



جنس فیسالیس<sup>۱</sup>، یکی از متنوع‌ترین جنس‌های تیره سیب‌زمینی‌سانان<sup>۲</sup> می‌باشد که بیش از ۹۰ گونه مختلف را در برمی‌گیرد. بسیاری از گونه‌های این جنس از اهمیت دارویی و زینتی قابل توجهی برخوردارند (Zhang et al., 2022). در این میان، عروسک پشت پرده<sup>۳</sup> به دلیل مقدار بالای ترکیبات زیست فعال و ویژگی‌های ارگانولپتیک میوه‌هایش، از اهمیت فراوانی برخوردار است (Cortés et al., 2023). اگرچه این محصول بومی نواحی رشته کوه آند در آمریکای جنوبی بوده و کلمبیا بزرگترین تولیدکننده آن است، با این وجود، در سالیان اخیر، پرورش عروسک پشت پرده در نقاط مختلف جهان گسترش یافته و به خصوص در آمریکای شمالی و اروپا بازار مصرف آن از رشد چشم‌گیری برخوردار بوده است (Da Silva Leite et al., 2024).

تاکنون ۳۲۸ ترکیب مختلف با اهمیت تغذیه‌ای-دارویی در میوه عروسک پشت پرده شناسایی شده است که در بین آن‌ها، ترپن‌ها، پلی‌فنول‌ها و کاروتنوئیدها، به ترتیب فراوان‌ترین ترکیبات می‌باشند (Kasali et al., 2021). بر اساس مطالعه Muñoz و همکاران (۲۰۲۱)، میوه عروسک پشت پرده یک منبع غنی از ترکیبات فنولی مختلف می‌باشد. همچنین عصاره میوه، اثر بازدارندگی بالایی بر رشد و فعالیت چندین گونه از باکتری‌های بیماری‌زای جانوری و گیاهی دارد. از همین رو، امروزه از عروسک پشت پرده در سطح تجاری در تهیه مکمل‌های دارویی و همچنین درمان گلودرد، سرفه و التهاب مجاری ادراری استفاده می‌شود (Liang et al., 2024).

براساس آمار سازمان جهانی بهداشت، امروزه بیش از ۸۰٪ از جمعیت کشورهای در حال توسعه، از داروهای گیاهی برای برطرف کردن نیازهای بهداشتی اولیه و همچنین درمان بیماری‌ها استفاده می‌کنند. از این رو، گزینش و معرفی گونه‌ها و ارقام جدید با هدف تامین و تولید متابولیت‌های غذایی-دارویی و همچنین تلاش برای غنی‌سازی محصولات غذایی از این متابولیت‌ها، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Kasali et al., 2021; Salehi Molkabadi et al., 2023).

مطالعات مختلفی که در سالیان اخیر صورت گرفته‌اند، گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های فزاینده رشد، یک راهکار موثر بر تحریک و افزایش قدرت سیستم دفاعی گیاهان از طریق افزایش تولید و تجمع متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Ramírez-Cariño et al., 2023; Mishra et al., 2025). باکتری‌های فزاینده رشد، متابولیت‌های مختلفی را تولید و در محیط ریزوسفر گیاهان هم‌زیست آزاد می‌سازند که به‌عنوان الیسی‌تور در تحریک سیستم دفاعی گیاه و تجمع برخی متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی نقش دارند (Pršić & Ongena, 2020; Mishra et al., 2025). در میان گروه‌های مختلف باکتری‌های فزاینده رشد، اعضای جنس‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* با توجه به گستره کاربرد و اثرات بهبود بخش بر فیزیولوژی رشد و عملکرد گیاهان مختلف، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (Jia et al., 2023). در پژوهشی، Chandrasekaran و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که محتوی کارتنوئیدهای مختلف در میوه گوجه‌فرنگی بر اثر مایه زنی با باکتری *Bacillus subtilis* افزایش یافته است. مطالعه Samani و همکاران (۲۰۲۱)، نشان داد که مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas fluorescens*، محتوی اسیدهای آلی، پلی‌پروپانوئیدها، فلاونوئیدها و دی‌ترپن‌ها را در برگ مریم گلی<sup>۴</sup>، افزایش داد. بر اساس مطالعه Padró و همکاران (۲۰۲۱)، مایه‌زنی با *B. subtilis*، سبب افزایش سطح فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالایز (PAL)<sup>۵</sup> به‌عنوان یک آنزیم کلیدی در ساخت ترکیبات فنولی و محتوی فنول کل گوجه‌فرنگی شد. افزایش محتوی ترپن‌ها، فنول، فلاونوئید و کاروتنوئید کل در ریحان بر اثر مایه‌زنی با *B. subtilis* و *P. fluorescens* توسط Salehi Molkabadi و همکاران (۲۰۲۳) گزارش شد. همچنین Jia و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که سطح بیان ژن‌های دخیل در ساخت متابولیت‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی گوجه‌فرنگی در پاسخ به مایه‌زنی با *B. subtilis* و *P. fluorescens* افزایش می‌یابد. براساس مطالعه Ramírez-Cariño و همکاران (۲۰۲۳)، ارزش تغذیه‌ای-دارویی میوه توماتیلو<sup>۶</sup> بخصوص ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی آن، تحت تاثیر جمیت میکروبی ریزوسفر گیاه قرار می‌گیرد. همچنین در پژوهشی، Szparaga و همکاران (۲۰۲۴)، گزارش کردند که کاربرد باکتری *P. fluorescens* سبب افزایش محتوی ترکیبات فنولی در گیاه دارویی شبدر شیرین<sup>۷</sup> می‌گردد.

۴- *Salvia officinalis*

۳- *Physalis peruviana* L.

۲- Solanaceae

۱- *Physalis* L.

۷- *Melilotus officinalis*

۶- *Physalis ixocarpa* Brot.

۵- Phenylalanine ammonia-lyase

با توجه به اهمیت تغذیه‌ای-دارویی و اقتصادی عروسک پشت پرده، در این پژوهش برای نخستین بار این گیاه با دو باکتری فزاینده رشد *B. subtilis* و *P. fluorescens* مایه زنی شد و اثرات این باکتری‌ها بر اجزاء عملکرد، زودرسی، ارزش غذایی و محتوی برخی متابولیت‌های دارویی میوه مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش از شهریور ۱۴۰۲ تا اردیبهشت ۱۴۰۳ در گلخانه بخش مهندسی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار شاهد، مایه‌زنی با *Bacillus subtilis* ICMP 368 و مایه‌زنی با *Pseudomonas fluorescens* ICMP 3512 در هفت تکرار و دو زیر واحد برای هر تکرار انجام شد.

### تهیه مواد گیاهی

در این پژوهش از بذره‌های عروسک پشت پرده تولید شده توسط شرکت Johnsons (انگلستان) استفاده شد.

### تهیه مایه باکتریایی و مایه‌زنی

به‌منظور تهیه مایه باکتریایی، از روش Salehi Molkabadi و همکاران (۲۰۲۳) استفاده شد. باکتری‌ها در محیط کشت Nutrient Broth (شامل: نوترینت براس ۱۳ گرم بر لیتر و ساکارز سه درصد) کشت داده شده و پس از گذشت ۴۸ ساعت، به مدت پنج دقیقه در دمای چهار درجه و شرایط ۵۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس رسوب تشکیل شده، توسط سولفات منیزیم<sup>۱</sup> ۳۰ میلی‌مولار حل شد. نهایتاً چگالی نوری سوسپانسیون باکتریایی تقریباً بر روی عدد ۰/۸ در طول موج ۶۰۰ نانومتر تنظیم شد (تقریباً  $10^8 \times 1$  سلول در هر میلی‌لیتر). مایه‌زنی به‌روش غوطه‌ورسازی بذور در سوسپانسیون باکتری به مدت شش ساعت در دمای اتاق و بر روی شیکر با شرایط ۱۲۰ دور در دقیقه انجام شد. بذره‌های شاهد در محلول ۳۰ میلی‌مولار سولفات منیزیم قرار گرفتند.

### کاشت بذور مایه‌زنی شده

بذرها در سینی نشاء ۵۰ خانه‌ای (حجم هر خانه ۹۰ میلی‌متر مکعب) و در بستر پرلیت، کوکوپیت، پیت‌ماس و ورمی‌کولایت (۲:۱:۱:۱) کاشته شدند و در مرحله چهاربرگ حقیقی به گلدان‌های اصلی (به ابعاد ۳۰ × ۲۰ سانتی‌متر) منتقل گشتند. تغذیه معدنی دانه‌ها نیز طبق دستورالعمل Torres و همکاران (۲۰۱۵)، با استفاده از محلول غذایی پایه هوگلند شماره ۲ انجام شد. در مرحله دو برگ حقیقی از غلظت یک هشتم محلول پایه و در مرحله چهار برگ حقیقی از غلظت یک چهارم محلول پایه برای تغذیه دانه‌ها استفاده شد. به هنگام انتقال نشاء نیز به هریک از گلدان‌ها، در ناحیه نزدیک به استقرار ریشه، مقدار ۴۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی مورد اضافه شد. گلدان‌ها با تراکم ۴ گلدان در متر مربع، در شرایط دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه روز و ۱۶ تا ۱۸ درجه شب، طول روز ۱۶ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی ۳۵ تا ۴۵٪ نگهداری شدند. به منظور تغذیه معدنی گیاهان، از محلول غذایی پایه هوگلند شماره ۲ طبق اصلاحات و شرایط توضیح داده شده توسط Torres و همکاران (۲۰۱۵) استفاده شد. تناوب زمانی استفاده از محلول غذایی هر سه روز یک بار بود و به ازای هر دو مرتبه استفاده از محلول غذایی، یک مرتبه آبیاری انجام شد.

### برداشت میوه‌ها

میوه‌ها در مرحله رسیدگی کامل برداشت شدند. برای تعیین زمان برداشت میوه‌ها، از شاخص رسیدگی کامل میوه فیسالیس که توسط Mubarak و همکاران (۲۰۲۱) توضیح داده شده است، استفاده شد. پس از بررسی اولیه میوه‌های برداشت شده، گروهی از میوه‌های تازه هر گیاه، به منظور ارزیابی‌های بیوشیمیایی در نظر گرفته شده‌اند. همچنین، گروهی دیگر از میوه‌ها برای ارزیابی قابلیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند و نهایتاً، گروهی دیگر، برای اندازه‌گیری‌های آنزیمی، توسط ازت مایع منجمد و به فریز -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

## زودرسی

به منظور ارزیابی تاثیر تیمارهای باکتریایی بر زودرسی میوه، تعداد روز بعد از انتقال نشاء به گلدان تا برداشت نخستین میوه رسیده، محاسبه شد.

## اجزای عملکرد

اجزاء عملکرد بوته‌های عروسک پشت پرده، با اندازه‌گیری عملکرد تک بوته در کل دوره کشت (گرم بر بوته)، وزن تک میوه (گرم) و تعداد میوه در بوته ارزیابی شد.

## وزن تر کل بوته

پس از پایان دوره رشد گیاهان در گلخانه، بوته‌های عروسک پشت پرده از درون گلدان‌ها در آورده شدند و وزن تر کل بوته (اندام هوایی + اندام زیرزمینی) با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری و وزن تر کل بوته بر اساس واحد گرم، گزارش شد.

## رنگدانه‌های فتوسنتزی

استخراج و اندازه‌گیری محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ‌های بالغ (کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها) در تیمارهای مختلف، با استفاده از حلال متانول و روش توضیح داده شده توسط Knapp و Carter (۲۰۰۱) انجام شد. به منظور محاسبه مقادیر رنگدانه‌های مختلف، عدد جذب عصاره‌های استخراج شده در طول موج‌های ۴۷۰، ۴۴۲/۴ و ۶۶۵/۲ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از روابط توضیح داده شده زیر، محتوی کلروفیل *a* (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه)، کلروفیل *b* (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه) و کاروتنوئید کل (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه) در برگ عروسک پشت پرده، محاسبه شد.

$$Ca (\mu g \text{ ml}^{-1}) = 16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4}$$

$$Cb (\mu g \text{ ml}^{-1}) = 34.09 A_{652.4} - 9.16 A_{665.2}$$

$$C (x + c) (\mu g \text{ ml}^{-1}) = (1000 A_{470} - 1.63Ca - 104.96Cb) / 221$$

## ترکیبات فیتوشیمیایی

### تهیه عصاره

عصاره گیری از بافت تازه میوه‌ها به روش Parra-palma و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد. به مقدار سه گرم از بافت تازه میوه، محلول متانول مطلق (۵:۱ وزنی-حجمی نسبت به میوه) اضافه شد. سپس به هر نمونه مقدار مشخصی اسید هیدروکلریک اضافه شد تا غلظت نهایی اسید، به یک درصد در هر نمونه برسد و نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر با شرایط ۱۲۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در شرایط  $4200 \times g$  سانتریفیوژ شدند و فاز رویی به عنوان عصاره، جدا شد و برای تعیین محتوی بتاکاروتن، لیکوپن، فنول کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل استفاده شد.

### بتاکاروتن و لیکوپن

به منظور اندازه‌گیری محتوی بتاکاروتن و لیکوپن، از روش Yan و همکاران (۲۰۱۷) استفاده شد. ۱۰۰ میلی گرم از عصاره متانولی تهیه شده از میوه، به ۱۰ میلی لیتر محلول استون-هگزان (۴:۶) اضافه و به مدت یک دقیقه ورتکس شد. سپس با قرائت عدد جذب در طول موج‌های ۴۵۳، ۵۰۵ و ۶۶۳ با استفاده از روابط زیر، محتوی هر یک از اجزای کاروتنوئیدی بر واحد میکروگرم در گرم وزن تازه محاسبه شد.

$$\text{لیکوپن} = -0.0458A_{663} + 0.372A_{505} - 0.0806A_{453}$$

$$\text{بتاکاروتن} = 0.216A_{663} - 0.304A_{505} + 0.452A_{453}$$

### فنول کل

برای اندازه‌گیری فنول کل، از روش فولین سیوکالتیو و بنابر دستورالعمل Singleton و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. ۰/۵ میلی لیتر عصاره میوه با ۱/۵ میلی لیتر آب مقطر، ۰/۱ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو و ۰/۳ میلی لیتر کربنات سدیم ۲۰٪ مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوبه شدن در دمای اتاق، عدد جذب محلول نهایی، در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. توسط

رسم منحنی استاندارد گالیک اسید، مقدار فنل کل، بر اساس واحد میلی گرم گالیک اسید بر صد گرم وزن تازه میوه، گزارش شد. برای رسم منحنی استاندارد کوئرستین، از غلظت های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر گالیک اسید استفاده شد.

### فلاونوئید کل

محتوی فلاونوئید کل میوه به روش رنگ سنجی، بنابر روش Parra-palma و همکاران (۲۰۲۰) اندازه گیری شد. ۰/۵ میلی لیتر از عصاره میوه تهیه شده، با ۱/۵ میلی لیتر اتانول ۹۵٪ و ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰٪ ترکیب شد، پس از گذشت ۳ دقیقه به آن ۰/۱ میلی لیتر پتاسیم استات ۱ مولار اضافه و سپس بعد از گذشت ۶ دقیقه، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر با آن مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. عدد جذب عصاره های متانولی؛ در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد و با رسم منحنی استاندارد کوئرستین، مقدار فلاونوئید کل بر اساس واحد میلی گرم کوئرستین بر صد گرم وزن تازه میوه گزارش شد. برای رسم منحنی استاندارد کوئرستین، از غلظت های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر کوئرستین استفاده شد.

### آنتوسیانین

محتوی آنتوسیانین میوه به روش اختلاف pH اندازه گیری شد (Lee و همکاران، ۲۰۰۸). نخست، محلول های پتاسیم کلرید ۰/۲۵ مولار (pH = ۱) و سدیم استات ۰/۴ مولار (pH = ۴/۵) آماده گردید و ۰/۱۵ میلی لیتر از عصاره میوه به صورت جداگانه با ۰/۷۵ میلی لیتر از محلول ها مخلوط شد. بعد از انکوبه شدن به مدت ۵۰ دقیقه در دمای اتاق، عدد جذب هر کدام در طول موج های ۵۲۴ و ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. با استفاده از روابط زیر، محتوی آنتوسیانین کل، بر حسب میلی گرم سیانیدین-۳-گلیکوزاید در هر ۱۰۰ گرم میوه گزارش شد.

$$A = (A_{524} - A_{700}) \text{ pH } 1.0 - (A_{524} - A_{700}) \text{ pH } 4.5$$

$$C_{An} = A \times 449.2 \times DF / 26900$$

ضریب خاموشی مولی: ۲۶۹۰۰

جرم مولکولی سیانیدین-۳-گلیکوزاید: ۴۴۹/۲

DF: فاکتور رقیق سازی

### فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز (PAL)

برای استخراج آنزیم، ۲ گرم از بافت تازه میوه توسط ازت مایع و هاون چینی پودر و به آن ۱۰ میلی لیتر بافر حاوی سدیم بورات ۰/۲ مولار و ۲۰ میلی مولار بتامرکاپتواتانول اضافه شد. سپس، در دمای ۴ درجه سانتی گراد و شرایط  $10000 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و از محلول رویی برای اندازه گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد. سپس ۱ میلی لیتر محلول فنیل آلانین به ۰/۲ میلی لیتر عصاره استخراج شده، اضافه و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه شد. نهایتا واکنش با افزودن ۰/۲ میلی لیتر اسید کلریدریک ۶ مولار متوقف شد. سپس دو مرتبه با فاصله یک ساعت، عدد جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه و گزارش شد (Cao et al., 2010).

### ظرفیت آنتی اکسیدانی

برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه، بنابر روش Lahlou و همکاران (۲۰۲۴)، از بافت خشک میوه، عصاره گیری شد. به ۳۰ گرم از بافت خشک میوه، ۱۵۰ میلی لیتر محلول آب-اتانول (با نسبت ۳۰ به ۷۰)، اضافه و پس از نیم ساعت سونیکیشن به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر با شرایط ۱۲۰ دور بر دقیقه قرار گرفت. سپس عصاره با استفاده از کاغذ صافی از بافت میوه جدا شد و استخراج مجدد از بافت میوه صورت گرفت، نهایتا عصاره اول و دوم با هم ترکیب شده و توسط دستگاه تبخیر در خلاء<sup>۱</sup>، حلال آب-اتانول حذف شد. از عصاره خشک بدست آمده جهت تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی استفاده شد.

اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه خشک شده عروسک پشت پرده، با استفاده از ۲ و ۲ دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بنا بر روش Parra-palma و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد. برای تعیین شاخص IC50، غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ نانوگرم عصاره استخراج شده بر میلی‌لیتر، با استفاده از حلال آب-اتانول (با نسبت ۳۰ به ۷۰) تهیه شد. دو میلی‌لیتر از عصاره با دو میلی‌لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط و به مدت نیم ساعت در شرایط تاریک انکوبه گشت. سپس با قرائت عدد جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی بر اساس واحد درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بدست آمد.

$$\text{DPPH درصد مهارکنندگی} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

$A_{\text{control}}$  = عدد جذب شاهد

$A_{\text{sample}}$  = عدد جذب نمونه

نهایتاً، برای هر تیمار یک معادله خط اختصاصی رسم شد و بر اساس آن، غلظتی که سبب مهار ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد DPPH می‌گردد، به‌عنوان شاخص IC50 در نظر گرفته شد.

### واکاوی آماری داده‌ها

توسط نرم‌افزار OriginPro نسخه ۲۰۲۴ بررسی نرمال بودن داده‌ها، آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها صورت گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون دانکن استفاده شد. به‌منظور رسم نمودارها از نرم‌افزارهای GraphPad Prism نسخه ۱۰.۱.۰.۳۶۶ و OriginPro نسخه ۲۰۲۴ استفاده شد.

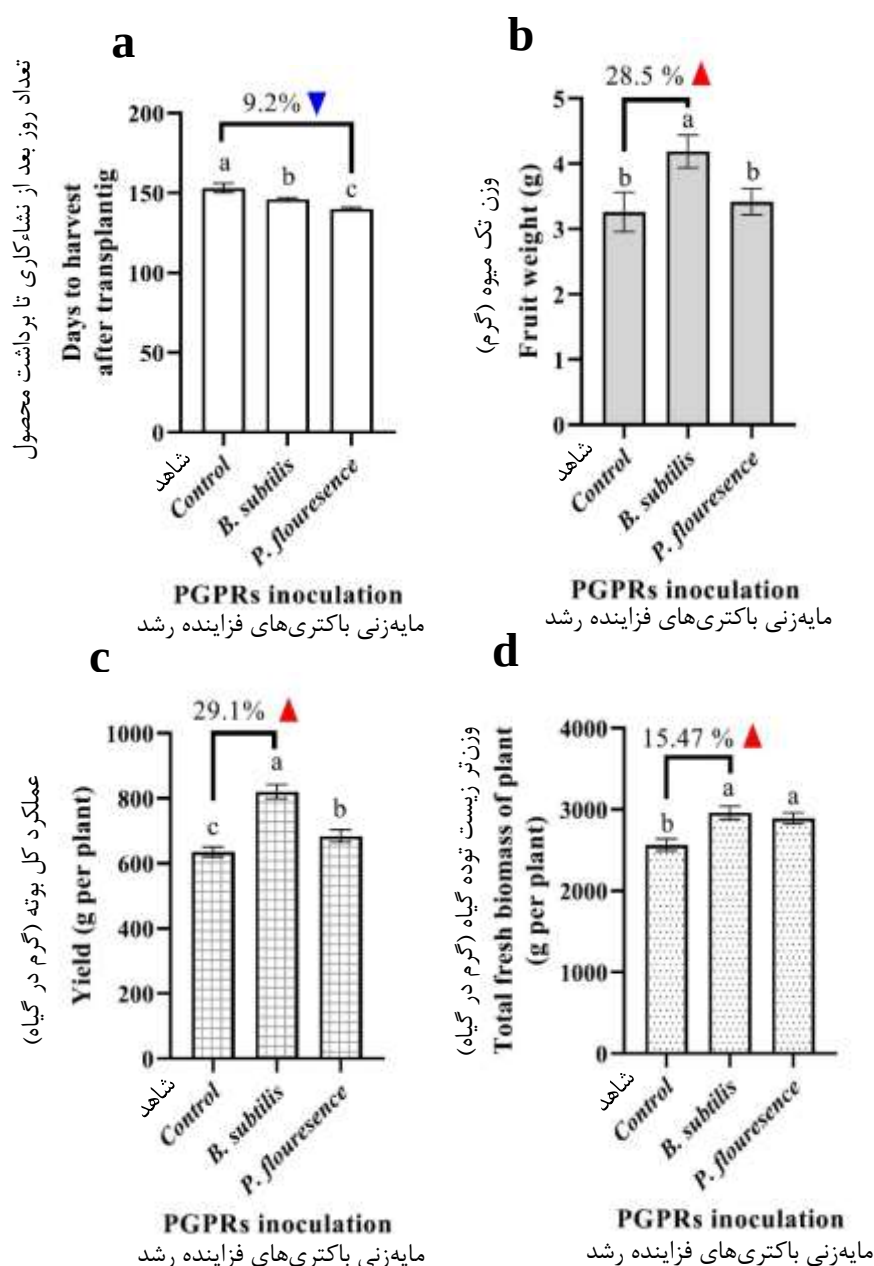
## نتایج

### زودرسی

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که کاربرد باکتری‌های فزاینده رشد، به‌طور معنی‌داری سبب کاهش زمان تا رسیدن به مرحله اولین برداشت میوه شد (شکل a۱ و ۲). زودرس‌ترین میوه‌ها، از تیمار مایه‌زنی با باکتری *P. fluorescens* به دست آمدند (نخستین برداشت ۱۴۰ روز بعد از انتقال نشاء به گلدان) به‌طوری که نسبت به گیاهان شاهد، ۹/۲٪ کاهش در زمان رسیدن به اولین مرحله برداشت میوه حاصل شد (شکل a۱ و ۲).

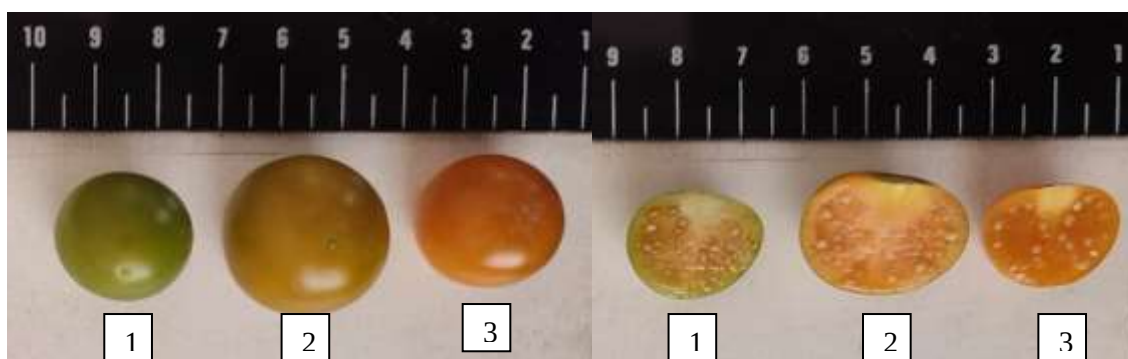
### اجزای عملکرد

نتایج نشان داد که بیشترین وزن تک میوه (۴/۱۹ گرم) و بیشترین عملکرد تولید شده توسط بوته (۸۲۰/۶۲ گرم در بوته) توسط تیمار مایه‌زنی با *B. subtilis* رقم خورد. به‌طوریکه گیاهان این تیمار، در خصوص دو ویژگی نام‌برده شده نسبت به گیاهان شاهد به ترتیب ۲۸/۵ و ۲۹/۱٪ افزایش نشان دادند (شکل b۱ و c۱). همچنین بیشترین وزن تر کل بوته در گیاهان مایه‌زنی شده با *B. subtilis* بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به تیمار *P. fluorescens* مشاهده شد. در خصوص این شاخصه، تیمار *B. subtilis* سبب افزایش ۱۵/۴۷ درصدی نسبت به شاهد آزمایش شد (شکل d۱).



شکل ۱- اثر باکتری های فزاینده رشد (*B. subtilis* و *P. fluorescens*) بر (a) زودرسی میوه عروسک پشت پرده برحسب تعداد روز بعد از انتقال نشاء به گلدان تا نخستین برداشت، (b) وزن تک میوه (گرم)، (c) عملکرد کل (گرم در بوته) و (d) وزن تر کل گیاه (گرم در بوته) عروسک پشت پرده (*P. peruviana*). معنی داری در سطح احتمال یک درصد. بر اساس آزمون دانکن، میانگین ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار.

Fig. 1. Effects of PGPRs (*B. subtilis* and *P. fluorescens*) on (a) early ripening based on the days after transplanting to first harvest, (b) fruit weight (g), (c) yield (g per plant) and (d) total fresh biomass of plant (g per plant) of cape gooseberry (*P. peruviana*). significant at 1% probability level; the means followed by the same letters are not significantly different according to the Duncan test.



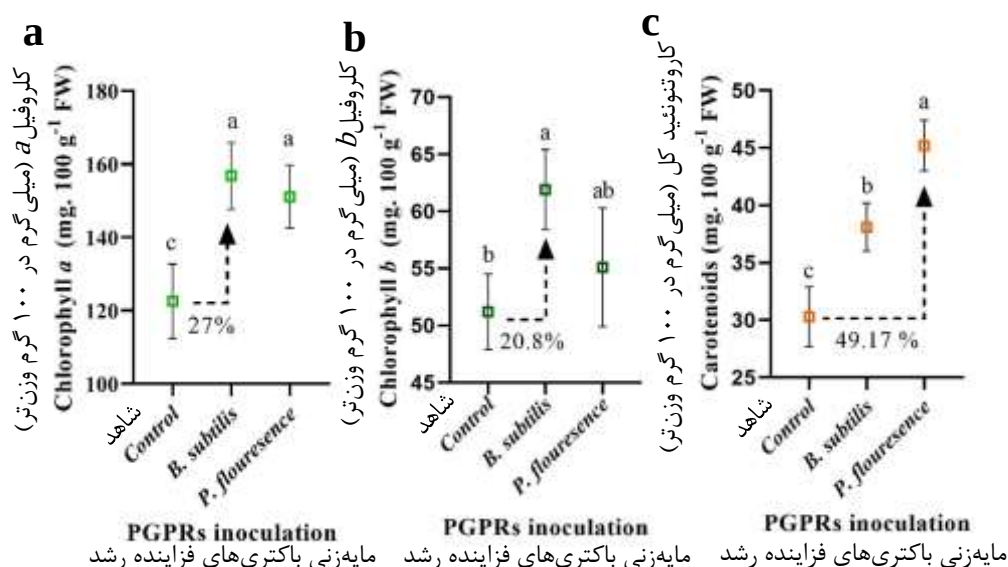
شکل ۲- ویژگی‌های ظاهری و رسیدگی متفاوت میوه‌های عروسک پشت پرده (*P. peruviana*) در ۱۴۰ روز بعد از انتقال نشاء به گلدان بر اثر تیمارهای مختلف باکتری‌های فزاینده رشد. ۱: شاهد آزمایش، ۲: تیمار *B. subtilis* و ۳: تیمار *P. fluorescens*.

Fig. 2. Morphological properties and alternation in ripening time of cape gooseberry (*P. peruviana*) due to PGPRs treatments (time: 140 days after transplanting). 1: control, 2: *B. subtilis* and 3: *P. fluorescens*.

### رنگدانه های فتوسنتزی: کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئید کل

بیشترین مقدار کلروفیل *a* و *b* اندازه گیری شده در برگ در گیاهان مایه‌زنی شده با *B. subtilis* (به ترتیب: ۱۵۶/۸ و ۶۱/۹ میلی گرم در صد گرم بافت تازه برگ) اندازه گیری شد هر چند که این گیاهان از این نظر با گیاهان مایه‌زنی شده با *P. fluorescens* اختلاف آماری معنی داری نداشتند (شکل ۳a و ۳b).

بالاترین محتوی کاروتنوئید کل برگ به مقدار ۴۵/۲ میلی گرم در صد گرم بافت تازه برگ، در گیاهان مایه زنی شده با *P. fluorescens* مشاهده شد (شکل ۳c).



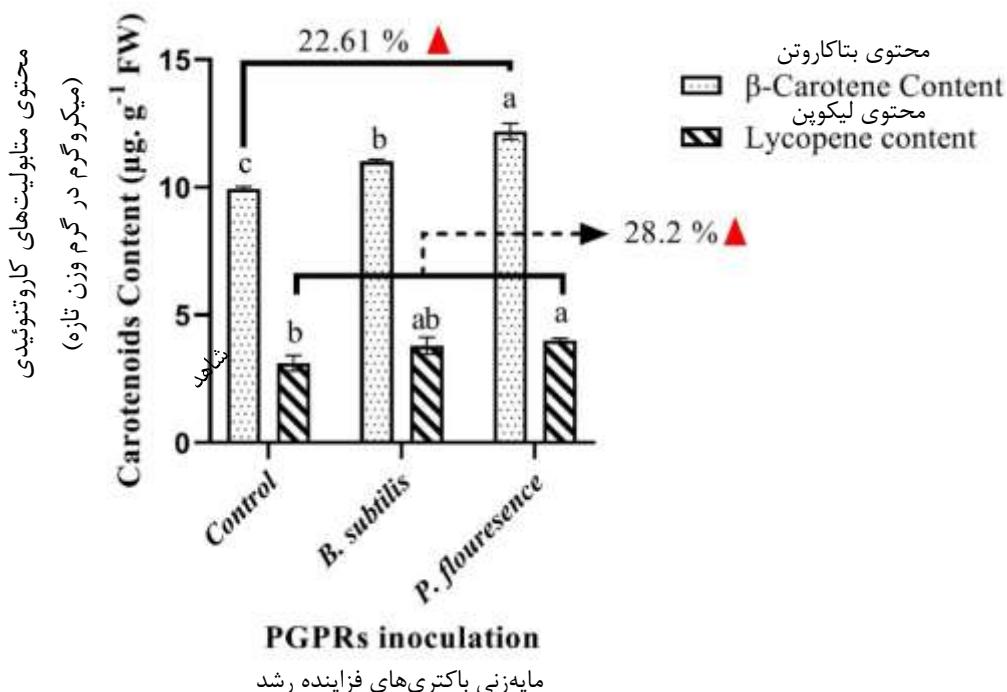
شکل ۳- اثر مایه‌زنی با باکتری‌های فزاینده رشد (*B. subtilis* و *P. fluorescens*) بر محتوی (a) کلروفیل *a* (۱۰۰ میلی گرم بر گرم وزن تازه)، (b) کلروفیل *b* (۱۰۰ میلی گرم بر گرم وزن تازه) و (c) کاروتنوئید کل (۱۰۰ میلی گرم بر گرم وزن تازه) برگ عروسک پشت پرده (*P. peruviana*). معنی داری در سطح احتمال یک درصد. بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار.

Fig. 3. Effects of PGPRs (*B. subtilis* and *P. fluorescens*) inoculation on (a) chlorophyll a (100 mg. g<sup>-1</sup> FW), (b) chlorophyll b (100 mg. g<sup>-1</sup> FW) and (c) total carotenoids content (100 mg. g<sup>-1</sup> FW) of cape gooseberry leaves (*P. peruviana*). Significant at 1% probability level; the means followed by the same letters are not significantly different according to the Duncan test.



## بتاکاروتن و لیکوپن

بیشترین محتوی بتاکاروتن و لیکوپن، به عنوان دو جز مهم کاروتنوئیدها، در میوه های گیاهان تیمار شده با *P. fluorescens* اندازه گیری شد، به گونه ای که در مقایسه با میوه های شاهد، به ترتیب افزایش ۲۲/۶۱ و ۲۸/۲ درصدی مشاهده شد (شکل ۴). هرچند در خصوص محتوی لیکوپن، اختلاف بین دو تیمار مختلف باکتریایی معنی دار نبود (شکل ۴).



شکل ۴- اثر مایه زنی با باکتری های فزاینده رشد (*B. subtilis* و *P. fluorescens*) بر محتوی بتاکاروتن (میکروگرم بر گرم وزن تازه) و لیکوپن (میکروگرم بر گرم وزن تازه) در میوه عروسک پشت پرده (*P. peruviana*). معنی داری در سطح احتمال یک درصد. بر اساس آزمون دانکن، میانگین ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار.

Fig. 4. Effects of PGPRs (*B. subtilis* and *P. fluorescens*) inoculation on beta carotene content ( $\mu\text{g. g}^{-1}$  FW) and lycopene ( $\mu\text{g. g}^{-1}$  FW), of cape gooseberry (*P. peruviana*) fruits. Significant at 1% probability level; the means followed by the same letters are not significantly different according to the Duncan test.

## فنول و فلاونوئید کل

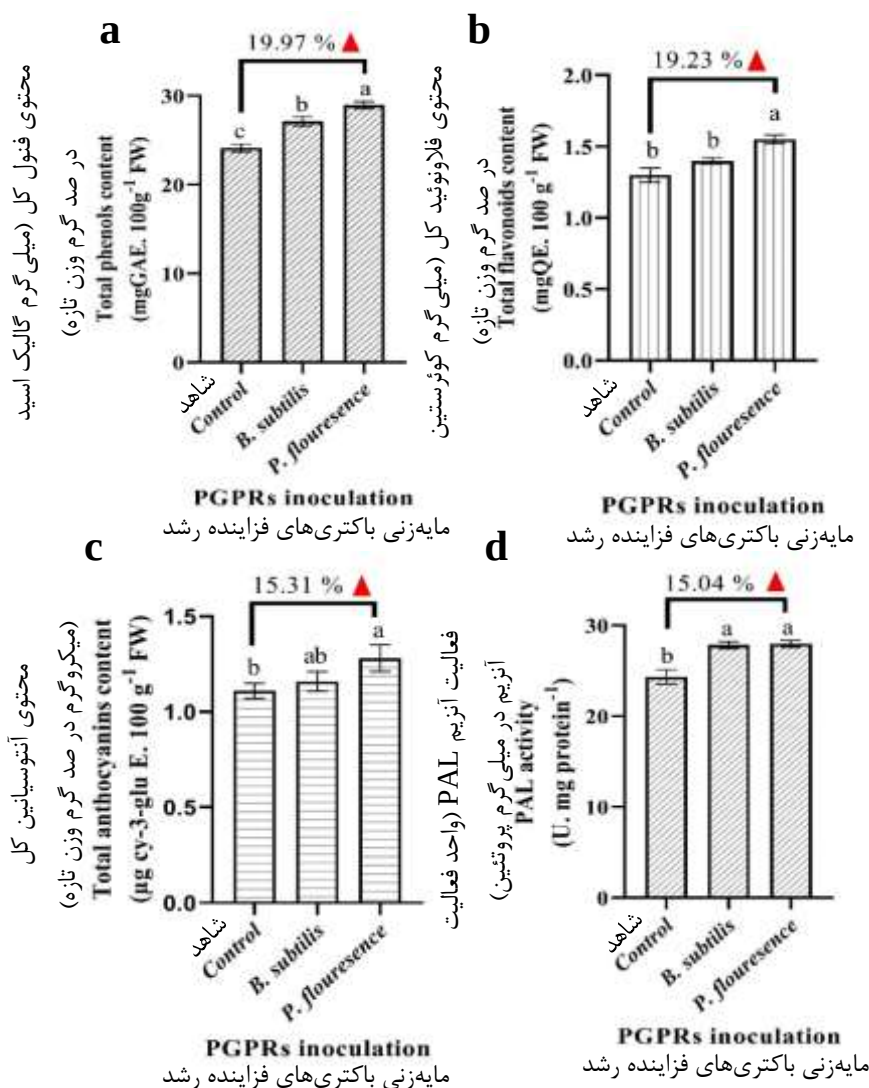
بیشترین محتوی فنول و فلاونوئید کل میوه در گیاهان تیمار شده با *P. fluorescens* اندازه گیری شد که به ترتیب ۱۹/۹۷ و ۱۹/۲۳ درصد نسبت به گیاهان شاهد، افزایش نشان دادند (شکل ۵a و ۵b).

## آنتوسیانین کل

در گیاهان مایه زنی شده با *P. fluorescens* بیشترین مقدار آنتوسیانین کل اندازه گیری شد که ۱۵/۳۱٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود. با این وجود، در خصوص محتوی آنتوسیانین کل، بین گیاهان تیمار شده با *P. fluorescens* و *B. subtilis* اختلاف معنی داری وجود نداشت (شکل ۵c).

## فعالیت آنزیم PAL

مایه زنی با هر دو گونه باکتریایی، بدون اختلاف معنی دار نسبت به یکدیگر، سبب افزایش سطح فعالیت آنزیم PAL در میوه های عروسک پشت پرده شدند (شکل ۵d). در گیاهان تیمار شده با باکتری *P. fluorescens* که بالاترین مقدار عددی فعالیت آنزیم PAL را نشان دادند، فعالیت این آنزیم نسبت به میوه های گیاهان شاهد، افزایش ۱۵/۰۴ درصدی را نشان داد (شکل ۵d).

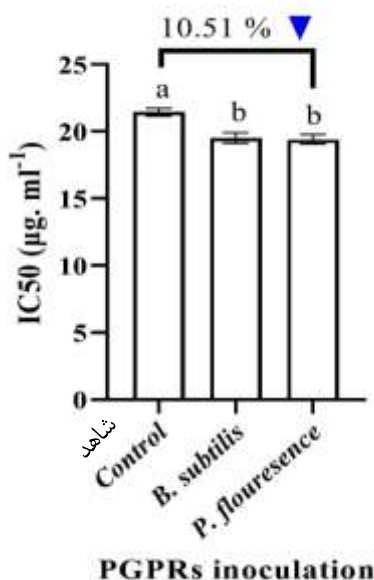


شکل ۵- اثر مایه‌زنی با باکتری‌های فزاینده رشد (*B. subtilis* و *P. fluorescence*) بر (a) محتوی کل ترکیبات فنولی (میلی گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم وزن تازه)، (b) فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تازه)، (c) آنتوسیانین کل (میکروگرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه) و (d) فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (واحد فعالیت آنزیم بر میلی گرم پروتئین) در میوه عروسک پشت پرده (*P. peruviana*). معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد. بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار.

Fig. 5. Effects of PGPRs (*B. subtilis* and *P. fluorescence*) inoculation on (a) total phenols content (mg gallic acid. 100 g<sup>-1</sup> FW), (b) total flavonoids (mg quercetin. 100 g<sup>-1</sup> FW), (c) total anthocyanins (100 μg. 100 g<sup>-1</sup> FW) and (d) phenylalanine ammonia-lyase activity (U. mg Protein<sup>-1</sup>) of cape gooseberry fruits (*P. peruviana*). Significant at 1% probability level; the means followed by the same letters are not significantly different according to the Duncan test.

## خاصیت آنتی اکسیدانی

براساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، کاربرد دو باکتری *P. fluorescens* و *B. subtilis* بدون اختلاف معنی دار با یکدیگر، سبب افزایش قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره میوه فیسالیس در مهار رادیکال های آزاد DPPH شدند (شکل ۶). مقدار IC50 عصاره میوه های تیمار شده با *P. fluorescens* به عنوان مطلوب ترین تیمار از لحاظ مقدار عددی این شاخصه، ۱۹/۴۰ میکروگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد (شکل ۶).



شکل ۶- اثر مایه زنی با باکتری های فزاینده رشد (*P. fluorescens* و *B. subtilis*) بر شاخص IC50 عصاره میوه عروسک پشت پرده (*P. peruviana*) در مهار رادیکال های آزاد DPPH (میکروگرم بر میلی لیتر). معنی داری در سطح احتمال یک درصد. بر اساس آزمون دانکن، میانگین ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار.

Fig. 6. Effects of PGPRs (*B. subtilis* and *P. fluorescens*) inoculation on IC50 index of fruits extract of cape gooseberry (*P. peruviana*) in DPPH free radical scavenging. Significant at 1% probability level; the means followed by the same letters are not significantly different according to the Duncan test.

## بحث

باکتری های فزاینده رشد مختلف، قابلیت های متفاوتی درخصوص تاثیر گذاری بر فیزیولوژی رشد و عملکرد گیاهان دارند. به طور کلی، این باکتری ها با مکانیسم های مختلفی نظیر سنتز هورمون ها و تنظیم کننده های رشد گیاهی، کمک به جذب عناصر بخصوص فسفر، تثبیت نیتروژن و افزایش سطح نیتروژن آلی در دسترس، تولید سیدروفور، رقابت با بیمارگرهای خاک زاد و ... سبب افزایش رشد زیست توده گیاهی می شوند (Argentel-Martínez et al., 2025). در خصوص باکتری های *B. subtilis* و *P. fluorescens* به صورت اختصاصی مشاهده شده است که بهبود مسیر آلی سازی نیتروژن در گیاه و همچنین افزایش قابل توجه سطح آمینواسید آزاد قابل جذب در محیط ریزوسفر، بر اثر مایه زنی با این باکتری های فزاینده رشد رقم می خورد (Salehi Molkabadi et al., 2023). براساس مطالعه Meliani و همکاران (۲۰۱۷)، باکتری *P. fluorescens* قادر به تولید هورمون ایندول استیک اسید (IAA) تا سطح ۸۷ نانوگرم بر میلی لیتر است. همچنین در پژوهشی Wagi و Ahmed (۲۰۱۹) گزارش کردند که باکتری *B. subtilis* در شرایط محیطی مختلف؛ بین ۳۷ تا ۵۴ نانوگرم بر میلی لیتر هورمون IAA تولید و در محیط رشد خود رها سازی می کنند. مطابق با گزارش Zhang و همکاران (۲۰۱۸)، *B. subtilis* قابلیت بسیار بالایی برای ساخت  $\gamma$ -polyglutamic acid در محیط ریزوسفر گیاه دارد. از سوی دیگر مطالعات مختلفی گزارش کردند که کاربرد دو باکتری *B. subtilis* و *P. fluorescens* بهبود پارامترهای فتوسنتزی نظیر نرخ فتوسنتز خالص، تبادلات گازی و فعالیت روزنه ها را در پی

دارد که نهایتاً پتانسیل بالاتر گیاه برای سوخت و ساز و رشد بیشتر را منجر می‌شود (Wu و همکاران، ۲۰۲۰؛ Shi و همکاران، ۲۰۲۴). با توجه به اهمیت مکانیسم‌های تشریح شده بالا در تولید زیست توده گیاهی و عملکرد محصول، می‌توان تاثیر بهبود بخش دو باکتری مورد استفاده در این پژوهش در تولید زیست توده کل و اجزاء عملکرد *P. peruviana* را توضیح داد. هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، مطالعات مختلفی گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های *B. subtilis* و *P. fluorescens* در تولید گیاهان تیره سیب زمینی سانان، سبب بهبود رشد و عملکرد محصول خواهد شد. در پژوهشی، Mena-Violante و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کاربرد *B. subtilis* در گوجه‌فرنگی<sup>۱</sup>، سبب افزایش عملکرد کل بوته، وزن تک میوه و بیومس کل گیاه گوجه‌فرنگی شده است. مطابق با گزارش Cárdenas-Flores و همکاران (۲۰۲۳)، مایه‌زنی با *B. subtilis*، افزایش عملکرد ارقام مختلف فلفل دلمه‌ای را موجب شد. همچنین بهبود پارامترهای مورفولوژیک گوجه فرنگی رقم Galaguo بر اثر کاربرد *B. subtilis* توسط Shi و همکاران (۲۰۲۴)، گزارش شده است. در خصوص باکتری *P. fluorescens*، در پژوهشی Arseneault و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که مایه‌زنی سیب‌زمینی<sup>۲</sup> توده هوایی و زیرزمینی گیاه و محصول تولیدی گوجه‌فرنگی ارقام HM و UCO را بر اثر مایه‌زنی با *P. fluorescens*، گزارش کردند.

علاوه بر رشد و اجزای عملکرد، محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی مختلف، از جمله پارامترهایی هستند که تحت تاثیر مایه‌زنی با باکتری‌های فزاینده رشد قرار می‌گیرند (Shi et al., 2024). با در نظر گرفتن ارتباط مستقیم بین محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی با پتانسیل تثبیت کربن در گیاه، افزایش سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی نیز می‌تواند به خوبی در توضیح بهبود رشد و عملکرد در گیاهان مایه‌زنی شده دخیل باشد.

مسیر تولید انواع مختلف رنگدانه‌های کلروفیلی با حضور آمینواسید گلوتامین به‌عنوان پیش‌ماده آغاز می‌گردد و در طی این مسیر بیوشیمیایی، هورمون‌های سایتوکینین نقشی کلیدی ایفا می‌کنند (Sun et al., 2023). در پژوهشی Salehi Molkabadi و همکاران (۲۰۲۳)، گزارش کردند که مایه‌زنی با باکتری‌های *B. subtilis* و *P. fluorescens* سبب افزایش سطح فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز و محتوی این آمینواسید در برگ گیاه ریحان شده است. همچنین مطابق با گزارش Khan و همکاران (۲۰۲۰)، باکتری‌های فزاینده رشد مسیر تولید هورمون‌های سایتوکینین را در سلول‌های گیاهی تحریک و سبب افزایش تولید این هورمون می‌گردد. از طرفی دیگر، براساس گزارش Mekureyaw و همکاران (۲۰۲۲)، باکتری *P. fluorescens* محتوی بالای از هورمون‌های سایتوکینین را تولید و در محیط ریزوسفر ریشه آزاد می‌کند. با توجه به مکانیسم‌های تشریح شده، می‌توان اثر مایه‌زنی با باکتری‌های فزاینده رشد بر افزایش محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی *P. peruviana* را در این پژوهش توضیح داد. هم‌سو با پژوهش حاضر، Singh و Siddiqui (۲۰۱۵) افزایش محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی گوجه‌فرنگی را بر اثر کاربرد باکتری‌های *B. subtilis* و *P. fluorescens* گزارش کردند. همچنین، Cárdenas-Flores و همکاران (۲۰۲۳)، گزارش کردند که مایه‌زنی با باکتری *B. subtilis* سبب افزایش محتوی کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها در برگ فلفل دلمه‌ای شده است. باکتری‌های فزاینده رشد در محیط ریزوسفر گیاهان، متابولیتهایی را تولید و آزاد می‌سازند (مانند: اسیل-هموسرین لاکتون‌ها، لیپوپپتیدهای حلقوی، رامنو لیپیدها، مشتقات بنزیل‌آمین‌های آلکیلی، سیدروفرا و ترکیبات فرار زیستی) که در مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به تحریک و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، نقشی مهم ایفا می‌کنند (Pršić & Ongena, 2020). ترکیبات فنولی، از جمله مهمترین اجزای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی هستند که در پاسخ به مایه‌زنی با باکتری‌های فزاینده رشد با افزایش تولید و انباشت در بافت‌های گیاهی مواجه می‌گردند (Jia et al., 2023). در میان ترکیبات فنولی مختلف، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از جمله مهمترین فنول‌ها هستند که در ادامه مسیر ساخت ترکیبات فنولی مشتق می‌گردند. آمینواسید فنیل‌آلانین در مسیر ساخت فنول‌ها در سلول‌های گیاهی یک پیش‌ماده اساسی است و در ابتدای این روند بیوشیمیایی، فعالیت آنزیم PAL نقشی حیاتی ایفا می‌کند (Salehi Molkabadi et al., 2021; Jia et al., 2023). براساس گزارش Ren و

همکاران (۲۰۱۴)، سطح فعالیت آنزیم PAL ارتباطی مستقیم با سطح تولید ترکیبات فنولی در سلول و بافت‌های گیاهی دارد. مایه‌زنی با باکتری‌های فزاینده رشد سطح دسترسی گیاهان را به آمینواسیدها (از جمله فنیل آلانین به عنوان پیش‌ساز ترکیبات فنولی) به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Pizarro-Tobias et al., 2020). یافته‌های ما نشان داد که افزایش جمعیت باکتری‌های فزاینده رشد در محیط ریشه، باعث افزایش سطح فعالیت آنزیم PAL می‌گردد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، Padró و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که مایه‌زنی با *B. subtilis* سبب افزایش سطح فعالیت آنزیم PAL؛ محتوی فنول و فلاونوئید کل در گوجه‌فرنگی شده است. در همین راستا Suresh و همکاران (۲۰۲۳) نیز افزایش فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را در گوجه‌فرنگی بر اثر کاربرد *P. fluorescens* گزارش کرده‌اند. بر اساس مطالعه Jia و همکاران (۲۰۲۳)، در پاسخ به مایه‌زنی با *B. subtilis* و *P. fluorescens*، سطح بیان ژن PAL2 که یک ژن کلیدی در ساخت آنزیم PAL می‌باشد، در گوجه‌فرنگی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

آنتوسیانین‌ها، از رنگدانه‌های فلاونوئیدی می‌باشند که در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از اهمیت بالایی برخوردارند. علاوه بر نقش آنتوسیانین‌ها در جذب حشرات برای گرده‌افشانی و حیوانات برای پراکنش بذر، در تعدیل تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیرزنده یا زنده ناشی از بیمارگرهای قارچی و باکتریایی، نقشی کلیدی ایفا می‌کنند. از همین‌رو، افزایش جمعیت میکروبی محیط ریزوسفر ریشه گیاهان می‌تواند در تحریک مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به ساخت و تجمع آنتوسیانین‌ها اثر گذار باشد (LaFountain & Yuan., 2021). هم‌جهت با نتایج پژوهش ما در خصوص اثر باکتری‌های فزاینده رشد بر تجمع آنتوسیانین‌ها، Zameer و همکاران (۲۰۱۶)، گزارش کردند که محتوی آنتوسیانین کل میوه گوجه‌فرنگی در پاسخ به مایه‌زنی باکتری‌های فزاینده رشد افزایش یافت. همچنین در پژوهشی Trinh و همکاران (۲۰۱۸)، نشان دادند که افزایش جمعیت باکتری‌های مفید در محیط ریزوسفر ریشه گیاه، مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها را تحریک و سبب افزایش سطح بیان برخی ژن‌های دخیل در بیوسنتز این رنگدانه‌ها می‌گردد.

بتاکاروتن و لیکوپن، متعلق به گروه کاروتنوئیدها بوده و از مهمترین متابولیت‌های غذایی-دارویی عروسک پشت پرده می‌باشند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در نتیجه مایه‌زنی باکتریایی، این متابولیت‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرند. در پژوهشی Sonbarse و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که باکتری‌های فزاینده رشد، مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به ساخت کاروتنوئیدها را تحریک و سبب افزایش تجمع بتاکاروتن در گز روغنی<sup>۱</sup> می‌گردند. همچنین بنابر گزارش Bhardwaj و همکاران (۲۰۲۴)، در خردل هندی<sup>۲</sup>، افزایش جمعیت باکتری‌های مفید محیط ریزوسفر سبب افزایش بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز آنزیم فایتون سنتتاز (PSY) و همچنین سطح فعالیت این آنزیم می‌گردد که در بیوسنتز بتاکاروتن و لیکوپن نقشی کلیدی ایفا می‌کند.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، مایه زنی باکتریایی موجب بهبود خاصیت آنتی اکسیدانی میوه های عروسک پشت پرده شد. باتوجه به اینکه ترکیبات فنولی و کاروتنوئیدی از مهمترین اجزای بخش غیر آنزیمی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی هستند، و این ترکیبات در نتیجه مایه زنی باکتریایی افزایش مقدار داشتند لذا افزایش پتانسیل کل آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه *P. peruviana* در پاسخ به مایه‌زنی دو باکتری *B. subtilis* و *P. fluorescens* قابل توضیح است. هم‌جهت با نتایج پژوهش حاضر، Padró و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که مایه‌زنی با باکتری *B. subtilis*، قابلیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه گوجه‌فرنگی را افزایش داده است. همچنین افزایش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی میوه فلفل دلمه‌ای بر اثر مایه‌زنی با *B. subtilis*، توسط Cárdenas-Flores و همکاران (۲۰۲۳)، گزارش شده است. در خصوص باکتری *P. fluorescens* نیز Pérez-Rodríguez و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مایه‌زنی با این باکتری سبب افزایش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی میوه گوجه‌فرنگی خواهد شد. بر اساس مطالعه Ramírez-Cariño و همکاران (۲۰۲۳) در توماتیلو<sup>۳</sup>، افزایش جمعیت میکروب‌های مفید ناحیه ریزوسفر بر محتوی متابولیت‌های مختلف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی میوه این گیاه موثر است.

براساس مطالعه‌ی Salehi Molkabadi و Ghasemi (۲۰۲۲)، غلظت کربوهیدرات‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بافت میوه، در مسیرهای پیام‌رسانی مربوط به رسیدن میوه، نقشی کلیدی ایفا می‌کنند. از این‌رو با توجه به اثر باکتری‌های فزاینده رشد بر اجزای فتوسنتزی و همچنین ساخت و تجمع متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی، تاثیر مایه‌زنی با این باکتری‌ها بر زودرسی میوه قابل توضیح است. همسو با نتایج پژوهش‌ما، Sritongon و همکاران (۲۰۲۳)، تسریع در مراحل فنولوژی و برداشت سیب‌زمینی ترشی<sup>۱</sup> بر اثر کاربرد باکتری‌های فزاینده رشد را گزارش کردند.

## نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد باکتری‌های فزاینده رشد می‌تواند یک راهکار کاربردی در جهت بهبود عملکرد و کیفیت عروسک پشت پرده باشد. همچنین باکتری‌های فزاینده رشد مختلف، تاثیرات متفاوتی بر فیزیولوژی رشد و عملکرد عروسک پشت پرده، نشان دادند. بر اساس نتایج بدست آمده در پژوهش ما، اگرچه کاربرد باکتری *P. fluorescens* سبب زودرسی محصول عروسک پشت پرده می‌گردد، ولی بالاترین سطح اجزاء عملکرد در شرایط مایه‌زنی با *B. subtilis* حاصل می‌شود. کاربرد هر دو باکتری *P. fluorescens* و *B. subtilis* سبب افزایش سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ و نهایتاً منجر به افزایش پتانسیل تولید انرژی و سطح انرژی در دسترس گیاه می‌گردد. نتایج این پژوهش نشان داد که اگرچه مایه‌زنی با هر کدام از باکتری‌های *P. fluorescens* و *B. subtilis* سبب افزایش تجمع متابولیت‌های فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های عروسک پشت پرده می‌شود، اما کاربرد *P. fluorescens* در مقایسه با *B. subtilis*، سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه را بیشتر تحریک می‌کند و سبب تجمع سطح بالاتری از تابولیت‌های فنولی در میوه عروسک پشت پرده می‌گردد. در صورتیکه اثر باکتری *B. subtilis* و پاسخ گیاه عروسک پشت پرده به مایه‌زنی با این باکتری در جهت افزایش زیست‌توده و عملکرد است.

## References

## منابع

- Argentel-Martínez, L., Peñuelas-Rubio, O., Herrera-Sepúlveda, A., González-Aguilera, J., Sudheer, S., Salim, L. M., ... & Azizoglu, U. (2025). Biotechnological advances in plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 41(1), 21. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04231-4>
- Arseneault, T., Goyer, C., & Fillion, M. (2015). *Pseudomonas fluorescens* LBUM223 increases potato yield and reduces common scab symptoms in the field. *Phytopathology*, 105(10), 1311-1317.
- Bhardwaj, T., Kour, J., Chouhan, R., Devi, K., Singh, H., Gandhi, S. G., ... & Ahmad, P. (2024). Integrated transcriptomic and physio-molecular studies unveil the melatonin and PGPR induced protection to photosynthetic attributes in *Brassica juncea* L. under cadmium toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 476, 134875. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.134875>
- Butelli, E., Titta, L., Giorgio, M., Mock, H. P., Matros, A., Peterek, S., ... & Martin, C. (2008). Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors. *Nature Biotechnology*, 26(11), 1301-1308. <https://doi.org/10.1038/nbt.1506>
- Cao, S., Hu, Z., Zheng, Y., & Lu, B. (2010). Effect of BTH on anthocyanin content and activities of related enzymes in strawberry after harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9), 5801-5805. <https://doi.org/10.1021/jf100742v>
- Cárdenas-Flores, A., Ruíz-Salas, C. E., Vázquez-Lee, J., Baylón-Palomino, A., Mounzer, O., Flores-Olivas, A., & Valenzuela-Soto, J. H. (2023). *Bacillus subtilis* LPM1 differentially promotes the growth of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties under shade house. *Cogent Food & Agriculture*, 9(1), 2232165. <https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2232165>

- Carter, G. A., & Knapp, A. K. (2001). Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*, 88(4), 677-684. <https://doi.org/10.2307/2657068>
- Chandrasekaran, M., Chun, S. C., Oh, J. W., Paramasivan, M., Saini, R. K., & Sahayarayan, J. J. (2019). *Bacillus subtilis* CBR05 for tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits in South Korea as a novel plant probiotic bacterium (PPB): implications from total phenolics, flavonoids, and carotenoids content for fruit quality. *Agronomy*, 9(12), 838. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120838>
- Cortés, L. A., Moncayo, D. C., & Castellanos, D. A. (2023). Development of an antimicrobial packaging system for fresh cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits. *Food Packaging and Shelf Life*, 38, 101113.
- Da Silva Leite, R., De Jesus Santos, R., Da Silva, A. L., Lima, I. K. F., Lima, A. P. P. S., do Nascimento, M. N., ... & Potosme, N. M. R. (2024). *Physalis peruviana* cultivation and agricultural practices. In *Handbook of Goldenberry (Physalis Peruviana)* (pp. 25-37). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15433-1.00003-0>
- Jia, Y., Niu, H., Zhao, P., Li, X., Yan, F., Wang, C., & Qiu, Z. (2023). Synergistic biocontrol of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* against early blight disease in tomato. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(19), 6071-6083. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12642-w>
- Kasali, F. M., Tusiimire, J., Kadima, J. N., Tolo, C. U., Weisheit, A., & Agaba, A. G. (2021). Ethnotherapeutic uses and phytochemical composition of *Physalis peruviana* L.: an overview. *The Scientific World Journal*, 2021(1), 5212348.
- Khan, N., Bano, A., Ali, S., & Babar, M. A. (2020). Crosstalk amongst phytohormones from planta and PGPR under biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 90, 189-203. <https://doi.org/10.1007/s10725-020-00571-x>
- Lahlou, R. A., Gonçalves, A. C., Bounechada, M., Nunes, A. R., Soeiro, P., Alves, G., ... & Silva, L. R. (2024). Antioxidant, Phytochemical, and Pharmacological Properties of Algerian *Mentha aquatica* Extracts. *Antioxidants*, 13(12), 1512. <https://doi.org/10.3390/antiox13121512>
- LaFountain, A. M., & Yuan, Y. W. (2021). Repressors of anthocyanin biosynthesis. *New Phytologist*, 231(3), 933-949. <https://doi.org/10.1111/nph.17397>
- Lee, J., Rennaker, C., & Wrolstad, R. E. (2008). Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 110(3), 782-786. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.010>
- Liang, Y., Liang, L., Shi, R., Luo, R., Yue, Y., Yu, J., ... & Shu, Z. (2024). Genus *Physalis* L.: A review of resources and cultivation, chemical composition, pharmacological effects and applications. *Journal of Ethnopharmacology*, 117736. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.117736>
- Mekureyaw, M. F., Pandey, C., Hennessy, R. C., Nicolaisen, M. H., Liu, F., Nybroe, O., & Roitsch, T. (2022). The cytokinin-producing plant beneficial bacterium *Pseudomonas fluorescens* G20-18 primes tomato (*Solanum lycopersicum*) for enhanced drought stress responses. *Journal of Plant Physiology*, 270, 153629. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153629>
- Meliani, A., Bensoltane, A., Benidire, L., & Oufdou, K. (2017). Plant growth-promotion and IAA secretion with *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Research & Reviews: Journal of Botanical Sciences*, 6(2), 16-24.
- Mena-Violante, H. G., & Olalde-Portugal, V. (2007). Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. *Scientia Horticulturae*, 113(1), 103-106. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.01.031>
- Mishra, A., Kar, S., Bisht, N., Mishra, S. K., & Chauhan, P. S. (2025). Synergistic effect of *Adathoda vasica* plant-derived biostimulant and PGPR on *Zea mays* L. for drought stress management. *Microbiological Research*, 290, 127968. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127968>

- Mubarak, S., Yulianto, F., Budiarto, R., Rahmat, B. P. N., & Khoerunnisa, S. A. (2021). Metabolite correlation with antioxidant activity in different fruit maturation stages of *Physalis peruviana*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(5). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220536>
- Muñoz, P., Parra, F., Simirgiotis, M. J., Sepúlveda Chavera, G. F., & Parra, C. (2021). Chemical characterization, nutritional and bioactive properties of *Physalis peruviana* fruit from high areas of the Atacama desert. *Foods*, 10(11), 2699. <https://doi.org/10.3390/foods10112699>
- Padró, M. D. A., Caboni, E., Morin, K. A. S., Mercado, M. A. M., & Olalde-Portugal, V. (2021). Effect of *Bacillus subtilis* on antioxidant enzyme activities in tomato grafting. *PeerJ*, 9, e10984. <https://doi.org/10.7717/peerj.10984>
- Parra-Palma, C., Morales-Quintana, L., & Ramos, P. (2020). Phenolic content, color development, and pigment-related gene expression: A comparative analysis in different cultivars of strawberry during the ripening process. *Agronomy*, 10(4), 588. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040588>
- Pérez-Rodríguez, M. M., Pontin, M., Lipinski, V., Bottini, R., Piccoli, P., & Cohen, A. C. (2020). *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum brasilense* increase yield and fruit quality of tomato under field conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 1614-1624. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00233-x>
- Pizarro-Tobias, P., Ramos, J. L., Duque, E., & Roca, A. (2020). Plant growth-stimulating rhizobacteria capable of producing L-amino acids. *Environmental Microbiology Reports*, 12(6), 667-671. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12887>
- Pršić, J., & Ongena, M. (2020). Elicitors of plant immunity triggered by beneficial bacteria. *Frontiers in Plant Science*, 11, 594530. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.594530>
- Ramírez-Cariño, H. F., Ochoa-Velasco, C. E., Guerrero-Analco, J. A., Monribot-Villanueva, J. L., Calderón-García, C., González-Terreros, E., ... & Valadez-Blanco, R. (2023). Combined effect of the potassium dose and plant biofertilization by *Acinetobacter calcoaceticus* on the growth, mineral content, nutritional quality, antioxidant activity, and metabolomic features of tomatillo fruits (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Plants*, 12(3), 466. <https://doi.org/10.3390/plants12030466>
- Ren, S. C., & Sun, J. T. (2014). Changes in phenolic content, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, and antioxidant capacity of two buckwheat sprouts in relation to germination. *Journal of Functional Foods*, 7, 298-304.
- Salehi Molkabadi, R., & Ghasemi, K. (2022). Effect of Foliar Application of Sucrose and Certain Mineral Elements on Flower Abortion, Carbohydrate Partitioning and Quality of *Capsicum annuum* L. *Journal of Vegetables Sciences*, 5(2), 19-34. <https://doi.org/10.22034/iuvs.2021.534620.1172>
- Salehi Molkabadi, R., Bonito, G., Ghasemi, K., Ghanbary, M. A. T., & Raouf, F. F. (2023). Optimising in vitro culture conditions for the truffle *Tuber brumale*. *Botanica Serbica*, 47(2), 259-269. <https://doi.org/10.2298/BOTSERB2302259S>
- Salehi Molkabadi, R., Alian, M., Bonito, G., Ghasemi, K., Mirtalebi, M., Raouf-Fard, F., & Ramezani, A. (2023). Ameliorative effects of plant growth-promoting rhizobacteria on salinity tolerance of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Zemdirbyste-Agriculture*, 110(4). <https://doi.org/10.13080/z-a.2023.110.039>
- Salehi Molkabadi, R., Ghasemi, K., Tajick Ghanbary, M. A., & Moradi, H. (2021). Evaluation of nutritional value and dietary chemicals of winter truffles (*Tuber brumale*) from north of Iran. *Mycologia Iranica*, 8(1), 43-57. <https://doi.org/10.22092/MI.2022.356149.1200>
- Samani, M. R., D'Urso, G., Montoro, P., Pirbalouti, A. G., & Piacente, S. (2021). Effects of bio-fertilizers on the production of specialized metabolites in *Salvia officinalis* L. leaves: An analytical approach based on LC-ESI/LTQ-Orbitrap/MS and multivariate data analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 197, 113951. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.113951>



- Shi, A., Di, Q., Xie, K., Feng, X., Wang, X., Li, Y., ... & He, C. (2024). Tomato plant residues and *Bacillus subtilis* application can improve the soil environment and increase tomato yield and quality. *Technology in Horticulture*, 4(1). <https://doi.org/10.48130/tihort-0024-0021>
- Singh, N., & Siddiqui, Z. A. (2015). Effects of *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* and *Aspergillus awamori* on the wilt-leaf spot disease complex of tomato. *Phytoparasitica*, 43, 61-75. <https://doi.org/10.1007/s12600-014-0427-0>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sonbarse, P. P., Kiran, K., Sharma, P., & Parvatam, G. (2020). Biochemical and molecular insights of PGPR application for the augmentation of carotenoids, tocopherols, and folate in the foliage of *Moringa oleifera*. *Phytochemistry*, 179, 112506. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112506>
- Sritongon, N., Boonlue, S., Mongkolthanaruk, W., Jogloy, S., & Riddech, N. (2023). The combination of multiple plant growth promotion and hydrolytic enzyme producing rhizobacteria and their effect on *Jerusalem artichoke* growth improvement. *Scientific Reports*, 13(1), 5917. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33099-x>
- Sun, T., Wang, P., Rao, S., Zhou, X., Wrightstone, E., Lu, S., ... & Li, L. (2023). Co-chaperoning of chlorophyll and carotenoid biosynthesis by ORANGE family proteins in plants. *Molecular Plant*, 16(6), 1048-1065. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.05.006>
- Suresh, P., Shanmugaiah, V., Rajagopal, R., Muthusamy, K., & Ramamoorthy, V. (2022). *Pseudomonas fluorescens* VSMKU3054 mediated induced systemic resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 119, 101836.
- Szparaga, A., Czerwińska, E., Kapusta, I., Piepiórka-Stepuk, J., Zagula, G., Szparaga, L., ... & Deszcz, E. (2024). The insights into the activity of the extracts from *Polygonum aviculare* L. and *Pseudomonas fluorescens* for enhancing and modeling seed germination and seedling growth of *Melilotus officinalis* L. Lam. *South African Journal of Botany*, 174, 510-524. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.09.028>
- Torres, J., Pascual-Seva, N., San Bautista, A., Pascual, B., López-Galarza, S., Alagarda, J., & Maroto, J. V. (2015). Growth and nutrient absorption of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) in soilless culture. *Journal of plant nutrition*, 38(4), 485-496. <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.934474>
- Trinh, C. S., Jeong, C. Y., Lee, W. J., Truong, H. A., Chung, N., Han, J., ... & Lee, H. (2018). *Paenibacillus pabuli* strain P7S promotes plant growth and induces anthocyanin accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 129, 264-272.
- Wagi, S., & Ahmed, A. (2019). *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *PeerJ*, 7, e7258. <https://doi.org/10.7717/peerj.7258>
- Wu, Y., Ma, L., Liu, Q., Sikder, M. M., Vestergård, M., Zhou, K., ... & Feng, Y. (2020). *Pseudomonas fluorescens* promote photosynthesis, carbon fixation and cadmium phytoremediation of hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Science of the Total Environment*, 726, 138554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138554>
- Zameer, M., Zahid, H., Tabassum, B., Ali, Q., Nasir, I. A., Saleem, M., & Butt, S. J. (2016). PGPR potentially improve growth of tomato plants in salt-stressed environment. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(6), 455-463. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i6.455-463.614>
- Yan, X., Wang, Y., Sang, X., & Fan, L. (2017). Nutritional value, chemical composition and antioxidant activity of three *Tuber* species from China. *AMB Express*, 7, 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0431-0>
- Zhang, C., Wu, D., & Qiu, X. (2018). Stimulatory effects of amino acids on  $\gamma$ -polyglutamic acid production by *Bacillus subtilis*. *Scientific reports*, 8(1), 17934. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36439-4>

- Zhang, Z., Jin, Y., Gao, Y., Zhang, Y., Ying, Q., Shen, C., ... & Feng, S. (2022). The complete chloroplast genomes of two *Physalis* species, *Physalis macrophysa* and *P. ixocarpa*: Comparative genomics, evolutionary dynamics and phylogenetic relationships. *Agronomy*, 13(1), 135. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010135>

## Evaluation of the Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Ameliorating the Yield and Phytochemical Compounds of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana*)

Reza Salehi Molkabadi, Fatemeh Raouf Fard\*, Zabihollah Rigi

Shiraz University, School of Agriculture, Department of Horticultural Science, Shiraz, Iran

\*Corresponding author, Email: (Fraouffard@Shirazu.ac.ir)

*Physalis peruviana* (also known as cape gooseberry, golden berry, or uchuva) is a member of the Solanaceae family, which is known for its unique organoleptic properties and medicinal metabolites of its fruits. Nowadays, it has been found that inoculating plants with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs) can be a practical approach to increasing the quantity and quality of crops. The present project was conducted to assay the morphological and biochemical responses of *P. peruviana* to inoculation with two different PGPRs (*Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*). Our results showed that the inoculation with *P. fluorescens* led to an earlier initial harvest of *P. peruviana*. The highest whole plant fresh weight, yield, and fruit weight were measured in *B. subtilis* inoculated plants (2962 g per plant, 820.62 g per plant, and 4.1 g, respectively). Both bacterial treatments increased the chlorophyll *a* and *b* content (27% and 20.8%, respectively, compared to control plants), and the highest total carotenoid content of *P. peruviana* leaves was measured in *P. fluorescens*-inoculated plants. Also, the inoculation with *P. fluorescens* led to the highest content of total phenolic compounds, total flavonoids, and total anthocyanins in *P. peruviana* fruits (28.95 mg GA/ 100 g FW, 1.55 mg quercetin/ 100 g FW and 1.28 µg cy-3-glu E/ 100 g FW). However, the differences between the two PGPR treatments weren't significant in terms of total anthocyanins. Both *B. subtilis* and *P. fluorescens* inoculation increased the Phenylalanine ammonia-lyase enzyme activity by approximately 15% compared to control plants. Also, the highest beta-carotene and lycopene content in fruits was measured in *P. fluorescens* treatment (12.02 and 4.8 µg/g FW, respectively). However, the differences between the two PGPR treatments weren't significant in terms of lycopene content. Our observation indicated that inoculation with both *B. subtilis* and *P. fluorescens* elevated the total antioxidant capacity of *P. peruviana* fruits. The IC<sub>50</sub> index of total antioxidant capacity in DPPH free radical scavenging in *P. fluorescens* treated fruits (as the highest measured antioxidant capacity) was 19.40 (µg/ml).

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, Beta carotene, Lycopene, Phenolic compounds, Phenylalanine ammonia-lyase, *Pseudomonas fluorescens*.