تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد یازدهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۷
۳۵۳-۳۶۳
http://dx.doi.org/ 10.22077/escs.2018.239.1054

اثر تیمارهای بیولوژیک بذر بر شاخص‌های مورفولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت تنش کمبود آب

ماندانا خسروی[۱]، عبدالرزاق دانش شهرکی[۲*]، مهدی قبادی‌نیا[۳]، کرامت‌اله سعیدی[۴]
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۲.استادیار گروه مهندسی زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۳.استادیار گروه آبیاری و زهکشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۴. استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۶/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی، عوارض جانبی تنش کمبود آب و اثرات مفید استفاده از باکتری‌های محرک رشد به‌عنوان بیوپرایمینگ، این آزمایش گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح تنش کمبود آب (۱۰۰ درصد آبیاری کامل (به‌عنوان شاهد)، ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل) و بیوپرایم با ۸ سطح شامل عدم تلقیح باکتریایی (به‌عنوان شاهد) و تلقیح با باکتری‌هایی از جنس‌های *Mycobacterium* sp.، *Rhodococcus* sp.، *Pseudomonas putida*، *Bacillus* sp.، *Azotobacter sp.*، *Pseudomonas fluorescence* و *Corynebacterium* sp. در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که اثر باکتری و تنش کمبود آب بر تمامی صفات موردبررسی و اثر متقابل آن‌ها بر سطح و وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، حجم و سطح ریشه معنی‌دار بود. با افزایش تنش کمبود آب ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخه فرعی و فرعی گل‌دار، سطح و وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، حجم و سطح ریشه کاهش پیدا کرد، اما این کاهش در تیمارهای پرایم شده کمتر از شاهد بود. استفاده از تیمار باکتریایی بر وزن خشک و سطح برگ تحت تأثیر سطوح تنش کمبود آب قرار گرفت. بااین‌حال بیشترین سطح برگ در تیمار شاهد آبیاری مشاهده شد و تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل به ترتیب ۲۷/۵ و ۴۷/۹ درصد نسبت به شاهد آبیاری کاهش نشان دادند. روند کاهشی سطح برگ با افزایش تنش کمبود آب در سایر تیمارهای تلقیحی باکتری نیز دیده شد با این تفاوت که تیمارهای باکتریایی نسبت به شاهد توانستند اثر تنش کمبود آب را تعدیل کنند. با توجه به نتایج این آزمایش، در شرایط تنش کمبود آب استفاده از باکتری‌های مایکوباکتریوم، باسیلوس، ازتوباکتر و پسودوموناس فلورسنس به‌صورت بیوپرایمینگ می‌تواند شاخص‌های مورفولوژیک گیاه دارویی بادرشبو را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: **باکتری‌های ریزوسفری ارتقاء دهنده رشد، بهبود بذر، تنش خشکی، گیاهان دارویی**

مقدمه

با توجه به رشد روزافزون جمعیت جهان، تأمین غذای این جمعیت نیازمند افزایش تولید محصولات کشاورزی است. این افزایش تولید از دو طریق افزایش سطح زیر کشت محصولات کشاورزی و بالا بردن عملکرد در واحد سطح عملی است. با توجه به این‌که مساحت زمین‌های بدون محدودیت کاهش یافته است، به‌ناچار افزایش سطح زیرکشت مستلزم توسعه کشت به اراضی دارای درجات مختلف محدودیت مانند اراضی مناطق خشک و نیمه‌خشک است. این در حالی است که در بسیاری از نقاط کشور آب‌وخاک از عوامل محدودکننده تولید محصولات زراعی و باغی محسوب می‌شوند (Allard, 1960)؛ بنابراین ازآنجاکه افزایش سطح زیر کشت امکان‌پذیر نیست، استفاده از روشی جهت کاهش اثرات سوء خشکی ضروری

* نگارنده پاسخگو: عبدالرزاق دانش شهرکی. پست الکترونیک: ar_danesh2000@yahoo.com

است. شناسایی سازوکارهای تحمل به تنش خشکی در گیاهان از مهم‌ترین راهکارها برای کاهش اثرات مضر تنش خشکی در کشاورزی است. با شناسایی این سازوکارها و هم-چنین نحوه تأثیر تنش‌های محیطی بر رشد گیاهان، امکان دستیابی به روش‌های جدیدتر برای مقابله با این تنش‌ها فراهم می‌گردد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که باکتری‌های ریزوسفری مانند باسیلوس، پسودوموناس، آزوسپیریلوم و ازتوباکتر توانایی فوق‌العاده‌ای جهت بهبود رشد گیاه میزبان از طریق سازوکارهای مختلف نظیر تثبیت نیتروژن اتمسفری، استفاده از آمینوسیکلوپروپان ۱-کربوکسیلیک‌اسید به‌عنوان منبع نیتروژن، تولید سیدروفورها و یا ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه دارند. بنابراین می‌توانند به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر رشد گیاه اثر بگذارند. برخی از باکتری‌ها ریزوسفری نیز می‌توانند از طریق تحریک مسیرهای متابولیکی خاص مثل نیتروژن، فسفر، گوگرد، منیزیم، کلسیم و دیگر مواد غذایی، رشد گیاه را افزایش دهند (Naderi, 2012). یکی از این روش‌ها استفاده از باکتری‌های محرک رشد است که جزء منابع زیستی می‌باشند که به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر رشد گیاه اثر می‌گذارد (Glick et al., 1995).

با توجه به استقبال مردم جهان به‌خصوص در کشورهای پیشرفته به استفاده از گیاهان دارویی و مصرف روزافزون آن در صنعت داروسازی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی تقاضا برای این گیاهان رو به افزایش است (Abd El-Baky and El-Baroty, 2008). از طرفی کشور ما با توجه به تنوع آب و هوایی و امکان رویش اکثر گیاهان دارویی در آن، از فرصت طلایی جهت افزایش کشت گیاهان دارویی و حضور در بازارهای جهانی برخوردار است.

گیاه دارویی بادرشبو متعلق به خانواده نعناعیان، به دلیل داشتن اثرات ضدعفونی‌کننده، ضدویروسی و ضد قارچی در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی مورداستفاده قرار می‌گیرد. بادرشبو با نام علمی *Dracocephalum moldavica* L. از خانواده Labiatae و نام‌های فارسی بادرشبویه، بادرشبی و بادرشبو، گیاهی است علفی و یک‌ساله که تقریباً در هر اقلیمی قادر به رشد است. این جنس در ایران ۸ گونه علفی یک‌ساله و چندساله معطر دارد که از میان آن‌ها گونه‌های *moldavia*، *dracocephalum* و *kotschyi* مصرف دارویی دارند. ساقه، برگ و گل بادرشبو معطّر و دارای اسانس هستند که در آن‌ها ترکیباتی چون سیترال و استات ژرانیل وجود دارند. مواد مؤثر اندام رویشی این گیاه به‌عنوان قابض، پایین آورنده تب، تقویت‌کننده قلب، آرام‌بخش و اشتهاآور استفاده می‌شود (Omidbeigi, 2011).

با توجه به اهمیت و لزوم توسعه کشت گیاهان دارویی و وجود عوامل محدودکننده توسعه کشت این گیاهان به‌ویژه تنش‌های محیطی مانند خشکی ازیک‌طرف و با عنایت به گزارش‌های موجود مبنی بر اثرات مثبت استفاده از کودهای زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد در بهبود عملکرد و کیفیت گیاه این پژوهش با هدف بررسی اثر بیوپرایم بذر با برخی باکتری‌های ارتقادهنده رشد بر شاخص‌های مورفولوژیک و کیفیت گیاه دارویی بادرشبو تحت شرایط تنش کمبود آب طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار به‌صورت گلدانی در فضای آزاد محوطه گلخانه‌های تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح تنش کمبود آب (۱۰۰ درصد آبیاری کامل (به‌عنوان شاهد)، ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل) و بیوپرایم با ۸ سطح شامل عدم تلقیح باکتریایی (به‌عنوان شاهد) و تلقیح با باکتری‌هایی از جنس‌های *Rhodococcus* sp.، *Mycobacterium* sp.، *Pseudomonas putida*، *Bacillus* sp.، *Azotobacter* sp.، *Pseudomonas fluorescence* و *Corynebacterium* sp. در نظر گرفته شدند. مایه تلقیح باکتری‌های مورد آزمایش در تیمارهای تلقیحی با استفاده از محیط TSB و روش کدورت سنجی تهیه شد و به‌منظور اعمال تیمارهای تلقیحی بذور ضدعفونی شده به مدت ۲ ساعت در سوسپانسیون باکتریایی قرار داده شدند (Naderi, 2012).

به‌منظور اجرای آزمایش از گلدان‌های ۷ کیلوگرمی حاوی ۵ کیلوگرم خاک مزرعه استفاده شد. کود موردنیاز با توجه به نتایج آزمون خاک و نیاز غذایی بادرشبو (به میزان ۸۰ کیلوگرم نیتروژن از منبع اوره و ۲۰ تا ۳۰ کیلوگرم فسفر از سوپر فسفات تریپل) محاسبه و مصرف شد (Omidbeigi, 2011). فسفر و نیتروژن موردنیاز به ترتیب قبل از کاشت و به‌صورت محلول در آب آبیاری طی سه مرحله به خاک موردنظر اضافه گردید. برای تعیین نیاز آبیاری گیاه، ابتدا با نمونه‌برداری از خاک گلدان‌ها، رطوبت نقاط FC و PWP با

استفاده از دستگاه صفحات فشاری اندازه‌گیری شد (Farshi et al., 2003). سپس با در نظر گرفتن حد تخلیه مجاز ۵۰٪، حد پایینی رطوبت سهل‌الوصول محاسبه گردید. سپس برای تعیین عمق آبیاری و اعمال تنش‌های رطوبتی، رطوبت خاک در تیمارهای آبیاری کامل با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج لترون به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. زمانی که رطوبت خاک به حد پایینی رطوبت سهل‌الوصول رسید، عمق آب آبیاری بر اساس کمبود رطوبت خاک محاسبه و اعمال شد (Farshi et al., 2003). میزان آب موردنیاز برای تیمارهای تحت تنش نیز با توجه به میزان آب تیمار آبیاری کامل همان تیمار اعمال گردید؛ یعنی تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل به میزان ۷۵ درصد و ۵۰ درصد میزان آب مصرفی تیمار شاهد آب دریافت کردند.

در هر گلدان ۵ عدد بذر بادرشبو از رقم SKZ-1 که توسط مرکز تحقیقات دانشگاه کروینوس مجارستان اصلاح شد است، در اواخر اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۴ در عمق ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متری کشت و بلافاصله آبیاری انجام شد. پس از سبز شدن، تعداد بوته‌ها به ۳ عدد در هر گلدان کاهش یافت. تنش از مرحله ۴ برگی تا مرحله برداشت اعمال شد. در پایان دوره‌ی رشد، پس از برداشت ابتدا ارتفاع گیاه اندازه‌گیری شد. سپس تعداد شاخه‌های فرعی و فرعی گل‌دار شمارش شدند. قطر ساقه نیز با استفاده از دستگاه کولیس اندازه‌گیری شد، سپس قسمت‌های هوایی و ریشه برداشت‌شده به‌صورت جداگانه وزن شدند. پس از ریشه‌شویی و خارج‌سازی ریشه‌ها از خاک، حجم ریشه‌ها با استفاده از استوانه مدرج اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین وزن خشک قسمت هوایی و ریشه نیز از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰,۰۰۱ استفاده شد. درنهایت تجزیه‌وتحلیل داده‌های و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۰ صورت گرفت. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تلقیح باکتریایی و تنش کمبود آب بر ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد شاخه‌های فرعی گل‌دار، سطح برگ، وزن خشک برگ (جدول ۱)، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، حجم ریشه، سطح ریشه و نسبت ریشه به اندام هوایی (جدول ۲) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل تنش کمبود آب و تلقیح باکتریایی نیز بر سطح برگ، وزن خشک برگ (جدول ۱)، وزن خشک ساقه، حجم ریشه و سطح ریشه (جدول ۲) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید.

مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین و کمترین ارتفاع بوته به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ و ۵۰ درصد آبیاری کامل به دست آمد (جدول ۳). بررسی نتایج تحقیقات قبلی نیز نشان می‌دهد که ارتفاع بوته علاوه بر خصوصیات ژنتیکی، تحت تأثیر شرایط محیطی نظیر رطوبت، دما، تغذیه، کمیت و کیفیت نور قرار می‌گیرد. در شرایط تنش کم‌آبی به علت کاهش فشار هیدرواستاتیک لازم جهت رشد سلول‌ها، از طویل شدن سلول‌ها جلوگیری می‌شود و در نتیجه باعث کاهش ارتفاع، رشد و درنهایت عملکرد گیاه می‌شود (Shool et al., 2012). ارتفاع بوته در تیمارهای تلقیح باکتریایی نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳). از بین باکتری‌های موردبررسی، بیشترین ارتفاع بوته در تیمارهای تلقیحی مایکوباکتریوم و پسودوموناس پوتیدا به دست آمد که به ترتیب از افزایش ۲۹/۳ و ۲۶/۳ درصدی نسبت به تیمار شاهد برخوردار بودند. نتایج این مطالعه با نتایج طرفی (Torfi, 2015) بر گیاه بادرشبو مطابقت داشت. آن‌ها بیان کردند افزایش ارتفاع بوته در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد، تولید ACC دی‌آمیناز و یا IAA است. باست و همکاران (Baset et al., 2010) نیز نشان دادند که تیمارهای تلقیح باکتریایی به علت افزایش سطح و ظرفیت اندام فتوسنتز کننده (تعداد، سطح و میزان کلروفیل برگ) و به‌تبع آن افزایش مواد فتوسنتزی باعث افزایش ارتفاع گیاه گردید.

با افزایش شدت تنش کمبود آب، قطر ساقه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳)، با توجه به نتایج ارتفاع بوته می‌توان گفت که هرچه آب کمتری در اختیار گیاه قرار بگیرد ارتفاع گیاه کوتاه‌تر می‌شود و گیاه انرژی بیشتری را صرف افزایش قطر ساقه می‌کند، این نتایج با گزارش‌های بهرام زاده و همکاران (Bahramzadeh et al., 2013) بر گیاه زیره سبز مطابقت داشت. مقایسه میانگین اثر باکتری نیز بر قطر ساقه نشان داد که به‌طورکلی تیمارهای تلقیحی، قطر ساقه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (جدول ۳). در این میان تیمارهای تلقیحی پسودوموناس پوتیدا و پسودوموناس فلورسنس به ترتیب با افزایش ۴۳/۹ و ۴۰/۱ درصدی قطر ساقه نسبت به تیمار شاهد در سطح بالاتری قرار گرفتند. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد با تولید هورمون‌های محرک رشد، تولید ایندول استیک اسید و انحلال فسفات‌های فسفر و آهن توانایی رشدی گیاه را افزایش می‌دهند و سبب

افزایش قطر، ارتفاع، عملکرد و درنهایت بنیه گیاه می‌گردند (Naderi, 2012).

بیشترین و کمترین تعداد شاخه‌های فرعی به ترتیب در تیمار درصد ۱۰۰ (۱۸) و ۵۰ درصد (۱۵) آبیاری کامل مشاهده شد. بیشترین تعداد شاخه‌های فرعی گل‌دار نیز در تیمار آبیاری کامل مشاهده شد. متناسب با افزایش شدت تنش کمبود آب از تعداد شاخه‌های فرعی گل‌دار به‌طور معنی‌داری کاسته شد (جدول ۳). نتایج نوری و گلچین (Nori and Golchin, 2013) بر گیاه مرزه نیز نشان داد که با افزایش تنش کمبود آب تعداد شاخه‌های فرعی کاهش یافت. کاهش میزان آب در دسترس سبب کاهش پتانسیل فشاری درون سلول‌ها شده که این امر سبب کاهش سنتز دیواره سلولی و در نتیجه باعث کاهش حجم سلول‌ها می‌شود. کاهش حجم سلول‌ها سبب کاهش صفات مورفولوژیک از قبیل تعداد شاخه‌های جانبی و ارتفاع می‌شود (Kafi et al., 2009).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخه‌های فرعی، شاخه‌های فرعی گل‌دار، سطح برگ و وزن خشک برگ

Table 1. ANOVA results (mean square) of drought stress and bacterial inoculation effects on plant height (PH), stem diameter (SD), number of lateral branches (NB), number of lateral flowering branches (NFB), leaf area (LA) and leaf dry weight (LDW)

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته PH	قطر ساقه SD	تعداد شاخه فرعی NB	تعداد شاخه فرعی گل‌دار NFB	سطح برگ LA	وزن خشک برگ LDW
تکرار Block	2	76.87**	0.147*	17.52**	7.66**	4.86^{ns}	12.45**
تنش خشکی Drought stress (D)	2	68.01**	3.862**	37.61**	39.10**	1241.9**	66.39**
باکتری Bacteria (B)	7	154.05**	2.532**	8.78**	13.08**	675.24**	146.08**
باکتری*تنش خشکی B*D	14	2.44^{ns}	0.064^{ns}	0.14^{ns}	0.39^{ns}	53.33**	11.31**
خطا Error	46	6.18	0.034	0.969	1.09	5.68	1.63
ضریب تغییرات (٪) CV (%)		*4.72*	*3.58*	*5.75*	*6.84*	*7.35*	*9.66*

* و ** به ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد؛ ns: عدم وجود تفاوت معنی‌دار.

* and** indicate significant differences at 5% and 1% levels, respectively; ns: non significant.

همه‌ی تیمارهای تلقیح باکتریایی توانستند به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد تعداد شاخه‌های فرعی و فرعی گل‌دار را افزایش دهند، اگرچه این مقدار برای تیمار تلقیح باکتریایی کورینه باکتریوم نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. بیشترین تعداد شاخه فرعی، به ترتیب با افزایش ۲۱ و ۱۵ درصدی نسبت به شاهد، در تیمارهای تلقیحی مایکوباکتریوم و پسودوموناس فلورسنس به دست آمد (جدول ۳). بیشترین تعداد شاخه‌های فرعی گل‌دار نیز در تیمار باکتریایی مایکوباکتریوم به دست آمد که نسبت به شاهد تعداد شاخه فرعی گل‌دار را ۲۹/۶ درصد افزایش داد. نتایج این آزمایش با نتایج طرفی (Torfi, 2015) و جهانشاهی و همکاران (Jahanshahi et al., 2013) به ترتیب بر بادرشبو و گشنیز مطابقت داشت. علت افزایش شاخه‌زایی را می‌توان به تولید هورمون‌های محرک رشد، سیدروفورها، ایندول استیک اسید و انحلال فسفات نامحلول گزارش کردند. کاربرد تیمارهای باکتریایی در سطوح مختلف تنش کمبود آب سطح برگ و وزن خشک برگ را تحت تأثیر قرار داد (شکل‌های ۱ و ۲). درمجموع در شرایط عدم تلقیح باکتریایی بیشترین میزان سطح برگ در تیمار شاهد آبیاری مشاهده شد و در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل به ترتیب ۲۷/۵ و ۴۷/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱). این کاهش ایجادشده در سطح و وزن خشک برگ را می‌توان به جلوگیری از افزایش

رشد برگ در اثر کاهش فتوسنتز نسبت داد (shool et al., 2012). علاوه بر این خشکی از طریق کاهش فشار اسمزی منجر به کاهش رشد و تقسیم سلولی در گیاه مخصوصاً در برگ‌ها می‌شود، به همین دلیل اولین اثر مشهود در خشکی به‌صورت کاهش تعداد برگ، کوچک شدن اندازه برگ و درنهایت سطح برگ و وزن خشک برگ است. روند کاهشی سطح برگ در تیمارهای تنش کمبود آب در سایر تیمارهای تلقیحی باکتریایی نیز مشاهده شد با این تفاوت که باکتری‌ها با تعدیل اثر تنش کمبود آب توانستند میزان سطح برگ را نسبت به شاهد باکتریایی افزایش دهند به‌گونه‌ای که در تیمار باسیلوس و مایکوباکتریوم به ترتیب میزان افزایش سطح برگ تا ۱۱۳/۹۰ و ۱۰۶/۹ درصد نسبت به شاهد باکتریایی در شرایط نبود تنش مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر وزن خشک ساقه، ریشه، طول، حجم و سطح ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به ساقه

Table 2. ANOVA results (mean square) for drought stress and bacterial inoculation effects on shoot dry weight (SDW), root dry weight, root length, root volume and area, root to shoot dry weight ratio (R:S)

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک ساقه SDW	وزن خشک ریشه Root dry weight	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	سطح ریشه Root area	وزن خشک ریشه به ساقه R:S
تکرار Block	2	25.58**	0.70^{ns}	0.55^{ns}	190.6^{ns}	423806^{ns}	0.075**
تنش خشکی Drought stress (D)	7	190.07**	103.4**	81.9**	8585.3**	5362948**	0.031*
باکتری Bacteria (B)	2	76.68**	145.7**	115.4**	11234.2**	7460535**	0.32**
باکتری*تنش خشکی B*D	14	3.61**	1.53^{ns}	1.21^{ns}	318.26**	268496**	0.01^{ns}
خطا Error	46	1.17	0.81	0.64	125.32	596139	0.0068
ضریب تغییرات (٪) CV (%)		*5.78*	*5.28*	*5.3*	*10.71*	*14.42*	*8.9*

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and** indicate significant differences at 5% and 1% levels, respectively; ns: means non-significant

تیمارهای تلقیحی باکتریایی در شرایط متفاوت آبیاری اثرات مختلفی بر وزن خشک برگ داشتند (شکل ۲). در شرایط عدم تلقیح باکتریایی بیشترین میزان وزن خشک برگ در تیمار شاهد آبیاری مشاهده شد و تیمارهای تنش ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل به ترتیب ۲۲/۱ و ۳۰/۷ درصد کاهش نسبت به شرایط مطلوب آبیاری نشان دادند (شکل ۲). نتایج پژوهش حاضر با نتایج ارزانش و همکاران (Arzansh et al., 2012) بر ذرت همخوانی داشت، آن‌ها بیان کردند در شرایط تنش غیر زیستی تجمع ACC[1] افزایش پیدا می‌کند و ازآنجاکه ACC پیش‌ماده ساخت اتیلن است، بنابراین سنتز اتیلن کاهش پیدا می‌کند، افزایش غلظت اتیلن در گیاه می‌تواند مانع رشد و گسترش اندام هوایی شود و از این طریق رشد را کاهش دهد.

در هر یک از سطوح تنش خشکی نیز تلقیح باکتریایی سطح و وزن خشک برگ را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (شکل‌های ۱ و ۲). این نتایج نیز با نتایج عسگری و همکاران (Asgari et al., 2011) بر گیاه نعناع فلفلی و طرفی (Torfi, 2015) بر گیاه دارویی بادرشبو مطابقت داشت. افزایش سطح برگ در تیمارهای باکتریایی را می‌توان به توانایی تولید هورمون‌های گیاهی نسبت داد. روند افزایشی

[1]. Aminocyclopropane-1-Carboxylate

وزن خشک برگ در تیمارهای مایکوباکتریوم و باسیلوس با شدت بیشتری انجام گرفت. از طرفی روند افزایشی وزن خشک برگ با کاهش تنش کمبود آب در تیمار باکتریایی پسودوموناس پوتیدا دیده نشد و علت آن را می‌توان به نقش ویژه پسودوموناس پوتیدا در افزایش ارتفاع، تعداد شاخه‌های فرعی و فرعی گل‌دار و قطر ساقه گیاه نسبت داد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد شاخه‌های فرعی گل‌دار، سطح برگ و وزن خشک برگ

Table 3. Means comparison for effects of drought and bacterial inoculation on plant height (PH), stem diameter (SD), number of lateral branches (NB), number of lateral flowering branches (NFB), root dry weight (RDW) and length (RL)

تیمار Treatment	ارتفاع بوته PH (cm)	قطر ساقه SD (mm)	تعداد شاخه فرعی NB	تعداد شاخه فرعی گل‌دار NFB	وزن خشک ریشه RDW (g)	طول ریشه RL (cm)	وزن خشک ریشه به ساقه R:S
تنش خشکی Drought stress							
آبیاری کامل Full Irrigation	54.30^{a}	4.73^{c}	18.25^{a}	16.42^{a}	18.05^{a}	16.06^{a}	0.88^{b}
۷۵٪ آبیاری کامل 75% Full Irrigation	52.65^{b}	5.23^{b}	17.30^{b}	15.44^{b}	18.42^{a}	16.39^{a}	0.93^{b}
۵۰٪ آبیاری کامل 50% Full Irrigation	50.93^{c}	5.53^{a}	15.77^{c}	13.89^{c}	14.65^{b}	13.04^{b}	0.95^{a}
تلقیح باکتریایی Bacterial Inoculation							
شاهد Control	44.76^{f}	3.89^{d}	15.38^{d}	13.58^{e}	10.27^{f}	9.14^{f}	0.76^{f}
رودوکوکوس *Rhodococcus* sp.	53.75^{cd}	5.24^{c}	17.41^{b}	15.16^{bcd}	14.87^{e}	13.23^{e}	0.79^{def}
کورینه باکتریوم *Corynebacterium* sp.	51.52^{de}	5.28^{bc}	16.16^{cd}	14.52^{cde}	15^{e}	13.35^{e}	0.83^{de}
مایکوباکتریوم *Mycobacterium* sp.	57.68^{a}	5.19^{c}	18.67^{a}	17.50^{a}	16.77^{d}	14.31^{d}	0.74^{f}
باسیلوس *Bacillus* sp.	51.79^{de}	5.34^{bc}	17.16^{b}	15.4^{bc}	16.54^{d}	14.72^{d}	0.94^{c}
ازتوباکتر *Azotobacter* sp.	55.13^{bc}	5.31^{bc}	17.07^{bc}	14.22^{de}	22.96^{a}	20.44^{a}	1.25^{a}
پسودوموناس پوتیدا *Pseudomonas putida*	56.54^{ab}	5.60^{a}	17.22^{b}	16.02^{b}	21.08^{b}	18.77^{b}	1.16^{b}
پسودوموناس فلورسنس *Pseudomonas fluorescence*	49.84^{e}	5.45^{ab}	17.75^{ab}	15.60^{b}	19.5^{c}	17.35^{c}	0.85^{ef}

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند بر اساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

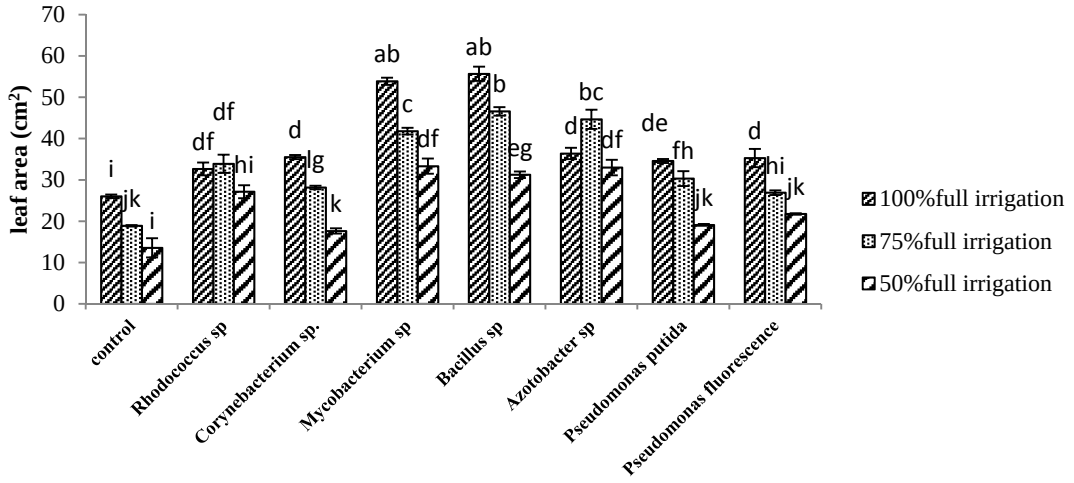
In each column, means followed with at least one similar letter(s) don't have significant differences at the 5% probability level based on LSD test.

تیمارهای تلقیح باکتریایی باسیلوس با تولید مقدار بالای اکسین می‌تواند تولید جیبرلین را تحریک کنند، لذا افزایش تولید برگ و اندام هوایی و در نتیجه افزایش زیست‌توده تحت تأثیر دوگانه اکسین و جیبرلین قرار می‌گیرد (Naderi, 2012). علاوه بر این باکتری‌های محرک رشد با گسترش سیستم ریشه‌ای، افزایش جذب آب و عناصر غذایی، تسهیل فرایند جذب و غلبه بر تنش‌های محیطی توانستند از کاهش وزن خشک برگ تا حدودی جلوگیری کنند.

واکنش وزن خشک ساقه به تیمارهای تلقیح باکتریایی محرک رشد در سطوح مختلف تنش کمبود آب متفاوت بود

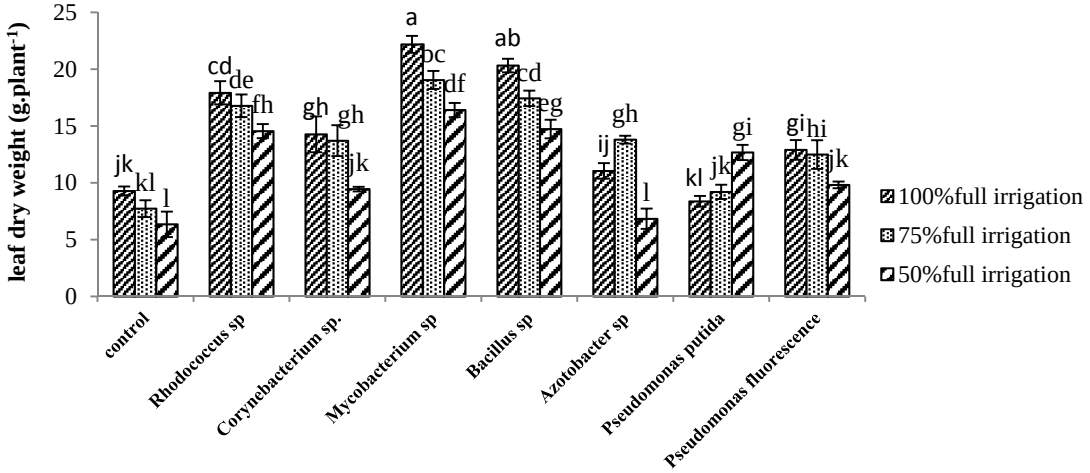
(شکل ۳)، در شرایط عدم تلقیح باکتریایی اعمال تنش کمبود آب منجر به کاهش وزن خشک ساقه گردید، به‌گونه‌ای که در تیمار ۵۰٪ آبیاری کامل ۲۰/۲ درصد کاهش وزن خشک ساقه نسبت به تیمار شاهد آبیاری مشاهده شد (جدول ۳). لباسچی و شریفی عاشورآبادی (Lebaschy and Sharifi Ashoorabadi, 2004) ضمن بررسی سطوح مختلف تنش کمبود آب در گیاهان دارویی اسفرزه، بومادران، مریم‌گلی، همیشه‌بهار و بابونه گزارش کردند با تشدید تنش خشکی وزن اندام‌های هوایی و ارتفاع بوته در همه‌ی گیاهان موردمطالعه کاهش یافت. جذب مواد غذایی از خاک با میزان رطوبت خاک ارتباط مستقیم دارد به‌گونه‌ای که با کاهش رطوبت خاک جریان انتشاری مواد غذایی از خاک به ریشه کاهش می‌یابد و به دنبال آن انتقال به ساقه کم شده و در نتیجه وزن ساقه کاهش پیدا می‌کند (Arndt et al., 2001).

بیشترین میزان وزن خشک ساقه در تیمار باکتریایی پسودوموناس فلورسنس مشاهده شد که در شرایط تنش ۷۵٪ آبیاری کامل نیز بهترین عملکرد را نسبت به سایر تیمارها نشان داد و بعدازآن تیمار باکتریایی باسیلوس بیشترین وزن خشک ساقه را به خود اختصاص داد (جدول ۳). بررسی‌ها نشان می‌دهد که این باکتری‌ها به دلیل داشتن توانایی در تولید IAA وزن خشک ساقه و برگ را تحت تأثیر قرار می‌دهد.



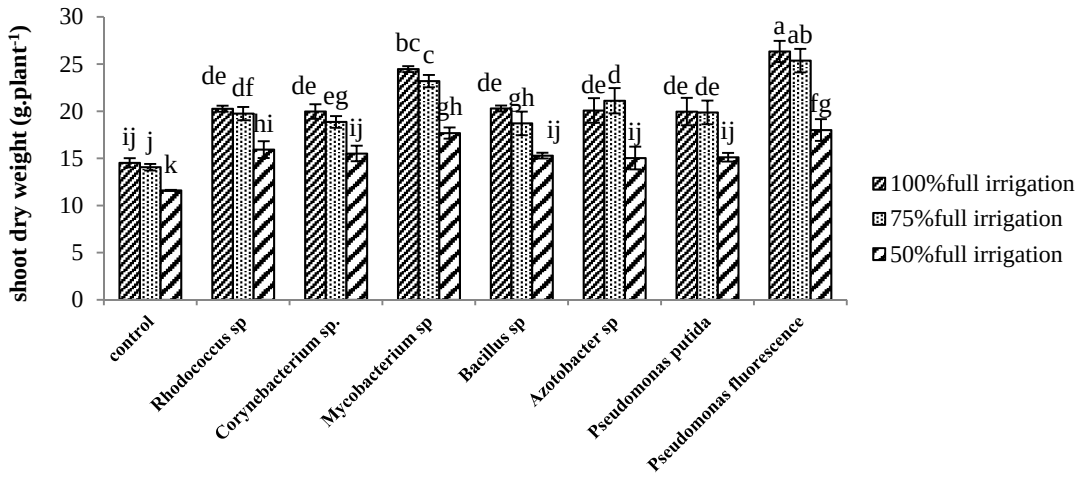
شکل ۱. اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر سطح برگ

Fig 1. Interaction effect of drought stress and bacterial inoculation on leaf area



شکل ۲. اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر وزن خشک برگ

Fig 2. Interaction effect of drought stress and bacterial inoculation on leaf dry weight



شکل ۳. اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر وزن خشک ساقه

Fig 3. Interaction effect of drought stress and bacterial inoculation on stem dry weight

بیشترین و کمترین وزن ریشه به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ و ۵۰ درصد آبیاری کامل مشاهده شد (جدول ۳). نتایج تحقیقات قبلی نیز نشان می‌دهد که با محدود شدن مقدار آب خاک، رشد ریشه و در نتیجه وزن آن کاهش پیدا می‌کند، ظاهراً تنش کم‌آبی زیاد باعث می‌شود ریشه‌ها به خواب‌رفته و رشد دوباره آن‌ها پس از آبیاری مجدد کند شود (Keshahvarznia et al., 2015).

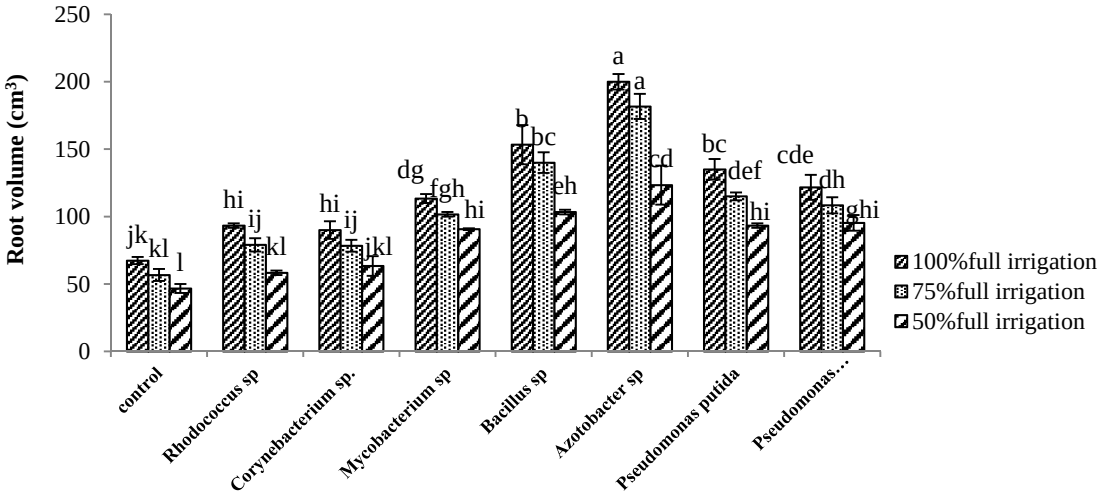
وزن خشک ریشه در تیمارهای تلقیحی باکتری‌های ازتوباکتر و پسودوموناس پوتیدا نسبت به شاهد به ترتیب ۱۲۳/۵ و ۱۰۵/۳ درصد افزایش نشان دادند (جدول ۳). افزایش وزن خشک ریشه در تیمار تلقیح باکتریایی را می‌توان به هورمون‌های گیاهی ترشح‌شده از این باکتری‌ها بالأخص اکسین که سبب افزایش طول ریشه و تقسیم سلولی می‌شود، نسبت داد که الگوی تخصیص مواد فتوسنتزی را در گیاهان تغییر می‌دهد و از این طریق روی رشد ریشه تأثیر می‌گذارد و در نتیجه ریشه‌های انبوه با انشعابات فراوان تولید می‌کنند (Hagh Bahari and Seyed Sharifi, 2014).

بیشترین و کمترین میزان طول ریشه در تیمار ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری مشاهده شد (جدول ۳). نوری و گلچین (Nori and Golchin, 2013) نیز گزارش کردند در گیاه دارویی مرزه با افزایش شدت تنش کم‌آبی وزن خشک و طول ریشه‌ها کاهش یافت. تیمارهای تلقیحی باکتری‌های ازتوباکتر و پسودوموناس پوتیدا نیز به ترتیب طول ریشه را از ۹/۱ با ۲۰/۴ و ۱۸/۸ افزایش دادند (جدول ۳) که با نتایج بانچیو و همکاران (Banchio et al., 2008) بر آویشن مطابقت داشت. بررسی‌ها نشان می‌دهد که باکتری‌های محرک رشد با تولید ایندول استیک‌اسید سبب آغاز ریشه‌دهی، تقسیم سلولی، طویل شدن سلول و افزایش سطح ریشه می‌گردند.

حجم و سطح ریشه در تیمارهای تلقیحی باکتریایی تحت تأثیر سطوح مختلف تنش کمبود آب قرار گرفتند (شکل‌های ۴ و ۵)، در شرایط عدم تلقیح باکتریایی، تیمار تنش ۵۰ درصد آبیاری کامل به ترتیب با کاهش ۳۰/۷ و ۹۹/۹ درصدی نسبت به شاهد آبیاری کمترین میزان حجم و سطح ریشه را داشتند. به نظر می‌رسد بیشترین تأثیر خشکی بر ویژگی‌های رشد ریشه به دلیل کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش جذب آب و انتقال عناصر غذایی است. کاهش رطوبت در منطقه ریزوسفر، ازیک‌طرف منجر به کاهش تولید و انتقال آسیمیلات‌ها به ریشه‌ها شده و از طرف دیگر افزایش تقاضا برای دریافت مواد فتوسنتزی توسط دانه‌های در حال رشد باعث شده ویژگی‌هایی مانند حجم، سطح و وزن خشک ریشه کاهش پیدا کنند (Ganjeali and Bagheri, 2011).

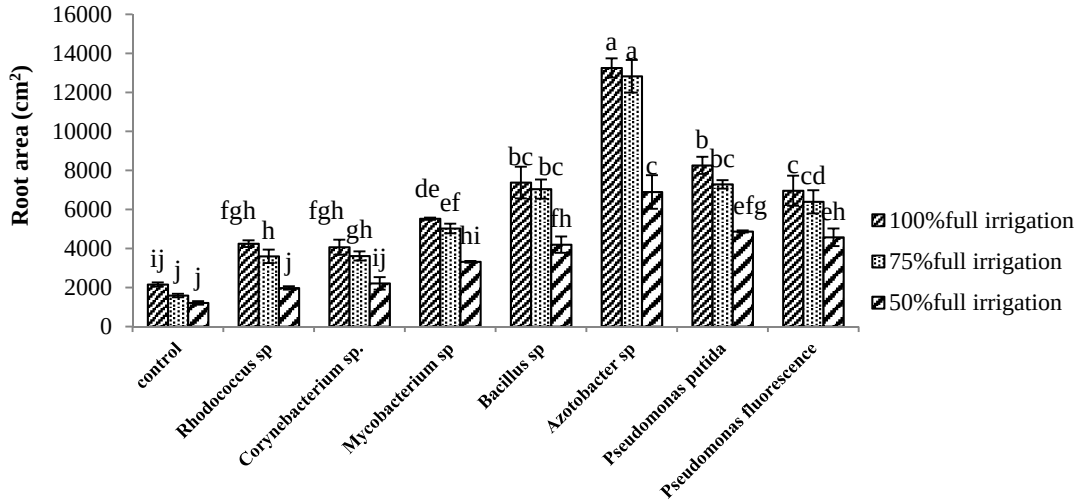
بیشترین حجم ریشه در تیمار باکتریایی ازتوباکتر با میزان ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب مشاهده شد. باسیلوس نیز با افزایش ۱۲۷/۷ درصدی حجم ریشه نسبت به شاهد در گروه آماری دوم قرار گرفت (جدول ۳). بررسی‌ها نشان می‌دهد باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن باعث افزایش سطح جذب رطوبت شده و با ایجاد شبکه گسترده‌ی ریشه، جذب آب و انتقال مواد غذایی را افزایش داده و به دنبال آن حجم ریشه افزایش و

منجر به افزایش عملکرد گیاه در شرایط تنش خشکی می‌شود (Asgari et al., 2011). مک نیل و همکاران (Mc Neill et al., 2009) نیز بیان کردند که جیبرلین سبب افزایش توسعه بافت گیاهی به‌خصوص بافت ساقه و طویل شدن ریشه و گسترش ریشه‌های جانبی می‌گردد، آن‌ها تولید جیبرلین توسط باکتری‌های ازتوباکتر و باسیلوس را به اثبات رساندند.



شکل ۴. اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر حجم ریشه

Fig 4. Interaction effect of drought stress and bacterial inoculation on root volume



شکل ۵. اثر متقابل تنش خشکی و تلقیح باکتریایی بر سطح ریشه

Fig 5. Interaction effect of drought stress and bacterial inoculation on root area

در شرایط آبیاری مطلوب استفاده از تیمارهای باکتریایی سطح ریشه به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت، به‌طوری‌که تیمارهای باکتریایی ازتوباکتر و پسودوموناس پوتیدا به ترتیب با افزایش ۵۱۵/۵ و ۲۸۳/۶ درصدی نسبت به تیمار شاهد بیشترین میزان سطح ریشه را به خود اختصاص دادند. روند کاهش سطح ریشه با افزایش سطح تنش کمبود آب در تیمار-های باکتریایی نیز مشاهده شد، با این تفاوت که سطح ریشه در تنش ۷۵٪ آبیاری کامل برای تمامی تیمارهای باکتریایی با تیمار شاهد آبیاری تقریباً برابری می‌کند و اختلاف بین این دو تیمار قابل‌اغماض است (جدول ۳).

بیشترین و کمترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه به ترتیب در تیمار ۵۰ و ۱۰۰ درصد آبیاری کامل مشاهده شد (جدول ۲). کاهش نسبت اندام هوایی به ریشه یک سازوکار مقابل با تنش خشکی در دسترسی بیشتر به رطوبت قابل‌استفاده خاک است. نتایج مقایسه میانگین نشان داد ازتوباکتر و پسودوموناس پوتیدا به ترتیب افزایش ۶۴/۵ و ۵۲/۶ درصدی نسبت به شاهد داشتند و مایکوباکتریوم با کاهش ۲/۶۳ درصدی نسبت به شاهد کمترین میزان را دارا بود (جدول ۲) که با نتایج خاکشور و همکاران (Khakshoor et al., 2011) بر گیاه شوید مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری‌های محرک رشد می‌توانند نسبت به شاهد، تمامی صفات مورفولوژیکی گیاه دارویی بادرشبو را افزایش دهند، این باکتری‌ها با سازوکارهای مستقیم و غیرمستقیمی بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارند. از مهم‌ترین این باکتری‌ها در این تحقیق می‌توان به مایکو باکتریوم، باسیلوس، پسودوموناس و ازتوباکتر اشاره کرد که توانایی فوق‌العاده‌ای جهت بهبود رشد گیاه میزبان از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفری، استفاده از آمینوسیکلوپروپان ۱-کربوکسیلیک‌اسید به‌عنوان منبع نیتروژن، تولید سیدروفورها و یا ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه دارند. تیمار باکتریایی ازتوباکتر با توانایی تثبیت نیتروژن در افزایش رشد و توسعه ریشه نقش بسزایی ایفا کرد، این باکتری در مناطق خشک و نیمه‌خشک در گسترش رشد ریشه جهت جذب آب بیشتر از مناطق عمیق‌تر مؤثر است. با توجه به اقلیم خشک و نیمه‌خشک و محدودیت منابع آبی کشور، به‌کارگیری این تیمارهای بیولوژیک به‌صورت بیوپرایمینگ می‌تواند شاخص‌های مورفولوژیک گیاه دارویی بادرشبو را بهبود بخشد.

منابع

Abd El-Baky, H., El-Baroty, G., 2008.Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.). International Journal of Integrative Biology. 3, 202-208.

Allard, A.W., 1960. Principles of Plant Breeding. John Wiley and Sons. New York.

Ansari Jovini, M., Chaichi, M.R., Keshavarz Afsahr, R., Ehteshami, M.R., 2011. Effects of different plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) application methods on forage production in sorghum. Iranian Journal of Field Crop Science. 2, 329-337. [In Persian with English Summary].

Arndt, S.K.K., Clifford, S.C., Wanek, W., Jones, H.G., Popp, M., 2001. Physiological and morphological adaptations of the fruit tree *Ziziphuros tundifolia* in response to progressive drought stress. Tree Physiology. 21, 705-715.

Arzanesh, M.H., Benny Aghil, N., Ghorbanly, M.L., Shahbazi, M., 2012. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters and levels of micronutrient on rapeseed cultivars under salinity stress. Journal of Soil Management and Sustainable, 2(2), 153-164. [In Persian with English Summary].

Asgari, M., Habibi, D., Naderi, GH., 2011. Effect of vermi compost, plant growth promoting rhizobacteria and humic acid on growth factors of *Mentha piperita* L., in Central Province. Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding. 4, 41-54. [In Persian with English Summary].

Bahramzadeh Aliabad, A., Ramroudi, M., Galavi, M., 2013. Effects of manures and chemical fertilizers and their interaction on qualitative and quantity characteristics of *Cuminum cyminum* under drought, the National Conference on medicinal plants, Amol, Islamic Azad University, Science and Research-Ayatollah Amoli, 29-38. [In Persian].

Banchio, E., Bogino, P.C., Zygadlo, J. Giordano, W., 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Organum majorana* L. Biochemical Systematics and Ecology. 36, 766-771.

Baset, M., Shamsuddin, Z., Marziah, M., 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth and nitrogen incorporation of tissue-cultured Musa plantlets under nitrogen-free hydroponics condition. Australian Journal of Crop Science. 4(2), 85-90.

Farshi, A.J. Khirabi, A., Siadat, H., Mirlatifi, M., Darbandi, M., Salamat, A.R., Entesari, M.R. Sadatmirei, M.H., 2003. Irrigation Water Management in Farm Fields. Iranian National Committee on Irrigation and Drainage, Tehran. 178p. [In Persian].

Glick, B.R., Jacobson, C.B., Schwarze, M.M.K., Pasternak, J.J., 1995. 1- Aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12–2 do not stimulate canola root elongation. Canadian Journal of Microbiology. 40, 911–915.

Ganjeali, A. Bagheri, A. 2011. Evaluation of morphological characteristics of root chickpea (*Cicer arietinum* L.) in response to drought stress. Iranian Journal of Puless Research. 101-110. [In Persian with English Summary].

Hagh Bahari, M., Seyed Sharifi, R., 2014. Study of quantitative and qualitative yield, chlorophyll content and some growth indices of wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to seed inoculation whit PGPR at different levels of soil salinity. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture. 5(18), 51-65. [In Persian with English Summary].

Jahanshahi, Sh., Zadehbagheri, M., Aboutalebi, A., 2013. Effect of vermi compost, azotobacter and barvar II on some quantitative and qualitative traits of coriander (*Coriandrum sativum* L.) medicinal plant. Journal of Crop Production Research, 4(4), 200-211[In Persian with English Summary].

Kafi, M., Zand, A., Kamkar, B., Mahdavi, A., Abbasi, F., 2009. Plant Physiology. University of Mashhad Publication. 676p. [In Persian]

Keshahvarznia, R., Shahbazi, M., Mohammadi, V., Hosseini Salekdeh, G., Ahmadi, A., Mohseni-Fard, E., 2015. The impact of barley root structure and physiological traits on drought response. Iranian Journal of Field Crop Science. 4, 553-563. [In Persian with English Summary].

Khakshoor, Z., Lahouti, M., Ganjeali, A., 2011. Effects of drought stress induced by polyethylene glycol on germination and morphophysiological characteristics of dill (*Anethum graveolens* L.), Journal of horticulture science. 25(2), 185-193. [In Persian with English Summary].

Lebaschy, M.H., Sharifi Ashoorabadi, E., 2004. Growth indices of some medicinal plants under different water stresses. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 20(3), 249-261. [In Persian with English Summary].

Mc Neill, A., Richardson, A., Barea, J., Combaret, C., 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Internarial Journal of Plant and Soil science. 321, 305-339.

Naderi, M.R., 2012. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on phytoremediation of lead by sunflower in a Pb-bearing soil for long-term. M.Sc. thesis of Agroecology. Shahrekord University. Faculty of Agriculture. [In Persian with English Summary].

Nori, M., Golchin, A., 2013. The effect of irrigation intervals and nitrogen levels on growth and yield of essential oil of savory. National Conference on Medicinal Plants. 9-15. [In Persian].

Omidbeigi, R., 2011. Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Quds Razavi Publication. 438 pp. [In Persian]

Shool, A., Shamshiri, M.H., Akhgar, A.R., Esmaeilizadeh, M., 2012. Effect of arbuscular rmycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescence* on vegetative growth of pistachio seedlings (*Pistacia vera* cv. Qazvini) under four different irrigation regimes, Iranian Journal of Horticaltural Sciences. 3, 297-307[In Persian with English Summary].

Torfi, V., 2015. Effect of biopriming treatments on the germination improvement, growth and biological yield of the moldavian balm. M.Sc. thesis of Seed Science and Thechnology, Shahrekord University, Faculty of Agriculture. [In Persian].