابیسابولول در اسانس را افزایش داد. در بالاتر از ۱۵۰ کیلوگرم ، میزان کامازولن به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی حتی تا سطح ۲۲۵ کیلوگرم ، میزان آلفابیسابولول همچنان افزایش نشان داده است. نیتروژن بطور معنی‌داری میزان آلفابیسابولول اکسید A وB را کاهش داد. میزان فارنسن در اسانس گل‌های بابونه در اثر مصرف نیتروژن بیشتر شد ولی این افزایش معنی‌دار نبود.

در خصوص نیاز کودی بابونه آلمانی، پژوهش‌های انجام در کشور مجارستان، نشان داده است که برای تولید هر ۱۰۰۰ کیلوگرم گل خشک و ۳۰۰۰ کیلوگرم پیکر رویشی بابونه آلمانی، ۸۵ کیلوگرم پتاسیم خالص، ۵۳ کیلوگرم نیتروژن خالص و ۲۱ کیلوگرم فسفر خالص در هر هکتار از خاک جذب می‌گردد(هِنِکا، ۱۹۹۳). به هر حال تحقیقات نشان داده که در کشت پاییزه در صورتی که سال‌های متمادی بابونه در یک خاک کشت شود ، افزودن ۶۰ تا ۷۰ کیلوگرم فسفر خالص، ۵۰ تا ۷۰ کیلوگرم پتاسیم خالص و ۵۰ تا ۸۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به خاک ضروری است(امید بیگی، ۱۳۷۹).

نیکولوا و همکاران(۱۹۹۹)، در دو آزمایش مزرعه‌ای و گلدانی اثر کودهای نیتروژن، فسفر، پتاسیم، گوگرد، کلسیم و منیزیم را بر خواص کمی و کیفی بابونه مورد بررسی قرار دادند. آنان نتیجه گرفتند که در آزمایش‌های گلدانی، بهترین نسبت کودهای محلول جهت بدست آوردن حداکثر کمیت محصول برابر ۳۲،۲۸،۴۰ درصد به ترتیب از نیتروژن خالص، فسفر خالص و پتاسیم خالص بود. در صورتیکه بهترین نسبت کودهای پتاسیم خالص، کلسیم خالص، و منیزیم خالص به ترتیب ۲۲،۳۸،۴۰ درصد بود. آنان نتیجه گرفتند که نیتروژن و پتاسیم باعث افزایش عملکرد گل و فسفر میزان اسانس را افزایش داده است. کلسیم نیز باعث افزایش عملکرد گل و وزن خشک شده است، ولی فسفر و گوگرد باعث افزایش وزن خشک گل و میزان اسانس شد. همچنین در آزمایش‌های مزرعه‌ای مشخص شد که جهت دست یافتن به بهترین عملکرد کمی و کیفی با استفاده از کودهای نیتروژن خالص، فسفر خالص و پتاسیم خالص به نسبت ۱:۱:۱ به میزان ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار از هر کدام از عناصر، لازم است. افزایش سطح فسفر باعث افزایش آلفابیسابولول شد. در صورتی که با افزایش سطح منیزیم میزان این ترکیب کاهش یافت. همچنین، میزان کامازولن در اثر تیمارهای کودی تغییری نکرد. لازم بذکر است که این نتایج با نتایج پژوهش‌های صورت گرفته توسط فرناندز و همکاران(۱۹۹۱) مطابقت داشت. لچامو و وومل(۲۰۰۱)، اثر کود نیترات آمونیوم را در دو سطح ۰/۴۳ و ۱/۲ گرم در هر گلدان بر خواص کمی و کیفی بابونه آلمانی مورد بررسی قرار داد و مشخص شد که ارتفاع گیاه، تعداد ساقه‌های اصلی و فرعی، میزان گلدهی، میزان اسانس و درصد فلاونوئیدها در سطح کودی ۱/۲ گرم در هر گلدان حداکثر بود. فرانز و وومل(۱۹۷۸) در پژوهشی نتیجه گرفتند که با افزایش سطح کودهای نیتروژن و فسفر و پتاسیم خالص میزان اسانس افزایش یافت، ولی با افزایش سطوح پتاسیم میزان اسانس کاهش یافته است. همچنین آنان دریافتند که افزایش سطوح کود نیتروژن و کاهش سطوح پتاسیم باعث افزایش میزان بیسابولول‌ها شده است. درصورتیکه عکس این موضوع باعث افزایش میزان بیسابولول اکسیدها شد. آنها نتیجه گرفتند که نیتروژن باعث افزایش رشد رویشی و تاخیر در رشد زایشی شد. در صورتیکه پتاسیم زمان گلدهی را

جلو انداخته و باعث افزایش اندازه و تعداد گل‌ها شد. همچنین، آنها دریافتند که بهترین نسبت کودی در این دو نوع کود نیتروژن و پتاسیم به ترتیب ۱ به ۲ می‌باشد.

کوکوریک و دوجاک(۱۹۷۹)، در پژوهشی اثر کودهای NPK را به همراه کودهای مولیبدن (Mo) و بُر (B) روی بابونه آلمانی مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش، مشخص شد که کاربرد NPK به همراه کودهای مولیبدن و بُر باعث افزایش عملکرد و وزن خشک گیاه در مقایسه با کاربرد به تنهایی NPK شد. ولی این کودها تاثیر معنی‌داری بر میزان ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس نداشت. گین‌دیگ و شبرزتو(۱۹۷۲)، اثر نیتروژن ، فسفر و پتاسیم را روی بابونه آلمانی وحشی مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که فسفر در مراحل اولیه رشد مورد نیاز گیاه می‌باشد. در صورتیکه در مراحل آخر به هر سه کود نیاز است. همچنین پتاسیم باعث افزایش رشد رویشی می‌شود، ولی بر تولید گل اثری ندارد. در صورتیکه نیتروژن و فسفر به ترتیب باعث تاخیر انداختن و تسریع گلدهی شده است. بالاک و همکاران(۱۹۹۹)، همکنش سدیم و تغذیه را روی بابونه آلمانی مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که با افزایش سدیم خاک، میزان اسانس کاهش پیدا کرده ولی میزان کامازولن و اکسید بیسابولول افزایش یافته است. با افزایش میزان فسفر و پتاسیم میزان این ترکیب‌ها افزایش یافت، و کاربرد نیتروژن دارای اثر مثبت بر فارنزن و بیسابولول اکسید بود، ولی میزان بیسابولول اکسید B با افزایش نیتروژن کاهش پیدا کرد. آنها دریافتند که حداکثر شاخص‌های رشد و عملکرد بابونه با کاربرد ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن خالص، ۵۰ کیلوگرم فسفر خالص و ۵۰ کیلوگرم پتاس خالص حاصل شده است.

جولیوت(۱۹۹۷)، در پژوهشی اثر کاربرد کودهای N،PK، NPK، NK وK را روی بابونه رومی مورد بررسی قرار داد. او نتیجه گرفت که بالاترین عملکرد کود و اسانس با کاربرد کود NPK بدست آمد. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد نیتروژن تاثیری بر عملکرد گل نداشت، ولی کاهش نسبت وزن خشک به وزن تر، باعث افزایش عملکرد اسانس شد. جداسازی اجزاء متشکله اسانس با دستگاه کروماتوگراف گازی نشان داد که کیفیت اسانس تحت تاثیر نسبت نیتروژن به فسفر قرار نگرفته

است.در یک بررسی دیگر، اثر مصرف سه سطح متفاوت کود نیتروژن بصورت سولفات آمونیوم همراه با سولفات کلسیم و سولفات پتاسیم در طی دو سال پی‌درپی بررسی شد و نشان داده شد که در شرایط آزمایش میزان گلدهی، تعداد گل‌ها، وزن خشک گل‌ها، مقدار اسانس و مقدار کامازولن در بابونه رومی بطور معنی‌داری تغییر نکرد(بالا و همکاران، ۱۹۷۵).

آزمایشی به منظور تعیین صفات رویشی و میزان اسانس اسطوخودوس در واکنش به مقادیر مختلف نیترات آمونیوم انجام شد که نتایج نشان داد وزن تر، وزن خشک، وزن خشک برگ و ساقه، ارتفاع، قطر سایه گستر، قطر ساقه، تعداد ساقه‌ها و مقدار اسانس گیاه اسطوخودوس با مصرف نیترات آمونیوم افزایش یافت و بهترین رشد و حداکثر اسانس مربوط به تیمار ۲۰۰-۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیترات آمونیوم بود(فاتما و همکاران، ۲۰۰۶). در آزمایشی نیاز نیتروژن بذر گیاهان دارویی و ادویه‌ای مانند بذر خشخاش (*Papaver somniferum* L.), کتان (*Linum usitatissum* L.), زیره سیاه (*Carum carvi* L.) و خردل سفید بررسی شد که برای به دست آوردن عملکرد با کیفیت مناسب، ۴۰ تا۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار برای خشخاش, ۷۰ تا۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار برای کتان و ۱۰۰ کیلو گرم در هکتار برای خردل سفید توصیه شده است (چن و همکاران، ۲۰۰۶ و فاتما و همکاران، ۲۰۰۶).تحقیقی که توسط ساجد و همکاران(۱۳۸۰)، انجام شد و تاثیر سطوح مختلف کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر و مرحله برداشت بر عملکرد ماده خشک و روغن در نعناع فلفلی بررسی شد و نشان داد که عنصر نیتروژن به میزان ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار و فسفر به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار بالاترین عملکرد ماده خشک و اسانس را داشته‌اند .

در تحقیقی که تیمارهای کودی نیتروژن و فسفر (با مقادیر ۰, ۲۰ ,۴۰, ۶۰ کیلوگرم در هکتار) بر روی گیاه زوفا اجرا شد، نشان داد که با بکاربردن کودهای شیمیایی میزان بذردهی افزایش یافت و بهترین تیمار کودی متعلق به تیمار توام ۲۰ کیلوگرم کود شیمیایی سوپرفسفات و ۶۰ کیلوگرم کود اوره بوده است. نتایج حاصل گویای اهمیت نیتروژن در میزان بذردهی گیاه زوفا می‌باشد. کود فسفره با توجه به

نقش ویژه‌اش در افزایش قوه نامیه اصولاً برای گیاه ضروری خواهد بود(نجف‌پور نوایی،۱۳۸۰). بونتن(۱۹۹۴) گزارش کرد که استعمال کود نیتروژن تاثیر معنی‌داری بر عملکرد و اجزاء آن در رازیانه نشان نداده است. تحقیقی که توسط اکبری‌نیا و همکاران(۱۳۷۸)، بر عملکرد و میزان اسانس دانه گیاه دارویی زنیان صورت گرفت نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش مقدار نیتروژن و فسفر به ترتیب تا ۹۰ کیلوگرم در هکتار و ۶۰ کیلوگرم در هکتار عملکرد دانه افزایش یافت و کودهای شیمیایی تاثیری بر میزان اسانس دانه نداشت. تیمارهای ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و ۴۰ کیلوگرم در هکتار فسفر به همراه ۲۵ تن کود دامی و ۹۰ کیلوگرم نیتروژن و ۶۰ کیلوگرم فسفر به همراه ۱۵ تن کود دامی در هکتار بیشترین عملکرد اسانس را تولید نمود.

حداکثر عملکرد و میزان اسانس در گیاه دارویی آویشن با استفاده از ۲۰۰ کیلوگرم کود نیتروژن و ۱۵۰ کیلوگرم کود فسفر در هکتار به دست آمد(امیر بیگ زاده،۱۳۸۳ و باقر زاده، ۱۳۷۷). تحقیقی توسط پیوندی و همکاران(۱۳۸۸)، بمنظور بررسی تاثیر کودهای نیتروژنه و فسفاته بر روی تغییرات کمی و کیفی اسانس موجود در گیاه درمنه شیرین به اجرا و درآمد در این تحقیق اثر کودهای نیتروژن (۴۶ درصد به فرم اوره) و فسفر (۴۶ در صد به فرم سوپر فسفات تریپل) در چهار سطح به مقادیر۰،۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار روی رشد رویشی و تغییرات کمی و کیفی اسانس درمنه شیرین بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که اثر کود نیتروژن بر روی ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک معنی‌دار بوده است و اثر متقابل کود نیتروژن و فسفر به غیر از وزن تر، برای بقیه صفات معنی‌دار است. مقایسه میانگین نشان داد که تیمار کودی ۸۰ کیلوگرم نیتروژن و ۴۰ کیلوگرم فسفر در هکتار به عنوان مناسب‌ترین ترکیب کودی برای رشد رویشی این گیاه می‌باشد. همچنین اثر کود نیتروژن، فسفر و اثر متقابل نیتروژن و فسفر معنی‌دار بود و نشان داد که با تیمار کودی ۸۰ کیلوگرم نیتروژن و صفر کیلوگرم فسفر در هکتار بهترین نتایج از نظر میزان اسانس بود.

تحقیق دیگری توسط میرشمسی(۱۳۸۵)، به منظور بررسی تاثیر کودهای نیتروژنه و فسفره بر روی میزان عملکرد بذر و تولید اسانس در گیاه دارویی انیسون انجام گرفت. در این تحقیق اثر کودهای نیتروژنه و فسفره در سطوح مختلف بر عملکرد بذر و تولید اسانس بررسی شد. نتایج، مناسب‌ترین تیمار جهت تولید بذر را مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کود اوره و ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفره سوپر فسفات تریپل در هر هکتار معرفی کرد. در پژوهشی که برروی گیاه سنبل‌الطیب انجام گرفت مشخص گردید که بهترین تیمار کودی متعلق به تیمار توام ۲۰ کیلوگرم کود شیمیایی سوپر فسفات و ۶۰ کیلوگرم کود اوره بود(برناث، ۱۹۷۳). در مورد گیاه رازیانه، نیتروژن سبب افزایش میوه گیاه به میزان بیش از ۱/۵ برابر می‌گردد. همچنین وجود نیتروژن به مقدار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار سبب افزایش مقدار اسانس رازیانه می‌گردد ولی افزایش مقدار نیتروژن از مقدار آنتول اسانس می‌کاهد(امیدبیگی، ۱۹۹۳). تحقیقات انجام شده روی گیاه سنبل الطیب نشان داد که مقادیر متوسط نیتروژن سبب افزایش اسانس موجود در ریشه خواهد شد. در این حالت رشد پیکر رویشی گیاه نیز مطلوب خواهد بود و در حالی که نیتروژن سبب افزایش رشد پیکر رویشی گیاه و همچنین توسعه ریشه این گیاه خواهد شد، ولی هیچگونه تاثیری در میزان اسانس آن نخواهد داشت (امید بیگی، ۱۳۷۹). به منظور بررسی سطوح مختلف نیتروژن برروی برخی از صفات گیاه دارویی کدوی تخم کاغذی, آزمایشی توسط آرویی و همکاران(۱۳۷۹)، صورت گرفت و نتایج آن نشان داد که در تیمار ۳۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار , میزان کلروفیل‌های a و b و کلروفیل‌های کل در بالاترین میزان خود قرار داشتند. همچنین تیمار فوق موجب رشد بیشتر گیاهان گردید که افزایش رشد بصورت افزایش فاصله میان گره‌ها مشاهده شد. از نظر وزن میوه تیمار ۷۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بالاترین میزان را بدست آورد.

عزیزی و امید بیگی (۱۳۸۰)، با تحقیقات خود روی گیاه دارویی گل راعی از سه سطح فسفر (۱۰۰،۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار) و سه سطح نیتروژن (۱۵۰،۰ و۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) استفاده کردند. نتایج تحقیق نشان داد بیشترین وزن تر محصول برداشت شده مربوط به تیمار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و صفر کیلوگرم در هکتار فسفر و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (بدون نیتروژن و فسفر)

می‌باشد. تمام تیمارهای کودی باعث افزایش تعداد ساقه گل‌دهنده و کلروفیل گردید. طی بررسی که در کشور هند بر روی میزان بکارگیری کودهای شیمیایی نیتروژنه و فسفاته انجام گرفت مشخص شد که بکارگیری میزان کودی کمتر (۳۰ کیلوگرم نیتروژن و ۲۰ کیلوگرم فسفر) ضمن ایجاد آلودگی کمتر سبب بیشترین عملکرد در زیره می‌گردد(چامپاوات و پاساک، ۱۹۹۸).

۲-۳-۲- معایب استفاده از کودهای شیمیایی

۲-۳-۲-۱- هزینه بالای تولید کودهای شیمیایی

مزایای اقتصادی ناشی از مصرف کودهای زیستی با مقایسه هزینه‌های تولید آنها در برابر کودهای شیمیایی، که در ذیل آمده است، بخوبی قابل درک است. مصرف کودهای شیمیایی نیتروژن در قارهٔ آسیا از ۱/۵میلیون تن در سال ۱۹۶۱ به ۴۷ میلیون تن در سال ۱۹۹۶ رسید و بر اساس پیش‌بینی‌های انجام شده، در سال ۲۰۱۰ این مقدار به ۷۵ میلیون تن خواهد رسید .این آمار خود مؤید بازار گسترده کود شیمیایی نیتروژنه و فرآورده‌های جانشین آن است .با توجه به اهمیت کودهای شیمیایی در تولید غذا که در حوزهٔ امنیت ملی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد، نیاز و بازار مصرف این فرآورده، از گستردگی خاصی در کشور برخوردار است .شورای اقتصاد، به استناد بند ۵ تبصرهٔ ۵ قانون بودجه سال ۱۳۸۱ و همچنین بند ب مادهٔ ۳۷ قانون وصول برخی از درآمدهای دولت و مصرف آن در موارد معین، مجوز تهیهٔ کودهای شیمیایی را در سال ۱۳۸۱ به میزان ۳ میلیون و ۲۱۱ هزار تن صادر نموده است . از این رقم، ۲ میلیون و ۴۷۲ هزار تن آن از طریق تولیدات داخلی و ۷۳۹ هزار تن، از محل واردات، تأمین شده است .بر اساس همین مصوبهٔ شورای اقتصاد، مبلغ ۱۰۳ میلیارد و ۴۰۰ میلیون تومان از محل بودجهٔ ردیف ۵۰۳۶۲۱ و مبلغ ۵۶ میلیارد و ۳۰ میلیون تومان از محل ردیف ۵۰۳۰۲۱ ، جمعاً ۱۵۹ میلیارد و ۴۳۰ میلیون تومان بعنوان یارانه تأمین کودهای شیمیایی، تخصیص یافته است. برای محاسبهٔ بهتر هزینه‌های تهیه و تأمین کودهای شیمیایی، باید به هزینه‌های بخش حمل و نقل و نگهداری و توزیع آن نیز توجه نمود که بر اساس مطالعات انجام شده، معمولاً ۵۰ درصد هزینهٔ تهیه

این کودها را شامل می‌شود .بر اساس مصوبهٔ شورای اقتصاد، هزینه‌های جنبی تدارک و توزیع کودهای شیمیایی، توسط سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی و با هماهنگی سازمان حمایت از مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان و شرکت خدمات حمایتی برآورد و تأمین می‌گردد(امیر مکری، ۱۳۷۰ ؛ معاونت تحقیقات وزارت کشاورزی، ۱۳۷۰ ؛ ملکوتی، ۱۳۸۷).

۲-۳-۲-۲- خسارت‌های ناشی از مصرف کودهای شیمیایی

گرچه کودهای شیمیایی نقش موثری در افزایش عملکرد محصولات زراعی داشته ولی مصرف بی‌رویه آن مشکلات زیادی ببار آورده است و سبب کاهش واکنش گیاهان به کودها، بروز مسائل زیست‌محیطی بدلیل استفاده از مواد شیمیایی و اثرات سوء آنها بر کیفیت محصولات تولیدی و مواد غذایی، آلودگی منابع آب بوسیله نهاده‌های شیمیایی و به مخاطره افتادن سلامت انسان، تخلیه منابع غیر تجدید شونده مثل سنگ‌های فسفاته و کاهش مقاومت گیاهان به آفات و بیماری‌ها می‌گردد(شیواپوترا و همکاران، ۲۰۰۴، شارما، ۲۰۰۲، برندس، ۲۰۰۸). علاوه بر این مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی، گذشته از هزینه گزافی که بر زارع تحمیل می‌کند اثرات زیانبار دیگری را نیز در پی‌دارد از جمله :

۱. مسمومیت ناشی از استفاده زیاد از این عناصر که در اثر جذب بیش از حد آن اتفاق می‌افتد و باعث بالا رفتن غلظت در بافت‌های گیاهی و بهم‌خوردن تعادل عناصر غذایی می‌گردد.
۲. کاهش کمیت و کیفیت محصول
۳. تجمع بور، کادمیم و سایر فلزات سنگین در گیاه.
٤. کاهش جذب مس، آهن و سایر ریزمغذی‌ها توسط ریشه گیاه.
۵. تخریب ساختمان خاک.
٦. آلودگی آبها به فسفر بالا و عناصر سنگین فوق، تجمع و سپس انتقال زیاد فسفر از طریق آبهای روان به منابع آبی راکد مانند مرداب‌ها و دریاچه‌ها باعث افزایش رشد جلبک‌ها و خزه‌ها و در

نتیجه بهم خوردن نسبت موجودات زنده در این آبها می‌شود. این پدیده یکی از دلایل مهم کاهش جمعیت و حتی مرگ و میر آبزیان می باشد(ملبوبی و همکاران،۱۳۸۵).

۲-۳-۳- آسیب کودهای شیمیایی به محیط زیست

استفاده از کودهای شیمیایی می‌تواند موجب سخت‌تر شدن بافت خاک و در نتیجه مشکل شدن نفوذ اکسیژن و سخت‌تر شدن عمل شخم گردد. به طور کلی به خاطر افزایش محصول دهی، استفاده از کودهای بیولوژیک موجب صرفه جویی اقتصادی در کشاورزی می‌شود. عدم مصرف بهینه کودهای شیمیایی من‌جمله اوره که حاوی مقادیر زیادی ازت است، تعادل پویای خاک را به هم می‌زند. در واقع پیدایش و رویش علف‌های هرز هم یکی از نتایج نامطلوب مصرف بی‌رویه ازت است که از بین بردن آن‌ها دشوارتر و کندی جریان آب در نهرها باعث رشد بیش از حد این گیاهان و در نتیجه خفگی تالاب‌ها و انهدام تدریجی این زیست‌بوم‌ها می‌شود و با نفوذ پساب‌های آلوده به سم و عناصر موجود در کودهای شیمیایی به رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و تالاب‌ها موجبات نابودی ماهیان و سایر آبزیان را فراهم می‌سازد. کودهای شیمیایی نیتروژنه (به ویژه اوره) به علت حلالیت زیاد در آب، به سرعت در سفره‌های آب زیرزمینی نفوذ می‌کنند که عواقب مربوط به خودش را به دنبال دارد.

۲-۳-۴- آسیب کودهای شیمیایی به سلامتی انسان

مصرف آب آلوده به ترکیبات نیتراته در انسان و دام باعث بروز عوارض سوء می‌شود. نیترات زیاد در آب باعث سقط جنین و کاهش تولید شیر در دام‌ها شده و در انسان مخصوصاً در نوزادان، رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تجمع ترکیبات ازته در گیاه یک پدیده‌ی طبیعی بوده و هنگامی رخ می‌دهد که عرضه‌ی این ترکیبات به گیاه بیشتر از کاهش یا مصرف آن در اثر جذب و تحلیل باشد. مقدار تجمع ترکیبات ازته در گیاه به وسیله‌ی عوامل محیطی، مدیریت کود دهی و عملیات زراعی تغییر می‌کند. مقدار کود، نوع کود و روش کاربرد کود بر تجمع ترکیبات نیتروژنه در خاک و نهایتاً در گیاه تأثیر

می‌گذارند. ترکیبات نیتروژنه بیشتر به صورت نیترات در گیاه تجمع پیدا می‌کنند. مصرف بافت‌های گیاهی که حاوی نیترات بیش از حد هستند در انسان موجب بروز بیماری‌های جدی می‌شوند. مت‌هموگلوبینیا یکی از بیماری‌هایی است که مصرف بافت‌های آلوده به ترکیبات نیتراته باعث آن می‌شود. مصرف مواد گیاهی که حاوی مقدار زیادی ترکیبات نیتراته هستند در پستانداران باعث ایجاد مسمومیت نیتراتی می‌شود. اصطلاح مسمومیت نیتراتی در حقیقت به دلیل مسمومیت نیتریتی است که در معده‌ی اطفال در اثر احیاء نیترات پدید می‌آید. حلالیت نیتریت در آب مانند نیترات زیاد بوده و به آسانی از جدار معده وارد خون می‌شود. نیتریت، آهن موجود در هموگلوبین را اکسید و به آهن فریک تبدیل می‌کند. یعنی آهن هموگلوبین از دو ظرفیتی به سه ظرفیتی تبدیل می‌شود و ایجاد رنگدانه‌های قهوه ای رنگ یا مت‌هموگلوبینیا را می‌نماید که این ترکیب جدید قادر به حمل اکسیژن و آزاد ساختن اکسیژن در بافت‌ها نبوده و از این طریق با افزایش مت هموگلوبینیا در بدن انسان و مخصوصاً نوزادان در غلظت‌های بالاتر از ۵ درصد نسبت به کل هموگلوبین، بیماری کم خونی ناشی از مسمومیت نیتراتی به وجود می‌آید. در کل مضرات مصرف کودهای شیمیایی را می‌توان در، تحمیل هزینه هنگفت به اقتصاد کشور ، بر هم خوردن تعادل دینامیک خاک، آلودگی منابع آب آشامیدنی و خاک، کاهش کیفیت و عطر و طعم محصولات، تجمع نیترات و ایجاد بیماری در انسان و دام، بر هم زدن تعادل اکوسیستم‌ها و مشکلات تولید در صنایع پتروشیمی و هزینه هنگفت سرمایه گذاری نام برد.

۲-۴- بررسی عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان

۲-۴-۱- نیتروژن (N)

نیتروژن یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی است. میانگین مقدار نیتروژن در ماده خشک گیاهان ۲-۱ درصد و گاهی به ۶-۴ درصد نیز می‌رسد. نیتروژن در بین ۱۶ عنصر مورد نیاز گیاهان از نظر اهمیت در جای چهارم قرار دارد. می‌توان گفت هیچ جایی نیست که در آن کمبود نیتروژن وجود نداشته باشد(سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۸۲). به جز در مورد گیاهان لگومینوز عکس‌العمل گیاهان نسبت به کودهای نیتروژنه بیش از هر ماده غذایی است. نیتروژن از جمله مواد غذایی است که تخلیه آن از خاک به خوبی مشهود است. گیاه نیتروژن مورد نیاز خود را به صورت نیترات و آمونیوم از خاک دریافت می‌دارد. نیتروژن جزء اساسی مولکولهای کلروفیل را تشکیل می‌دهد(بلومنتال و راسل، ۱۹۶۶). بسیاری از مطالعات نشان داده است که کاهش دسترسی به نیتروژن عملکرد کوانتومی انتقال الکترون فتوسیستم۲ (PSII) و حداکثر کارایی آن را می‌کاهد. همچنین کمبود نیتروژن باعث تخریب PSII می‌شود(کامینگ و زانگ، ۲۰۰۰). فجری(۲۰۰۲) بیان کرد که میانگین مقدار ماده خشک ریشه و اندام هوایی یونجه در سطح ۰/۵ میلی‌مول (نیتروژن شروع کننده) نسبت به شاهد بدون نیتروژن افزایش داشت.

افزودن مقدار زیاد نیتروژن باعث کاهش نفوذ باکتری به تارهای کشنده ریشه، کاهش تعداد و توده گره، و کاهش فعالیت تثبیت نیتروژن ریشه‌های گره‌دار و مقدار نیتروژن کل تثبیت شده در سویا و لپه هندی می‌گردد. اما درجه بازدارندگی به فرم ترکیبات نیتروژنه، جنس، رقم، سوش باکتری ریزوبیوم، فصل، شدت نور، درجه حرارت و شرایط تغذیه گره‌ها بستگی دارد(اگلیشام و همکاران، ۱۹۸۳).

۲-۴-۱-۱- ازتوباکتر و مکانیسم عملکرد

جنس ازتوباکتر برای اولین بار در سال ۱۹۰۱ توسط مارتینوس بیجرینک میکروبیولوژیست هلندی و از بنیانگذاران میکروبیولوژی محیطی شناسائی شد. ایشان اولین گونه را کروکوکوم نامید. مهمترین گونه ازتوباکتر، گونه کروکوکوم است. این گونه از دو کلمه کروآ به معنی رنگ و کوکوم یعنی دانه منشاء گرفته است. از ویژگیهای بارز این گونه تولید رنگدانه قهوهای تا سیاه نامحلول در آب است(گریتی و همکاران، ۲۰۰۵). ازتوباکتر یک باکتری گرم منفی و دارای حالت چند شکلی (میلهای، بیضوی و کروی) با طول سه تا هفت میکرون و با قطر متوسط ۱/۵ تا ۲ میکرون و یا بیشتر که به صورت منفرد، زوج با دستههای نامنظم، گاهی به صورت زنجیرههایی با طولهای مختلف مشاهده میشود(مورنو و همکاران، ۱۹۸۶). ازتوباکتر از جمله کودهای بیولوژیک میباشد که یک باکتری آزادزی تثبیت کننده نیتروژن هوا بوده و مقدار تثبیت نیتروژن به وسیله این باکتری۴۰-۲۰ کیلوگرم در هکتار در سال میباشد. پاسخ گیاهان به تلقیح با این باکتری بر حسب سویه باکتری و شرایط خاک و آب و هوای منطقه متفاوت بوده و در موارد پاسخ مثبت افزایش محصول در حدود ۷ تا ۱۲ درصد و حداکثر تا ۳۹ درصد گزارش شده است(براوتن، ۱۹۸۶).

تولید انواع هورمونها مانند ایندول استیک اسید-(اکسین)، جیبرلین و سیتوکینین توسط سویههای مختلف ازتوباکتر محرز شده است. سنتز اسیدهای آمینه مانند آرجینین، لیزین، تریپتوفان، هیستیدین و بیوتین توسط ازتوباکتر گزارش شده است(گونزالز-لوپز و همکاران، ۱۹۸۳). تحقیقات مختلف نشان داده است که نقش ازتوباکتر در رشد گیاه عمدتاً به واسطه تولید هورمونهای محرک رشد همانند اکسینها، جیبرلینها، سیتوکینینها و اتیلن، توان حلکنندگی فسفاتها، افزایش جذب عناصر، افزایش مقاومت به تنشها، تولید ویتامینها و بیوکنترل عوامل بیماریزای گیاهی میباشد(کندی و همکاران، ۲۰۰۴). باکتریهای ازتوباکتر با استفاده از مکانیسمهای مختلفی چون تثبیت بیولوژیک نیتروژن، تولید هورمون اکسین، توسعه سیستم ریشه ای گیاه، ترشح اسیدهای آلی در ریزوسفر قادر

به افزایش عملکرد می‌باشند. این ریز جانداران قادرند با استفاده از مکانیسم های مذکور تا ۲۰٪ افزایش عملکرد را باعث گردند(اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۸۳). پاسخ غلات به ازتوباکتر و نیتروکسین بر حسب سویه باکتری در شرایط خاک و آب و هوای منطقه متفاوت بوده و در موارد پاسخ مثبت محصول حدود ۷-۱۲٪ درصد و حداکثر تا ۳۹٪ گزارش شده است(خاوازی و همکاران، ۱۳۸۰). محققین گزارش کردند که ازتوباکتر و سویه‌های ریزوبیوم قادر به سنتز برخی و یا تمام ویتامین‌های گروه B محلول در آب و از طرفی اتصال سیدروفور تولید شده توسط باکتری‌های یون آهن و تشکیل کلات آهن، این عنصر غذایی را از دسترس انواع بیماری‌زای گیاهی خارج کرده و به این ترتیب رشد گیاه را مورد حمایت قرار می‌دهند(کومار و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین ازتوباکتر توانایی تولید آنتی‌بیوتیک‌های ضدقارچی و ترکیبات Fungistatic در مقابل عوامل بیماری‌زایی مانند Fusarium ، Hlternaria و Trichoderama را نیز دارد(لاکشمی و همکاران، ۱۹۷۲).

۲-۴-۱-۲- ویژگی‌های اکولوژیک ازتوباکتر

ازتوباکتر در خاک، محیط‌های آبی و سطح برگ گیاهان و در محدوده وسیع pH قادر به رشد و فعالیت بوده، با این وجود بهترین pH برای فعالیت این باکتری بین ۷/۵ – ۷ است و عمدتاً در خاکهای خنثی یا قلیائی یافت می‌شود. ازتوباکترها معمولاً به حالت آزاد در سطح خاک و همچنین در قسمت ریزوسفر گیاهان مختلف یافت می‌شوند. با افزایش عمق خاک، جمعیت ازتوباکتر، کاهش می‌یابد. درجه حرارت مناسب برای فعالیت این ریزجاندار بین ۳۰-۲۰ درجه سانتیگراد می‌باشد. گونه غالب ازتوباکتر بستگی به pH ، دما و مقدار رطوبت خاک دارد. گونه غالب ازتوباکتر در مناطق معتدله همانند ایران گونه کروکوکوم است. میزان کلسیم خاک از عناصر ضروری برای تشکیل کیست بوده و در توزیع ازتوباکتر مؤثر است(خسروی، ۱۳۷۶).

ازتوباکتر به دلیل هوازی بودن نمی‌تواند شرایط بی‌هوازی را تحمل کند. بهترین رطوبت برای ازتوباکتر حد ظرفیت مزرعه بوده، به همین دلیل سلول‌های ازتوباکتر در سطح ریشه حضور چندانی نداشته ولی

در منطقه ریزوسفر به وفور یافت می‌شوند. کمبود مواد آلی از عوامل محدود کننده رشد ازتوباکتر محسوب می‌شود، لذا اضافه کردن موادآلی و هوموس به خاک بر رشد و جمعیت گونه‌های مختلف ازتوباکتر و تثبیت نیتروژن تأثیر بسزائی دارد و به همین دلیل ریزجانداران تجزیه‌کننده سلولز و بقایای گیاهی و حیوانی در خاک باعث افزایش رشد و جمعیت ازتوباکتر می‌شوند. میزان عناصر غذائی به خصوص نیتروژن و فسفر بر رشد ازتوباکتر مؤثر بوده بطوریکه افزودن کودهای فسفاتی رشد باکتری‌ها را افزایش می‌دهد، در حالی که افزودن بیش از حد کودهای نیتروژنی رشد ازتوباکتر را محدود می‌کند. در خاکهای تحت کشت که کود حیوانی به آنها داده شده جمعیت ازتوباکتر به طور قابل ملاحظه‌ای زیادتر است، معمولاً تعداد ازتوباکتر در هر گرم خاک کمتر از 10^4 است(خسروی، ۱۳۷۶).

عمو آقایی و همکاران(۱۳۸۲) گزارش کردند که، وزن هزار دانه و درصد پروتئین دانه گندم تحت تأثیر باکتری ازتوباکتر افزایش یافت. با توجه به اینکه ازتوباکتر، باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن هستند و این عنصر ماده‌ی اولیه‌ی تشکیل پروتئین می‌باشد، احتمالاً یکی از دلایل افزایش درصد پروتئین با کاربرد ازتوباکتر، کار تثبیت نیتروژن توسط این باکتری می‌باشد. نتایج تحقیقات انجام شده در گیاه دارویی مریم گلی در استفاده از کود بیولوژیک حاوی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندامهای هوایی گیاه در چین های اول و دوم در طی دو فصل گردید. کودهای بیولوژیک حاوی ریزموجودات و جایگزینی آنها با تنظیم کننده های رشد مصنوعی در بهبود ویژگیهای رشدی و ترکیبات اسانس گیاه مریم گلی کارایی بالایی دارند(مقیمی و همکاران،۱۳۹۰).

طبقه بندی ازتوباکتر و گونه های مختلف جنس ازتوباکتر(گاریتی و همکاران، ۲۰۰۵) عبارتند از :

جدول ۲-۱- طبقه بندی ازتوباکتر

طبقه بندی	
قلمرو (Domain)	باکتریها(Bacteria)
سلسله(Kingdom)	باکتریها(Bacteria)
شاخه (Phylum)	پروتئوباکتریها(Proteobacteria)
رده (Class)	گاما -پروتئوباکتریها(Gamma-proteobacteria)
راسته (Order)	سودودمونادال(Pseudomonadales)
خانواده (Family)	سودوموناداسه(Pseudomonadaceae)
جنس (Genus)	ازتوباکتر(Azotobacter)
گونه (Species)	7 گونه(Spp)

جدول ۲-۲- گونه های مختلف جنس ازتوباکتر

گونه	زیر گونه
A. Nigricans	A.chroococcum
	A.armeniacus
	A. beijerinkii
	nigricans
	achromogenes
	A. paspali
	A.salinestris
	A.vinelandii

۲-۴-۲- فسفر (P)

برخی از ریزموجودات خاک، اثرات مثبتی در تحریک رشد گیاه دارند که به آنها رایزوباکتری های محرک رشد گیاه اطلاق می شود. فسفر دومین عنصر محدود کننده است(اسکاتمن و همکاران، ۱۹۹۸). مقدار فسفر موجود در خاک معمولاً زیاد است، ولی بخش عمده آن برای گیاه قابل جذب نیست. مدیریت مناسب فسفر در تولید عملکرد بهینه محصول، کاهش قیمت تمام شده تولید و پایین آوردن خطرهای زیست محیطی، مهم و تأثیرگذار می‌باشد(گرانت و همکاران، ۲۰۰۵). انباشتگی فسفر در خاک از طریق کاربرد کود حیوانی و یـا شیمیایی، خطر آلوده شدن آب‌های سطحی و زیرزمینی را افزایش می‌دهد. فسفر اضافی در آب، کیفیت اکوسیستم آبی را از طریق پدیده به‌پروری کاهش می‌دهد(اسکیندلر، ۱۹۷۷). در برخی خاکها، فسفر زیادی از محصول قبلی در زمین باقی مانده است که می‌تواند علاوه بر هدرروی فسفر، بر کیفیت محصول بعدی نیز اثـر منفی گذارد(استین و همکاران، ۱۹۹۴). غلظت فسفر در گیاه با عواملی از جمله مرحله رشد گیاه تغییر می‌کند(وایتنی، ۱۹۸۸). رشد گیاه، فرایند پویایی در دوره زندگی گیاه است کـه تابع عوامل متعددی مانند قابلیت دسترسی عناصر غذایی، عوامل رشد و شرایط محیطی است. غلظت عناصر غذایی در هر گیاه به غلظت قابل استفاده این عناصر در خاک بستگی دارد. از سوی دیگر، مراحل رشد و توسعه گیاه بر غلظت عناصر مختلف از جمله فسفر در گیاه اثر می‌گذارد(اسکودرا و همکاران، ۲۰۰۴). علاوه بر این، قابلیت دسترسی فسفر در خاک برای گیاهان در مراحل رشد گیاه تغییر می‌کند. نتایج بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده است که نیاز گیاه به فسفر در مراحل اولیه رشد به مراتب بیشتر از سایر مراحل می‌باشد. مطالعات انجام گرفته نشان داده است که عملکرد دانه ذرت تحت تأثیر غلظت فسفر در مراحل ۴ و ۵ برگی گیاه است و غلظت فسفر در مراحل پایانی رشد کمتر بر عملکرد گیاه تأثیرگذار است(باری و میلر، ۱۹۸۹).

باکتری‌هایی که می‌توانند فسفر را از مخزن غیرقابل جذب به شکل متحرک درآورند و قابلیت جذب آن را برای گیاه افزایش دهند، از اهمیت زیادی برخوردارند(ریچاردسون، ۲۰۰۱). گروهی از این گونه‌های

باکتریایی که دارای قابلیت همیاری با گیاه هستند، متعلق به جنس های سودوموناس فلورسنس، ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و باسیلوس می‌باشند(عبدالجلیل و همکاران، ۲۰۰۷).

۲-۴-۲-۱- سودوموناس و مکانیسم عملکرد

باکتری‌های حل کننده فسفات گروهی از ریز موجودات را در بر می گیرند که قادرند فسفر نامحلول در خاک را به فرم محلول قابل دسترس گیاه تبدیل کنند. از مهم ترین جنس های این خانواده می توان 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 آنزیم هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می کنند، سبب تحریک رشد گیاه می گردد(عبدالجلیل و همکاران، ۲۰۰۷). فسفر از عوامل مهم در دانه‌بندی و شکل‌گیری دانه در ذرت است بنابراین به نظر می‌رسد باکتری Pseudomonas fluorescence با انحلال فسفات‌های نامحلول خاک، امکان دریافت فسفر را برای گیاه بیشتر کرده و باعث افزایش تعداد کل دانه در بلال می‌شود(حمیدی ۱۳۸۵).

گزارش‌های متعددی از آثار مثبت این باکتری‌ها بر عملکرد کتان، ذرت، گندم، جو، تنباکو و خردل وجود دارد که نشان می دهد 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(احتشامی و همکاران، ۲۰۰۸). این افزایش از طریق مکانیسم های مختلفی چون تأمین نیتروژن برای گیاه از طریق تثبیت N_2 ، مواد محرک رشد یا همان فیتوهورمون ها شامل اکسین، سیتوکینین و جیبرلین و ایجاد کنترل بیولوژیکی در مقابل پاتوژن های خاک زی می‌باشد(کاوینو و همکاران، ۲۰۱۰).

آتیا(۱۹۹۹) ضمن اجرای آزمایش‌های مزرعه ای در دو منطقه مشاهده کرد که مایه زنی خاک با گونه‌ای از قارچ میکوریز از جنس گلوموس و باکتری گونه Pseudomonas fluorescence و تیمار مصرف

کود سوپر فسفات تریپل و سنگ فسفات، سبب افزایش عملکرد دانه، میزان پروتئین و عناصر معدنی دانه ذرت و کارایی مصرف کود معدنی میشود. احتشامی و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی که بر روی اثر مایه زنی بذر با باکتری حل کننده فسفات و قارچ میکوریز بر تحمل ذرت به تنش کم آبی انجام دادند دریافتند که در تمام ویژگی‌های اندازه‌گیری شده، تیمارهای تلقیح بذر با قارچ میکوریز آربسکولار و باکتری حل کننده فسفات های نامحلول، در کلیه سطوح آبیاری بالاتر از تیمارهای کود شیمیایی و تیمار شاهد قرار گرفتند؛ یافته‌های آنها نشان داد که ریزموجودات حل کننده فسفات‌های نامحلول به دلیل تاثیر هم افزایی بر افزایش رشد و جذب عناصر غذایی بویژه فسفر در ذرت، افزایش درصد کلنیزاسیون ریشه و نیز افزایش سطح تماس و جذب ریشه از خاک می‌توانند منجر به افزایش تحمل گیاه در شرایط تنش کم آبی گردند.

زارعی و همکاران(۲۰۰۶) در آزمایش دیگر خود که بر روی واکنش گیاه عدس به مایه زنی با سویه‌های باکتری سودموناس فلورسنس و قارچ میکوریزی آربسکولار انجام دادند، مشاهده کردند که یک رابطه همکاری مثبت بین قارچ های میکوریزی و بعضی از سویه های باکتری برقرار است که عملکرد گیاه عدس را افزایش می دهد. بهزاد(۱۳۸۷) گزارش کرد که استفاده از باکتری های تحریک کننده رشد گیاه بر روی صفات عملکرد دانه، تعداد کل دانه در بلال، عملکرد بلال، عملکرد بلال تک بوته، میزان کلروفیل برگ پرچم تاثیر معنی‌داری داشته است، همچنین وی اظهار داشت که به افزوده شدن باکتری Pseudomonas fluorescence به دیگر باکتری‌ها موجب افزایش اثرات مثبت آنها در صفات مورد بررسی ذرت شده است. در تحقیق قربانپور و همکاران(۱۳۹۳) بر روی گیاه دارویی مریم گلی گزارش شد که استفاده از سویه سودوموناسها (پوتیدا و فلورسنس) اثر مثبتی روی رشد اندامهای هوایی و زیرزمینی داشته است. علت اصلی این اثرات مثبت را میتوان به ویژگیهای چندگانه محرک رشدی این سویه ها نسبت داد. این سویه ها با مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم خود، نقش اساسی در رشد و فیزیولوژی گیاه بازی می‌کنند. مکانیسم‌های مستقیم مانند افزایش انحلال عناصر غذایی کم محلول مانند فسفر، تولید ACC -دآمیناز، تولید سیدروفور(از دیدگاه افزایش قابلیت جذب آهن)، ترشح هورمون‌های رشد

از قبیل اکسین، سیتوکنین و جیبرلین که مراحل 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(گلیک و همکاران، ۲۰۰۷).

۲-۴-۳- گوگرد (S)

گوگرد یکی از عناصر ضروری مورد استفاده برای گیاهان می‌باشد که بیش از ۱۷۰ سال است به عنوان عنصر غذایی ضروری و پرمصرف گیاه شناخته شده است(سالاردینی، ۱۹۹۵). گوگرد چهارمین عنصر حیاتی و معدنی برای گیاه؛ پس از N , P , K بوده و یکی از ۱۶ عنصر اصلی حیات است. گوگرد از مهم‌ترین اجزای پروتئین و آنزیم‌ها در ساختار گیاه است(بانرجی و همکاران، ۲۰۰۵). گوگرد یکی از عناصر مورد نیاز گیاه می‌باشد که در حدود ۱۰ ٪ میزان نیتروژن در گیاهان استفاده می‌شود(هانکلاوس و همکاران، ۲۰۰۳). به دلیل آن که تا اندازه زیادی توسط کودهای شیمیایی و ورودی های اتمسفری این عنصر تأمین می‌شود توجه کمتری به نقش این عنصر معطوف گردیده است(اسکرر، ۲۰۰۱).

گیاهان گوگرد را تنها به شکل یون سولفات می‌توانند جذب نمایند(بانرجی و همکاران، ۲۰۰۵). کمبود این عنصر در گیاه عملکرد را در نتیجه تغذیه نامناسب کاهش می‌دهد و از ارزش کیفی محصولات مانند درصد پروتئین و روغن نیز می‌کاهد(قربانی نصرآبادی، ۲۰۰۲). موداهار(۱۹۸۶) دریافت که مشارکت گوگرد در ساختمان اسیدهای آمینه‌ای چون لیستین و سیستئین باعث افزایش کیفیت پروتئین می‌گردد. کمبود این اسید آمینه‌های گوگرددار مهم‌ترین عامل محدودکننده ارزش بیولوژیکی پروتئین‌ها است. البته بایستی به این نکته توجه گردد که شرط اصلی اثربخشی گوگرد، سرعت مناسب اکسایش آن در خاک است؛ به نحویکه بتواند در طی دوره رویشی گیاه، علاوه بر تأمین سولفات، با خاصیت اسیدزایی و کاهش pH ، در مقیاس ریزجایگاههای ریزوسفری، قابلیت فراهمی سایر عناصر غذایی مانند فسفر و آهن را نیز بهبود بخشد(طباطبایی، ۱۹۸۶).

اگر زمین‌های زراعی از نظر داشتن گوگرد فقیر باشند، کشاورزان از کودهای گوگرددار استفاده می‌کنند مانند: آمونیوم سولفات و پتاسیم سولفات. کودهای گوگردار در کارخانه‌ها تولید می‌شوند و قابل حل نیز در آب هستند و باعث آلودگی آب‌های زیرزمینی می‌شوند. گوگردهای معدنی ارزان‌تر هستند و مستقیماً قابل حل در آب نمی‌باشند و آب‌های زیرزمینی را نیز آلوده نمی‌سازند. تنها مشکل گوگرد معدنی در این است که مستقیماً برای گیاه قابل استفاده نبوده و بایستی به حالت سولفات درآیند تا برای گیاه قابل جذب باشند. اکسید شدن گوگرد به شدت تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها و ریزجانداران خاک قرار گرفته و در حالت طبیعی بسته به شرایط اقلیمی بین ۱۸ تا ۲۴ ماه طول می‌کشد(بانرجی و همکاران، ۲۰۰۵).

۲-۴-۳-۱- تیوباسیلوس و مکانیسم عملکرد

تیوباسیلوس‌ها گروهی از باکتری‌های گرم منفی می‌باشند که انرژی مورد نیاز خود را از طریق اکسیداسیون ترکیبات غیرآلی گوگرددار تأمین می‌نمایند. این باکتری‌ها قادر به اکسیداسیون ترکیبات آهن‌دار می‌باشند .تیوباسیلوس‌ها نقش بسیار مهمی در جلوگیری از آبشویی ترکیبات معدنی به خصوص گوگرد داشته و منجر به بازگشت ترکیبات فلزی می‌شوند(دوناتی و همکاران، ۱۹۷۹). سطوح پروتئین‌های فسفوریلاسیون توسط تیوباسیلوس افزایش می‌یابد و تحت تأثیر مس و تعدادی از فلزات سنگین قرار می‌گیرد(تریسا و همکاران، ۲۰۰۰). این باکتری اسید دوست بوده و اکسیداسیون سولفید آهن به سولفات فریک یا اسید سولفوریک را تسریع می‌کند که در این کار حجم زیادی از سلول های این باکتری برای اکسیداسیون سریع آهن به کار می‌رود(گومز و همکاران، ۲۰۰۰).

اکسیداسیون گوگرد عنصری به طور عمده توسط گونه های شیمیوسنتز کننده تیوباسیلوس انجام می‌شود. علاوه بر گوگرد عنصری، سولفیدها، تیوسولفات و تتراتیونات نیز به سولفات اکسیده می‌شوند. تیوباسیلوس‌ها میتوانند اثرات قابل ملاحظه‌ای بر pH محیط داشته باشند. به علت تولید اسید توسط تیوباسیلوس حلالیت عناصر افزایش یافته و قابلیت دسترسی آنها تسهیل می‌گردد(فلاح و همکاران،

۲۰۱۰). برخی بررسی‌ها مؤید این مطلب است که باکتری تیوباسیلوس با اکسید کردن گوگرد در خاک، اسیدسولفوریک تولید کرده که موجب افزایش حلالیت ترکیبات نامحلول مانند اکسیدها، کربناتها و سیلیکاتها می‌گردد. گزارش شده است که اکسایش گوگرد در خاک‌های تلقیح شده با باکتری‌های تیوباسیلوس حدود ۱۱ برابر بیشتر از خاک های تلقیح نشده بود(بشارتی کلایه، ۱۹۹۸). درودیان و همکاران(۲۰۱۰) در آزمایشی روی ذرت بیان کردند اسیدیته خاک در تیمار گوگرد تلقیح شده با باکتری تیوباسیلوس، تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت، ولی اثر متقابل گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر اسیدیته خاک معنی‌دار بود. کاهش اسیدیته خاک حتی به طور موضعی یکی از روش‌های مؤثر مقابله با کمبود فسفر و ریزمغذی‌ها در خاک‌های آهکی و قلیایی به شمار می‌رود.

بشارتی(۱۹۹۸) ضمن بررسی‌های خود تأثیر مثبت تلقیح باکتری‌های تیوباسیلوس بر افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی را گزارش کرده‌اند. در تحقیق یادگاری و برزگر(۱۳۸۹) بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه گزارش شد که استفاده از تیمار تیوباسیلوس به همراه گوگرد تأثیر مثبتی بر جذب عناصر مس، روی، منگنز و آهن داشته و همچنین باعث افزایش میزان اسانس شده است. در تحقیقی محققان به این نتیجه رسیدند که استفاده از بذر مایه‌زنی شده با باکتری‌های اکسید کننده گوگرد در گیاهان دارای نیاز بالا به گوگرد(مانند کلزا) در چمنزارهای کانادا می‌تواند اثر چشمگیری در افزایش تولید گیاه داشته باشد(بانرجی و یسمین، ۲۰۰۰). معتمد(۲۰۰۶) دریافت که حداکثر عملکرد کیفی گندم(درصد پروتئین) مربوط به تیمار سطح بالای گوگرد یعنی ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد کشاورزی در ۲۰ هکتار بود.

فصل سوّم

مواد و روش‌ها

۳-۱- مشخصات طرح آزمایشی

در این پروژه آزمایش‌های زیر جداگانه انجام گردید :

۱)آزمایش جوانه‌زنی ، **۲**)آزمایش مزرعه‌ای ، **۳**)آزمایش گلخانه‌ای

در این تحقیق از ژرم پلاسم (بذر و نشاء) گیاه دارویی شابیزک موجود در بانک بذر پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی (با کد **MPISB-914**) استفاده گردید. سویه‌های خالص باکتری‌های زیستی از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید.

۳-۲- آزمایش جوانه زنی

آزمایش جوانه‌زنی در سال ۱۳۹۵ در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در حصارک کرج انجام شد.

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. قبل از آزمایش بذرهای نارس و آفت زده جدا شدند، سطح بذرها با هیپوکلرید سدیم ۱٪ (NaClO) به مدت سه دقیقه استریل و سپس شستشو شد، پتریدیش‌ها در ۷ سطح دمایی : ۵(T_1) ، ۱۰(T_2) ، ۱۵(T_3) ، ۲۰(T_4) ، ۲۵(T_5) ، ۳۰(T_6) و ۳۵(T_7) درجه سانتی‌گراد به عنوان عامل اول و در ۳ سطح نوری: روشنایی کامل(L_1)، تاریکی کامل(L_2) و ۸ ساعت تاریکی + ۱۶ ساعت روشنایی(L_3) به عنوان عامل دوم در رطوبت ۷۵-۷۰ درصد قرار گرفتند. بدین منظور ۶۳ پتری به قطر ۹ سانتی‌متر تهیه و در هر پتریدیش تعداد ۵۰ عدد بذر بر روی دو لایه کاغذ واتمن(ایستا، ۱۹۹۶) قرار داده شد. کاغذها با حدود ۵ میلی‌لیتر آب استریل بطور مرتب مرطوب نگه داشته می‌شدند. تعداد بذرهای جوانه زده هر ۲۴ ساعت شمارش می‌شدند. مبنای جوانه‌زنی بذر خروج ریشه‌چه (۲ میلی‌متر) از پوشش بذر و مشاهده آن با چشم غیر مسلح بود(اولد و همکاران، ۱۹۸۸).

ژرمیناتور استفاده شده جهت قرار دادن بذور برای جوانه‌زنی از شرکت "ژال تجهیز" مدل JTGL600 و ساخت ایران است. در این تحقیق بمنظور بررسی رفتار جوانه‌زنی بذر شابیزک، برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی محاسبه و برای پیش‌بینی دمای کاردینال از رابطه سرعت جوانه‌زنی در مقابل دما استفاده شد. درصد و سرعت جوانه‌زنی در هر دما با شمارش بذرهای جوانه‌زده تا ۵۰٪ جوانه‌زنی محاسبه گردید.

صفات مورد اندازه‌گیری عبارتند از :

درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه، وزن خشک گیاهچه و دمای کاردینال برای جوانه‌زنی.

۳-۲-۱- روشهای اندازه‌گیری صفات

اندازه‌گیری صفات GP ، GR ، MTG و VI بر اساس فرمول‌های زیر بوده است(باسکین، ۱۹۹۸) :

۳-۲-۱-۱- درصد جوانه‌زنی GP[1] :

GP = (تعدادکل بذرها / تعداد بذرهای جوانه‌زده تا روز آخر) × ۱۰۰

۳-۲-۱-۲- سرعت جوانه‌زنی GR[2] :

GR = ۱/میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

۳-۲-۱-۳- میانگین مدت زمان جوانه‌زنی MTG[3] :

MTG = ∑(کل بذور جوانه‌زده) / (کل بذرهای جوانه‌زده × تعداد بذور جوانه‌زده در هر روز)∑

۳-۲-۱-۴- شاخص بنیه بذر VI[4] :

VI = درصد جوانه‌زنی × (طول ریشه‌چه + طول ساقه‌چه) طول گیاهچه

[1] Germination Percentage
[2] Germination Rate
[3] Mean Time Germination
[4] Vigour Index

جهت اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک گیاهچه مبنای اندازه‌گیری، حداقل ۱۰ عدد و حداکثر به تعداد گیاهچه‌های جوانه‌زده بوده است.

۳-۲-۱-۵- اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و ریشه‌چه

از کولیس دیجیتال مدل Satorius ساخت آلمان استفاده گردید.

۳-۲-۱-۶- اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه

ابتدا گیاهچه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، وزن آنها اندازه‌گیری شد.

۳-۲-۱-۷- دمای کاردینال

برای تعیین درجه حرارتهای کاردینال از ۳ مدل رگرسیونی مدل خطوط متقاطع ، مدل مسطح(دندانی شکل) و مدل بتا(β) استفاده گردید(تبریزی و همکاران، ۱۳۸۶). در این مدلها بین درجه حرارت(بعنوان متغیر مستقل: محورx) و سرعت جوانه زنی(بعنوان متغیر وابسته : محورy) برازش منحنی‌ها انجام گردید.

در مدلهای ذیل $f(T)$ تابع دمایی یا سرعت رشد (در روز)، T میانگین دما از کاشت تا جوانه‌زنی بر حسب سانتیگراد و Tb درجه‌حرارت پایه که در این درجه حرارت $f(T)$ برابر با صفر می‌شود، Tc درجه حرارت حداکثر، To درجه‌حرارت مطلوب، To_1 درجه‌حرارت مطلوب تحتانی و To_2 درجه‌حرارت مطلوب فوقانی (در تابع دندان مانند) می‌باشند.

بررسی کیفیت تطبیق منحنی‌ها با نقاط مشاهده شده به۳روش انجام شد. ابتدا برای ارزیابی از دو پارامتر ضریب تعیین(R^2) و خطای استاندارد(SE) استفاده گردید سپس برای بررسی دقیقتر از مجذور مربعات خطا برای ارزیابی هر مدل استفاده گردید که توسط رابطه زیر محاسبه شد(رومان و همکاران، ۲۰۰۰).

$$\boldsymbol{RMSE} = \sqrt{\sum^{(\boldsymbol{Oi}-\boldsymbol{Pi})^2}/_{\boldsymbol{n}-\boldsymbol{1}}}$$

که درآن oi مقدار مشاهده شده، pi مقدار پیش بینی شده با مدل و n تعداد جفت مقادیر مورد استفاده در محاسبه مجذور مربعات خطا است. مبنای انتخاب مدل برتر، مجذور مربعات خطا کوچکتر از ≥۱۰ است، که نشان دهنده تطابق مناسب نقاط مشاهده شده با نقاط پیش‌بینی شده است. تجزیه داده‌ها با استفاده از PROC GLM در نرم‌افزار آماری SAS انجام شد، داده‌ها توسط فرمول $arcsin\sqrt{x/100}$ نرمال شدند. برای برازش مدل‌های رگرسیونی از بسته نرم‌افزاری Sigmaplot11 استفاده گردید.

۳-۳- آزمایش مزرعه‌ای

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در حصارک کرج انجام گردید.

قبل از انجام آزمایش، از ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه برداری و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن تعیین شد.

جدول ۳-۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه تا عمق ۳۰ سانتی متری

کلاس بافت خاک	درصد اجزاء رس	سیلت	شن	اسیدیته (pH)	شوری (ds/m)	ازت کل (درصد)	مواد آلی (درصد)	فسفر قابل جذب ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب ($mg.kg^{-1}$)
لوم - سیلتی	۸	۱۳	۷۹	۸/۲	۰/۹۵	۰/۰۷۱	۰/۸۲	٤٨/٩	٣٣/٦

توصیه کود شیمیایی با توجه به جدول ۳-۱، ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره، ۶۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم و ۶۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم برآورد گردید.

جدول ۳-۲- مشخصات اقلیمی(میانگین ۲۰ ساله دما و بارندگی) و

مشخصات جغرافیایی مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی

میانگین سالیانه دما (سانتی‌گراد)	میانگین بارندگی (میلی‌متر)	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۱۳/۲۱	۲۶۳	۱۴۲۶	۳۵° ۳۶´	۵۰° ۵۶´

جدول ۳-۳- میانگین برخی شاخص‌های آب و هوایی

منطقه کشت گیاه شابیزک(حصارک کرج) در طول دوره رشد (۱۳۹۶-۱۳۹۵)

ماه	میانگین دمای ماهانه (سانتی‌گراد)	ماکزیمم دمای ماهانه (سانتی‌گراد)	مینیمم دمای ماهانه (سانتی‌گراد)	مجموع بارش ماهانه (میلی‌متر)
دی	۲/۱	۱۳/۳	-۸/۶	۴۶/۴
بهمن	۰/۹	۱۳/۲	-۱۲/۳	۷۷/۷
اسفند	۷/۲	۱۷/۹	-۳/۱	۸۱/۸
فروردین	۱۳/۱	۲۵/۲	-۱/۸	۹۷/۱
اردیبهشت	۲۰/۶	۳۱/۱	۸/۳	۳۵/۲
خرداد	۲۴/۹	۳۵/۲	۹/۱	۰
تیر	۲۷/۴	۳۷/۸	۱۲/۹	۰/۶

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری‌های محرک رشد به عنوان عامل اول در ۵ سطح که عبارتند از:

عدم تلقیح (N)، سودوموناس (*Pseudomonas putida* strain P_5; S)، ازتوباکتر(*Azotobacter vinelandii* strain O_4; A)، سودوموناس+ازتوباکتر(SA)، تیوباسیلوس(*Thiobacillus* spp; T) +گوگرد(T)

تیمار کود شیمیایی به عنوان عامل دوم در ۳ سطح که عبارتند از :

عدم مصرف کود شیمیایی«شاهد»(F_1) ، ۵۰٪ کود توصیه شده(F_2) و ۱۰۰٪ کود توصیه شده(F_3)

بذر گیاه شابیزک در تاریخ ۱۳۹۵/۱۱/۰۱ در بستر گلخانه کشت و در تاریخ ۱۳۹۶/۰۱/۱۵ نشاءها به مزرعه جهت اعمال تیمارها منتقل گردیدند. در این آزمایش کرت‌های آزمایش به ابعاد ۲×۲ متر ایجاد و نشاهای شابیزک در فواصل ۵۰ ×۲۰ سانتی‌متر کشت گردیدند و در نهایت در مرحله گلدهی، گیاهان جهت اندازه‌گیری صفات برداشت شدند. اعمال تیمارهای کودی آزمایش در زمان‌های ذیل انجام شد:

- در آخرین مرحله آماده سازی مزرعه برای کاشت نشاء شابیزک و همزمان با آماده سازی کرت‌ها، مقدار ۵۰٪ توصیه کودی تیمارهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ کود شیمیایی به خاک اضافه شد.
- اعمال تیمار تلقیح با باکتری‌های محرک رشد(قرار دادن ریشه گیاه در محلول باکتری) در تاریخ ۱۳۹۶/۰۱/۱۵ همزمان با کشت نشاء صورت پذیرفت.
- ۵۰٪ توصیه کودی تیمارهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ کود شیمیایی در ۱۳۹۶/۰۲/۳۰ قبل از مرحله گلدهی به صورت سرک اعمال گردید.

در این آزمایش آبیاری یک روز در میان انجام شد، وجین علفهای هرز نیز بصورت دستی انجام پذیرفت و از علفکش بدلیل تأثیرات سوء استفاده نگردید. نمونه برداری و اندازه گیری صفات نیز با به گل رفتن گیاه در تاریخ ۱۳۹۶/۰۴/۱۵ آغاز گردید.

صفات مورد اندازه‌گیری :

۱) ارتفاع بوته
۲) عملکرد کل گیاه
۳) وزن خشک برگ
۴) وزن خشک ساقه
۵) تعداد گل‌آذین در بوته
۶) تعداد انشعابات بوته
۷) میزان سبزینگی برگ‌ها
۸) مقدار عناصر نیتروژن و فسفر و پتاسیم برگ
۹) میزان کربوهیدرات محلول برگ
۱۰) میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ
۱۱) میزان آتروپین و اسکوپولامین ریشه

۳-۳-۱- روشهای اندازه گیری صفات

۳-۳-۱-۱- اندازه‌گیری وزن خشک برگ و ساقه

جهت اندازه‌گیری وزن خشک برگ و ساقه، نمونه‌ها جهت حفظ کیفیت در دمای محیط و بدون نور مستقیم خورشید خشک شدند و سپس با ترازوی دیجیتال، اندازه‌گیری گردید.

۳-۳-۱-۲- اندازه‌گیری میزان سبزینگی برگ‌ها

میزان سبزینگی برگ‌ها با استفاده از دستگاه SPAD (مدل MINOLTA-502 JAPAN) تعیین شد. جهت تعیین میزان سبزینگی برگ، ابتدا دستگاه روشن و یک بار بدون قرار دادن برگ در محفظه عمل قرائت انجام شد تا دستگاه کالیبره گردد. سپس میزان سبزینگی سه برگ بالایی بطور تصادفی قرائت و میانگین آنها به عنوان سبزینگی برگ بوته در نظر گرفته شد.

۳-۳-۱-۳- محاسبه آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه

برای محاسبه آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه نیز از روش عصاره‌گیری از نمونه‌ها به روش فاچینی(۱۹۹۵) و فریک(۲۰۰۴) با اندکی تغییر انجام شد. بر اساس این روش، مقدار یک گرم از پودر نمونه(برگ یا ریشه) را به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر انتقال داده و به آن ۵ میلی‌لیتر آمونیاک ۲۵ درصد، ۲۵ میلی‌لیتر متانول و ۷۵ میلی‌لیتر 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 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 ۲۰۰ میلی‌لیتر به دستگاه روتاری متصل شد تا حلالهای آن تبخیر و خارج شود. به رسوب حاصل، ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱۰ میلی‌لیتر 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. ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم عمل استخراج انجام شد، در این مرحله فاز کلروفرمی (فاز پایینی) در بالنهای کوچکتر جمع‌آوری و فاز آبی مجدداً با ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم استخراج و جمع‌آوری شد. برای آبگیری از محلول حاصل، به محلول کلروفرمی جمع‌آوری 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 ۵ میلی‌لیتر 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.

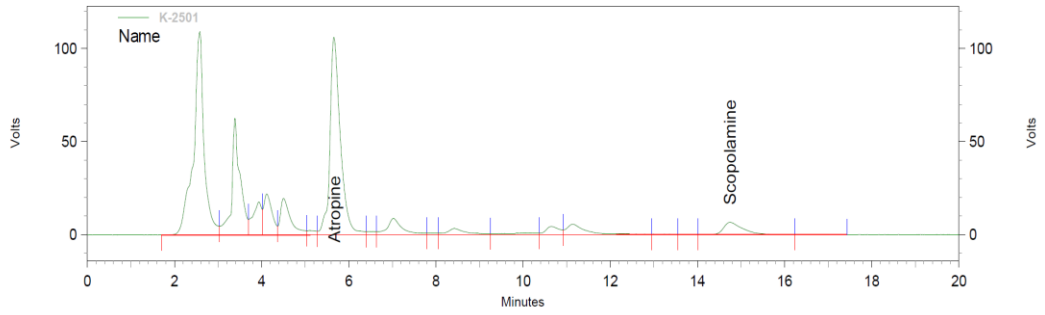
* مشخصات دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا HPLC[1]

روش کروماتوگرافی مورد استفاده جهت جداسازی و تعیین مقدار آتروپین و اسکوپولامین موجود در گیاه شابیزک، روش کروماتوگرافی مایع با کارایی با HPLC است. 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= 5/6 و دتکتور 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

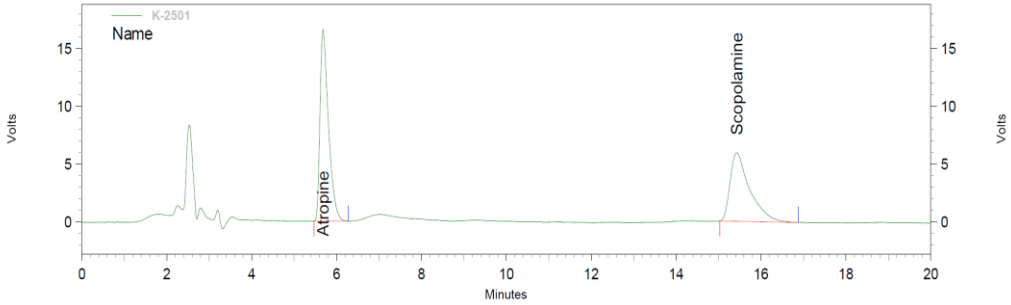
[1] High Performance Liquid Chromatography

آمـده (شـکل ۱-۳) و با استفاده از منحنی استاندارد(شکل ۱-۳) آنها محاسـبه شد. منحنـی اســتاندارد نیــز براســاس ســطح زیــرمنحنــی دو ترکیــب استاندارد (آتروپین سولفات و اسکوپولامین هیدروبروماید) در۴ غلظت ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ترسیم شد.

(الف)



(ب)



شکل ۳-۱- نمونه کروماتوگرام HPLC آتروپین و اسکوپولامین اندام گیاهی (الف) و محلول استاندارد (ب)

۳-۳-۱-۴- اندازه‌گیری مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ

جهت اندازه‌گیری نیتوژن برگ، ابتدا نمونه‌ها با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ هضم شده و سپس میزان غلظت نیتروژن آنها از روش کلدال(کجلدال) اندازه گیری گردید(امامی، ۱۳۷۵). برای اندازه‌گیری عناصر پتاسیم و فسفر پس از برداشت برگ گیاه، نمونه‌ها خشک و سپس آسیاب شدند. بعد از تهیه محلول میزان پتاسیم با دستگاه فلیم فتومتر مدل JENWAY PFP7 ساخت انگلستان و همچنین میزان فسفر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS مدل UV-3100PC ساخت ژاپن اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری پتاسیم از روش خاکسترگیری خشک استفاده شد . ابتدا نمونه‌های خشک شده از برگ گیاه، آسیاب و سپس دو گرم از هر نمونه در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده شدند. بعد از آن ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به نمونه‌ها اضافه و برای مدت ۱۰ دقیقه در حمام بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. آنگاه با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۲، نمونه‌ها صاف و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند. با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر میزان پتاسیم اندازه‌گیری شد(قائدی جشین و همکاران، ۲۰۱۶).

برای اندازه‌گیری فسفر، یک گرم از ماده خشک به مدت چهار ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد و بعد به مدت دو ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد در کوره الکتریکی قرار داده شد. سپس به نمونه ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (Hcl) دو مولار اضافه شد و با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر در بالن ژوژه رسانیده و بعد از کالیبره کردن دستگاه اسپکتوفتومتر، نمونه را در دستگاه قرار داده شد تا مقدار فسفر مربوط را در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت شود. سپس از طریق فرمول زیر میزان فسفر موجود در نمونه محاسبه گردید.

$$\text{درصد فسفر} = (a-b) * V/200W \; 100/DM$$

در این فرمول a غلظت نمونه، b غلظت شاهد ، w وزن نمونه گیاه ، v حجم محلول نمونه اولیه و DM درصد ماده خشک می‌باشد(قائدی جشین و همکاران، ۲۰۱۶).

۳-۳-۱-۵- اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات محلول برگ

مقدار کربوهیدرات با روش اسچیگل(۱۹۵۶) صورت پذیرفت. در هر کدام از نمونه‌ها، کربوهیدرات با استفاده از اتانول ۹۵ ٪ و بر اساس روش اسید سولفوریک استخراج شد. در این روش ۰/۲ گرم از بافت تر برگ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ ٪به مدت یک ساعت در حمام بنماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. به ۱ میلی‌لیتر از این نمونه، ۱ میلی‌لیتر فنل ۰/۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه گشت. میزان نور جذبی

در ۴۸۳ نانومتر بـا دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS مدل UV-3100PC قرائت شد. میزان کربوهیدرات استخراجی بر اساس میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر به دست آمد.

۳-۳-۱-۶- اندازه‌گیری ارتفاع بوته

از خط کش فلزی جهت اندازه‌گیری استفاده گردید و بر اساس سانتی‌متر گزارش شد.

۳-۳-۱-۷- عملکرد کل گیاه

عملکرد کل گیاه شامل اندام هوایی و ریشه گیاه دارویی شابیزک است که پس از برداشت اندازه‌گیری و محاسبه گردید.

۳-۳-۱-۸- تعداد گل آذین و انشعابات بوته

تعداد گل آذین و انشعابات پس از برداشت بوته‌ها شمارش و ثبت گردید.

۳-۴- آزمایش گلخانه‌ای

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ در گلخانه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واقع در حصارک کرج انجام شد. خاک مورد استفاده در آزمایش گلخانه‌ای، از خاک مزرعه بوده و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک همانند جدول ۳-۱ است.

آزمایش به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری‌های محرک رشد به عنوان عامل اول در ۵ سطح که عبارتند از :

عدم تلقیح (N)، سودوموناس (*Pseudomonas putida* strain P_5; S)، ازتوباکتر(*Azotobacter vinelandii* strain O_4; A)، سودوموناس+ازتوباکتر(SA)، تیوباسیلوس(*Thiobacillus* spp.) +گوگرد(T)

تیمار کود شیمیایی به عنوان عامل دوم در ۳ سطح که عبارتند از:

عدم مصرف کود شیمیایی«شاهد»(F_1) ، ۵۰٪ کود توصیه شده(F_2) و ۱۰۰٪ کود توصیه شده(F_3)

با توجه به آنالیز خاک و اطلاعات محاسبه شده، تعیین نیاز کودی برای هر گلدان برآورد گردید.

بذر گیاه شابیزک در تاریخ ۱۳۹۵/۰۸/۰۴ در بستر گلخانه کشت و در تاریخ ۱۳۹۵/۱۰/۱۵ نشاءها به گلدان‌ها جهت اعمال تیمارها منتقل گردیدند. جهت اجرای طرح از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۳۰cm و قطر دهانه ۲۲ سانتی‌متر استفاده شد. در سطح هر گلدان ۲ نشاء کاشته شد و در نهایت در مرحله گلدهی، گیاهان از سطح هر گلدان برداشت شدند.

اعمال تیمارهای کودی آزمایش در زمان‌های ذیل انجام شد:

- در آخرین مرحله آماده سازی گلخانه برای کاشت نشاء گیاه شابیزک و همزمان با آماده‌سازی گلدان‌ها، مقدار ۵۰٪ توصیه کودی تیمارهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ کود شیمیایی هر تیمار به خاک گلدان‌ها اضافه شد.
- اعمال تیمار تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در تاریخ ۱۳۹۵/۱۰/۱۵ همزمان با کشت نشاء در گلدان‌ها صورت پذیرفت.
- ۵۰٪ توصیه کودی تیمارهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ کود شیمیایی هر تیمار نیز در ۱۳۹۶/۰۱/۳۰ قبل از مرحله گلدهی به صورت سرک اعمال گردید.

در این آزمایش آبیاری یک روز در میان انجام شد، وجین علفهای هرز نیز بصورت دستی انجام پذیرفت و از علفکش بدلیل تأثیرات سوء استفاده نگردید. نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات نیز با به گل رفتن گیاه در تاریخ ۱۳۹۶/۰۳/۱۰ آغاز گردید.

صفتهای مورد اندازه‌گیری عبارتند از :

۱) حجم ریشه
۲) قطر ریشه
۳) طول ریشه اصلی
۴) وزن خشک اندام هوایی
۵) وزن خشک ریشه
۶) نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه
۷) میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ
۸) میزان آتروپین و اسکوپولامین ریشه
۹) مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ

۳-۴-۱- روش‌های اندازه‌گیری صفات

۳-۴-۱-۱- حجم ریشه

به منظور محاسبه حجم ریشه از قانون ارشمیدس استفاده شد، بدین منظور با قراردادن ریشه‌ها در استوانه‌های مدرج و تعیین میزان تغییر سطح آب، حجم ریشه اندازه‌گیری شد(گنجعلی، ۲۰۰۵).

۳-۴-۱-۲- قطر ریشه

برای سنجش قطر ریشه از قسمت آغازین ریشه از کولیس دیجیتال مدل Sartorius ساخت آلمان استفاده گردید و نتایج بر حسب میلی‌متر گزارش شد.

۳-۴-۱-۳- اندازه‌گیری طول ریشه اصلی

از خط‌کش فلزی استفاده شده و نتایج بر حسب سانتی‌متر گزارش گردید.

اندازه گیری وزن خشک برگ و ساقه

توضیحات در آزمایش مزرعه‌ای ذکر گردید.

محاسبه آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه

توضیحات در آزمایش مزرعه‌ای ذکر گردید.

اندازه‌گیری مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ

توضیحات در آزمایش مزرعه‌ای ذکر گردید.

۳-۵- تحلیل آماری

مقایسه میانگین‌ها در آزمایشات به روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد و آنالیز آماری داده‌های این تحقیق توسط نرم‌افزار SAS ver 9.1 انجام و جداول توسط Excel 2013 ترسیم گردید.

فصل چهارم

نتایج و بحث

۴-۱- آزمایش جوانه‌زنی

۴-۱-۱- درصد جوانه‌زنی

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر درصد جوانه‌زنی داشت(جدول ۴-۱). به لحاظ آماری تیمارهای برتر L_1T_4 و L_3T_4 اختلاف معنی‌داری نداشتند که میانگین درصد جوانه‌زنی(۸۰/۶۴) بدست آمد. تیمارهای L_1T_7 ، L_2T_7 و L_3T_7 نیز به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند که میانگین(۱۱/۶۸) حاصل گردید(جدول ۴-۲).

۴-۱-۲- سرعت جوانه‌زنی

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر سرعت جوانه‌زنی داشت(جدول ۴-۱). بین تیمارهای برتر L_1T_4، L_2T_4، L_3T_4 و L_1T_5 به لحاظ آماری اختلاف معنی-داری وجود نداشت. تیمارهای L_1T_1، L_2T_1، L_3T_1 و L_2T_2 به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند(جدول ۴-۲).

دما و نور یکی از مهمترین عوامل محیطی هستند که زمان جوانه‌زنی را تنظیم می‌کنند و بر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی نیز مؤثرند(کاماها و مگوری، ۱۹۹۲). بخشی به خاطر این که خفتگی را کنترل می‌کنند و یا بذر را از خفتگی بیرون می‌آورند و بخشی به سبب این که موجب سازگاری با آب و هوا می‌شوند(اعلایی و همکاران، ۱۳۸۴). علت افزایش درصد و سرعت جوانه زنی در شرایط نوری و دمایی را می‌توان به تغییرات فیزیولوژیکی درون بذر نسبت داد. به نظر می‌رسد دما و نور سبب تغییرات هورمونی در بذر می‌شوند و بالطبع بازدارنده‌های جوانه‌زنی نیز تجزیه شده که موجب تحریک جوانه‌زنی می‌شود(زهو و همکاران، ۲۰۰۵).

۴-۱-۳- میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی داشت(جدول ۴-۱). بین تیمارهای برتر L_1T_1 و L_3T_1 به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که میانگین مدت زمان جوانه‌زنی(۶۲/۵۳ تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز) بدست آمد. تیمارهای L_1T_4، L_2T_4، L_3T_4، L_1T_5 و L_3T_5 به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند که میانگین مدت زمان جوانه‌زنی(۱۶/۱۴ تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز) حاصل گردید(جدول ۴-۲).

همانطور که می‌دانیم میانگین مدت زمان جوانه‌زنی عکس میزان سرعت جوانه‌زنی می‌باشد. بررسی نتایج نشان داد که در دماهای پایین میانگین مدت زمان جوانه‌زنی زیاد بود، به عبارت دیگر، مدت زمان سپری شده برای آن که نیمی از بذور(۵۰٪) جوانه بزنند بیشتر و سرعت جوانه‌زنی کمتر بود. با افزایش درجه حرارت تا حد دماهای بهینه جوانه زنی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی کاهش و سرعت جوانه‌زنی افزایش یافت و سپس با افزایش دما، مجدداً میانگین مدت زمان جوانه‌زنی افزایش یافت. نتیجه تحقیق ناقدی نیا و رضوانی مقدم(۱۳۸۸) بر روی گیاه دارویی کرامب(*Crambe kotschyana* L.) در خصوص میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بیانگر آن بود که با افزایش دما تا حد دمای بهینه (۲۰ درجه سانتی‌گراد) میانگین مدت زمان جوانه‌زنی کاهش یافته و سرعت جوانه‌زنی افزایش یافته است و با نتایج فوق مطابقت داشت.

۴-۱-۴- شاخص بنیه بذر

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر شاخص بنیه بذر داشت(جدول ۴-۱). از لحاظ آماری بین تیمارهای برتر L_2T_4 ، L_3T_4 ، L_2T_5 و L_3T_5 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که میانگین شاخص بنیه بذر(۵۶۰۹/۸) بدست آمد. تیمارهای L_1T_7، L_2T_7، L_3T_7، و L_1T_1 نیز به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند که میانگین شاخص بنیه بذر(۴۹۶/۷) حاصل گردید(جدول ۴-۲).

با توجه به نتایج در دماهای پایین شاخص بنیه بذر پایین بوده و با افزایش دما میزان آن نیز افزایش یافته است و در محدوده دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و در تیمارهای نوری به حداکثر میزان خود رسیده است و با فزایش یافتن دما کاهش یافته و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به پایین ترین میزان رسیده است. شاخص بنیه بذر طبق تعریف ISTA (۱۹۹۶) متأثر از مجموعه عوامل و شرایطی است که بر جوانه زدن و سبز شدن بذر تأثیر می‌گذارند. از عوامل محیطی می‌توان به دما و نور اشاره نمود. دما و نور می‌توانند تأثیر خود را از طریق فرآیندها و واکنش‌های بیوشیمیایی درمدت جوانه‌زنی مثل واکنش‌های آنزیمی و فعالیت‌های تنفس بذر بگذارند. خاوری و همکاران(۱۳۹۵) در تحقیقی که بر روی ۵ رقم بذر چمن داشتند بیان داشتند که در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شاخص بنیه بذر در حداکثر میزان خود بوده است. الهوردی ممقانی و همکاران(۱۳۹۲) در آزمایش خود که به تأثیر نور در برخی از صفات جوانه‌زنی در گونه‌های آویشن(Thymus spp) پرداخته است، اعلام داشتند که بیشترین میزان شاخص بنیه بذر از تیمار نوری بدست آمده است که تحقیقات ذکر شده با نتایج فوق مطابقت دارد.

جدول ۴-۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) ویژگی‌های صفات جوانه‌زنی گیاه دارویی شابیزک در سطوح مختلف دما و نور

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	میانگین مربعات (M.S)			
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر
نور(L)	۲	۲۳۵۲۸/۶۷۴**	۰/۰۰۰۱۸**	۸۴۶۷/۶۷۸۷**	۷۲۹۷۷۶۲/۳**
دما(T)	۶	۲۴۵۵/۵۱۴**	۰/۰۰۳۲۲**	۱۳۳۵/۸۵۲۶**	۳۸۰۹۹۲۶۸**
نور × دما	۱۲	۵۷۷/۴۰۵**	۰/۰۰۰۰۵۹۶۱**	۴۰۷/۳۲۱۶**	۱۳۳۰۵۹۶/۹**
خطا(E)	۶۳	۳۱/۴۵۲	۰/۰۰۰۰۱۸	۶/۴۴۹۸	۲۴۳۳۷۹/۹
ضریب تغییرات(درصد)	---	۱۶/۱	۱۰/۴	۱۲/۶	۱۷/۳

*** و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵، ۱ درصد و عدم معنی‌داری**

جدول ۴-۲- مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی گیاه دارویی شابیزک تحت تأثیر اثر متقابل دما و نور

تیمار	درصد جوانه‌زنی %	سرعت جوانه‌زنی (seed day^{-1})	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (day seed^{-1})	شاخص بنیه بذر
L_1T_1	۴۵/۳۳ef	۰/۰۱۶h	۶۲/۷۳a	۹۴۶/۵fg
L_2T_1	۳۳/۳۳g	۰/۰۱۷h	۵۷/۴۶b	۱۴۴۴/۱ef
L_3T_1	۴۹/۸۶ef	۰/۰۱۶h	۶۲/۳۴a	۱۷۶۱/۵de
L_1T_2	۴۸ef	۰/۰۳۲fg	۳۱/۶۳de	۱۶۲۰/۶def
L_2T_2	۴۵/۳۳ef	۰/۰۱۹h	۵۲/۵۸c	۲۹۶۳/۸c
L_3T_2	۴۲/۵۳fg	۰/۰۲۸g	۳۵/۶۱d	۲۳۰۷/۵cd
L_1T_3	۶۲/۶۶cd	۰/۰۴۸c	۲۱/۸۳ghi	۲۵۶۳/۲c
L_2T_3	۶۱/۳۳cd	۰/۰۳۶ef	۲۸/۰۷ef	۴۱۰۹/۴b
L_3T_3	۶۸/۲c	۰/۰۴۱de	۲۴/۷۸fgh	۴۰۳۶/۲b
L_1T_4	۸۱/۳۳a	۰/۰۶۵a	۱۵/۸۹jk	۳۸۱۱/۹b
L_2T_4	۶۶/۶۶c	۰/۰۶۳ab	۱۵/۲۸k	۵۵۹۰/۷a
L_3T_4	۷۹/۹۵ab	۰/۰۶۲ab	۱۶/۱۲jk	۵۷۴۲/۱a
L_1T_5	۷۰/۶۶bc	۰/۰۶۳ab	۱۵/۹۹jk	۳۹۲۰/۲b
L_2T_5	۶۲/۶۶cd	۰/۰۵c	۲۰/۱۵hij	۵۵۹۶/۷a
L_3T_5	۶۹/۳۵c	۰/۰۵۷b	۱۷/۴۶ijk	۵۵۰۹/۸a
L_1T_6	۶۲/۷۵cd	۰/۰۴۷c	۲۱/۱۴ghi	۲۴۰۳/۱c
L_2T_6	۵۴/۰۶۶de	۰/۰۴۵cd	۲۲/۱۳ghi	۱۵۶۲/۶def
L_3T_6	۶۹/۵۵c	۰/۰۴۷cd	۲۱/۲۲ghi	۲۴۹۱/۳c
L_1T_7	۱۱/۷۵h	۰/۰۳۵ef	۲۸/۱۴ef	۳۷۸/۸g
L_2T_7	۱۱/۵h	۰/۰۳۷ef	۲۶/۹۳f	۲۸۹/۲g
L_3T_7	۱۱/۸h	۰/۰۳۸ef	۲۵/۷۹fg	۳۷۲/۴g

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

تفسیر حروف تیمارهای دمایی : T_1 (5°c) ، T_2 (10°c) ، T_3 (15°c) ، T_4 (20°c) T_5 (25°c) ، T_6 (30°c). T_7 (35°c)

تفسیر حروف تیمارهای نور : L_1(روشنایی کامل) ، L_2 (تاریکی کامل) ، L_3 (۱۶ ساعت روشنایی+۸ ساعت تاریکی)

۴-۱-۵- طول ریشه‌چه

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر طول ریشه‌چه داشت(جدول ۴-۳). از لحاظ آماری بین تیمارهای برتر L_3T_4 ، L_1T_5 و L_3T_5 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که میانگین طول ریشه‌چه(۴۰/۰۷ میلیمتر) بدست آمد. تیمارهای L_2T_6، L_2T_7، L_3T_7، L_1T_1، L_2T_1وL_3T_1 نیز به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند که میانگین طول ریشه‌چه(۵/۸ میلیمتر) حاصل گردید(جدول ۴-۴).

۴-۱-۶- طول ساقه‌چه

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر طول ساقه‌چه داشت(جدول ۴-۳). بیشترین مقدار طول ساقه‌چه از تیمار L_2T_5(۵۵/۴۴ میلیمتر) حاصل گردید(جدول ۴-۴). تیمارهای L_1T_3، L_1T_4، L_1T_5 و L_1T_6 از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند و بلحاظ میانگین(۱۲/۴۱ میلیمتر) حاصل گردید(جدول ۴-۴).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه از شاخص‌های مهم و مؤثر در جوانه‌زنی هستند؛ زیرا ریشه در تماس مستقیم با خاک است و آب را از خاک جذب و ساقه نیز آب و مواد محلول را از ریشه به سایر نقاط منتقل می‌نماید. طویل شدن ریشه‌چه در دمای بیشتر می‌تواند ناشی از بهتر بودن وضعیت متابولیسمی گیاهچه‌ی جوان باشد که به استقرار سریع آن نیز کمک خواهد کرد، که در آزمایش فوق نیز بیشترین میزان طول ریشه‌چه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. همچنین زیاد بودن میزان رشد طولی ساقه‌چه در گیاهچه‌ای که در دمای زیاد و تاریکی قرار دارد، می‌تواند به دلیل مصرف ذخایر بذر جهت رشد سریع گیاهچه و اکتساب سریع نور و شروع فتوسنتز باشد، در آزمایش فوق نیز بیشترین میزان طول ساقه‌چه در تیمار دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریکی بدست آمد. نتایج آزمایش فوق با آزمایش زرندی میاندوآب و همکاران(۱۳۹۵) که به تأثیر برهمکنش دما و نور بر روی جوانه‌زنی اسفندک(*Zygophyllum eurypterum* L.) پرداخته است مطابقت دارد.

۴-۱-۷- نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری)

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) داشت(جدول ۴-۳). بیشترین مقدار از تیمار L_2T_1 (۷/۰۵۲۵) حاصل گردید(جدول ۴-۴).

از نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه با عنوان ضریب آلومتری نیز مطرح می‌شود. از روی ضریب آلومتری می‌توان به سازگاری گونه جهت استقرار در عرصه پی برد(نادری فسارانی و همکاران، ۱۳۸۸). برخی از منابع از این ضریب به عنوان نمایانگر نوعی از تحمل‌ها به تنش یاد نموده‌اند. اگرچه نسبت بین قسمت‌های هوایی و ریشه تحت کنترل ژنتیکی است، ولی بطور شدیدی تحت تأثیر محیط هم قرار می‌گیرد(استادیان بیدگلی و همکاران، ۱۳۹۶). تنش‌های محیطی مثل افزایش دما باعث ایجاد تولید یک سری پیام رسانهای ثانویه می‌شود که در نهایت در تولید اتیلن در گیاه نقش دارند، اتیلن باعث کاهش رشد و پیری زودرس و مرگ سلول می‌گردد(حسینی و همکاران، ۱۳۸۷).

در آزمایش فوق بیشترین میزان ضریب آلومتری در تیمار تاریکی و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد حاصل شد. این بدین معناست که در این تیمار نسبت میزان ساقه‌چه بیشتر از ریشه‌چه هست و تیمار تاریکی تأثیر سویی بر طول ساقه‌چه نداشته است که بصورت مستقل بیشترین میزان طول ساقه‌چه نیز در تیمار تاریکی بدست آمده است. کمترین میزان ضریب‌های آلومتری از تیمارهای روشنایی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد حاصل شد. در این تیمارها، روشنایی میزان ساقه‌چه را کاهش و بالعکس میزان ریشه‌چه را افزایش داده است که بصورت مستقل بالاترین میزان‌های ریشه‌چه از تیمارهای روشنایی و متناوب (۱۶ ساعت روشنایی + ۸ ساعت تاریکی) در دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بدست آمده است. لذا میتوان بیان نمودکه در محدوده دمایی ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد بتوان گیاهچه‌های مقاوم‌تری تولید نمود.

۴-۱-۸- وزن خشک گیاهچه

عامل دما و نور و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر وزن خشک گیاهچه داشت(جدول ۴-۳). بلحاظ آماری تیمارهای برتر L_1T_4، L_3T_4، L_1T_5 و L_3T_5 تفاوت معنی‌داری نداشتند و میانگین(۳۰۵۵۰ میلی‌گرم) حاصل گردید. تیمارهای L_1T_1، L_2T_1، L_3T_1، L_1T_6، L_2T_6 ، L_3T_6، L_1T_7، L_2T_7 و L_3T_7 از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند(جدول ۴-۴).

همانگونه که مشاهده می‌شود وزن خشک گیاهچه در تیمارهای دمای۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد افزایش داشت. با توجه به نتایج بدست آمده در خصوص طول ریشه‌چه و ساقه‌چه این موضوع کاملاً قابل پیشبینی هست، زیرا بالاترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نیز در همان محدوده دمایی مشاهده شد، بنابراین بدیهی است که موجب تجمع بیشتر ماده خشک در بافت‌های ذخیره‌ای ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد. با افزایش دما وزن خشک گیاهچه نیز به شدت کاهش می‌یابد. افزایش دما که باعث تنش گرمایی می‌شود به طور مستقیم و غیرمستقیم با تأثیر روی متابولیسم بذر باعث کاهش درصد جوانه‌زنی بذر شده و با افزایش آن سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه‌ها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد(سلطانی و همکاران، ۲۰۰۷). دیانت و حسینی(۱۳۹۵) با تحقیقی که بر روی گیاهان درمنه یکساله ، دوساله و چند ساله داشتند، گزارش نمودند که بیشترین وزن گیاهچه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تیمار نوری بدست آمد که با نتایج آزمایش فوق مطابقت دارد.

جدول ۴-۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) ویژگی‌های صفات گیاهچه گیاه دارویی شابیزک در سطوح مختلف دما و نور

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	میانگین مربعات (M.S)			
		طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه	وزن خشک گیاهچه
نور(L)	۲	۴۲۹۳/۳۵۰۷**	۲۷۷/۵۶۳۴**	۳۲/۸۹۳۹**	۱۰۷۵۴۱۸۷۸**
دما(T)	۶	۵۵۷/۲۷۶۱**	۱۹۷۳/۹۰۴**	۳۲/۲۳۹۱**	۱۶۶۷۹۴۹۷۷۳**
نور × دما	۱۲	۲۳۸/۶۸۴۹**	۸۰/۷۸۴۵**	۱/۲۶۹۴**	۲۳۴۸۷۲۷۰**
خطا(E)	۶۳	۸/۷۷۲۲	۱۲/۲۲۳۴	۰/۳۶۱۵	۸۵۲۱۶۶۵
ضریب تغییرات(درصد)	---	۱۰/۴	۱۶/۴	۲۷	۲۰/۶

*** و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ،۱ درصد و عدم معنی‌داری**

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین صفات گیاهچه گیاه دارویی شابیزک تحت تأثیر اثر متقابل دما و نور

تیمار	طول ساقه‌چه (mm)	طول ریشه‌چه (mm)	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه	وزن خشک گیاهچه (mg)
L_1T_1	۱۶/۶۵gh	۴/۲۴i	۳/۹۱۴۵d	۲۰۹۰g
L_2T_1	۳۷/۷۱d	۵/۴۲i	۷/۰۵۲۵a	۱۳۵۰g
L_3T_1	۲۹/۹۰e	۵/۳۱i	۵/۶۴۸۸b	۱۸۹۲g
L_1T_2	۱۹/۵۹fg	۱۴/۱۲fg	۱/۳۸۱۵fgh	۱۶۷۱۷e
L_2T_2	۴۷/۱۴bc	۱۸/۰۹ef	۲/۶۴۴۸e	۱۰۸۰۰f
L_3T_2	۳۶/۷۰d	۱۷/۷۲ef	۲/۰۸۰۳ef	۱۵۸۴۲e
L_1T_3	۱۲/۶۲hi	۲۷/۵۳d	۰/۵۰۰۳hi	۱۸۹۱۷de
L_2T_3	۴۵/۶۸c	۲۱/۳۴e	۲/۱۶۶ef	۲۲۰۵۰cd
L_3T_3	۳۲/۰۷e	۲۶/۸۸d	۱/۲۰۳۳fghi	۲۲۵۳۲cd
L_1T_4	۱۱/۵۱i	۳۵/۳۰bc	۰/۳۳۰۳i	۲۹۷۰۰ab
L_2T_4	۵۰/۴۵bc	۳۳/۲۲bc	۱/۵۷۵fg	۲۱۲۶۲cd
L_3T_4	۳۴/۰۸de	۳۷/۶۹ab	۰/۹۲۲ghi	۲۸۰۲۹b
L_1T_5	۱۳/۷۲hi	۴۱/۱۹a	۰/۳۲۹۳i	۳۳۲۵۵a
L_2T_5	۵۵/۴۴a	۳۳/۹۸bc	۱/۶۶۱۳fg	۲۳۵۰۳c
L_3T_5	۳۸/۰۵d	۴۱/۳۴a	۰/۹۲۲ghi	۳۱۲۱۷ab
L_1T_6	۱۱/۸۰i	۳۰/۲۴cd	۰/۳۸۵۸i	۴۵۴۱g
L_2T_6	۲۱/۸۱f	۶/۸۲hi	۳/۷۹۵۲d	۲۵۳۳g
L_3T_6	۱۸/۴۹fg	۲۰/۳۸e	۰/۹۱۵ghi	۴۵۹۸g
L_1T_7	۲۰/۸۴fg	۱۱/۴۲gh	۱/۸۲۳۸efg	۲۲۵۰g
L_2T_7	۲۰/۴۵fg	۴/۳۶i	۴/۷۹۳c	۱۶۱۷g
L_3T_7	۲۲/۷۱f	۸/۶۸hi	۲/۶۳۰۵e	۲۱۲۷g

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

تفسیر حروف تیمارهای دمایی : T_1 (5°c) ، T_2 (10°c) ، T_3 (15°c) ، T_4 (20°c) ، T_5 (25°c) ، T_6 (30°c). T_7 (35°c)

تفسیر حروف تیمارهای نور : L_1(روشنایی کامل) ، L_2 (تاریکی کامل) ، L_3 (۱۶ ساعت روشنایی+۸ ساعت تاریکی)

۴-۱-۹- دمای کاردینال

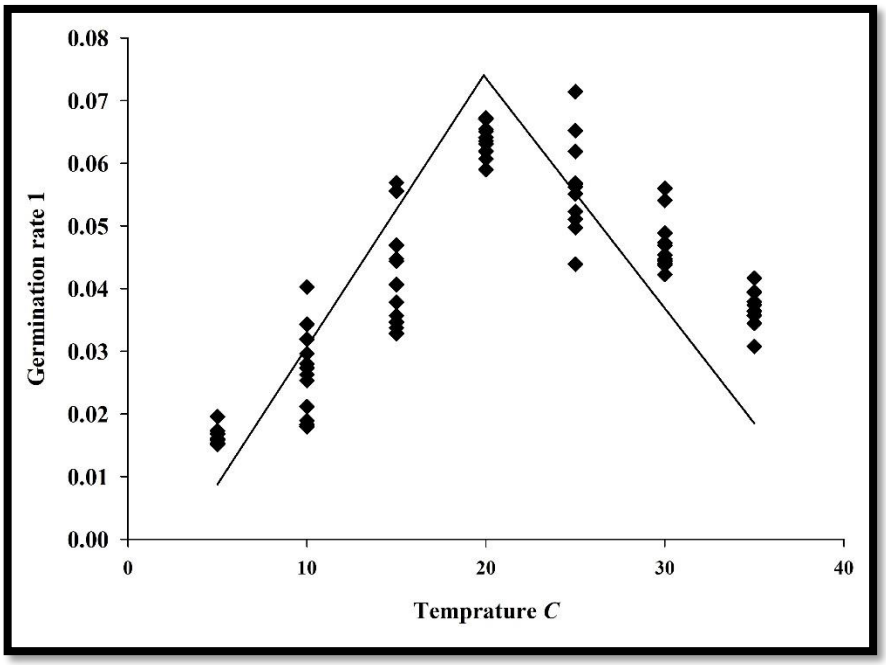
۴-۱-۹-۱- مدل خطوط متقاطع یا دو تکه‌ای

$$f(T) = \frac{(T - Tb)}{(To - Tb)} \qquad if \quad Tb < T \leq To$$

$$f(T) = [1 - \frac{(T - Tc)}{(Tc - To)}] \qquad if \quad T \leq T < Tc$$

$$f(T) = 0 \qquad if \quad T \leq Tb \; or \; T \geq Tc$$

ضریب b برابر ۱/۲ و ضریب c برابر با ۰/۲۹ است.



شکل ۴-۱- مدل خطوط متقاطع یا دو تکه‌ای

بر اساس روابط فوق دماهای کاردینال بر اساس مدل خطوط متقاطع به شرح ذیل است :

درجه حرارت پایه (T_b) : ۳ درجه سانتی‌گراد

درجه حرارت مطلوب (T_o) : ۲۰ درجه سانتی‌گراد

درجه حرارت حداکثر (T_c) : ۴۰ درجه سانتی‌گراد

۴-۱-۹-۲- مدل مسطح یا دندان مانند

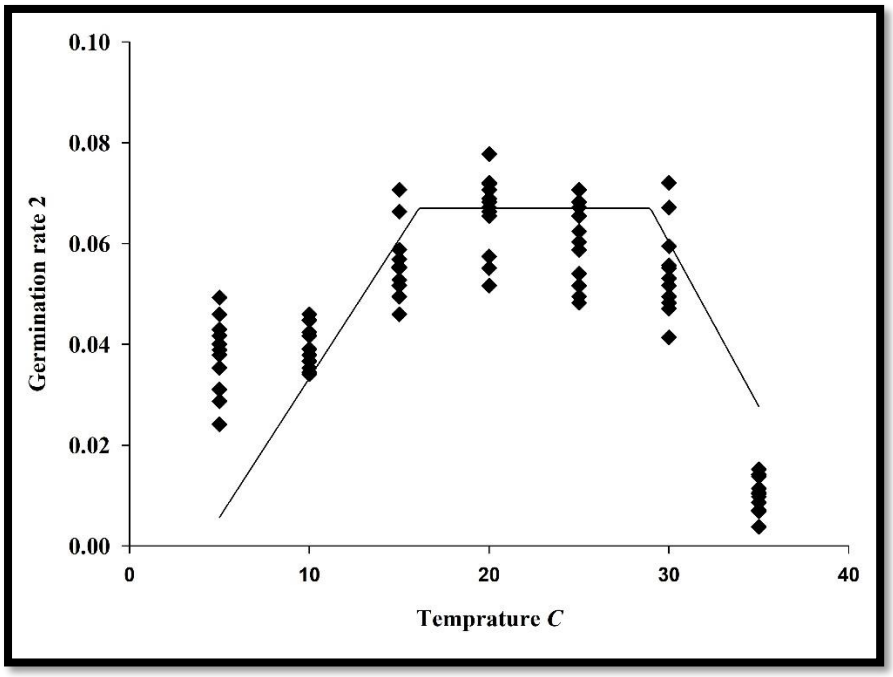
این مدل بر اساس روابط زیر محاسبه شد(کروگ و کاهلن، ۲۰۰۹)

$$f(T) = \frac{(T - T_b)}{(T_{o1} - T_b)} \qquad if \quad T_b < T < T_{o1}$$

$$f(T) = \frac{(T_c - T)}{(Tc - T_{o2})} \qquad if \quad T_{o2} < T < T_c$$

$$f(T) = 1 \qquad if \quad T_{o1} < T < T_{o2}$$

$$f(T) = 0 \qquad if \quad T \leq T_b \ or \ T \geq T_c$$



شکل ۴-۲- مدل مسطح یا دندان مانند

بر اساس روابط فوق دماهای کاردینال بر اساس مدل مسطح یا دندان مانند به شرح ذیل است :

درجه حرارت پایه (T_b) : ۴/۳ درجه سانتی‌گراد

درجه حرارت مطلوب تحتانی (T_{o1}) : ۱۶ درجه سانتی‌گراد

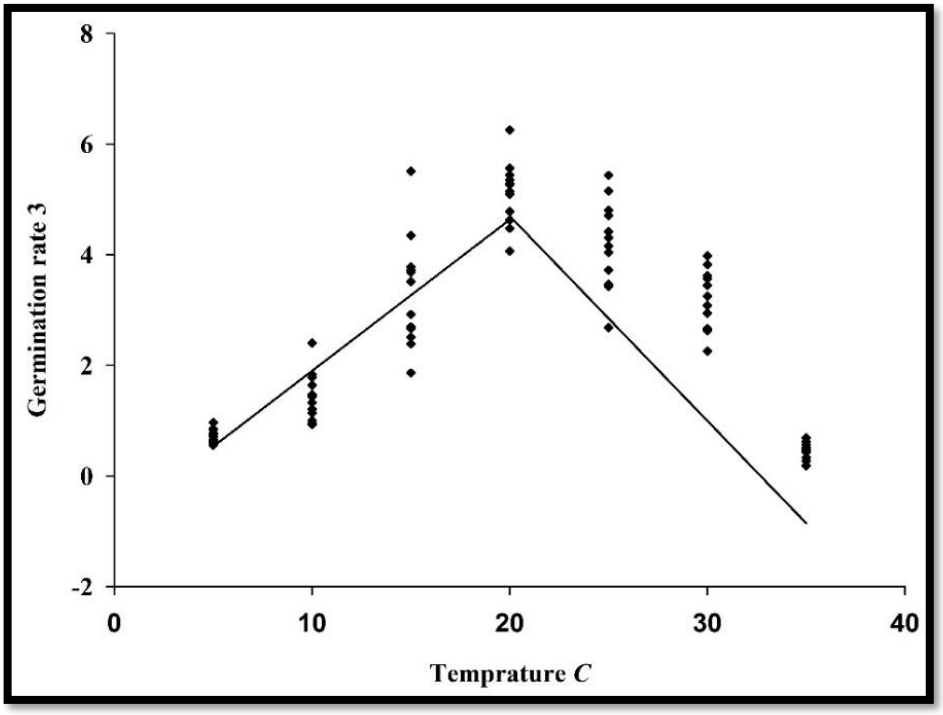
درجه حرارت مطلوب فوقانی (T_{o2}) : ۲۹ درجه سانتی‌گراد

درجه حرارت حداکثر (T_c) : ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد

۴-۱-۹-۳- مدل بتا(β)

$$f(T) = [(\frac{T - Tb}{To - Tb} \times \frac{Tc - T}{Tc - Tb})^{(\frac{Tc-To}{To-Tb})}] \qquad if \;\; Tb \leq T \leq Tc$$

ضریب b برابر ۱۱ و ضریب c برابر با ۰/۱۵ است.



شکل ۴-۳- مدل بتا(β)

بر اساس روابط فوق دماهای کاردینال بر اساس مدل بتا(β) به شرح ذیل است :

درجه حرارت پایه (T_b) : ۳/۰۵ درجه سانتی‌گراد

درجه حرارت مطلوب (T_o) : ۲۰ درجه سانتی‌گراد

درجه حرارت حداکثر (T_c) : ۴۰ درجه سانتی‌گراد

نتیجه گیری : با توجه به نتایج، مدلهای خطوط متقاطع یا دو تکه‌ای و مدل بتا برای اعلام دمای کاردینال گیاه شابیزک قابل استناد هستند.

۴-۱-۱۰- ضریب همبستگی ساده پیرسون در صفات آزمایش جوانه‌زنی

کیفیت بذر به مجموعه‌ای از ویژگی‌های ژنتیکی، فیزیکی، فیزیولوژیکی و بهداشتی بذر که در شکل‌گیری گیاهان قوی و نیرومند نقش داشته و قابلیت باروری بالایی را تضمین می‌کنند، گفته می‌شود(نِلیست و هوگز، ۱۹۷۳). درصد جوانه‌زنی، بنیه بذر، قابلیت ماندگاری و سلامت بذر از جمله مهمترین صفات بررسی کیفیت بذر محسوب می‌شوند(وان گاستل و همکاران، ۱۹۹۶) و درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر به عنوان شاخص‌های کیفی بذر از لحاظ رویش محسوب می‌شوند(اکبری و همکاران، ۲۰۰۴). درصد جوانه‌زنی در سطح ۱٪ با سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت دارد(جدول ۴-۵). درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در سطح ۱٪ با صفات شاخص بنیه بذر و وزن خشک گیاهچه همبستگی مثبت داشته و با میانگین مدت زمان جوانه‌زنی و نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه در سطح ۱٪ همبستگی منفی دارند(جدول ۴-۵). درصد و سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر عوامل محیطی مانند دما و نور هستند و دما تأثیر بیشتری بر روی این دو صفت دارد و تأثیر هر عامل مثبت و منفی بر روی هر کدام از آنها، تأثیر مشابه بر روی صفت دیگری را خواهد داشت. در بررسی دمای کاردینال گیاه شابیزک که دمای مینیمم، اپتیمم و ماکزیمم به ترتیب ۳، ۲۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد برآورد گردید، مشاهده می‌شود که در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد درصد جوانه‌زنی در حداکثر خود بود و سرعت جوانه‌زنی نیز در همین دما بیشترین مقدار را بدست آورد. میانگین مدت زمان جوانه‌زنی نیز عکس سرعت جوانه‌زنی است، هر عاملی که بتواند سرعت جوانه‌زنی و بالطبع درصد جوانه‌زنی را کاهش دهد، بنیه بذر را نیز کاهش داده و نتیجتاً میانگین مدت زمان جوانه‌زنی را افزایش خواهد داد و جوانه‌زنی در بازه زمانی طولانی‌تری صورت خواهد پذیرفت و به سبب آن گیاهچه‌های ضعیف‌تری نیز تولید خواهد شد. در این آزمایش در محدوده دماهای ۱۰-۵ و ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد میزان درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر و وزن خشک گیاهچه در حداقل میزان خود بودند و بیشترین مدت زمان جوانه‌زنی نیز در این دو دما مشاهده شد. هرچه بذر بتواند در مدت زمان کمتری درصد و سرعت جوانه‌زنی داشته باشد بنیه قویتری

خواهد داشت. بذرهایی که بنیه کمتری دارند توانایی جوانه‌زدن در یک مدت زمان مشخص را ندارند و به سبب آن عدم یکنواختی رشد و امکان مواجه شدن بذرهایی که دیرتر جوانه‌زده‌اند را با شرایط نامساعد محیطی افزایش می‌دهد. افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی سبب تولید گیاهچه بیشتر و یکنواخت‌تر می‌شود که بنیه قویتری نیز دارند و بالطبع وزن خشک گیاهچه آنها نیز افزایش خواهد داشت. بیشترین وزن خشک گیاهچه نیز در محدوده دمایی ۲۵-۲۰ درجه‌سانتی‌گراد مشاهده گردید که با محدوده دمایی افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی مطابقت دارد. نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه که با عنوان ضریب آلومتری یاد می‌شود و به نوعی معرف مقاومت به تحمل تنش گیاه است و با کمک این ضریب و محاسبه دمای کاردینال می‌توان محدوده تنش دمایی به گیاه و منطقه کشت مناسب را برای گیاه تعیین نمود. در این آزمایش درصد و سرعت جوانه‌زنی همبستگی منفی با ضریب آلومتری دارند. دمای اپتیمم جوانه‌زنی گیاه دارویی شابیزک دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد است که بیشترین میزان جوانه‌زنی در آن مشاهده می‌شود و به نوعی کمترین میزان تنش در این دما به گیاه وارد می‌شود، لذا ضریب آلومتری در این دما کمترین مقدار را نشان داد. شاخص بنیه بذر در سطح ۱٪ همبستگی مثبت با طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک گیاهچه داشته و همبستگی منفی با نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) دارد(جدول ۴-۵). درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه(طول ساقه‌چه + طول ریشه‌چه) مواردی هستند که در محاسبه شاخص بنیه بذر استفاده می‌شوند. افزایش این دو عامل با توجه به عوامل محیطی علی‌الخصوص دما و نور منجر به افزایش شاخص بنیه بذر می‌شود. وزن خشک گیاهچه نیز که در سطح ۵٪ با طول ساقه‌چه و در سطح ۱٪ با طول ساقه‌چه همبستگی مثبت دارد(جدول ۴-۵)، متأثر از طول ساقه‌چه و ریشه‌چه بوده و بیشترین مقادیر طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید که بیانگر وجود گیاهچه‌های مطلوب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد است و با توجه به نتایج بدست آمده بیشترین وزن خشک گیاهچه نیز در در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. بذری که بنیه قویتری داشته باشد، توان بیشتری در برابر مقابله با تنش‌ها دارد و به هر میزان که بنیه بذر افزایش یابد، نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) کاهش می‌یابد. با توجه به نتایج

بدست آمده بیشترین شاخص بنیه بذر و کمترین نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. وزن خشک گیاهچه نیز در سطح ۱٪ همبستگی منفی با نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) دارد. گیاهچه‌های مطلوب توان بیشتری در برابر مقابله با تنش‌ها دارند و هر عاملی که سبب شود شاخص‌های کیفی گیاهچه افزایش یابد از نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) کاسته می‌شود. در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) و کمترین وزن خشک گیاهچه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین وزن خشک گیاهچه و کمترین نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) مشاهده گردید. طول ریشه‌چه نیز در سطح ۱٪ همبستگی منفی با نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) دارد(جدول ۴-۵). زمانی که بذر در معرض تنش قرار بگیرد، با افزایش بیشتر طول ریشه‌چه سعی در جذب بیشتر عناصر غذایی دارد. در این شرایط طول ریشه‌چه بیشتر از ساقه‌چه بوده و ساقه‌چه ضعیفتر از ریشه‌چه است. لذا افزایش طول ریشه‌چه به تنهایی در شرایط تنش منجر به کاهش نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه(ضریب آلومتری) می‌شود.

جدول ۴-۵- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش جوانه‌زنی

صفات	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	وزن خشک گیاهچه	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه
درصد جوانه‌زنی	۱							
سرعت جوانه‌زنی	۰/۵۶۲**	۱						
میانگین مدت زمان جوانه‌زنی	-۰/۳۹۴**	-۰/۹۱۸**	۱					
شاخص بنیه بذر	۰/۸۰۹**	۰/۶۳۱**	-۰/۴۸۳**	۱				
طول ساقه‌چه	۰/۰۷۷	-۰/۰۷۸	۰/۱۰۲	۰/۵۲۱**	۱			
طول ریشه‌چه	۰/۷۳۰	۰/۷۹۶	-۰/۶۷۷	۰/۸۵۵**	۰/۱۴۴	۱		
وزن خشک گیاهچه	۰/۶۸۳**	۰/۶۴۴**	-۰/۵۴۶**	۰/۷۹۷**	۰/۲۲۱*	۰/۸۳۶**	۱	
نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه	-۰/۵۲۵**	-۰/۶۸۰**	۰/۷۱۶**	-۰/۵۰۴**	۰/۱۸۹	-۰/۷۶۵**	-۰/۶۲۴**	۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

۴-۲- آزمایش مزرعه‌ای

۴-۲-۱- ارتفاع بوته

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر ارتفاع بوته داشت (جدول ۴-۶). بیشترین مقدار ارتفاع بوته (۶۴ سانتیمتر) در تیمار F_2S بدست آمد و پایین‌ترین مقادیر در ارتفاع بوته در تیمارهای F_1T و F_1A حاصل گردید که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نیز نداشتند(جدول ۴-7).

سودوموناس با تأثیر بر سیستم ریشه سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی در گیاه می شود، همچنین از طریق تولید هورمونهایی مثل جیبرلین که روی رشد طولی سلولها به ویژه میانگره‌های ساقه و اکسین و سیتوکنین که روی تقسیم سلولی نقش دارند، اثر گذاشته، که نتیجه آن افزایش ارتفاع در گیاه است(احتشامی و همکاران، ۲۰۱۴). کاربرد باکتری‌های محرک رشد علی‌الخصوص سودوموناس‌ها از طریق مکانیسمهای مختلفی همچون تولید آنزیم ACC دآمیناز یا افزایش فراهمی فسفر موجب تحریک رشد و افزایش ارتفاع گیاهان می‌شوند(لارسن و همکاران، ۲۰۰۹). افزایش ارتفاع بوته‌های گندم در واکنش به استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات، توسط گلیک و همکاران(۲۰۰۱) و رمضانیان(۲۰۰۵) گزارش شده است.

۴-۲-۲- عملکرد کل گیاه

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر عملکرد کل گیاه داشت (جدول ۴-۶). تیمارهای F_3S و F_3SA به عنوان تیمارهای برتر در میزان عملکرد کل گیاه به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند و کمترین مقدار در میزان عملکرد کل گیاه (۵۰۲۲ کیلوگرم در هکتار) از تیمار F_1A حاصل گردید(جدول ۴-7).

بالا بودن عملکرد کل گیاه در گیاهان دارای 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 گیاه می‌تواند از حجم بیشتری از خاک استفاده کند و به نوعی موجب افزایش بازده جذب آب و مواد غذایی می‌شود(علیپور و سبحانی‌پور، ۲۰۱۲). بر اساس گزارشات داوودی‌فرد و همکاران(۲۰۱۱) تلقیح گندم با باکتری سودوموناس تحت شرایط تنش خشکی از طریق کاهش جذب یونهای سمی، افزایش تولید هورمون اکسین و پروتئین‌های مخصوص، منجر به تحریک رشد گیاه و افزایش عملکرد کل گیاه شد.

۴-۲-۳- وزن خشک برگ

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر وزن خشک برگ داشت (جدول ۴-۶).

بیشترین و کمترین میزان وزن خشک برگ (به ترتیب ۲۶۹۶ و ۱۲۲۵ کیلوگرم در هکتار) از تیمارهای F_2SA و F_3T حاصل گردید(جدول ۴-۷).

ازتوباکتر قادر است با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی همچون تثبیت نیتروژن اتمسفری، تولید هورمونهایی نظیر اکسین ها، جیبرلینها و ویتامینهای B ،ترشح سیدروفور و اسیدهای آلی در ریزوسفر، عملکرد و اجزای عملکرد را در گیاهان افـزایش دهد(شارما، ۲۰۰۲). افزایش وزن خشک در استفاده از سودوموناس می‌تواند به دلیل تولید اکسین باشد که سبب توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه می‌شود و به دلیل وجود نیتروژن کافی حاصل از ازتوباکتر سبب شده که گیاه با سیستم ریشه‌ای بهتر، جذب بیشتری انجام دهد و موجب افزایش وزن خشک گیاه شود. از سازوکارهای دیگر سودوموناس که در افزایش رشد گیاه مؤثر می‌باشند، انحلال منابع نامحلول فسفات و توانایی گونه‌ها در تولید سیدروفور و تأمین آهن مورد نیاز گیاه را می‌توان نام برد(کلانتری و همکاران، ۱۳۹۷). لذا می‌توان نتیجه گفت جمعیت دو باکتری با هم و نیز در اثر ترشح متابولیتها، همدیگر را تقویت کرده و شرایط بدون تنش نیز محیط را

برای فعالیت آنها مهیا کرده و باعث افزایش وزن خشک برگ گیاه شده است. نتایج این تحقیق با نتایج محمدی و همکاران(۲۰۱۰) که بر روی تاثیر باکتریهای محرک رشد روی رقم الوند گیاه گندم انجام شده است مطابقت دارد.

۴-۲-۴- وزن خشک ساقه

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر وزن خشک ساقه داشت(جدول ۴-۶). بیشترین میزان وزن خشک ساقه (۱۸۲۰/۴ کیلوگرم در هکتار) از تیمار F_2N و پایین‌ترین مقادیر در میزان وزن خشک ساقه از تیمارهای F_3A و F_3T که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نیز نداشتند حاصل گردید(جدول ۴-۷).

با توجه به نتایج تحقیق مشاهده می‌شود که صرفاً مصرف کود شیمیایی به میزان ۵۰٪ بدون استفاده از کود زیستی بیشترین میزان وزن خشک ساقه را ثبت کرده است. مصرف کودهای شیمیایی موجب فراهم کردن رطوبت، افزایش آماس سلولی و تحریک رشد رویشی را به دنبال دارد(گاردنر و همکاران، ۱۹۸۵) که نتایج این تحقیق با آزمایش گلدانی و کمالی(۱۳۹۳) بر روی گیاه سویا مطابقت دارد.

۴-۲-۵- تعداد گل‌آذین بوته

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر تعداد گل‌آذین بوته داشت(جدول ۴-۶). بیشترین تعداد گل‌آذین بوته(۷۰) از تیمار F_1S و پایین‌ترین مقادیر در تعداد گل آذین از تیمارهای F_3S و F_3SA که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نیز نداشتند حاصل گردید(جدول ۴-۷).

۴-۲-۶- تعداد انشعابات بوته

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر تعداد انشعابات بوته داشت(جدول ۴-۶). بیشترین تعداد انشعابات بوته(۴۸/۹) از تیمار F_2S و پایین‌ترین مقادیر در تعداد انشعابات بوته از تیمارهای F_2N و F_2A که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نیز نداشتند حاصل گردید(جدول ۴-۷).

برتری تیمار سودوموناس در صفات تعداد گل‌آذین و انشعابات بوته را می‌توان به علت افزایش تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه و همچنین فراهم نمودن جذب بیشتر عناصر غذایی مورد نیاز گیاه به ویژه نیتروژن و فسفر در این تیمار دانست(عبدالجلیل و همکاران، ۲۰۰۷). در این شرایط افزایش میزان فتوسنتز، رشد و تعداد انشعابات بوته و در نتیجه افزایش تعداد گل دور از انتظار نیست. در همین راستا بررسی شالان(۲۰۰۵) نشان داد که مصرف کودهای زیستی نظیر سودوموناس به افزایش تعداد انشعابات بوته در گیاه سیاهدانه منجر می‌شود. در همین رابطه نباید از نقش فسفر در گلدهی نیز غافل شد. تایز و زایگر(۲۰۰۰) بیان داشتند هر عاملی که باعث افزایش معنی‌دار فسفر خاک شود در گلدهی نیز مؤثر است. بنابراین افزایش فسفر از طریق افزایش اندامهای زایشی می‌تواند باعث افزایش تعداد گل نیز شود.

۴-۲-۷- میزان سبزینگی برگ

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر میزان سبزینگی برگ داشت(جدول ۴-۶). برترین تیمارها در کسب میزان سبزینگی برگ تیمارهای F_2A و F_2T بودند که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند و پایین‌ترین مقادیر در میزان سبزینگی برگ از تیمارهای F_1N ، F_1S ، F_1A ، F_1T و F_3T که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نیز نداشتند حاصل گردید(جدول ۴-۷).

باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن مانند ازتوباکتر سبب افزایش نیتروژن موجود در خاک می‌شوند، این عنصر در ساختمان مولکول‌های پروتئینی گوناگون، آنزیم‌ها، کوآنزیم‌ها، اسیدهای نوکلئیک وسیتوکروم‌ها نقش دارد به علاوه نیتروژن یک جزء لازم مولکول کلروفیل هم هست و دارای اثرات قابل توجهی در رشد و توسعه گیاه است همچنین یکی از اجزای اصلی تشکیل دهنده در ساختمان برگ است، به ویژه آن‌هایی که با دستگاه فتوسنتز، از جمله کربوکسیله شدن آنزیمها و پروتئین غشاء مرتبط هستند(پاندی و همکاران، ۲۰۰۰). تحقیقات نشان داده است نیتروژن به سبب تأثیر قابل توجهی در تشکیل رنگدانه‌های فتوسنتزی فعال از طریق افزایش مقدار استروما و پروتئین تیلاکوئید در برگ دارد سبب افزایش میزان کلروفیل گیاهان می‌شود و همچنین اثرات مثبت منابع نیتروژن بر تشکیل کلروپلاست برگ نیز گزارش شده است(هونگ و همکاران، ۲۰۱۲).

در تحقیقی توسط حاجی بلند و همکاران(۲۰۱۳) نیز مشخص شد که تیمار تلقیح با ازتوباکتر به تنهایی و همچنین به صورت توأم با کود ازت باعث افزایش معنی‌داری در غلظت کلروفیل برگها در گندم گردید.

۴-۲-۸- مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری در سطح ۱ درصد ($p \leq 0.01$) بر مقدار عناصر نیتروژن و پتاسیم و تأثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد ($p \leq 0.05$) بر عنصر فسفر داشت(جدول ۴-۸).

۴-۲-۸-۱- مقدار عنصر نیتروژن

بیشترین مقدار نیتروژن (۳/۵ درصد) از تیمار F_3SA و کمترین مقدار نیتروژن (۱/۵ درصد) نیز از تیمار F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۷).

افزایش میزان عناصر غذایی در گیاه پس از تلقیح با باکتری سودوموناس عمدتاً می‌تواند به دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه توسط باکتری و اثر آن بر رشد ریشه باشد(ناصری و همکاران، ۲۰۱۷) که جذب آب و مواد غذایی از خاک را بهبود می‌بخشد. افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه می‌تواند منجر به افزایش تجمع ماده خشک و مواد معدنی در ساقه‌ها و برگ‌های گیاه شود. به این ترتیب در طول دوره زایشی مواد معدنی تجمع یافته و به اندامهای زایشی منتقل و در نهایت منجر به افزایش عملکرد می‌شود(فلاح نصرت آباد و شریعتی، ۲۰۱۴). باکتری‌های موجـود در کودهای زیستی مانند ازتوباکتر از طریق تولید اسیدهای آلی و همچنین تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، قابلیت استفاده مواد غذایی ضروری از قبیل نیتروژن و فسفر را برای گیاهان افـزایش داده و در نتیجه میزان نیتـروژن اندام‌های هوایی گیاه را افزایش می‌دهند(یدوی و یوسف‌پور، ۱۳۹۴). لذا این استنباط وجود دارد که بکارگیری ازتوباکتر و سودوموناس در حضور کودهای شیمیایی باعث فراهم نمودن بیشتر عناصر غذایی شده و سبب تشدید جذب نیتروژن برای گیاه شابیزک شده است. در آزمایش رودرش و همکاران(۲۰۰۵) کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات، جذب نیتروژن در اندام‌های هوایی گیاه نخود را افزایش داد. در همین راستا زهیر و همکاران(۲۰۰۵) نیز افزایش ۴۰ درصدی جذب نیتروژن در ذرت در تیمارهای حاوی ازتوباکتر اشاره کرده و اظهار داشتند این باکتری‌ها از طریق تثبیت بیولوژیک نیتروژن دسترسی ذرت به نیتروژن را بیشتر می‌کنند.

۴-۲-۸-۲- مقدار عنصر فسفر

بیشترین مقدار فسفر (۰/۳۵ درصد) از تیمار F_2S و پایین‌ترین مقادیر فسفر از تیمارهای F_1N ، F_3N و F_1T که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند حاصل گردید(جدول ۴-۷).

۴-۲-۸-۳- مقدار عنصر پتاسیم

بیشترین مقدار پتاسیم (۱/۷۵ درصد) از تیمار F_3S و کمترین مقدار K (۰/۶۶ درصد) نیز از تیمار F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۷).

باکتری سودوموناس با ترشح اسیدهای آلی و فسفاتاز منجر به آزادسازی عناصر از کمپلکس‌های موجود در خاک می‌گردد و در نتیجه دسترسی گیاه به عناصر غذایی افزایش پیدا می‌کند(جوتور و ردی، ۲۰۰۷). واگار و همکاران(۲۰۰۴) در آزمایشی که بر روی گیاه گندم داشتند بیان کردند استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات سبب افزایش جذب عناصر فسفر و پتاسیم نسبت به تیمار شاهد گردید.

۴-۲-۹- میزان کربوهیدرات محلول برگ

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر میزان کربوهیدرات محلول برگ داشت(جدول ۴-۸). بیشترین میزان کربوهیدرات محلول برگ (۲۰/۲۰۳ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار F_3A و کمترین میزان آن (۹/۸۹۱ میلی‌گرم بر گرم) از تیمار F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۷).

تحقیقات مختلف نشان داده است که نقش ازتوباکتر در رشد گیاه عمدتاً به واسطه تولید هورمون‌های محرک رشد همانند اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، سیتوکینین‌ها و اتیلن، توان حل‌کنندگی فسفات‌ها، افزایش جذب عناصر، افزایش مقاومت به تنش‌ها، تولید ویتامین‌ها و بیوکنترل عوامل بیماریزای گیاهی می‌باشد(کندی و همکاران، ۲۰۰۴). افزایش در میزان این هورمون‌ها به ویژه سیتوکنین‌ها می‌تواند با انتقال یون‌های مؤثر در باز و بسته شدن روزنه و بالا رفتن سطح کلروفیل، موجب افزایش سرعت فتوسنتز و در نهایت افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در گیاهان شود(سلواراج و چلاپان، ۲۰۰۶) که با نتایج تحقیق بهل و همکاران(۲۰۰۶) بر روی گندم مطابقت دارد.

جدول ۴-۶- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط مزرعه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	میانگین مربعات (M.S)					
		ارتفاع بوته	عملکرد کل گیاه	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	تعداد گل‌آذین بوته	تعداد انشعابات بوته	میزان سبزینگی برگ
تکرار(R)	۲	۰/۰۱۱^{ns}	۰/۰۵۳^{ns}	۰/۴۳^{ns}	۰/۳۴^{ns}	۰/۷۵^{ns}	۰/۰۲۱^{ns}	۰/۷۳^{ns}
کودهای زیستی(B)	۴	۱۳/۵۳**	۵/۱۲**	۴۸/۰۱**	۸/۸۲**	۳/۱۸**	۵/۲۱**	۵/۴۵**
کودهای شیمیایی(F)	۲	۹/۱۲**	۸/۲۵**	۱۰/۴۲**	۲/۴۳**	۱۵/۱۷**	۷/۰۴**	۲/۹۳**
اثر متقابل	۸	۲۸/۴۱**	۴/۱۷**	۵۶/۳۲**	۳/۰۲**	۱۳/۷۶**	۶/۳۹**	۱/۱۵**
خطا(E)	۲۸	۰/۱۱۴	۰/۱۴۳	۰/۰۷۳	۰/۵۳	۰/۱۳۲	۰/۰۶۹	۰/۰۴۵
ضریب تغییرات(درصد)	---	۱۵/۸۶	۱۲/۹۶	۱۴/۷۸	۱۶/۷۳	۱۲/۶۵	۱۴/۰۴	۱۱/۸۶

* و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ،۱ درصد و عدم معنی‌داری

جدول ۴-۷- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در آزمایش مزرعه‌ای

تیمار	ارتفاع بوته (cm)	عملکرد کل گیاه (kg/ha)	وزن خشک برگ (kg/ha)	وزن خشک ساقه (kg/ha)	تعداد گل‌آذین بوته	تعداد انشعابات بوته	میزان سبزینگی برگ	مقدار عناصر N : P : K برگ			میزان کربوهیدرات محلول برگ (mg/g FW)
								نیتروژن (N)٪	فسفر (P)٪	پتاسیم (K)٪	
F_1N	۵۶c	۷۴۰۸c	۲۱۰۸gh	۱۲۸۱/۴cd	۳۰c	۲۵f	۳۷/۸g	۱/۵۰۱۶m	۰/۱۲۵j	۰/۶۶۱۶n	۹/۸۹۱۶n
F_2N	۵۶c	۶۹۸۶d	۲۵۲۴c	۱۸۲۰/۴a	۱۵f	۲۹/۱i	۴۷/۵de	۲/۰۰۸۲i	۰/۱۹۱۶gh	۰/۷۴۶۴l	۱۲/۲۰۴k
F_3N	۵۱d	۶۱۲۸g	۲۱۲۴fg	۱۰۲۰g	۶/۶۶۷vg	۴۲/۷b	۴۴/۷b	۲/۶۰۲۴e	۰/۱۵۲۴i	۰/۷۰۲۳m	۱۶/۰۰۳۴f
F_1S	۵۱d	۸۰۲۷b	۲۴۷۲cd	۱۲۹۵/۹c	۷۰a	۳۷/۹e	۲۶/۹g	۱/۷۰۶۶k	۰/۲۰۳۳b	۱/۴۵۳۳h	۱۱/۶۰۳۲l
F_2S	۶۴a	۶۳۳۲f	۲۰۵۱h	۱۲۹۱/۲e	۷/۶۶۷vg	۴۸/۹a	۴۶/۲bc	۲/۳۰۲۲g	۰/۲۵۳۲a	۱/۵۵۳۳f	۱۲/۷۰۳۲i
F_3S	۴۶f	۸۷۰۱a	۲۱۷۴ef	۱۱۵۳f	۱۱i	۴۱/۷c	۴۴/۵bc	۲/۰۰۳۲c	۰/۲۱۳۳b	۱/۷۵۱۶a	۱۷/۱۰۳۲c
F_1A	۳۶h	۵۰۲۲j	۱۹۵۲i	۷۲۰i	۱۵f	۳۱/۲h	۳۷/۴g	۱/۷۰۳۳k	۰/۲۵۳۳d	۰/۹۰۳۳k	۱۱/۱۰۲۳m
F_2A	۵۶c	۶۶۰۴e	۲۵۳۵c	۱۳۱۰/۳e	۲۵d	۲۸/۶i	۴۶/۲a	۲/۸۰۲۲g	۰/۲۸۳۲c	۱/۴۳۳۱i	۱۲/۲۰۳۲j
F_3A	۴۲g	۷۳۹۷c	۱۹۷۹i	۵۹۰/۹j	۲hi	۳۹/۲d	۴۲cde	۲/۲۰۱۶b	۰/۲۵۵d	۱/۲۹۱۶j	۲۰/۲۰۳۲a
F_1SA	۵۷c	۷۱۴۷d	۲۴۴۱d	۱۲۷۰/۴e	۶۰b	۲۵/۶f	۴۱/۲ef	۱/۹۰۳۲j	۰/۲۰۳۲fg	۱/۶۲۳۲c	۱۴/۱۰۳۲h
F_2SA	۵۹b	۷۰۴۸d	۲۶۹۶a	۱۲۲۵/۸de	۱۳f	۲۵/۴f	۴۳/۵bcd	۲/۵۰۱۶f	۰/۲۴۵d	۱/۵۰۳۲g	۱۶/۱۹۱۶e
F_3SA	۴۹e	۸۶۷۴a	۱۸۲۶j	۹۴۴/۲h	۱i	۳۳/۸g	۴۰/۶f	۲/۵۰۳۲a	۰/۲۲۳۲e	۱/۶۸۳۴b	۱۶/۸۹۱۶d
F_1T	۳۷h	۵۶۴۰i	۲۱۹۹e	۹۵۹/۶h	۲۰e	۳۲/۹g	۲۸/۴g	۱/۶۰۱۶l	۰/۱۴۵ij	۱/۵۰۱۶g	۱۲/۱۹۱۶j
F_2T	۴۷f	۷۴۷۸c	۲۶۲۰b	۱۵۹۱/۸b	۵/۶۶۷vg	۳۹/۴d	۴۴/۹ab	۲/۲۰۸۲h	۰/۲۱۱۶ef	۱/۶۰۴۶d	۱۵/۲۰۴g
F_3T	۴۲g	۵۸۰۸h	۱۲۲۵k	۵۷۴/۷j	۴/۶۶۷gh	۳۹/۷d	۲۸/۱g	۲/۸۰۲۲d	۰/۱۸۳۲h	۱/۵۷۳۲e	۱۸/۵۰۳۲b

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون طبق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵٪اختلاف معنی‌داری ندارند.

تفسیر حروف تیمارهای کود زیستی :

N (عدم تلقیح کود زیستی) ، S (سودوموناس) ، A (ازتوباکتر) ، SA (سودوموناس+ازتوباکتر) ، T (تیوباسیلوس +گوگرد)

تفسیر حروف تیمارهای کود شیمیایی :

F_1 (عدم استفاده از کود شیمیایی) ، F_2 (تیمار ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده) ، F_3 (تیمار ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده)

۴-۲-۱۰- مقدار آتروپین(هیوسیامین) و اسکوپولامین(هیوسین)

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که عامل کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر آتروپین برگ و ریشه و اسکوپولامین برگ و ریشه داشت(جدول ۴-۸).

۴-۲-۱۰-۱- مقدار آتروپین برگ

بیشترین میزان آتروپین برگ(۲۷/۵ میلی‌گرم/گرم وزن خشک) در تیمار F_2S و کمترین آن (۴/۰۵ میلی‌گرم/گرم وزن خشک) در تیمار F_3SA حاصل گردید (جدول ۴-۹).

۴-۲-۱۰-۲- مقدار آتروپین ریشه

بیشترین و کمترین میزان آتروپین ریشه (به ترتیب ۱۱/۵ و ۷/۵ میلی‌گرم/گرم وزن خشک) به ترتیب از تیمارهای F_1S و F_2N حاصل گردید (جدول ۹-۴).

۴-۲-۱۰-۳- مقدار اسکوپولامین برگ

بیشترین میزان اسکوپولامین برگ (۱۰/۴ میلی‌گرم/گرم وزن خشک) از تیمار F_2N و پایین‌ترین مقادیر از تیمارهای F_2T و F_1SA که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نیز نداشتند حاصل گردید (جدول ۴-۹).

۴-۲-۱۰-۴- مقدار اسکوپولامین ریشه

بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه (۱/۷۷ میلی‌گرم/گرم وزن خشک) در تیمار F_3S و و پایین‌ترین مقادیر از تیمارهای F_2N و F_2S که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نیز نداشتند حاصل گردید (جدول ۴-۹).

محل ساخته شدن 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(هاشیموتو و همکاران، ۱۹۹۲). بیشترین میزان آتروپین ریشه از تیمار سودوموناس در عدم استفاده از کود شیمیایی و بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه نیز از تیمار سودوموناس در مجاورت ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده حاصل گردید و بیشترین میزان تجمع در آتروپین برگ از تیمار سودوموناس به همراه نیمی از کود شیمیایی توصیه شده و بیشترین میزان اسکوپولامین برگ نیز از تیمار عدم استفاده از کود زیستی به همراه نیمی از کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد. این سویه ها با مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم خود، نقش اساسی در رشد و فیزیولوژی گیاه بازی می‌کنند. مکانیسم‌های مستقیم مانند افزایش انحلال عناصر غذایی کم‌محلول مانند فسفر، تولید ACC-دآمیناز، تولید سیدروفور(از دیدگاه افزایش قابلیت جذب آهن)، ترشح هورمون‌های رشد از قبیل اکسین، سیتوکنین و جیبرلین که مراحل مختلف رشد گیاه یا آنزیم‌هایی که رشد و نمو گیاه را تنظیم می‌کنند تحت تأثیر خود قرار می‌دهند(شاهارونا و همکاران، ۲۰۰۶). این نتایج در راستای گزارش بسیاری از محققان مبنی بر تأثیر مثبت باکتری‌های ریزوسفری روی شاخص‌های رشد گیاهان تحت تلقیح آنها می‌باشد(گلیک و همکاران، ۲۰۰۷). گزارش‌های متعددی از آثار مثبت سودوموناس بر عملکرد کتان، ذرت، گندم، جو، تنباکو و خردل وجود دارد که نشان می‌دهد 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(احتشامی و همکاران، ۲۰۰۸).

جدول ۴-۸- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط مزرعه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	میانگین مربعات (M.S)							
		آتروپین برگ	آتروپین ریشه	اسکوپولامین برگ	اسکوپولامین ریشه	مقدار عنصر N	مقدار عنصر P	مقدار عنصر K	میزان کربوهیدرات محلول برگ
تکرار(R)	۲	۰/۰۴۲^{ns}	۰/۶۳^{ns}	۰/۵۲^{ns}	۰/۱۹^{ns}	۰/۴۱^{ns}	۰/۰۷۲^{ns}	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۸۱^{ns}
کودهای زیستی(B)	۴	۱۳/۲۷**	۲۵/۰۸**	۶/۱۲**	۱۹/۴۱**	۴۰/۱۲**	۶/۰۲**	۱۴/۳۶**	۲۶/۱۱**
کودهای شیمیایی(F)	۲	۳/۰۹**	۶/۴۳**	۴/۷۵**	۱۰/۱۳**	۹/۴۳**	۷/۷۱**	۳/۱۴**	۶/۰۳**
اثر متقابل	۸	۰/۸۴۳**	۷/۱۲**	۲/۲۶**	۳۰/۰۴**	۵۱/۷۵**	۶/۴۲**	۰/۸۱۶**	۹/۲۴**
خطا(E)	۲۸	۰/۳۱۵	۰/۳۴۴	۰/۲۸۶	۰/۲۰۴	۰/۲۵۳	۰/۳۷۳	۰/۲۳۱	۰/۲۵۷
ضریب تغییرات(درصد)	---	۱۳/۹۷	۱۴/۶۲	۱۱/۷۳	۱۲/۰۶	۱۱/۹۴	۱۲/۳۶	۱۴/۱۱	۱۵/۱۳

* و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ،۱ درصد و عدم معنی‌داری

جدول ۴-۹- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به تغییرات میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ و ریشه گیاه شابیزک در آزمایش مزرعه‌ای

تیمار	آتروپین برگ (mg/g DW)	آتروپین ریشه (mg/g DW)	اسکوپولامین برگ (mg/g DW)	اسکوپولامین ریشه (mg/g DW)
F_1N	۲۴/۵f	۸/۶h	۰/۱۶jk	۱/۳d
F_2N	۱۸/۱j	۷/۵k	۱۰/۴a	۰/۵۶i
F_3N	۲۶/۵c	۸/۸g	۱/۷e	۰/۸۲h
F_1S	۲۰/۴i	۱۱/۵a	۰/۳۶i	۱/۷۶ab
F_2S	۲۷/۵a	۸/۷g	۰/۵۷h	۰/۴۸i
F_3S	۲۵/۶d	۷/۸j	۳/۲۴c	۱/۷۷a
F_1A	۲۳/۸g	۱۰/۳b	۱/۶۳f	۰/۸۸h
F_2A	۲۱/۱h	۱۰/۴b	۰/۲۱j	۱/۲۸e
F_3A	۱۳/۵l	۹/۲f	۱/۳۲g	۰/۸۱h
F_1SA	۲۶/۸b	۱۰/۲c	۰/۰۳l	۱/۴۷cd
F_2SA	۱۷/۹k	۸/۲i	۰/۱۱kl	۱/۴۹c
F_3SA	۴/۰۵n	۹/۴e	۵/۳b	۱/۶۸b
F_1T	۲۵/۴e	۹/۷d	۲/۳d	۱/۱۳f
F_2T	۲۶/۹b	۹/۴e	۰/۰۳l	۱/۰۶fg
F_3T	۱۳/۲m	۹/۳f	۰/۳۱i	۱/۰۴g

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

تفسیر حروف تیمارهای کود زیستی :

N (عدم تلقیح کود زیستی) ، S (سودوموناس) ، A (ازتوباکتر) ، SA (سودوموناس+ازتوباکتر) ، T (تیوباسیلوس+گوگرد)

تفسیر حروف تیمارهای کود شیمیایی :

F_1 (عدم استفاده از کود شیمیایی) ، F_2 (تیمار ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده) ، F_3 (تیمار ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده)

۴-۲-۱۱- ضریب همبستگی ساده پیرسون در صفات آزمایش مزرعه‌ای

عملکرد کل گیاه با وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و ارتفاع بوته در سطح ٪۱ تأثیر معنی‌دار و مثبتی دارد(جدول ۴-۱۱). با توجه به این نکته که عملکرد کل گیاه برایند وزن اندام‌های گیاه و سایر صفات می‌باشد، بالطبع هرآنچه که سبب افزایش وزن خشک اندام‌های گیاه و افزایش ارتفاع شود سبب افزایش عملکرد کل گیاه نیز خواهد شد. در عملکرد کل گیاه بیشترین مقدار از تیمار سودوموناس با ازتوباکتر بدست آمد و در صفات ارتفاع بوته ، وزن خشک برگ نیز تیمار سودوموناس باعث کسب بیشترین مقادیر شده است. سودوموناس می‌تواند در شرایط نامساعد مانند انواع تنش از جذب یونهای سمی مانند سدیم، کلر، فلزات سمی مثل سرب، جیوه جلوگیری کرده و جذب یونهای مؤثر در رشد گیاه مانند پتاسیم را افزایش داده که سبب افزایش فعالیت روزنه‌های گیاه و بالا رفتن سطح کلروفیل و نیز افزایش تولید هورمون اکسین شده و از طریق سایر آنزیمها میزان تولید هورمون اتیلن را نیز کنترل می‌کند، که بالطبع افزایش فتوسنتز و رشد را به همراه دارد که در نهایت سبب افزایش عملکرد کل گیاه خواهد شد(داوودی‌فرد و همکاران، ۲۰۱۱). ازتوباکترها نیز می‌توانند با افزایش تولید هورمونهایی نظیر اکسین، جیبرلین، سیتوکنین و همچنین افزایش توان حل کنندگی فسفاتها و نیز با افزایش توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه سبب افزایش رشد و عملکرد گیاه شوند(کندی و همکاران، ۲۰۰۴ & اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۸۳). طبق تحقیقات بسیاری که صورت پذیرفته نیاز گیاهان به فسفر در مراحل ابتدایی رشد بیشتر از مراحل پایانی رشد است و هر عاملی که بتواند فسفر خاک را از فرم غیرقابل جذب به فرم قابل استفاده تبدیل کند، سبب تولید گیاه مطلوب‌تر می‌شود(ریچاردسون، ۲۰۰۱). لذا افزایش عملکرد کل گیاه در گیاه شابیزک که در تیمار سودوموناس و ازتوباکتر حاصل شد را می‌توان متأثر از موارد ذکر شده در نظر گرفت. ارتفاع بوته و وزن خشک برگ در سطح ٪۱ با وزن خشک ساقه همبستگی مثبت داشته است(جدول ۴-۱۱). آتروپین برگ و آتروپین ریشه به ترتیب در سطوح ۵ و ۱ درصد تأثیر معنی‌دار و منفی نسبت به اسکوپولامین برگ داشتند(جدول ۴-۱۰)، بدین معنی که افزایش تولید میزان

آتروپین در برگ و ریشه سبب کاهش مقدار اسکوپولامین برگ می‌شود. با توجه به اینکه آتروپین و اسکوپولامین ابتدا در ریشه ساخته شده و سپس به اندام‌های هوایی منتقل می‌شوند و نیز اینکه مقدار سهم تولیدی آتروپین بیشتر از اسکوپولامین در گیاه است، لذا افزایش یافتن در میزان تولید آتروپین سبب کاهش یافتن مقدار اسکوپولامین می‌شود. صفات نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ در سطح ۱٪ تأثیر مثبت و معناداری با صفت کربوهیدرات برگ داشتند(جدول ۴-۱۰). با توجه به اینکه بیشترین مقدار عناصر نیتروژن از تیمار سودوموناس + ازتوباکتر به همراه ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده و بیشترین مقدار فسفر از تیمار سودوموناس به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده و بیشترین مقدار پتاسیم نیز از تیمار سودوموناس به همراه ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده بدست آمدند. با توجه به اینکه کود زیستی سودوموناس در هر سه این صفات تأثیر مستقیم داشته است و بلحاظ عملکردی کود زیستی سودوموناس با افزایش تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه و همچنین با فراهم نمودن شرایط برای جذب بیشتر عناصر غذایی مورد نیاز گیاه باعث افزایش میزان فتوسنتز و همچنین سبب افزایش رشد گیاه شده و در نهایت سبب افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در گیاه می‌شود(جوتور و ردی، ۲۰۰۷).

جدول ۴-۱۰- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش مزرعه‌ای

صفات	نیتروژن برگ	فسفر برگ	پتاسیم برگ	کربوهیدرات محلول برگ	آتروپین برگ	آتروپین ریشه	اسکوپولامین برگ	اسکوپولامین ریشه	کلروفیل برگ
نیتروژن برگ	۱								
فسفر برگ	۰/۲۳۴	۱							
پتاسیم برگ	۰/۳۵۸	۰/۴۰۵	۱						
کربوهیدرات محلول برگ	۰/۹۱۸**	۰/۰۴۸**	۰/۵۲۷**	۱					
آتروپین برگ	-۰/۶۲۹	۰/۰۲۷	-۰/۲۲۴	-۰/۵۸۴	۱				
آتروپین ریشه	-۰/۳۰۸	۰/۱۵۱	۰/۲۳۴	-۰/۲۴۶	۰/۰۱۱	۱			
اسکوپولامین برگ	۰/۱۶۴	-۰/۱۱۹	-۰/۳۳۰	۰/۰۷۸	-۰/۳۴۲*	-۰/۴۸۲**	۱		
اسکوپولامین ریشه	۰/۰۹۳	۰/۱۱۴	۰/۴۱۵	۰/۱۶۵	-۰/۱۸۳	۰/۲۶۸	-۰/۲۲۱	۱	
کلروفیل برگ	۰/۲۷۴	-۰/۰۳۹	۰/۰۷۰۳	۰/۲۱۹	۰/۱۳۲	-۰/۳۰۶	۰/۰۲۳	-۰/۱۹۹	۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۴-۱۱- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش مزرعه‌ای

صفات	عملکرد کل گیاه	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	ارتفاع بوته	تعداد گل	تعداد انشعابات
عملکرد کل گیاه	۱					
وزن خشک برگ	۰/۳۶۷**	۱				
وزن خشک ساقه	۰/۳۹۹**	۰/۷۹۳**	۱			
ارتفاع بوته	۰/۴۰۵**	۰/۵۳۴	۰/۶۸۹**	۱		
تعداد گل	۰/۱۱۳	۰/۳۸۹	۰/۳۳۷	۰/۲۶۱	۱	
تعداد انشعابات	۰/۲۶۳	-۰/۰۵۷	-۰/۰۷۸	۰/۲۲۰۴	-۰/۱۷۸	۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

۴-۳- آزمایش گلخانه‌ای

۴-۳-۱- حجم ریشه

نتایج نشان داد باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر حجم ریشه داشت(جدول ۴-۱۲). بیشترین و کمترین مقادیر حجم ریشه (به ترتیب ۱۷۰۳۴/۷ و ۳۲۴۰/۳ سانتیمتر مکعب) به ترتیب در تیمارهای F_2A و F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۱۳).

افزایش حجم ریشه بیانگر توسعه بیشتر سیستم ریشه‌ای گیاه است که این امر افزایش توان جذب آب و عناصر غذایی بیشتر از حجم وسیع تری از خاک را برای گیاه امکان پذیر می‌سازد. بدین ترتیب به نظر می رسد که با کاربرد ازتوباکتر در این آزمایش و افزایش حجم ریشه، توان و کارایی جذب و مصرف آب و عناصر غذایی در گیاه بهتر شده و در نتیجه رشد و نمو بهبود یافته است.حمیدی و همکاران(۱۳۸۹) در آزمایش خود بر روی گیاه ذرت(Zea mays L.) بیان داشتند که بکارگیری ازتوباکتر کروکوکوم سبب افزایش حجم ریشه نسبت به شاهد شده است که با نتایج آزمایش فوق مطابقت دارد.

۴-۳-۲- قطر ریشه

نتایج نشان داد باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر قطر ریشه داشت(جدول ۴-۱۲). تیمارهای برتر در مقدار قطر ریشه F_2A و F_2N بودند که بلحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین کمترین مقدار قطر ریشه (۱۱/۰۰ میلیمتر) در تیمار F_1N حاصل گردید (جدول ۴-۱۳).

ویژگی‌های سیستم ریشه ارثی بوده لیکن می‌تواند توسط فاکتورهای محیطی تحت تأثیر قرار گیرد(راسل، ۱۹۷۷) و تغییر در مورفولوژی ریشه و رشد آن تا حدی به غلظت مواد تنظیم کننده رشد به ویژه اکسین، اتیلن و سیتوکنین بستگی دارد(کاسن و لیندسی، ۲۰۰۳). اِسچیپرس و همکاران(۱۹۹۰)

معتقدند بعضی از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با تولید ریزوبیوتوکسین، تولید اتیلن را در گیاه کاهش می‌دهند و همچنین باعث افزایش رشد ریشه می‌شوند. تناسب صحیح و درست بین ازت و فسفر نه تنها سبب افزایش عملکرد ریشه میشود بلکه تأثیر مطلوبی بر رشد گیاه خواهد داشت(امیدبیگی، ۱۹۹۸). توانایی ازتوباکتر در افزایش حلالیت فسفر از ترکیبات نامحلول معدنی به اثبات رسیده است که از جمله روشهای افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی میباشد. بنابراین ممکن است ازتوباکتر تناسب صحیحی بین ازت و فسفر ایجاد نموده و یا با تولید هورمون‌های مناسب و یا از طریق کاهش اتیلن موجب افزایش رشد و قطر ریشه و همچنین گیاه شده باشد(اِسچیپرس و همکاران، ۱۹۹۰).

۴-۳-۳- طول ریشه اصلی

نتایج نشان داد باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر طول ریشه اصلی داشت(جدول ۴-۱۲). بیشترین و کمترین مقدار طول ریشه اصلی(به ترتیب ۵۴/۷۶ و ۲۱/۴۷ سانتیمتر) به ترتیب در تیمارهای F_1T و F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۱۳).

گیاهان گوگرد را تنها به شکل یون سولفات می‌توانند جذب نمایند(بانرجی و همکاران، ۲۰۰۵). اکسیداسیون گوگرد عنصری به طور عمده توسط گونه های شیمیوسنتز کننده تیوباسیلوس انجام می‌شود. علاوه بر گوگرد عنصری، سولفیدها، تیوسولفات و تتراتیونات نیز به سولفات اکسیده می‌شوند. تیوباسیلوس‌ها میتوانند اثرات قابل ملاحظه‌ای بر pH محیط داشته باشند. به علت تولید اسید توسط تیوباسیلوس حلالیت عناصر غذایی افزایش یافته و قابلیت دسترسی آنها تسهیل گردیده و نهایتاً باعث افزایش رشد ریشه و گیاه می‌شوند(فلاح و همکاران، ۲۰۱۰). حتی در صورت عدم استفاده از کودهای شیمیایی، تیوباسیلوس‌ها می‌توانند با تولید اسید در خاک(کاهش pH)، دسترسی به عناصر غذایی موجود در خاک که گیاه به آن دسترسی نداشت را نیز فراهم سازند. بشارتی(۱۹۹۸) ضمن بررسیهای خود تأثیر مثبت تلقیح باکتری‌های تیوباسیلوس بر افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی را گزارش کرده‌اند.

۴-۳-۴- وزن خشک ریشه

نتایج نشان داد باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر وزن خشک ریشه داشت(جدول ۴-۱۲). بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه (به ترتیب ۴۴/۵۲ و ۱۵/۵۱ گرم) در تیمارهای F_2A و F_1S حاصل گردید (جدول ۴-۱۳).

افزایش وزن خشک ریشه، نشان دهنده افزایش رشد ریشه بوده و افزایش رشد ریشه، تأثیر به سزایی در جذب و تغذیه بهتر گیاه دارد. از این رو به نظر می‌رسد که با بکارگیری ازتوباکتر، رشد ریشه افزایش داشته است که به تبع آن، جذب آب و عناصر غذایی نیز بهتر شده است. با توجه به توانایی ازتوباکتر در افزایش تولید مواد تنظیم کننده رشد به ویژه سیتوکنین و توانایی آنها در حلالیت فسفر، این نتایج دور از انتظار نمی‌باشد. نتایج ساجید و همکاران(۲۰۰۸) بیان‌کننده افزایش وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح شده با ازتوباکتر به علت افزایش تولید هورمون و جذب عناصر می‌باشد. ورما و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی وزن خشک ریشه نخود گزارش کردند که تلقیح با باکتری‌های ریزوسفری، افزایش ۵۷ -۴۴ درصدی ماده‌ی خشک را به دنبال داشت.

۴-۳-۵- وزن خشک اندام هوایی

نتایج نشان داد باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر وزن خشک اندام هوایی داشت(جدول ۴-۱۲). بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی(به ترتیب ۲۲/۲۱ و ۸/۷۴ گرم) به ترتیب در تیمارهای F_3T وF_1S حاصل گردید(جدول ۴-۱۳).

تیوباسیلوسها با تولید اسید و کاهش Ph خاک سبب افزایش حلالیت عناصر غذایی شده که موجب افزایش جذب توسط گیاه خواهد شد. آنها می‌توانند عناصری را که حتی در حالت عادی در دسترس گیاه نیست را هم برای گیاه فراهم سازند که مجموع این عوامل سبب افزایش رشد گیاه خواهد شد.

۴-۳-۶- نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه

نتایج نشان داد باکتری‌های محرک رشد و کود شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه داشت(جدول ۴-۱۲). نتایج و بررسی‌ها در خصوص نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه نیز بیانگر آن بود که بیشترین نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه(۰/۸۴) مربوط به تیمار F_3T و کمترین نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه (۰/۳۳) مربوط به تیمار F_1A می‌باشد (جدول ۴-۱۳).

نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه در حقیقت به عنوان عاملی در جهت تعیین وضعیت رشدی گیاه است، که مثبت یا منفی بودن آن را مشخص می‌کند. طبیعی است هر آنچه که سبب افزایش عملکرد گیاه شود به سبب توسعه سیستم ریشه‌ای ایده‌آل گیاه است و لذا تأثیر مثبت بر این نسبت دارد. کاهش این نسبت نیز نشان دهنده مواجهه گیاه با شرایط نامساعد اعم از محیطی و غیرمحیطی است که باعث کاهش عملکرد اندام هوایی می‌شود. یکی از نتایج فرآیند اکسیداسیون گوگرد، کاهش موضعی pH خاک در اطراف ریشه گیاهان می‌باشد که این امر به حلالیت عناصر تثبیت شده در خاک (از جمله فسفر، آهن، روی و منگنز) می‌انجامد(سیفوئنت و لیندمن، ۱۹۹۳). به علت سرعت پائین فرآیند اکسیداسیون گوگرد در خاک، تلقیح گوگرد عنصری با تیوباسیلوس از اهمیت ویژهای برخوردار است زیرا با افزایش سرعت اکسیداسیون گوگرد و فراهم شدن شرایط اسیدی حاصل از اکسید شدن آن، می‌تواند به حلالیت فسفر موجود در سنگ فسفات، فسفر بومی خاک منجر شده و در نهایت سبب افزایش عملکرد گیاه شود(روسا و همکاران، ۱۹۸۹) که در حقیقت به توانمندی سیستم ریشه‌ای گیاه در جذب بهتر عناصر غذایی اشاره دارد. در پژوهشی دیگر ساکاری و همکاران(۲۰۱۲) مشاهده کردند که مصرف گوگرد به همراه تیوباسیلوس سبب افزایش عملکرد کلزا شده است.

جدول ۴-۱۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	میانگین مربعات (M.S)					
		حجم ریشه	قطر ریشه	طول ریشه اصلی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه
تکرار(R)	۲	۰/۰۰۹ns	۰/۳۹ns	۰/۰۳۲ns	۰/۸۶ns	۰/۰۵۴ns	۰/۰۰۶ns
کودهای زیستی(B)	۴	۱۵/۷۱**	۳/۴۳**	۴۵/۸۲**	۴/۸۲**	۵/۱۸**	۴/۰۶**
کودهای شیمیایی(F)	۲	۱۰/۱۶**	۶/۸۶**	۹/۰۳**	۱/۰۳**	۱۴/۱۷**	۸/۱۷**
اثر متقابل	۸	۳۰/۸۵**	۲/۳۸**	۵۱/۱۵**	۱/۶۳**	۱۵/۷۶**	۴/۰۳**
خطا(E)	۲۸	۰/۲۶۴	۰/۰۶۸	۰/۰۲۹	۰/۸۹	۰/۰۶۲	۰/۰۲۳
ضریب تغییرات(درصد)	---	۱۲/۴۱	۱۰/۸۱	۱۲/۴۱	۱۳/۱۵	۱۳/۵۲	۱۱/۶۵

* و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ،۱ درصد و عدم معنی‌داری

جدول ۴-۱۳- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای

تیمار	حجم ریشه (cm^3)	قطر ریشه (mm)	طول ریشه اصلی (cm)	وزن خشک اندام هوایی (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه
F_1N	۳۲۴۰/۳k	۱۱/۰۰g	۲۱/۴۷i	۱۰/۶۱k	۲۴/۷۴f	۰/۴۳g
F_2N	۱۶۴۱۷b	۲۱/۷۹a	۴۳/۶۶c	۹/۳۳i	۱۹/۰۱k	۰/۴۸f
F_3N	۹۱۷۰/۷e	۱۸/۴۱b	۳۰/۶۶g	۱۲/۸۸g	۲۱/۴۷i	۰/۵۷d
F_1S	۴۹۵۲/۳hi	۱۳/۵۲e	۲۸/۳۳h	۸/۷۴m	۱۵/۵۱l	۰/۵۷d
F_2S	۱۵۰۶۷/۳c	۱۸/۹۴b	۴۴/۶۶c	۱۱/۰۶j	۲۵/۶۰e	۰/۴۲g
F_3S	۴۱۷۴/۷j	۱۴/۵۱d	۳۳/۰۰f	۱۱/۶۳i	۲۰/۸۷j	۰/۵۳e
F_1A	۴۸۷۴/۷hi	۱۲/۱۵f	۳۴/۴۳e	۱۲/۰۴h	۳۴/۴۵b	۰/۳۲i
F_2A	۱۷۰۳۴/۷a	۲۲/۳۸a	۴۱/۶۶d	۱۸/۹۷b	۴۴/۵۲a	۰/۴۰h
F_3A	۱۰۲۱۶/۳d	۱۸/۶۹b	۳۴/۰۰ef	۱۴/۳۶f	۲۳/۹۴g	۰/۵۷d
F_1SA	۷۲۰۱f	۱۶/۳۵c	۲۸/۸۳h	۱۰/۶۹k	۲۴/۲۰g	۰/۴۳g
F_2SA	۵۲۰۲/۷h	۱۲/۱۵f	۴۳/۸۳c	۱۵/۹۶d	۲۸/۹۴c	۰/۵۳e
F_3SA	۶۲۴۰/۳g	۱۳/۶۵e	۳۴/۳۳ef	۱۷/۶۸c	۲۶/۳۰d	۰/۶۴b
F_1T	۱۰۴۴۱d	۱۴/۲۵d	۵۴/۷۶a	۱۵/۶۴e	۲۴/۸۶f	۰/۶۱c
F_2T	۹۰۵۵/۷e	۱۴/۳۷d	۵۱/۰۰b	۱۵/۳۹e	۲۳/۰۲h	۰/۶۲bc
F_3T	۴۴۰۶/۷ij	۱۳/۳۸e	۲۷/۶۶h	۲۲/۲۱a	۲۵/۰۳f	۰/۸۴a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار(LSD) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

تفسیر حروف تیمارهای کود زیستی :

N (عدم تلقیح کود زیستی) ، S (سودوموناس) ، A (ازتوباکتر) ، SA (سودوموناس+ازتوباکتر) ، T (تیوباسیلوس+گوگرد)

تفسیر حروف تیمارهای کود شیمیایی :

F_1 (عدم استفاده از کود شیمیایی) ، F_2 (تیمار ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده) ، F_3 (تیمار ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده)

۴-۳-۷- مقدار آتروپین(هیوسیامین) و اسکوپولامین(هیوسین)

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری($p \leq 0.01$) بر آتروپین برگ و ریشه و اسکوپولامین برگ و ریشه داشت(جدول ۴-۱۴).

۴-۳-۷-۱- مقدار آتروپین برگ

بیشترین میزان آتروپین برگ(۱۹/۵۸ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار F_2N و کمترین آن (۵/۸ میلی‌گرم/گرم) در تیمار F_2T حاصل گردید (جدول ۴-۱۵).

۴-۳-۷-۲ مقدار آتروپین ریشه

بیشترین و کمترین میزان آتروپین ریشه (به ترتیب ۷/۶۹ و ۴/۹۸ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) به ترتیب در تیمارهای F_3T و F_3N حاصل گردید (جدول ۴-۱۵).

۴-۳-۷-۳- مقدار اسکوپولامین برگ

بیشترین میزان اسکوپولامین برگ (۷/۷۷ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار F_2N و کمترین آن (۰/۶۴ میلی‌گرم/گرم ماده خشک)در تیمار F_3T حاصل گردید (جدول ۴-۱۵).

۴-۳-۷-۴- مقدار اسکوپولامین ریشه

بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه(۵/۶۹ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار F_2N و کمترین آن (۰/۶۱ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) در تیمار F_3T حاصل گردید (جدول ۴-۱۵).

آتروپین(هیوسیامین) و اسکوپولامین(هیوسین) در ریشه‌های جوان ساخته می‌شوند. مقدار قابل توجهی از این ترکیبات پس از ساخته شدن در ریشه‌های جوان به بخش‌های هوایی گیاه منتقل و در آنجا ذخیره می‌شوند(هاشیموتو و همکاران، ۱۹۹۲). لذا میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ بیشتر از

ریشه است. بیشترین میزان عملکرد آتروپین ریشه در تیمار تیوباسیلوس با گوگرد با ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده، بدست آمد. فلاح و همکاران(۲۰۱۰) علت این امر را به کاهش pH خاک و اسیدیته نمودن خاک توسط تیوباسیلوس عنوان نمودند که باعث حلالیت گوگرد و عناصر تثبیت شده در خاک شده و نهایتاً سبب افزایش عملکرد و رشد ریشه گیاه می‌شود. بیشترین میزان اسکوپولامین ریشه نیز در تیمار عدم استفاده از کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد. در مسیر بیوسنتز آتروپین و اسکوپولامین ، ابتدا آتروپین سنتز شده و سپس اسکوپولامین سنتز می‌شود(تونی، ۱۹۹۵). لذا بنظر می‌رسد که افزایش آتروپین ریشه بواسطه افزایش حلالیت عناصر غذایی بواسطه تیوباسیلوس بوده و بیشترین میزان عملکرد نیز در تیمار تیوباسیلوس مشاهده می‌شود. سنتز اسکوپولامین بعد از سنتز آتروپین و بدون حضور تیوباسیلوس رخ داده و لذا بیشترین میزان عملکرد اسکوپولامین در تیمار بدون استفاده از کود زیستی و فقط در حضور تیمار کود شیمیایی مشاهده می‌شود. بالطبع بیشترین میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ نیز بایستی در تیمار بدون استفاده از کود زیستی و فقط در حضور تیمار کود شیمیایی باشد که نتایج آزمایش نیز بیانگر این موضوع هست.

۴-۳-۸- مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ

نتایج آزمایش بیانگر آن بود که تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی و همچنین اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری در سطح ۱ درصد ($p \leq 0.01$) بر مقدار عناصر N ، P و K داشت(جدول ۴-۱۴).

۴-۳-۸-۱- مقدار عنصر نیتروژن

بیشترین مقدار N (۲/۹ درصد) از تیمار F_3S و کمترین مقدار N (۱/۲ درصد) نیز از تیمار F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۱۵).

۴-۳-۸-۲- مقدار عنصر فسفر

بیشترین مقدار P (۰/۳۳ درصد) از تیمار F_2S و کمترین مقدار P (۰/۱۱ درصد) نیز از تیمار F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۱۵).

در این تحقیق باکتری سودوموناس سبب افزایش عناصر نیتروژن و فسفر شده است. سودوموناس با توان حل‌کنندگی فسفات‌های نامحلول، ترکیبات فسفاتی را از طریق فرآیندهای اسیدی کردن، کلاته کردن و واکنش‌های تبادلی به شکل محلول در می‌آورند. همچنین آنها با معدنی کردن ترکیبات آلی موجب افزایش فراهمی عناصر غذایی در ریزوسفر می‌شوند (شن و همکاران، ۲۰۰۴). مهمترین مکانیسم در انحلال فسفات‌های معدنی تولید اسیدهای آلی است که این اسیدها به دو طریق باعث افزایش فراهمی عناصرغذایی می‌شوند که ۱) از طریق کاهش اسیدیته منطقه ریزوسفر و ۲) از طریق کلاته شدن یون آلومینیم در خاکهای اسیدی و یون کلسیم در خاک‌های سدیمی است(کوسی، ۱۹۸۳). شاهرونا و همکاران(۲۰۰۸) گزارش کردند استفاده از باکتری سودوموناس فلورسنت نسبت به تیمار عدم تلقیح با باکتری موجب افزایش رشد گندم از طریق افزایش جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم شد.

۴-۳-۸-۳- مقدار عنصر پتاسیم

بیشترین مقدار K (۱/۷۴ درصد) از تیمار F_2A و کمترین مقدار K (۰/۶۲ درصد) نیز از تیمار F_1N حاصل گردید(جدول ۴-۱۵).

استفاده از کود زیستی ازتوباکتر سبب توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه شده(خرم دل و همکاران، ۱۳۸۹) و به طبع آن باعث تقویت گیاه در جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم می‌شود(درزی و همکاران، ۱۳۸۷). ازتوباکتر باعث افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی می‌شود که این موضوع را می‌توان به افزایش حلالیت فسفر از ترکیبات نامحلول معدنی مرتبط دانست، لذا تناسب صحیح بین ازت و فسفر سبب تولید هورمون‌های مناسب شده و همچنین با کاهش مقدار هورمون بازدارنده اتیلن سبب افزایش رشد ریشه و گیاه خواهد شد(اِسچیپرس و همکاران، ۱۹۹۰).فلاحی و همکاران(۱۳۸۸) با تحقیقی که بر روی گیاه بابونه آلمانی(*Matricaria chamomilla* L.) داشتند بیان نمودند که استفاده از کود زیستی ازتوباکتر سبب تقویت بابونه آلمانی در جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم شده است.

جدول ۴-۱۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای به باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	میانگین مربعات (M.S)						
		آتروپین برگ	آتروپین ریشه	اسکوپولامین برگ	اسکوپولامین ریشه	مقدار عنصر N	مقدار عنصر P	مقدار عنصر K
تکرار(R)	۲	۰/۳۵^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۲۵^{ns}	۰/۰۲۴^{ns}	۰/۰۱۸^{ns}	۰/۰۰۶^{ns}	۰/۰۰۹^{ns}
کودهای زیستی(B)	۴	۳/۱۸**	۱۵/۸۵**	۲۸/۸۱**	۴/۲۵**	۱۶/۲۱**	۴۲/۲۲**	۵/۲۵**
کودهای شیمیایی(F)	۲	۱/۱۴**	۲/۵۳**	۵/۳۲**	۳/۵۱**	۱۱/۵۱**	۸/۵۶**	۹/۵۳**
اثر متقابل	۸	۰/۸۳**	۰/۷۲۳**	۸/۷۸**	۱/۴۸**	۲۹/۴۲**	۵۲/۳۴**	۵/۰۷**
خطا(E)	۲۸	۰/۱۱	۰/۲۸۵	۰/۳۰۸	۰/۰۸۶	۰/۳۱۲	۰/۱۹۶	۰/۱۹۶
ضریب تغییرات(درصد)	---	۱۲/۱۹	۱۵/۳۱	۱۵/۲۵	۱۴/۰۶	۱۱/۷۳	۱۳/۱۶	۱۲/۲۷

* و ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ،۱ درصد و عدم معنی‌داری

جدول ۴-۱۵- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی و شیمیایی به صفات اندازه‌گیری شده گیاه شابیزک در شرایط گلخانه‌ای

تیمار	آتروپین برگ (mg/g DW)	آتروپین ریشه (mg/g DW)	اسکوپولامین برگ (mg/g DW)	اسکوپولامین ریشه (mg/g DW)	مقدار عناصر N : P : K برگ نیتروژن ٪(N)	فسفر ٪(P)	پتاسیم ٪(K)
F_1N	۱۶/۶۷e	۵/۲۳n	۳/۶۵j	۲/۵۰c	۱/۲۰۱۶l	۰/۱۱۵i	۰/۶۲۱۶l
F_2N	۱۹/۵۸a	۵/۸۲j	۷/۷۷a	۵/۶۹a	۱/۶۰۱۶i	۰/۱۶۵g	۰/۷۱۱۶j
F_3N	۱۹/۴۶b	۴/۹۸o	۵/۳۴e	۰/۸۲l	۲/۱۰۳۳e	۰/۱۳۳۳h	۰/۶۷۳۳k
F_1S	۱۶/۴۹f	۵/۴۰m	۶/۴۸c	۰/۹۴k	۱/۴۰۳۳j	۰/۲۹۳۳b	۱/۴۲۳۳f
F_2S	۱۶/۰۴g	۵/۴۷l	۳/۱۲k	۱/۹۹e	۱/۹۰۳۳g	۰/۳۳۳۳a	۱/۵۴۳۳d
F_3S	۱۰/۸۵n	۷/۱۷d	۱/۶۷m	۱/۹۱f	۲/۹۰۳۳a	۰/۳۰۳۳b	۱/۴۸۳۳e
F_1A	۱۱/۳۶m	۶/۴۷g	۶/۸۷b	۲/۱۹d	۱/۴۰۳۳j	۰/۲۳۳۳e	۰/۸۶۳۳i
F_2A	۱۸/۷۵d	۶/۲۴h	۳/۱۴k	۱/۸۸g	۱/۹۰۱۶g	۰/۲۵۵c	۱/۷۴۳۳a
F_3A	۱۴/۳۰j	۷/۰۰e	۴/۲۲i	۱/۷۹h	۲/۶۰۱۶b	۰/۲۳۵de	۱/۲۶۱۶h
F_1SA	۱۴/۸۱i	۵/۷۲k	۲/۵۴l	۱/۹۷e	۱/۶۰۱۶i	۰/۱۷۵g	۱/۵۸۱۶c
F_2SA	۱۵/۸۶h	۷/۵۶b	۴/۶۴h	۰/۹۷j	۲/۰۰۳۳f	۰/۲۴۳۳cd	۱/۳۹۱۶g
F_3SA	۱۴/۱۰k	۶/۰۵i	۴/۶۸g	۰/۸۱l	۲/۴۰۳۳c	۰/۲۰۳۳f	۱/۶۶۳۳b
F_1T	۱۹/۰۹c	۷/۴۸c	۶/۳۸d	۱/۳۹i	۱/۳۰۳۳k	۰/۱۴۳۳h	۱/۴۷۳۳e
F_2T	۵/۸۰	۶/۸۴f	۴/۹۳f	۲/۷۸b	۱/۸۰۳۳h	۰/۱۹۳۳f	۱/۵۹۳۳c
F_3T	۱۲/۰۱l	۷/۶۹a	۰/۶۴n	۰/۶۱m	۲/۳۰۳۳d	۰/۱۷۳۳g	۱/۵۴۳۳d

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار(LSD) در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

تفسیر حروف تیمارهای کود زیستی :

N (عدم تلقیح کود زیستی) ، S (سودوموناس) ، A (ازتوباکتر) ، SA (سودوموناس+ازتوباکتر) ، T (تیوباسیلوس+گوگرد)

تفسیر حروف تیمارهای کود شیمیایی :

F_1 (عدم استفاده از کود شیمیایی) ، F_2 (تیمار ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده) ، F_3 (تیمار ۱۰۰٪ کود شیمیایی توصیه شده)

۴-۳-۹- ضریب همبستگی ساده پیرسون در صفات آزمایش گلخانه‌ای

آتروپین برگ در سطح ٪۱ همبستگی منفی با آتروپین ریشه و در سطح ٪۵ همبستگی مثبت با اسکوپولامین برگ دارد. همچنین اسکوپولامین برگ در سطح ٪۱ همبستگی مثبت با اسکوپولامین ریشه دارد(جدول ۴-۱۶). با توجه به اینکه آتروپین و اسکوپولامین ابتدا در ریشه سنتز شده و سپس به اندام‌هوایی گیاه می‌روند، لذا افزایش آتروپین برگ به معنای کاهش در مقدار آتروپین ریشه است و چون همزمان با اسکوپولامین در برگ ذخیره می‌شوند لذا افزایش آتروپین برگ به معنای افزایش اسکوپولامین نیز در برگ است. همبستگی مثبت اسکوپولامین برگ با اسکوپولامین ریشه نیز بدین معناست که هر عاملی که سبب افزایش سنتز اسکوپولامین در ریشه شود باعث افزایش مقدار آن نیز در برگ خواهد شد. حجم ریشه در سطح ٪۱ همبستگی مثبت با قطر ریشه و طول ریشه دارد. وزن خشک ریشه در سطح ٪۱ همبستگی مثبت با وزن خشک اندام هوایی و همبستگی منفی با نسبت وزن خشک اندام‌هوایی با ریشه دارد. وزن خشک اندام‌هوایی نیز در سطح ٪۱ همبستگی مثبت با نسبت وزن خشک اندام‌هوایی با ریشه دارد. قطر ریشه نیز در سطح ٪۵ همبستگی مثبت با طول ریشه دارد. طول ریشه نیز همبستگی مثبت در سطح ٪۱ با حجم ریشه و قطر ریشه دارد(جدول ۴-۱۷). حجم ریشه تابع ۲ عامل طول ریشه و قطر ریشه بوده و به هر میزان که آنها افزایش پیدا کنند و یا هر عاملی که سبب افزایش آنها شود، بالطبع حجم ریشه نیز متأثر از آنها افزایش پیدا خواهد کرد. افزایش طول ریشه نیز شاخصی از افزایش رشد ریشه است که با افزایش آن توانایی نفوذ ریشه گیاه به عمق بیشتر خاک میسر شده و سبب نفوذ بیشتر ریشه در حجم بیشتری از خاک را فراهم می‌سازد و بدین ترتیب جذب بیشتر آب برای گیاه امکان پذیر می‌گردد. به نظر می‌رسد افزایش طول ریشه در اثر کاربرد PGPR در این آزمایش در افزایش قابلیت جذب و مصرف بهتر آب و عناصر غذایی مؤثر بوده که به نوبه خود در بهبود رشد و نمو اثر مثبت دارد. رشد اندام هوایی بیشتر در گیاه نیز مستلزم رشد بیشتر ریشه و جذب عناصر غذایی بیشتر توسط ریشه بوده و افزایش در هر کدام به منزله افزایش عامل دیگر است. در نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن

خشک ریشه هر عاملی که سبب افزایش وزن خشک اندام‌هوایی شود، این نسبت افزایش پیدا خواهد کرد. جاوید و همکاران(۱۹۹۸) در آزمایش خود بر روی ذرت بیان داشتند که تلقیح بذر با PGPR سبب افزایش ٪۴۲/۶ در وزن خشک اندام هوایی و نیز سبب افزایش ٪۶۸/۴ در وزن خشک ریشه شده است. افزایش وزن خشک ریشه جهت جذب بیشتر عناصر غذایی در اثر تنش نیز سبب کاهش این نسبت خواهد شد. لذا می‌توان بیان نمود ریشه گیاه به عنوان اندام جذب آب و عناصر غذایی از خاک و اندام تولید کننده ترکیبات مختلف از جمله هورمون‌های رشد، برای رشد و نمو گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بررسی های مختلف اثرات مثبت کاربرد PGPR بر شاخص‌های مختلف رشد ریشه را نشان داده‌اند. زهیر و همکاران(۲۰۰۰)، فالیک و همکاران(۱۹۸۹) و گونزالس-لوپز و همکاران(۱۹۹۱) افزایش شاخص‌های رشد ریشه در گیاهان مختلف را در اثر استفاده از PGPR گزارش کرده‌اند. به طورکلی با توجه به همبستگی مثبت ویژگی‌های ریشه با ماده خشک بوته می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که کودهای زیستی مورد بررسی در این تحقیق احتمالاً با ساز و کارهای تحریک کننده رشد، سبب افزایش رشد و نمو و تجمع ماده خشک بخش هوایی بوته شده و با افزایش رشد و نمو و توسعه ریشه در اثر ترشح مواد تحریک کننده رشد به وسیله این باکتری‌ها، جذب آب و عناصر غذایی افزایش یافته و در نتیجه موجب افزایش رشد گیاه گریده‌اند.

جدول ۴-۱۶- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش گلخانه‌ای

صفات	نیتروژن برگ	فسفر برگ	پتاسیم برگ	آتروپین برگ	آتروپین ریشه	اسکوپولامین برگ	اسکوپولامین ریشه
نیتروژن برگ	۱						
فسفر برگ	-۰/۲۰۸	۱					
پتاسیم برگ	۰/۰۸۶	۰/۴۶۴	۱				
آتروپین برگ	-۰/۲۸۲	-۰/۱۷۷	-۰/۳۷۱	۱			
آتروپین ریشه	۰/۴۶۸	۰/۰۶۷	۰/۵۲۱	-۰/۴۰۵**	۱		
اسکوپولامین برگ	-۰/۴۱۱	-۰/۱۷۱	-۰/۴۱۸	۰/۳۰۷*	-۰/۲۴۴	۱	
اسکوپولامین ریشه	-۰/۲۵۸	-۰/۱۲۹	-۰/۴۵۹	۰/۰۷۶	-۰/۱۹۷	۰/۳۸۸**	۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۴-۱۷- ضریب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش گلخانه‌ای

صفات	حجم ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه	قطر ریشه	طول ریشه
حجم ریشه	۱					
وزن خشک ریشه	۰/۲۵۲	۱				
وزن خشک اندام هوایی	-۰/۰۱۰۹	۰/۵۱۳**	۱			
نسبت وزن خشک اندام هوایی به وزن خشک ریشه	-۰/۲۳۹	-۰/۳۶۷**	۰/۵۸۶**	۱		
قطر ریشه	۰/۸۹۷**	۰/۲۰۷	-۰/۰۱۷	-۰/۱۷۸	۱	
طول ریشه	۰/۵۸۴**	۰/۲۰۴	۰/۲۰۳	۰/۰۳۴	۰/۳۰۸*	۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

۴-۴- نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش جوانه‌زنی بیانگر آن بود که تأثیر دما و نور و نیز اثرات متقابل آنها بر صفات جوانه‌زنی معنی‌دار بود. مطلوب‌ترین محدوده دمایی برای جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شابیزک محدوده دمایی ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد است. ضریب آلومتری(نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه) که به عنوان شاخص مقاومت گیاه در برابر تنش محسوب می‌شود در محدوده دمایی ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد کمترین میزان خود را بدست آورد و به معنای آن است که رشد ریشه‌چه در این محدوده دمایی به حداکثر رشد خود رسیده است و لذا می‌توان گیاهچه‌های قویتری در این محدوده دمایی تولید نمود. دماهای کاردینال بدست آمده مینیمم(پایه)، اپتیمم(مطلوب) و ماکزیمم(حداکثر) با توجه به ۳ مدل آماری به طور میانگین ۳، ۲۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. در کل می‌توان گفت مناسب‌ترین مناطق برای کشت این گیاه، مناطق معتدل و نیمه معتدل هستند. مناطقی که دارای سرمای سخت و گرمای شدید بوده برای کشت و توسعه این گیاه مناسب نیستند.

با توجه به اهمیت گیاه دارویی شابیزک در استحصال آلکالوئیدهای آتروپین و اسکوپولامین و اینکه تجمع این مواد بیشتر در اندام برگ گیاه صورت می‌پذیرد، لذا استخراج ماده مؤثره در برگ بیشتر از ریشه است. در آزمایش مزرعه‌ای و گلخانه‌ای میزان تجمع آتروپین و اسکوپولامین در برگ نسبت به ریشه بیشتر بوده است. در آزمایش مزرعه‌ای بیشترین میزان تجمع آتروپین برگ و اسکوپولامین برگ به همراه نیمی از کود شیمیایی توصیه شده بدست آمده و کاهش استفاده از کود شیمیایی در این آزمایش و کسب حداکثر ماده مؤثره در راستای کشاورزی پایدار است. تیمار برتر در این آزمایش سودومونas بوده که در نسبتهای مختلف از میزان کود شیمیایی بیشترین میزان عملکرد را بصورت کمی و کیفی بدست آورده است. در آزمایش گلخانه‌ای اگرچه بیشترین عملکرد ماده خشک اندام هوایی با کاربرد باکتری محرک رشد تیوباسیلوس به همراه گوگرد و بیشترین عملکرد ماده خشک ریشه در تیمار ازتوباکتر حاصل شده‌است ولی بیشترین میزان آتروپین برگ، اسکوپولامین برگ و ریشه در تیمار

عدم تلقیح با باکتری‌های محرک رشد بدست آمده است. بنظر می‌رسد که افزایش آتروپین ریشه بواسطه افزایش حلالیت عناصر غذایی بواسطه تیوباسیلوس بوده و بیشترین میزان عملکرد نیز در تیمار تیوباسیلوس مشاهده می‌شود. سنتز اسکوپولامین بعد از سنتز آتروپین و بدون حضور تیوباسیلوس رخ داده و لذا بیشترین میزان عملکرد اسکوپولامین در تیمار بدون استفاده از کود زیستی و فقط در حضور تیمار کود شیمیایی مشاهده می‌شود. بالطبع بیشترین میزان آتروپین و اسکوپولامین برگ نیز بایستی در تیمار بدون استفاده از کود زیستی و فقط در حضور تیمار کود شیمیایی باشد.

میزان تجمع آتروپین برگ در آزمایش مزرعه‌ای نسبت به گلخانه‌ای۴۰/۴ ٪ و میزان تجمع اسکوپولامین برگ در آزمایش مزرعه‌ای نسبت به گلخانه‌ای ۳۳/۸ ٪ افزایش داشته است. میزان تجمع آتروپین ریشه در آزمایش مزرعه‌ای نسبت به گلخانه‌ای ۴۹/۵ ٪ افزایش داشته ولی نسبت اسکوپولامین ریشه در آزمایش مزرعه‌ای نسبت به گلخانه‌ای ۶۸/۴-٪ کاهش یافته است.

با توجه به اینکه بیشترین مقدار آتروپین و اسکوپولامین برگ در۲ آزمایش مزرعه ای و گلخانه ای از تیمار ۵۰٪ کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد، لذا استفاده از کودهای زیستی باعث کاهش استفاده از کود شیمیایی گردیده و حرکت در جهت کشاورزی پایدار نیز در این آزمایش محقق شده است.

۴-۵- پیشنهادات

۱- با توجه به محاسبه دمای کاردینال، کشت و اعمال دورهای مختلف آبیاری به جهت تعیین نیاز آبی گیاه.

۲- بکارگیری سایر کودهای زیستی و کود شیمیایی و بررسی خصوصیات رشدی و صفات کیفی گیاه دارویی شابیزک.

۳- بکارگیری کودهای زیستی و اعمال تنش خشکی و شوری در درجات مختلف و بررسی تأثیر کودهای زیستی بر میزان مقاومت گیاه در برابر تنش.

پیوست

شکل ۴-۴- محیط کشت جوانه‌زنی گیاه شابیزک

شکل ۴-۵- آماده سازی بستر کشت و کاشت گیاه شابیزک در گلدان و مزرعه

شکل ۴-۶- نمونه برداشت شده جهت اندازه‌گیری صفات

شکل ۴-۷- محیط خشک کردن نمونه‌های برداشت شده مزرعه و گلخانه

منابع

- آرویی ح. ۱۳۷۹ بررسی سطوح مختلف نیتروژن بر روی برخی صفات گیاهان دارویی کدوی تخم کاغذی. **مجله پژوهش و سازندگی**. ش ۴۸. ص:۱۰-۴.
- احتشامی م.، آقا علیخانی ع.، چائی‌چی م.ر و خاوازی ک. ۱۳۸۶. تأثیر میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات بر خواص کمی و کیفی ذرت دانه‌ای تحت شرایط تنش کم آبی. **دومین همایش ملی کشاورزی پایدار**. گرگان. ص ۱۲۳.
- احتشامی م.، آقاعلیخانی م.، چائی چی م و خاوازی ک. ۱۳۸۷. تأثیر کودهای زیستی فسفاته بر خواص کمی و کیفی ذرت دانه ای سینگل کراس ۷۰۴ در شرایط تنش کم آبی. **مجله علوم گیاهان زراعی**. ج ۴۰. ش ۱. ص ۲۶-۱۵.
- احمدیان ن. ۱۳۸۷. بررسی میزان تروپان آلکالوئیدها تحت تأثیر غلظتهای مختلف نیترات، سالیسیلیک اسید و فنیل آلانین در قطعات جداکشت و اندامهای مختلف شابیزک. پایان نامه کارشناسی ارشد. تربیت مدرس.
- استادیان بیدگلی ر.، بلوچی ح.، سلطانی ا و مرادی ع. ۱۳۹۶. اثرات دما و پتانسیل آب بر شاخصهای جوانه زنی بذر گلزنگ *Carthamus tinctorius L.* رقم صفه. **نشریه علوم و فناوری بذر ایران**. ج ۶. ش ۱۱. ص: ۲۲-۱۱.
- اسدی رحمانی ه.، خسروی ه.، علیپور ز و ملکوتی م.ج. ۱۳۸۳. نقش باکتریهای محرک رشد در رشد و سلامت گیاه، قسمت اول: افزایش عملکرد گیاه. **انتشارات سنا**. نشریه شماره ۳۰۹. تهران. ایران.
- اسدی رحمانی ه.، خاوازی ک.، اصغرزاده ا.، رجالی ف و افشاری م. ۱۳۹۱. کودهای زیستی در ایران: فرصتها و چالشها. **مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)**. دوره ۲۶. ش ۱. ص: ۷۷-۸۷.
- اعلایی م.، نادری ر.، خلیقی ا و سلامی س.ع. ۱۳۸۴. اثر تیمارهای محیطی مختلف بر جوانه زنی بذر سیکلامن ایرانی *Cyclamen persicum mill* . **مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی**. ۶۷(۳): ۳۶-۴۳ .
- اکبری‌نیا ا. ۱۳۸۲. بررسی تاثیر سیستم‌های مختلف تغذیه بر عملکرد و میزان اسانس دانه گیاه دارویی زنیان، **انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع**. **تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**. ش ۱۸. ص:۱۱۰-۸۹.

- الهوری ممقانی ب.، شریفی عاشورآبادی ا.، مکی زاده تفتی م.، حسنی ج و بختیاری رمضانی م. ۱۳۹۲. بررسی واکنش به نور برخی از گونه‌های آویشن در مرحله جوانه‌زنی. **فصلنامه پژوهشهای علوم گیاهی** .شماره پیاپی ۲۹ .سال ۸. ش۱. ص: ۱۶-۱.
- امامی ع. ۱۳۷۵. روش های تجزیه گیاه. **انتشارات موسسه تحقیقات خاک و آب**. نشریه فنی شماره ۹۸۲. تهران.
- امیدبیگی ر. ۱۳۸۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. **انتشارات آستان قدس رضوی**. ج ۱. چاپ ۴. ص: ۱۲۳-۶۸.
- امیدی ح.، عباس ع.، ترابی ح.، نقدی بادی ح و سروش زاده ع. ۱۳۸۶. چالش‌های فراروی تجارت گیاهان دارویی ایران. **سومین همایش ملی گیاهان دارویی**. تهران. ص:۲.
- امیدی ح و جعفرزاده ل. ۱۳۸۹. مطالعه عملکرد کمی و درصد اسانس زیره سبز تحت تاثیر کود زیستی و شیمیایی اوره. **یازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران**.
- امیدی ح.، نقدی‌بادی ح.، گلزار ع.، ترابی ح و فتوکیان م.ح. ۱۳۸۸. تاثیر کودهای شیمیایی و زیستی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران. **فصلنامه گیاهان دارویی**. ج ۲. ش ۳۰. ص: ۹۸-۱۰۹.
- امیر بیگ زاده ع. ۱۳۸۳. راهنمای مکمل‌های غذایی توصیه‌هایی برای بهبود تغذیه درمانی (ترجمه). **انتشارات آستان قدس رضوی**.
- انصاری پ و روستا م. ۱۳۸۷. تأثیر کاربرد کود بیولوژیک نیتروکسین بر بعضی شاخص‌های رشد رویشی گیاه ذرت. **اولین همایش ملی مدیریت و توسعه کشاورزی پایدار**. ایران. شوشتر.
- باقر زاده ک. ۱۳۷۷. بررسی اثر N,P,K بر روی میزان اسانس و ترکیب فنلی آویشن در مرحله گلدهی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی. دانشگاه اصفهان.
- بالغ ش.، بهشتی ر.، محمدی ا و بالغ م. ۱۳۹۰. ارزیابی تغذیه خاکی نیتروکسین و فسفاته بارور در مراحل مختلف رشد بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم. **اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی**. دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه .
- بقالیان ک و نقدی بادی ح. ۱۳۷۹. گیاهان اسانس دار. **نشر اندرز**. ص: ۱۶۲-۱۳۴.

- بهزاد ا. ۱۳۸۷. بررسی تاثیر کاربرد باکتریهای محرک رشد گیاه و کود نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت هیبرید دبل کراس(DC 370). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.
- پیوندی م.، رفعتی آ و میرزا م. ۱۳۸۸. تأثیر ازت و فسفر بر رشد و میزان اسانس *Artemisia annua L.*. **فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**. ج ۲۵. ش ۱. ص: ۸۴-۷۵.
- تبریزی ل.، کوچکی ع.، نصیری محلاتی م. و رضوانی مقدم پ. ۱۳۸۶. ارزیابی خصوصیات جوانه‌زنی بذر دو توده زراعی و طبیعی آویشن خراسانی(*Thymus transcaspicus Klokov*) با استفاده از مدل‌های رگرسیونی. **مجله پژوهشهای زراعی ایران**. ۵ (۲). ص: ۲۵۷-۲۴۹.
- حسینی ف. ۱۳۹۵. ظرفیت‌های صنعت گیاهان دارویی درتحقق اهداف اقتصاد مقاومتی. **پژوهش خبری خبرگذاری صدا و سیمای جمهوری اسلامی ایران** **http://www.iribnews.ir**
- حسینی ن.، منوچهری کلانتری خ.، مظاهری م.، و احمدی موسوی ع. ۱۳۸۷. اثر متیل ژاسمونات، اتیلن و برهمکنش آنها بر جوانه زنی بذر و برخی پارامترهای بیوشیمیایی دانه رستهای کلزا. **مجله زیست شناسی ایران**. ۲۱ (۲). ص: ۲۰۶-۲۱۵.
- حمیدی ا. ۱۳۸۵. جنبه های اگرواکولوژیک کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد دانه و علوفه سیلویی دو رگ های دیر رس ذرت. رساله دکتری دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.
- حمیدی آ.، اصغرزاده ا.، چوکان ر.، دهقان شعار م.، قلاوند ا و ملکوتی م. ۱۳۸۹. تأثیر کاربرد باکتری های افزاینده رشد گیاه (PGPR) بر تسهیم ماده خشک و برخی ویژگی های رشد ذرت در شرایط گلخانه. **مجله پژوهشهای خاک (علوم خاک و آب)/ الف**. ج ۲۴. ش ۱. ص: ۶۷-۵۵.
- حیدری ف. ۱۳۸۵. تأثیر عناصر ریز مغذی و تراکم بوته بر فنولوژی، عملکرد و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی(*Mentha piperita L*). دانشگاه تبریز. پایان نامه کارشناسی ارشد.
- خاوازی ک و ملکوتی م.ج. ۱۳۸۰. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. **وزارت جهاد کشاورزی**. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. مؤسسه تحقیقات خاک و آب.
- خاوازی ک.، مسیح‌آبادی م.ح و اصغرزاده ا. ۱۳۸۴. کودهای بیولوژیک گوگردی و کاربرد آنها در کشاورزی. **مجموعه مقالات ضروری تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور**. ص:۱۸۷-۱۹۴.

- خاوری ه.، گلدانی م.، خواجه حسینی م و شور م. ۱۳۹۵. تعیین درجه حرارتهای کاردینال و واکنش جوانه‌زنی بذور به درجه حرارتهای مختلف در پنج رقم بذر چمن (grass Turf). **نشریه علوم باغبانی**. ج ۳۰. ش۴. ص: ۶۵۰-۶۴۳.
- خائف ن.، تقوایی م.، صادقی ح و نیازی ع. ۱۳۸۹. بررسی اثرهای متقابل نور و درجهٔ حرارت بر جوانه زنی بذر استبرق. **مجلهٔ علمی پژوهشی مرتع**. سال ۵. ش ۱. ص: ۲۶-۱۹.
- خرم دل س.، کوچکی ع.، نصیری محلاتی م و قربانی ر. ۱۳۸۹. اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد سیاهدانه. **مجله پژوهشهای زراعی ایران**. ۸ (۵). ص: ۷۶۶-۷۵۸ .
- خسروی ه. ۱۳۷۶. بررسی فراوانی و انتشار ازتوباکتر کروکوکوم در خاکهای زراعی استان تهران و مطالعه برخی از خصوصیات فیزیولوژیک آن. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.
- درزی م.ت.، قلاوند ا.، سفید کن ف و رجالی ف. ۱۳۸۷. تأثیر کاربرد میکوریزا، ورمی کمپوست و کود فسفات زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی رازیانه. **فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**. ج ۲۴. ش ۴. ص: ۳۹۶-۴۱۳.
- درزی م.، قلاوند ا.، رجالی ف و سفیدکن، ف. ۱۳۸۶. بررسی کودهای زیستی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی رازیانه. **فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**. ج ۲۲. ش ۴. ص: ۲۹۲-۲۷۶.
- دهقانی‌مشکانی م.ر.، نقدی‌بادی ح.، درزی م.ت.، مهرآفرین ع.، رضازاده ش و کدخدا ز. ۱۳۸۹. تاثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه بابونه شیرازی. **فصلنامه گیاهان دارویی**. ج ۲. ش ۳۸. ص: ۳۵-۴۸.
- دیانت م و حسینی س.م. ۱۳۹۵) مقایسه جوانه زنی و رشد گیاهچه علفهای هرز درمنه یکساله (*Artemisia annua*) ، دو ساله (*A. biensis willd*) و چند ساله (*A. vulgaris L.*). **علوم و تحقیقات بذر ایران**. سال ۳. ش ۱. ص: ۹۸-۸۷.
- راثی‌پور ل و علی‌اصغرزاده ن. ۱۳۸۶. اثرات باکتریهای حل‌کننده فسفات بر شاخص‌های رشد، غده بندی و جذب برخی عناصر غذایی در سویا. **مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی**. ش ۴۰. ص: ۵۳-۶۵.
- رحیم زاده س.، سهرابی ی و حیدری غ. ۱۳۸۹. تأثیر کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی روی رشد و میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو. **همایش ملی کشاورزی پایدار و تولید محصول سالم**. اصفهان

- زرگری ع. ۱۳۷۲. گیاهان داروئی. ج ۳، **انتشارات دانشگاه تهران**.
- زرگری ع. ۱۳۷۵. گیاهان داروئی. ج ۳، **انتشارات دانشگاه تهران**.
- زرندی میاندوآب ل.، چاپارزاده ن و حاجی‌زاده ق. ۱۳۹۵. تأثیر برهمکنش نور و دما بر جوانه‌زنی اسفندک.*Zygophyllum fabago L*. **مجله علمی پژوهشی مهندسی اکوسیستم بیابان**. سال ۵. ش ۱۱. ص: ۸-۱.
- زمان س. ۱۳۷۰. گیاهان دارویی با روش کشت، برداشت، داشت و شرح مصور رنگی ۲۵۶ گیاه. **انتشارات ققنوس**.
- ساجد م.ع . ۱۳۸۰. تاثیر سطوح مختلف کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر و مرحله برداشت و عملکرد ماده خشک و روغن در نعناع فلفلی. **همایش ملی گیاهان دارویی ایران**. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.
- سعیدنژاد ا.م و رضوانی‌مقدم پ. ۱۳۸۹. ارزیابی اثرکودهای بیولوژیک و شیمیایی برخصوصیات مورفولوژیکی،عملکرد، اجزاء عملکرد و درصد اسانس گیاه دارویی زیره سبز. **نشریه علوم باغبانی**. ش ۱. ج ۲۴. ص: ۳۸-۴۴.
- سیدشریفی ر و نامور ع. ۱۳۹۴. کودهای زیستی در زراعت. **انتشارات دانشگاه محقق اردبیلی**. ۲۸۰ صفحه.
- شریفی عاشورآبادی ا. ۱۳۷۶. بررسی تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر عملکرد رازیانه. **انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**. ش۷. ص:۲۷-۳.
- شریفی ز و حق‌نیا ز. ۱۳۸۶. تأثیر کودهای بیولوژیک نیتروکسین بر عملکرد و اجزاء عملکرد گندم رقم سبلان. **دومین همایش کشاورزی بوم شناختی**. گرگان. ص ۱۳۳.
- صالحی سورمقی م.ح. ۱۳۹۰. گیاهان دارویی و گیاه درمانی. **انتشارات دنیای تغذیه**. تهران. ج۲. ۳۷۶ صفحه.
- صمصام شریعت ه. ۱۳۸۲. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. **انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان**. ص: ۳۲۰-۳۰۱.
- عباس‌زاده ب.، شریفی ا.، اردکانی م.ر.، لباسچی م.ح و صفی‌خانی، ف. ۱۳۸۵. بررسی تاثیر روش مصرف کود نیتروژن بر بازده و درصد ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه تحت شرایط مزرعه". **فصلنامه‌ی علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**. ش ۳. ج ۲۲.ص: ۲۲۳-۲۳۰.

- عزیزی م و امید بیگی ر. ۱۳۸۰. بررسی اثرات مقادیر مختلف نیتروژن و فسفر بر رشد و نمو و عملکردو میزان ماده موثره هیپرسین در گل راعی. **مجله علوم کشاورزی ایران**. ش ۳۲. ص: ۷۱۹-۵۲۵.
- عمو آقایی ر.، مستأجران ا و امتیازی گ. ۱۳۸۲. تأثیر باکتری آزوسپیریلوم بر برخی شاخص‌های رشد و عملکرد سه رقم گندم. **مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی**. سال ۷. ش ۲. ص: ۱۳۹- ۱۲۷.
- فاضلی کاخکی س.ف.، مشفق ن و گلدانی م. ۱۳۹۲. تعیین درجه حرارت‌های کاردینال و واکنش جوانه‌زنی بذور به دما در اکوتیپهای ریحان. **فناوری تولیدات گیاهی**. ۷ (۲). ص: ۱۱-۱.
- فلاحی ج.، کوچکی ع و رضوانی مقدم پ. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی. **مجله پژوهشهای زراعی ایران**. ش ۱. ج ۷. ص: ۱۳۵-۱۲۷.
- قربانپور م.، حسینی ن.، خدایی مطلق م و سلگی م. ۱۳۹۳. تأثیر تلقیح باکتریهای ریزوسفری سودوموناس بر رشد، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی مریم گلی. **فصلنامه گیاهان دارویی**. سال ۱۳. دوره ۴. ش ۵۲. ص: ۱۰۰-۸۹.
- قهرمان ا. ۱۳۷۳. کروموفیتهای ایران.**مرکز نشر دانشگاهی**. ج ۳، تهران.
- قهرمان ا. ۱۳۵۸-۱۳۸۰. فلور رنگی ایران. **انتشارات مؤسسه جنگل‌ها و مراتع کشور**. جلدهای ۱-۲۴. کرج. ایران.
- کافی م.، راشد محصل م.ح.، کوچکی ع و ملافیلابی ع. ۱۳۸۱. زعفران، فناوری، تولید و فرآوری. **انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد**. ص: ۲۸۰.
- کوچکی ع. ۱۳۷۶. تنوع زیستی و توسعه پایدار. **مجموعه مقالات توسعه کشاورزی پایدار نشریه شماره ۴**. فصلنامه اقتصاد کشاورزی و توسعه.
- کلانتری ا.، علی‌اصغرزاد ن و نجفی ن. ۱۳۹۷. تأثیر دو گونه باکتری *Pseudomonas* و سطوح نیتروژن بر ماده خشک، شاخص کلروفیل و جذب نیتروژن و روی در گیاه اسفناج. **تحقیقات کاربردی خاک**. ج۶. ش۱. ص:۷۲-۶۲.
- کوچکی ع.، تبریزی ل و قربانی ر. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگیهای رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا. **مجله پژوهشهای زراعی ایران**. ش۱. ج۶. ص: ۱۲۷-۱۳۸.
- گلدانی م و کمالی م. ۱۳۹۳. ارزیابی اثر کودهای شیمیایی و آلی بر ویژگی‌های رشدی و اجزای عملکرد سویا. **فصلنامه پژوهش در اکوسیستم‌های زراعی**. ج۱. ش۱. ص:۱۰-۱.

- متین ا. ۱۳۸۲. گیاهان دارویی، طبیعت و طبابت با خوراک داروها. **انتشارات اندیشه عالم**. ص: ۴۳۲.
- مرادی آ.، شریفی م و موسوی ا. ۱۳۹۰. بررسی بیان ژن H6H و ایزوفرم‌های PMT تحت تاثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید در ریشه های مویی و اندامهای مختلف شابیزک (*Atropa belladonna L.*). **مجله زیست شناسی ایران**. ج۲۴. ش۳. ص: ۳۷۲-۳۶۶.
- مرادی ر.، رضوانی مقدم پ.، نصیری محلاتی م و لکزیان ا. ۱۳۸۸. بررسی تاثیر کودهای بیولوژیک و آلی بر عملکرد، اجزای عملکرد دانه و میزان اسانس گیاه رازیانه. **مجله پژوهشهای زراعی ایران**. دوره۷. شماره۲. ص: ۶۲۵-۶۳۵.
- معین م. ۱۳۸۸. فرهنگ فارسی معین. **انتشارات امیرکبیر**. تهران.
- مقیمی ف.، یوسفی‌راد م و ارادتمند اصلی د. ۱۳۹۰. تأثیر نیتروکسین بر عملکرد و اجزای عملکرد گلرنگ. **اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی** . دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.
- ملکوتی م.ج. ۱۳۷۸. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. **انتشارات نشر آموزش کشاورزی**. ص: ۴۶۰.
- میرشمسی م. ۱۳۸۵. بررسی تاثیر کودهای نیتروژنه و فسفره بر روی میزان عملکرد بذر و تولید اسانس در گیاه داروئی انیسون. **نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات**. تهران.
- نادری بروجردی غ.ر. ۱۳۸۶. گزارش نهایی طرح اقتصادی، ترویجی، آموزشی کشت گیاه دارویی نعناع فلفلی. **دانشگاه آزاد اسلامی اراک**.
- نادری فسارانی ع.، بصیری م.، روشن نظر ب و طویلی ع. ۱۳۸۸) بررسی اثر تیمارهای مختلف بر جوانه زنی بذر گونه *Limonium iranicum*. **مجله علمی پژوهشی مرتع**. سال۳. ش۳. ص: ۴۶۴-۴۵۶.
- ناقدی نیا ن و رضوانی مقدم پ. ۱۳۸۸. ارزیابی درجه حرارتهای حداقل، بهینه و حداکثر جوانه زنی کرامب. **مجله پژوهشهای زراعی ایران**. ج۷. ش۲. ص: ۴۵۶-۴۵۱.
- نجف پور نوایی م. ۱۳۷۲. بررسی تاثیر کودهای دارای فسفر و نیتروژن بر میزان بذردهی گیاه شابیزک. **تحقیقات گیاهان دارویی و معر ایران**. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. ش۶. ص: ۱۱-۳.
- نصرآبادی ر.، صالح راستین ن و علیخانی ح. ۱۳۸۱. بررسی تاثیر مصرف گوگرد همراه با مایه تلقیح تیوباسیلوس و برادی ریزوبیوم بر تثبیت نیتروژن و شاخص‌های رشد سویا. **مجله علوم خاک و آب**. دوره۱۶. شماره۲. ص:۱۷۰-۱۷۸

- نظامی ا و راشد محصل م.ح. ۱۳۷۵. بررسی امکان کشت رازیانه در شرایط آب و هوایی مشهد. **مقاله تحقیقاتی زراعت**. دانشگاه فردوسی مشهد.
- نیاکان م.، خاوری نژاد ر و رضایی م.ب. ۱۳۸۳. اثر نسبتهای مختلف سه کود N,P,K بر وزن تر، وزن خشک، سطح برگ و میزان اسانس گیاه نعناع فلفلی. **فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان داروئی و معطر ایران**. ش ۲. ج ۲۰. ص: ۱۳۱-۱۴۸.
- وجدانی ح. ۱۳۸۱. گیاهان دارویی و کاربرد آنها در دامپزشکی. **مجله دامدار**. سال ۱۱. ش۱۴۵. ص:۱۰-۱۲.
- یادگاری م و برزگر ر. ۱۳۸۹. تأثیر گوگرد و تیوباسیلوس بر قابلیت جذب عناصر غذایی، رشد رویشی و تولید اسانس در گیاه بادرنجبویه(*Melissa officinalis L.*). **داروهای گیاهی**، ش۱. ص: ۴۰-۳۵.
- یدوی ع و یوسف‌پور ز. ۱۳۹۴. تأثیر منابع نیتروژن و فسفر بر خصوصیات شیمیایی خاک و غلظت عناصر در آفتابگردان. **نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)**. ج ۲۹. ش۱. ص: ۲۲۴-۲۱۰.

- Abdelaziz, M., Pokluda, R and Abdelwahab, M. (**2007**) "Influence of compost, microorganisms and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis L*". **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj_Napoca.** 35: **86-90**.
- Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., 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**.
- AbouEl-yazeid, A., Abou-Aly, H.E., Mady, M.A., Moussa, S.A.M. (**2007**) "Enhancing growth, productivity and quality of Squash plants using phosphate dissolving Microorganism (Bio-phos-pho) combined with Boron foliar". **Res. J. Agriculture and Biological Sci**.3 (4): **274- 86**.
- Abraham, B., Christopher, P., Viswajith, V., Prabha, S., sundharand, K., Malliga, P. (**2007**) "Effect of coir pith based Cynobacterial basal and foliar biofertilizer on Basella rubra L". **Acta agriculturae Slovenica**.pp: **1-89**.
- Adam, N.R., Dierig, T.A., Coffelt., and Wintermeyer, M.J. (**2007**) "Cardinal temperatures for germination and early growth of two Lesquerella species". **Industerial Crops and Products**, 25: **24-33**.

- Akbari Gh.A., Ghasemi Pirbalouti M., Najaf Abadi Farahani M., and Shahverdi, M. (**2004**) "Effect of harvesting time on soybean seed germination and vigor". **Journal of Agriculture 6**: **9-18**. (In Persian with English Summary)
- 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**.
- Alvarado V., and Bradford K.J. (**2002**) "A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination". **Plant, Cell and Environment**, 25: **1061-1069**.
- Andreucci M., Black A.D. and Moot D.J. (**2012**) "Cardinal temperatures and thermal time requirements for germination of forage brassicas". **Agronomy New Zealand**, 42:**181-191**.
- Annamalai, A., Lakshmi, P.T.V., Lalithakumari, D., Murugesan, K. (**2004**) "Optimization of biofertilizers on growth, biomass and seed yield of Phyllanthus amarus (Bhumyamalaki) in sandy loam soil". **Journal of Medicinaland Aromatic Plants Sciences.** 26(4): **717-720**.
- Antoun, H., Kloepper, J. (**2002**) "Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)".
- Arshad M. and W.T Frakenberger. (**1991**) "Microbial production of plant hormones". **Plant and Soil**, 133:**1-8**.
- Attia M. (**1999**) "The efficiency improvements of mineral fertilizers used and maize yield by arbuscular mycorrhizal fungi and plant-promoting rhizobacteria". **Annals Agri Sci** 5:**41-44**.
- Auld, D.L., Bettis, B.L., Crock, J.E. and Kephart, D. (**1988**) "Planting date and temperature effects on germination, emergence and seed yield of chickpea".**Agron. J.**, 80: **909–914**.
- Babiychuk E., Kushnir S., Gleba YY. (**1992**) "Spontaneous extensive chromosome elimination in somatic hybrids between somatically congruent species Nicotiana tabacum L. and Atropa belladonna L". **Theor Appl Genet**; 84(1-2): **87-91**.
- Badenoch, J. (**1983**) "Phytohormones, Rhizobium mutants and nodulation in legumes". **Plant Physiol**. 73: **347-352**.
- Badran, F.S., Safwat, M.S. (**2004**) "Response of Fennel plants to organic manure and bio-fertilizers in replacement of chemical fertilizer". **Egyptian J. Agric. Res**. 82: **247-256**.

- Bagnasco, P. (**1998**) "Fluorescent pseudomonas spp. As biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi". **Soil. Biol. Biochem**. 30: **1317- 1322**.
- Bakker, P.A.H.M., Lamers, J.G., Bakker, A.W., Marugg, J.D., Weisbeek, P.J., Schippers, B. (**2005**) "The role of siderophores in potato tuber yield increase by Pseudomonas putida in a short rotation of potato". **European journal and plant phatology**.pp: **249-256**.
- Balak,R.N.L.Sharma and P.N. Misra . (**1999**) "Effect of different levels of sodicity and fetilit on the performance of German chamomile (Chamomilla) under subtropical conditions.II. oil content and compositiuon of essential oil.J.Med".**Aroma plant Sci** .21:**969-971**.
- Balla ,S.I., Zaki, A.Y., and S.M.El-Zalabani. (**1975**) "The volatile oil of Anthemis nobilis L. growing in Egypt" .**J.PHarm.Sci**.16:**161-173**.
- Banerjee M.R.; Yesmin L. (**2000**) "biological seed treatment by sulfur-oxidizing rhizobacteria for potential canola growth promotion". **In agronomy abstracts, annual meeting, soil Science Society of America**, November 5-9, Minneapolis, Minnesota, pp. **257**.
- Banerjee M.R.; Yesmin L.; Vessey J.K. (**2005**) "Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides". **Handbook of microbial biofertilizers**: **137-181**.
- Barry D.A.J. and M.H. Miller. (**1989**) "Phosphorus nutritional requirement of maize seedlings for maximum yield". **Agron. J**. 81: **95-99**.
- Baskin O. (**1998**) "Factors affecting seed germination". **J. of Arid Environments**, 3: **76-90**.
- Behl, R.K., Narula, N., Vasudeva, M., Sato, A., Shinano, T., and Osaki, M. (**2006**) "Harnessing wheat genotype x Azotobacter strain interactions for sustainable wheat production in semi arid tropics". **Tropics** 15(1): **123-133**.
- Bernath, J . (**1973**) "Effect of nutrition supply and soil type on Valeriana officinalis". **Herba Hungarica**. 12 (1) : **45-55**.
- Besharati, H. (**1998**) "Effect of Sulphur and Thiobacillus Species on increase of absorption of Some Elements in Soil". **M.Sc. Thesis of Soil Science in Agriculture Faculty**, Tehran University, Pp: **98-147**. (In Persian)
- Besharati, H., Atashnama, K., Hatami, S. (**2007**) "Biosuper as a phosphate fertilizer in a calcareous soil with low available phosphorus". **African Journal of Biotechnology**. 6: **1325-1329**.

- BesharatiKelayeh H. (**1998**) "Study of sulfur application with Thiobacillus species on absorption potential of some nutrients in soil". **MSc Thesis in Soil Science, College of Agriculture**, Tehran University, Karaj, Iran. (In Persian with English Summary).
- Bewley J.D., and Black M. (**1994**) "Seeds: Physiology of development and germination", 2nd eds. **Plenum Press**, New York, USA.
- Bewley J.D., Bradford K.J., Hilhorst H.W.M. and Nonogaki H. (**2012**) "Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy", **Thrid Edition. Press, Springer New York**, Heidelberg Dordrecht London.
- Blumental J.M., and Russelle M.P. (**1996**) "Subsoli nitrat uptake and symbiotic dinitrogen fixation by alfalfa". **J.Agri**. 88: **909-915**.
- Broughtn W.J. and S Puler. (**1986**) "Nitrogen fixation", volume 4: **Mollecular biology**. Clarnedon press. Oxford.
- Budavari S, Windholz M. (**1996**) "Atropine. In the merck index: An encyclopedia of chemicals, Drugs, and Biologicals", **12th edn. Merck**, pp: **148–9**.
- Buntain, M and B. Chung .(**1994**) "Effects of irrigation and nitrogen on the yield components o fennel". **Australain Journal of Eperimental Agriculture**. 34: **845-849**.
- Cakmakc, R., Donmez, M.F., Erdogan, U. (**2007**) "The effect of plant growth promoting Rhizobacteria on barley seeding growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacteria Counts". **Turk. J. Agric.For**. 31: **189 - 99**.
- Carrubba, A., La Torre, R. & Matranga. A. (**2002**) " Cultivation Trials of some Aromatic and Medicinal Plants in a Semi-arid Mediterranean Environment". **Proceedings of an International Conference on MAP, Acta Horticulture (ISHS).** 21**, 23-31.**
- Casson SA and Lindsey K. (**2003**) "Genes and ignalling in root development". **New Phytologist**; **11 - 38**.
- Chabot, R. (**1996**) "Growth promotion of maize and lettuce by P solubilizing R. biovar. Phaseolli". **Plant and Soil**. 184: **311-321**.
- Chakmakchi, R., Donmez, F., Aydın, A., Shahin, F. (**2006**) "Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions". **Soil. Biol. Biochem**. 38: **1482–1487**.

- Chakmakchi, R., Kantar, F., Algur, O. F. (**1999**) "Sugar beet and barley yield in relation to Bacillus polymyxa and Bacillus megaterium var. phosphaticum inoculation". **J. Plant Nut. Soil Sci**. 162: **437–442**.
- Champawat ,R., S and V.N. Pathak. (1998) "Role of nitrogen pHospHorus and potassium fertilizer and organic amendments in Cumin (*Cuminum cyminum*) with incitel by fusarium oxysporum .F.Sp. Cumin" .**Indian J. Agric.Sci**. 58 (9): **728-730**.
- Chauhan B.S., Gill G. and Preston C. (**2006b**) "African mustard (Brassica tournefortii) germination in southern Australia". **Weed Science**. 54: **891–897**.
- Chen, Y.P., P.D. Rekha., A.B. Arun. and F.T. Shen .(**2006**) "PHospHate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium pHospHate solubilizing abilities". **Applied Soil Ecology**. 34 :**33-41**.
- Cherr C.M., Scholberg J.M.S and Mcsorley R. (**2006**) **J. Agron**., 98: **302-319**.
- Chinnusamy V., Schumaker K., Zhu JK. (**2004**) "Molecular genetics perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants".**J. Exp. Bot**. 55: **225 – 36**.
- Cifuentes, F. R. and W. C. Lindemann. (**1993**) "Organic matter stimulation of elemental sulfur oxidation in calcareous soil". **Soil Science Society of America Journal**,; 57: **727-731**.
- Conming L., and Zang, J. (**2000**) "Photosynthetic Co2 assimilation chlorophyll fluorescence and photoihibiton as affected by nitrogen deficiency in maize plants". **J. Plant**. Sci. 151: **135-143**.
- Dalal, R.C. (**1977**) "Soil organic phosphorus". **Adv.Agron**. 29: **83-117**.
- 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**. (In Persian).
- Defreitas, J.R., Banerjee, M.R., Germida, J.J. (**1997**) "Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (Brassica napus L.)". **Biol. Fertil. Soils**. 24: **358–364**.
- Dokora, F.D., Matiru, V., King, M., Phillips, D.A. (**2002**) "Plant growth promotion in legumes and cereals by lumichrome, a rhizobial signal metabolite. In: Finan TM, o'Brain MR, layzell DB, vessey K, Newton WE, eds. Nitrogen fixation: global perspectives". **Walling ford, UK: CABI publishing** pp: **2 -321**.

- Donati E., Pogliani C., and Boiardi J. (**1997**) "Anaerobic leaching of covellite by Thiobacillus ferrooxidans". **Journal of Applied Microbiology Biotechnology**, 47: **636-639**..
- Dong Z., McCully M.E. and Canny M.J. (**1997**) "Does Gluconacetobacter diazotrophicus live and move in the xylem of sugarcane stems? Anatomical and physiological data". **Ann. Bot**. 80: **147-158**.
- 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**. (In Persian with English Summary)
- E Genova., G Komitska., Y Beeva. (**1997**) "study on the germination of atropa bella-donna l. Seeds". **Institute of Botany, Acad. G. Bonchev Str**., Bl. 23, 1113 Sofia, Bulgaria.
- Eaglisham A.R.J., Hassouna S and Seegers R. (**1983**) "Fertillizer-N effects on N2 fixation by cowpea and soybean". **J. Agro**. 75: **61-66**.
- Ebhin masto R., P.K chhonkar., D Singh and A.K. Patra. (**2006**) "Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisoil". **Soil Biology abd Biochemistry**. 38: **1577-1582**.
- Ehteshami S.M.R., M AghaAlikhani., K Khavazi and M.R Chaichi. (**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**. (In Farsi).
- Ehteshami SM, Kashani M, 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**, Vol. 3, No. 3,: **47-57**.
- EL-Keblawy A. and Hassan N. (**2006**) "Salinity, temperature and light affects see of Haloxylon salicornium: a common plant in sandy habitats Arabian Desert". **International Symposium in Drylands Ecology and Human Security (ISDEHS 2006).**
- Emam Y. (**2007**) "Cereal production". **Shiraz University Press**. Third edition. P **190**. (In Persian).

- Emongoe.,V.E. and J.A.Chweya. (**1992**) "Effect of nitrogen and variety on essential oil yield and composition from chamomile flowers Tropic".**Agr** .69:**290-292**.
- English M and S.N. Raja. (**1996**) "Perspectives on deficit irrigation". **Agric. Water Manage**. 32: **1-14**.
- Evers G.W. (**1991**) "Germination response of subterranean, berseem and rose clovers to alternating temperatures". **Agronomy Journal**, 83:**1000-1004**.
- Facchini P J and De Luca V. (**1995**) "Phloem-specific expression of tyrosine/dopa decarboxylase genes and biosynthesis of isoquinoline alkaloids in opium poppy". **Plant Cell**.; 7: **1811 - 21**.
- Fajri A. (**2002**) "Effects of inoculation and different amounts of nitrogen on the growth and Nodulation in alfalfa cutivars (Medicago sativa L.)". **Iranian Journal of Agricultural Sciences**. Vol. 32. No 2. PP: **309-317**.
- Fallah A., Besharati H., and Khosravi H. (**2010**) "Soil Microbiology". **Ayizh puplications**: Tehran, Iran. Second Edition, **136p**. (Translated in Persian)
- Fallah Nosrat Abad A., Shariati S. (**2014**) "Effect of Pseudomonas and Bacillus bacteria on yield and nutrient uptake in comparison with chemical and organic fertilizers in wheat". **Journal of Water and Soil**, 28 (5): **976-986**. (In Persian).
- Fallahi, J., Koocheki, A. & Rezvani Moghaddam, P. (**2008**) "Effects of biofertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria recutita* L.) as a medicinal plant". **Iranian Journal of Field Crops.** 7(1)**, 127-135.**
- Fatma, E. M., El- Zamik,I., Tomader, T., El-Hadidy,H.I., Abd El-Fattah, L. and H.Seham Salem. (**2006**) "Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments application on growth and essential oil pf matrjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and cacaureous.Agriric" . Microbiology Dept., Desert Research Center ,Cairo,Egypt.
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El- Hadidy, H.I., Abd El-Fattah, L., Seham Salem, H. (**2006**) "Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments application on growth and essential oil pf marjoram (Majorana hortensis L.) plants grown in sandy and calcareous" .Agric. Microbiology Dept., Faculty of Agric., Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., **Desert Research Center, Cairo, Egypt**.
- Fernandez, R,R., Seull, j.l.Gonzalez. and M. Grespo. (**1991**) "Effect of fertilization on yield and qnality of Matrixcaria recutita L". **Cubano fetilizatez** 3:**891-894**.

- Fletcher, T.S, & Laima S. K. (**2010**) "Environmental Factors Affecting the Accumulation of Rosmarinic Acid in Spearmint (*Mentha spicata* L.) and Peppermint *(Mentha piperita* L.)". **The Open Agriculture Journal. 4, 10-16.**
- Franz , ch, Holzl, J. and A.Vomel . (**1978**) "Influence of nitrogen, pHospHore and potassioum fertilization of chamomilla Eco".**Info. Argentina** 123:**73-79**.
- Frick S, Chitty J A, Kramell R, Schmidt J, Allen R S, LarkinP 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 Res**.; 13: **607 – 13**.
- Ganjali A. (**2005**) "Investigation of physiology-morphological aspects to drought tolerance in chickpea (*Cicer arientinum* L.) species". Ph. D. Thesis, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. **P. 238**. (in Persian with English abstract)
- Gardner, F.P., Pearce, B., and Mitchell, R. (**1985**) "Physiology of Crop Plants". **Iowa State University Press**, Science **327 pp**.
- Garrity G.M., J.A Bell and T Lilburn. (**2005**) "Class III.Gammaproteobacteria class". **In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), part B (The Gammaproteobacteria), p. 1. Edited by D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley & G. M. Garrity. New York: Springer.
- Gawronska. (**2008**) "H.Biostimulators in modern agriculture (General aspects)" .**Plantpress Ryko.Warsaw University of Life Sciences(WULS).89p**.
- Ghaedi Jeshni M., Mousavinik M., Aminifar J. (**2016**) "The Effect of Phosphorus and Zinc Fertilizers on Nutrient Content and Essential Oil Yield of German Chamomile under Drought Stress (Matricaria recutita L.)". **Journal of Horticulture Science**, 29(4), **642-651**.
- Gharib, F. A., Moussa, L. A., Massoud, O. N. (**2008**) "Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (Majorana hortensis) plant". **International Journal of Agriculture and Biology**, 10: **381-387**.
- Ghassemi Dehkordi, N., Aslani, A., Gordanpour, N. (**2007**) "Optimization and development of chamomil drop formulation". **Pajouhesh and Sazandegi**. 75: **146 – 151.**

- Ghorbani Nasr Abadi R. (**2002**) "Study of sulfur application and Thiobacillus and Bradyrhizobium inoculation on nitrogen fixation and growth indices of soybean". **Journal of Soil and Water** 16(2): **171-178**. (In Persian with English Summary).
- Gindich ,N., and V. Sheberstor .(**1972**) "Some aspect of the mineral nutrition of wild chamomile farmaco Edizone pretica",27:**163-173**.
- Glick BR., Todorovic B., Czamy J., Cheng Z., Duan J and McConkey B. (**2007**) "Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase". **Critical Reviews in Plant Sci**. 26: **227 – 42**.
- Glick, B.R. (**1995**) "The enhancement of plant growth by free-living bacteria". **Can.J.Microbiol**. 41: **109-117**.
- Glick, B.R. et al. (**1998**) "A model for the lowering of plant ethylene concentration by PGPR". J. Theor. **Biol**. 190: **63-68**.
- Glick, B.R., Penrose, D., and Wenbo, M. (**2001**) "Bacterial promotion of plant growth". **Biotechnology Advance**.; 19: 2. **135-138**.
- Goldstein, A. (**1986**) "Bacterial solubilization of mineral phosphates". Am. J. **Altern. Agri**. 1: **51-57**.
- Gomez J.M., Cantero D., and Webb C. (**2000**) "Immobilization of Thiobacillus ferrooxidans cells on nickel alloy fiber for ferrous sulfate oxidation". **Journal Applied Microbiology Biotechnology**, 54: **335-340**.
- Gonzalez-lopez J., V Salmeron., J Moreno., and R.A. Cormenzana. (**1983**) "Amino acids and vitamins produced by Azotobacter vinelandii ATCC 12837 in chemically defined media and dialyzed soil media". **Soil Biology and Biochemistry**, 15: **711-713**.
- Gonzalez-Lopez,J., M.V., Martinez-Toledo, S. Riena, and V. Salmeron, (**1991**) "Root exudates of maize and production of auxin, gibberellins,cytokinin,amino acids and vitamins by Azotobacter chroococcum in chemically-defiend mediated dialyzed-soil media". **Technol. Environ. Chem**. 33: **69-78**.
- Grant C., S Bittman., M Montreal., C Plenchette and C Morel. (**2005**) "Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development". **Canadian J. of Plant Sci**. 85: **3-14**.
- Gualtieri G., Bisseling T. (**2000**) "The evolution of nodulation". ***Plant Mol. Biol***. 42: **181–194**.

- Guerinot, M.L. (**1991**) "Iron uptake and metabolism in the rhizobia/legumes symbiosis". **Plant and Soil**. 130: **199-209**.
- 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**. (In Persian with English Summary).
- Halder, A. K. et al. (**1990**) "Solubilization of rock phosphate by Rhizobium and Bradyrhizobium. J. Appl". **Microbiol**. 36: **81-92**.
- Han H.S., Supanjani K., and Lee D. (**2004**) **J.Agron**. 24: **169-176**.
- Han Hs Supanjani and lee KD. (**2006**) "Effect of co-inoculation with phosphate and potassium soluble bacteria on mineral uptake and growth of popper and cucumber". **Plant soil Environ**.؛ 52 (3): **130-6**.
- Han, H., Supanjani, K., Lee, D. (**2006**) "Effect of coin coculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber". **Plant Soil Environ**. 52 (3): **6 -130**.
- Haneklaus S., Bloem E., and Schnug E. (**2003**) "The global sulphur cycle and its links to plant environment. In: Abrol, Y.P., Ahmad, A. (Eds.), Sulphur in Plants". **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, the Netherlands. PP: **1–28**.
- Hashimoto T. and Yamada Y. (**1994**) Annu. Rev. **Plant Physiol. Plant Mol. Biol**. 45, **257–285**.
- Hashimoto T., Nakajima K., Ongena G. and Yamada . (**1992**) "Two tropinone reductases with distinct Stereospecificities from Cultured Roots of Hyoscyamus niger", **Plant Physiol**.100: **836-845**.
- HENEKA,N. **(1993)** "Chamomilla recutita L".Australian 555.med.Herbal.5:**33-39**.
- Hong, L., Li, M., Luo, J., Cao, X., Qu, L., Gai, Y., Jiang, X., Liu, T., Janz, H., Bai, D., Polle, A., Peng, C., Luo, Z.B. (**2012**) "N fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen physiology, and wood properties of slow- and fastgrowing Populus species". **Journal of experimental botany**.; 63, **6173–6185**.
- Hornok L. (**1978**) "Gyogynovenyek term sztese feldogozasa". **Mezogazdasagi Kiado, Budapest**, PP. **356-359**.
- Howie,W.J., Echandi,E. (**1983**) "Influence of cultivar and soil type of plant growth and yield of potato". **Soil Biology and Biochemistry** .15: **127-132**.

- Http://persianlab.com/traditional-medicine/atropa-belladonna-the-benefits-and-risks-of-use
- Iannucci A., Fonzo N.D., and Martiniello P. (**2000**) "Temperature requirements for seed germination in four annual clovers grown under two irrigation treatments". **Seed Science and Technology**, 28:**59-66**.
- Illmer, P., Schinner, F. (**1995**) "Solubilization of inorganic calcium phosphates".**Soil Biol. Biochem**. 46: **257-263**.
- International Seed Testing Association, (**1996**) "International rules for seed testing". **Seed Sci. Technol**., 24:**155- 202**.
- Jagaeeswaran R., Murugappan V and Govindaswamy M. (**2006**) **W.J.Agri. Sci**. 1: **65-69**.
- James E.K., Olivares F.L., Oliveira A.L.M., Reis.jr F.B., Silva L.G and Reis V.M. (**2001**) "Further observations on the interaction between sugar cane and Gluconacetobacter diazotrophicus under laboratory and greenhouse conditions". **J Exp Bot** 52, **747–760**.
- Jami Al-Ahmadi M., and Kafi M. (**2007**) "Cardinal temperatures for germination of Kochia scoparia L". **Journal of Arid Environments**, 68:**308-314**.
- Javed, M., M., Arshad, and K., Ali. (**1998**) "Evaluation of rhizobacteria for their growth promoting activity in maize". **Pak. J. Soil Sci**. 14: **36-42**.
- Jiang L., Xun MM., Wang JL., Wan JM. (**2008**) "QTL analysis of cold tolerance at seedling stage in rice (Oryza sativa L.) using recombination inbred lines". **Cereal Sci**. 48: **173 – 9**.
- Johri. A. K., Srivastava, L. j., Singh, J.M. and R.C. Rana. (**1992**) "Effect of time of Qerman chamomile *(Matricaria recutita L.)*". **Indian J. Agron**; Vol. 32 (2): **302-304**.
- Jolivet ,J.(**1997**) "importance of mineral nutrition in the production of capitul and essential oil of Anthemis nobilis L." **Plant Med .PHyto** .11:**119-123**.
- Joshee, N., Mentreddy, S.R., Yadav, K. (**2007**) "Mycorhizal fungi and growth and development of micropropagated Scutellaria integrifolia plants" . **Industrial Crops and Products**, 25:**169-177**.
- Jutur P.P., Reddy A.R. (**2007**) "Isolation, purification and properties of new restriction endonucleases from Bacillus badius and Bacillus lentus". **Microbiological Research**, 162: **378-383**.

- Kai G., Chen J., Li l., Zhou G., Zhou L., Zhang L., Chen Y., Zhao L. (**2007**) "Molecular cloning and characterization of a New cDNA encoding hyoscyamine 6β-hydroxylase from Roots of Anisodus acutangulus", **Biochemistry and Molecular Biology** 40: **715-722**.
- Kalra A. (**2003**) "Organic cultivation of Medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and qualility enhancement". **Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye- Yielding Plants (MADPs). FAO**. p **198**.
- Kamaha C. and Maguire. D.J (**1992**) "Effect of temperature on germination of six winter wheat cultivars". Seed Sci Techol. 20: 181-185.
- Kamkar B., Koocheki A.R., Nassiri Mahallati M., and Rezvani Moghaddam P. (**2006**) "Cardinal temperatures for germination in three millet species(Panicum miliaceum, Pennisetum glaucum and Setaria italica)".**Asian Journal of Plant Sciences**,5:**316-319**.
- Kaplan F., Kopka J., Haskell DW., Zhao W., Schiller KC., Gatzke N., Sung DY., Guy CL. (**2003**) "Exploring the temperature stress metabolome of Arabidopsis. Plant Kevin VJ. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers".**Plant and Soil**.255: **571-85**.
- Kapoor, R., Giri, B., Mukerji, K.G. (**2004**) "Improved growth and essential oil yield and quality in foeniculum vulgare Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer". **Bioresource Technology**. 93: **307-311**.
- Karthikeyan, B., Abdul Jaleel, C., Lakshmanan, G.M.A., Deiveekasundaram, M.(**2007**) "Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants". **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. In Press.
- Kavino M., S Harish., N Kumar., D Saravanakumar and R Samiyappan. (**2010**) "Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (Musa spp.) under field conditions". **Applied Soil Ecology** 45:**71-77**.
- Kebreab E., and Murdoch A.J. (**1999**) "A model of the effects of a wide range of constant and alternating temperatures on seed germination of four Orobanche species". **Annals of Botany**, 84: **549-557**.
- Kennedy I.R., A.T.M.A. Choudhury., M.L. Kecskes. (**2004**) "Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited ?" **Soil Biology and Biochemistry**, 36: **1229–1244**.

- Keshtkar, H.R., Azarnivand, H. and Atashi, H., (**2009**) "Effect of prechilling and GA3 on seed germination of Ferula assa-foetida and Prangos ferulacea". **Seed Science and Technology**. 37 (5): **464-468**.
- Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z.A. (2004) "Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat". **J. Appl. Microbiol**. 96: **473 - 480**.
- Khan M. and Ungar I. (**2001**) "Germination responses of Sporobolus ioclados a saline desert grass". **J. of Arid Environment**. 9:**187-194**.
- Kigel J. (**1995**) "Factors affecting germination of arid and semi arid regions. In: Kigel, J. Galili,G.(Eds.)", **Seed Development and Germination**. Marcel Dekker, NewYork. **853p**.
- Kirchner, M., et al. (**1993**) "Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems". **SSSAJ**. 57: **1289-1295**.
- Kocurik,S. and V. Dovjak. (**1979**) "Effect of molybdenum and boron on dry matter production and dry yield in chamomilla (Matricaria recutita L.)." **Nosa Liecin Raling** 16:**69-74**.
- Kokalis-Burelle N., J.W Kloepper., M.S Reddy. (**2006**) "Plant growth- promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effecs on indigenous rhizosphere microorganisms". **Applied soil Ecology**. 31:**91-100**.
- Kremer, R., Souissi, T. (**2001**) "Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growth". **Microbiol**. 43: **182-186.**
- Krug, H. and Kahlen, K. (**2009**) "Modelling Production Subsystems at High Abstraction Level –A Review. IV. Development – Photoperiodism – Reproduction and Yield (Focussed on Vegetable Crops)". **Europ. J. Hort. Sci**., 74 (4):**180–188**.
- Kucey, R. M. N. (**1983**) "Phosphate solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soil". **Canadian Journal of Soil Science** 63: **671-678**.
- Kumar RN., Thiramalai Arasu V and Gunasekaran. (**2002**) "P.Genotyping of antifungal Compounds Producing Plant growth – Promoting rhizobacteria, Pseudomonas fluorescens". Cur. Sci.;82: **12-25**
- Kumar, V., Singh, K.P. (**2001**) "Enriching vermicompost by nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria". **Bioresource Technology**, 76: **173-175**.
- Kutchan TM, Frick S, Weid M. (**2008**) "Engineering plant alkaloid biosynthetic pathways: progress and prospects". **Adv. Plant Biochem. Mol. Biol**; 1: **283-310**.

- Lakshmi Kumari M., M Vijayalakshmi and N.S Subba Rao. (**1972**) "Interaction between Azotobacter species and fungi. I. In vitro studies with Fusarium moniliforme sheld". **Phytopathol. Zeitshrift**, 75: **27-30**.
- Larsen, J., Cornejo, P., and Míguel Barea, J. (**2009**) "Interactions between the arbuscularmycorrhizal fungus Glomusintraradices and the plant growth promoting rhizobacteriaPaenibacilluspolymyxa and P.macerans in the mycorrhizosphere of Cucumissativus". **Soil Biology and Biochemistry**.; 41: **286-292**.
- Larson R.A. and Marley K.A. (**1984**) **Phytochemistry**. Vol. 23.
- Latif T. and Gray A. (**2006**) "Natural Product Isolation". **Humana Press: Totowa, New Jersy, USA**.
- Leithy, F., El-meseiry, T.A., Abdallah, E. F. (**2006**) "Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality". **Journal of Applied sciences Reseach**. 2(10): **773-779**.
- Letchamo,W. and A, Vomel .(**2001**) "A comparative investigation of chamomile genotypes under extremely varying ecological" . **Acta horticalturae**.no:306:**105-114.**
- Lide DR. (**2007**) "Handbook of Chemistry and Physics". **CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, FL**, p. **3-458**.
- Lide, DR. (**2000**) "Handbook of Chemistry and Physics". 81st Edition. **CRC Press LLC, Boca Raton**: FL, p: **3-27**.
- Ligero, F. et al. (**1986**) "Evolution of ethylene from roots of Medicago sativa plants inoculated with Rhizobium meliloti". **Plant Physiol**. 125: **361-365**.
- Lin, W., Okon, Y., Hardy, R.W.F. (**1983**) "Enhanced mineral uptake by Zea mays and Sorghum bicolor roots inoculated with Azospirillum brasilense". **Appl. Environ. Microbiol**. 45: **1775 – 1779**.
- Lynch J.M. (**2002**) "Resilience of the Rhizosfer to anthropogenic disturbance". **Biodegradation**. 13:**21-27**.
- Mahfouz, S., Sharaf-Eldin, A. (**2007**) "Effect of mineral vs. biofertilizer on growth yield and essential oil content of Fennel". **INT. Agrophysics**. 21: **361-366**.
- Marcy NH., Timothy WA., Sung HK., Edward L. (**1996**) "1-Methylpyrolidine-2-acetic acid is not a precursor of tropane alkaloids". **Phytochemistry**. 41: "767–773".
- McNeili D.l. and R.S. Duran. (**1992**) "Effect of Pregermination Treatments on Seedling Establishment and Development of Plantago ovate forsk". **Trop. Agri**. 69: **229 - 34**.

- Mehana,T.A.,Vahid, O.A. (**2002**) "Associative effect of phosphate dissolving fungi,Rhizobium and phosphate fertilizer on some soil properties, yield components and the phosphorus and nitrogen concentration and uptake by Vicia faba L. under field conditions". **Pakistan J. Biol. Sci**; 5: **1226 - 1231**.
- Miraldi E., Masti A., Ferri S. and Comparini, I. (**2001**) "Distribution of hyoscyamine andscopolamine in Datura stramonium". **Fitoterapia**, 72: **644-648**.
- Mohammad A. (**1998**) "Text Book of Pharmacognosy". **2nd ed, C.B.S**.
- Mohammadi, R., M. Olamaii, R. Ghorbani Nasrabadi and A. Chakeralhosseini. (**2010**) "Effect of nitrogen, organic matter and bacteria stimulating plant growth on nitrogen and Alvand performance". **Journal of Plant Production**, 17: **77-81** (In Persian).
- Moreno J., J Gonzalez-Lopez and G.R Velta. (**1986**) "Survival of Azotobacter spp. in dry soils". **Applied and Environmental Microbiology**, 51: **123-125**.
- Motamed A. (**2006**) "Effects of different S amounts and B on quantitative and qualitative yield of bread wheat var. Pishtaz". Seedling and Seed 22(2): **273-276**. (In Persian with English Summary)
- Mudahar M.S. (**1986**) "Fertilizer Sulfur and Food Production". **DRW Publication**.
- Nandula, V.K., T.W. Eubank, D.H. Poston, C.H. Koger and K.N. Reddy. (**2006**) "Factors affecting germination of horseweed (*Conyza Canadensis*)". **Weed Sci**. 54: 898-902.
- Naseri R., Barary M., Zarea M.J., Khavazi K., Tahmasebi Z. (**2017a**) "Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria and Mycorrhizal fungi on some activities of antioxidative enzymes, physiological characteristics of wheat under dry land conditions". **Iranain Journal of Dryland Agriculture**, 6 (1): **1-34**. (In Persian).
- Nellist, M. E. and M. Hughes. (**1973**) "Physical and biological processes in the drying of seed". **Seed Sci. Technol.1** : **613-643.**
- Nikolova,A., Kozhuharova, K., Zheljazkov, V.D. and L.E.Craker. (**1999**) "Mineral nutrition of chamomile (chamomile recutita L .Rausch)".**Acta hort** .502.**203-208**.
- Oksman-Caldentey KM., Kivela O., Hiltunen R. (**1991**) "Spontaneous shoot organogenesis and plant regeneration from hairy root cultures of Hyoscyamus muticus". **Plant Science** 78:**129-136**.
- Omidbaigi R. (**1998**) "Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. 1st ed". **Tarrahan Nashr Press**. Iran.; pp: **35**.

- Omidbaigi, R. (**1993**) "Effect of environmental factors on growth, yield and active substances of some medicinal plants". PH.D Thesis. Budapest-Hungary.
- O'Neil MJ. (**2006**) "The merck index - An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals". **whitehouse station, NJ: Merck and Co., Inc**, p. **1450**.
- Pandey, R.K., Maranville, J.W., Admou, A. (**2000**) "Deficit irrigation and nitrogen effects on maize in a Sahelian environment: I. Grain yield and yield components". **Agricultural Water Management**; 46(1), **1-13.**
- Povero G., Mejia JF., Di Tommaso D., Piaggesi A and Warrior P (**2016**) "A Systematic Approach to Discover and Characterize Natural Plant Biostimulants". **Front Plant Sci**. 7:435. doi: 10.3389/fpls.2016.00435.
- Rai, U.N., Pandey, K., Sinha, S., Singh, A., Saxena, R., Gupta, D.K. (**2004**) "Revegetating fly ash landfills with Prosopis juliflora L.: impact of different amendments and Rhizobium inoculation". **Environ.Int**. 30: **293 – 300**.
- Ramezanian, 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.**
- Ramin A.A. (**1997**) "The influence of temperature on germination of taree Irani (Allium ampeloprasum L.spp. iranicum W.)". **Seed Science and Technology**, 25:**419-426**.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., Gautams, S.P. (**2001**) "Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to Cymbopogon martini var. motia by Rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation". Microbiology Research. 156: **145-149**.
- Ray G.J. and Brown B.J. (**1995**) "Restoring Caribbean dry forests: evaluation of tree propagation techniques". **Restoration Ecology**, 3:**86-94**.
- Razavi, S.M. and Hajiboland, R., (**2009**) "Dormancy breaking and germination of Prangos ferulacea seeds". **Journal of Biosciences** (EurAsian) 3: **78-83**.
- Renaut J., Lutts S., Hoffmann L., Hausman JF. (**2004**) "Responses of poplar to chilling temperature: proteomics and physiological aspects". **Plant Biol**. 6:**81 – 90**.
- Research and development unit of Inagropars. (**2010**) "Inagropars production (Agro-Biological industries Co.)" No. 21, Golestan 2, Pasdaran Ave. Tehran 16669 Iran. **16 pp**. **http://www.inagropars.com/Catalogue.pdf**

- Reynders, L., Vlassak, K. (**1982**) "Use of Azospirillum brasilense as biofertilizer". **Plant and Soil**. 66: **217 - 223**.
- Richardson A.E. (**2001**) "Prospects for Using Soil Microorganisms to Improve the Acquisition of Phosphorus by Plants". **Australian Journal of Plant Physiology**, 28, **897-906**.
- Rodriguez, H., Fraga, R. (**1999**) "Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion". **Biotech**. 17: **319-339**.
- Rojas, A., Holguin, G., Glick, B., Bashan, Y. (**2001**) "Synergism between Phyllobacterium sp. (N2–Fixer), and Bacillus licheniformis (P-Solubilizer), both from a Semiarid mangrove rhizosphere, FEMS Microbiol". **Ecol**. 35: **181 - 7**.
- Roman E.S., Thomas A.G., Murphy S.D., and Swanton C.G. (**1999**) "Modeling Germination and seedling elongation of common lambsquaters (Chenopodium album)".**Weed Science**, 47:**149-155**.
- Roman, E. S., Murphy S. D. and Swanton C. J. (**2000**) "Simulation of *chenopodium album* seedling emergence". **Weed Sci**., 48: **217–224**.
- Rosa, M.C., J.J. Muchovej and J.V.H. Alwarez. (**1989**) "Temporal relations of phosphorus fractions in an oxisol amended with rock phosphate and Thiobacillus thiooxidans", **Soil Science Society of America Journal**.; 53:**1096-1100**.
- Rothe G, Drager B. (**2002**) "Tropane alkaloids- metabolic response to carbohydrate signal in root cultures of Atropa belladonna". **Plant Science** 163:**979-985**.
- Russel R. (**1977**) "Plant root systems (the function and interaction with the soil)". **Marcel. Dekter**. USA; p: **298**.
- Sajid, M., Zahir, N., Zahir, A., Naveed, M., Arshad, M. and Shahzad, S. M. (**2008**) "ariation in growth and ion uptake of maize due to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria under stress". **Soil and Environment**, 25(2): **78-84**.
- Sakari, A., M.R. Ardakani and K. Khavazi. (**2012**) "Effect of Azospiillum lipoferum and Thiobacillus thioparus on Quantitative and Qualitative Characters of Rapeseed (Brassica napus L.) Under Water Deficit Conditions". **Middle-East Journal of Scientific Research** 11; (6): **819-827**.
- Salardini A.A. (**1995**) "Soil Fertility". **Publication of Tehran University**, Tehran, Iran. (In Persian).
- Samanani N, and Facchini P J. (**2006**) "Compartmentalization of plant secondary metabolism". **Recent Advances in Phytochemistry**; 40: **53-83**.

- Sanchez Govin, E., Rodriguez Gonzales, H., Carballo Guerra, C., Milanes Figueredo, M. (**2005**) "Influencia de los abonos orgánicos y biofertilizantes en la calidad de las especies medicinales Calendula officinalis L. Matricaria recutita L". **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. 10 (1): **1 - 5**.
- Schachtman D.P., Reid R.J. and Ayling, S.M. (**1998**) "Phosphorus Uptake by Plants: From Soil to Cell". **Plant Physiology**, 116, **447-453**.
- Scherer H.W. (**2001**) "Sulphur in crop production invited paper". **European Journal of Agronomy**, 14: **81–111**.
- Schindler D.W. (**1977**) "Evolution of phosphorus limitation in lakes". **Science** 195: **260-262**.
- Schippers B, Bakker AW, Bakker PA and Vanpeer R. (**1990**) "Benefical deleterious effects of HCNproduction Pseudomonas on rhizosphere interaction". **Plant Soil**.; 129: **75 - 83**.
- Schlegel, H. G. (**1956**) "Die verwertung organischer sauren durch chlorella in lincht. Plata". 47: **510-515**.
- Selvaraj, T., & CHELLAPPAN, P. (**2006**) "Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality". **Journal of Central European Agriculture**, 7(2), **349-358**.
- Shaalan MN. (**2005**) "Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (Nigella sativa L.) plants". **Egyptian Journal of Agricultural Res**.; 83: **811 - 828**.
- Shaharoona B., Arshad M., Zahir ZA and Khalid A. (**2006b**) "Performance of Pseudomonas spp.containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (Zea mays L.) in the presence of nitrogenous fertilizer". **Soil Biol**. Biochem. 38: **2971 - 5**.
- Shaharoona B., Naveed M., Arshad M., Zahir A. (**2008**) "Fertilizer-dependent efficiency of pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (Triticum aestivum L.)". **Applied Microbiology and Biotechnology**, 79:**147–155**.
- Shahin, F., Chakmakji, R., Kantar, F. (**2004**) "Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N2-fixing and phosphate solubilizing bacteria". Plant. Soil. 265: **123–129**.
- Sharma A. K. (**2002**) "Biofertilizers : For Sustainable Agriculture",**Jodhpur, Agrobios**,407 p.

- Shen, J., Li. R., Zhang, F., Fan, J., Tang, C. and Rengel, Z. (**2004**) "Crop yields, soil fertility and phosphorus fractions in response to long-term fertilization under rice monoculture system on a calcareous soil". **Field Crops Research** 86: **225-238**.
- Shimon M., T Tirosh and B.R. Glick. (**2004**) "Plant growth- promoting bacteria confer resistance in tomato plant to salt stress". **Plant Physiology and Biochemistry**. 42: **565-572**.
- Skudra I and A Skudra. (**2004**) "Phosphorus concentration in soil and in winter wheat plants". **Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia** [http://www.cropscience.org.au/].
- Soltani, E., Akram Ghaderi, F. and Memar, H. (**2007**) "The effect of priming on germination components and seeding growth of cotton seeds under drought", **Journal Agriculture Science Natural Resource**, 14(5), **9-16.**
- Stein L., K White., F Dainello., M Mcfarland., A Mize and M Valdez. (**1994**) "The influence of nitrogen and phosphorus on spinach yield". **Texas A&M Agricultural Research & Extension Center at Uvalde, Crystal City, Texas.**
- Stephen P., David O.H. (**2002**) "Biosynthetic studies on the tropane alkaloid hyoscyamine in Datura stramonium: Hyoscyamine is stable to in vivo oxidation and is not derived from littorine via a vicinal interchange process". **Phytochemistry**. 61: **323–329**.
- Tabatabai M.A. (**1986**) "Sulfur in Agriculture". **American Society Agron**. Madison, WI, USA.
- Taiz L and Zeiger E. (**2000**) "Plant physiology". **Sinauer Associates Publisher**, pp: 705.
- Teresa M., Novo M., Alba C., Ronaldo M., Paula C., Antonia C. and et al. (**2000**) "Thiobacillus ferrooxidans response to copper and other heavy metals: growth, protein synthesis and protein phosphorylation". **Antonie van Leeuwenhoek**, 77: **187–195**.
- The Merck Index. 9th ed. Rahway, New Jersey: Merck & Co., Inc. (**1976**), p: **647**.
- Toni, M. Kutchan.(**1995**) "Alkaloid Biosynthesis - The Basis for Metabolic Engineering of Medicinal Plants The Plant Cell"; **American Society of Plant Physiologists** ,Vol. 7, **1059-1070**.
- Turom, M., Ataoglu, N., Sahin, F. (**2007**) "Effect of Bacillus FS-3 on growth of tomato (Lycopersicon esculentum L.) plants and availability of phosphorus in soil". **Plant Soil Environ**. 53 (2): **58 - 64**.

- Ulgar A.C., H Ibrici., B Larik and N Guzel. (**1997**) "Influence of nitrogen rates and row spacing on corn yield, protein cintent and other plant parameters". **J. Plant Nutr**. 20: **1697-1709**.
- Urashima, Y., Hori, K. (**2003**) "Selection of PGPR which promotes the growth of spinach". **Jpn. J. Soil. Sci. Plant. Nut**. 74: **157–162**.
- Van Gastel, A.J.C., Pagnotta, D.M., and Porceddu, E. (**1996**) "Seed science and technology", **ICARDA**, ALEPPO, SYRIA, **311p.**
- Vande Broek, A. (**1999**) "Auxins upregulate expression of the indol-3-pyruvate decarboxylase gene in Azospirillum brasilense". **Journal of Bacteriology**, 181:**1338-1342**.
- Verma, J. P., Yadav, J., Tiwari, K. N. and Kumar, A. (**2013**) "Effect of indigenous Mesorhizobium spp. and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (Cicer arietinum L.) under sustainable agriculture". **Ecological Engineering**, 51: **282-286**.
- Vessey,K. (**2003**) "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers". **Plant and soil**. 255: **571-586**.
- Vraný,J., Fiker,A .(**2008**) "Growth and yield of potato plants inoculated with rhizosphere bacteria" .**flora microbiologica**. pp **248-253**.
- Wagar A., Shahroona B., Zahir, Z.A., Arshad M. (**2004**) "Inoculation with ACC deaminase containing rhizobacteria for improvming growth and yield of wheat cultivars". **Pakistan Journal of Agriculture**, 41: **119-124**.
- Weast RC. (**1979**) "Handbook of Chemistry and Physics". 60th ed. **Boca Raton, Florida: CRC Press Inc**., p: **C-346**.
- Whiteny D.A. (**1988**) "Phosphorus facts: Soil, plant, and fertilizer". **Cooperative Extension Service, Manhattan, Kansas**.
- Wu S.C., Z H.Caob., Z.G Lib., K.C Cheunga and M.H Wong. (**2005**) "Effects of biofertolizer containing N-fixer, P and Ksolubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial". **Geoderma**. 125: **155-166**.
- Wu Z.Y. (**1995**) "Vegetation of China". **Academic Press, Beijing**, **1382p**.
- Wu, S., Cao, C., Li, Z.H.Z., Cheung, G., Wong, M. H. (**2005**) "Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and A M fungi on maize growth: a greenhouse trial". **Geoderma**. 125:**155–166**.

- Yasuta, T. et al. (**1999**) "New assay for rhizobitoxine based on inhibition of ACC synthase". APPl. **Environ. Microbiol**. 65: **849-852**.
- Youssef, A.A., Edris, A.E., Gomaa, A.M. (**2004**) "A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of Salvia officinalis L". **Plant Annals of Agricultural Science**. 49: **299-311**.
- Zahir A.Z., Asghar H.N., Akhtar M.J., and Arshad M. (**2005**) "Precursor (L-tryptophan)-Inoculum (Azotobacter) Interaction for improving yield and nitrogen uptake of maize". **Journal of plant nutrition**, 28(5): **805-817**.
- Zahir, A.Z., S.A., Abbas, A. Khalid, and M. Arshad. (**2000**) "Substrate dependnd microbially derived plant hormones for improving growth of maize seedlings". **Pak. J. Biol. Sci.** 3:**289-291.**
- Zarei M., Saleh-Rastin N., Alikhani HA and Aliasgharzadeh N. (**2006**) "Responses of lentil to co-Inoculation with phosphate-solubilizing Rhizobial strains and arbuscular mycorrhizal fungi". **J Plant Nutr** 29: **1509–1522**.
- Zhang L. Ding, R, Chai Y, Bonfill M, Moyano E, Oksman-Kaldenty K.M, Xu T, Pi Y, Wang Z, Zhang H, Kai G, Liao Z, Sun X, Tang, K. (**2004**) "Engineering tropane biosynthetic pathway in Hyoscyamus niger hairy root cultures". **Proc. Natl. Acad. Sci**.; 101: **6786-91**.
- Zhou, J., E. Deckard. And W.H. Ahrens. (**2005**) "Factor affecting germination of hairy nightshade (Solanum sarrachoides) seeds". **Weed Sci.** 53: **41-45.**

Abstract:

In order to investigate the effect of plant growth promoting bacteria and chemical fertilizer application on growth and physiological properties of Shabizak medicinal plant, three experiments were conducted in field, potted and laboratory at the Institute of Medicinal Plants Research, University of Jihad, Karaj, in 2016 and 2017. In the laboratory, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications to evaluate the effect of light at different temperatures on germination, seedling growth and cardinal temperature determination. Treatments included temperature at 7 temperature levels: 5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35 ° C as the first agent and 3 optical levels: full brightness, complete darkness, and 8 hours of darkness + 16 hours of brightness as the agent. The latter were considered in 70-75% moisture content. Results showed that most of the traits had the highest yield in the temperature range of 20-25 ° C. In this experiment, a significant positive correlation was found between germination percentage and rate with seed vigor index and seedling dry weight. Cardinal temperature of the seeds was calculated from three cross-sectional or two-piece models, a flat or tooth-like model and a beta (β) model that averaged 3, 20 and 40 at the minimum, optimum, and maximum temperatures, respectively. In both field and pot experiments, the experiment was conducted as a factorial experiment based on a randomized complete block design with 3 replications. Experimental treatments included no growth promoting bacteria (control), Pseudomonas, Azotobacter, Pseudomonas + azotobacter and thiobacillus + sulfur as the first agent and fertilizer treatment in three levels including: no fertilizer or control, 50% recommended fertilizer And 100% of recommended fertilizer were the second factor. The results showed that in the pot experiment the highest root volume, diameter and dry weight were obtained in Azotobacter treatment with 50% of recommended fertilizer. The highest levels of atropine and scopolamine in leaves were 19.58 and 7.77 mg / g dry matter respectively in bacterial inoculation with 50% of recommended fertilizer. The highest root atropine content was 7.69 mg / g dry matter of thiobacillus + sulfur treatment with 100% fertilizer. The highest root scopolamine (5.69 mg / g dry matter) was observed in non-inoculated treatment with 50% of recommended fertilizer. Pseudomonas treatment was superior to field treatment. The maximum yield of the whole plant was obtained from Pseudomonas treatment with 100% of recommended fertilizer. The highest levels of atropine and scopolamine were 27.5 and 10.4 mg / d, respectively, in the treatment of Pseudomonas with 50% of fertilizer recommended and non-use of biofertilizer with 50% of fertilizer was recommended. Maximum root atropine level (11.5 mg / g dry matter) was related to pseudomonas treatment with no fertilizer application and maximum scopolamine (5.69 mg / g dry matter) treatment was recommended. Pseudomonas spp. Was observed with 100% recommended fertilizer.

Keywords: Alkaloids , Atropine , Scopolamine.

Faculty of Agriculture

Ph.D. Thesis in Agronomy

The effect of plant growth promoting bacteria and fertilizer application on growth and physiological properties of the medicinal plant Shabizak (*Atropa belladonna* L.)

Mohammad Inanloofar

Supervisors:

Dr. Mostafa Heidari
Dr. Hassanali Naghdi Badi

Advisors:

Dr. Majid Tolyat Abolhasani
Dr. Hassan Makarian
Dr. Mohammad Reza Amerian

Feb 2020