اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر صفات مرفولوژیک و میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)

وفا طرفی[1]، عبدالرزاق دانش شهرکی[2]* و کرامت‌الله سعیدی[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه شهرکرد

۲*- **نویسنده مسئول:** استادیار، گروه مهندسی زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد (ar_danesh2000@yahoo.com)

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۰۲

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر تیمار بیولوژیک بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه بر شاخص‌های مرفولوژیک و میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو، آزمایشی به صورت بلوک‌های کامل تصادفی با ۸ تیمار و ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد اجرا گردید. عدم تلقیح باکتریایی به‌عنوان تیمار شاهد و تلقیح جداگانه بذور با باکتری‌های محرک رشد شامل *Rhodococcus* sp.، *Corynebacterium* sp.، *Mycobacterium* sp.، *Bacillus* sp.، *Azotobacter* sp.، *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas fluorescens* به‌عنوان تیمارهای باکتریایی در نظر گرفته شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که تیمارهای تلقیح باکتریایی بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، تعداد سرشاخه گلدار، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، عملکرد بیولوژیک، سرعت رشد گیاه، سطح برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، درصد اسانس و عملکرد اسانس اثر معنی‌داری داشتند. تیمار تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp. بیشترین تأثیر را بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های فرعی، وزن خشک برگ و ساقه، تعداد سرشاخه گلدار، عملکرد بیولوژیک وکلروفیل b داشت. تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. بیشترین تأثیر را بر وزن خشک برگ، تعداد سرشاخه گلدار، سطح برگ، درصد و عملکرد اسانس داشت. بیشترین سرعت رشد گیاه و هم‌چنین بالاترین میزان کلروفیل a در تیمار تلقیح باکتریایی *Rhodococcus* sp. مشاهده گردید. در مجموع تیمارهای *Bacillus* sp.، *Mycobacterium* sp.، *Rhodococcus* sp. و *Pseudomonas putida* بیشترین تأثیر را بر صفات مورد بررسی داشتند. از آنجا که هدف از تولید اغلب گیاهان دارویی استحصال بالاترین درصد اسانس و عملکرد بیولوژیک می‌باشد، با توجه به نتایج این پژوهش، در مجموع استفاده از تیمارهای تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. و *Mycobacterium* sp. به صورت بیوپرایمینگ جهت افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بادرشبو توصیه می‌گردد.

کلید واژه‌ها: بادرشبو، بیوپرایمینگ، کود زیستی، سرعت رشد گیاه، کلروفیل.

مقدمه

امروزه علی‌رغم پیشرفت و توسعه چشمگیر کاربرد داروهای شیمیایی، هم‌چنان گیاهان دارویی و شکل‌های مختلف دارویی حاصل از آن‌ها به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده و استقبال قرار می‌گیرند. گیاه دارویی بادرشبو با نام علمی *Dracocephalum moldavica* L. و نام‌های فارسی بادرشبی و بادرشبویه، در تعدادی از دارونامه‌ها به‌عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده است. این گیاه متعلق به تیره نعناعیان، علفی، یک‌ساله، دارای ساقه چهارگوش و ارغوانی است. گل و پیکر رویشی بادرشبو معطّر هستند. تمام اندام گیاه بادرشبو حاوی اسانس است؛ اگرچه مقدار آن در قسمت‌های مختلف

متفاوت می‌باشد. گل‌ها و پیکر رویشی بادرشبو دارای بیشترین درصد اسانس می‌باشند (Yousefzadeh *et al.*, 2013). از عصاره بادرشبو برای رفع سردرد، سرماخوردگی، ضعف عمومی بدن، به‌عنوان مسکن در دردهای عصبی و اسپاسم‌های معدی و کلیوی، برای شستشوی دهان استفاده می‌شود. هم‌چنین می‌توان از آن به‌عنوان ضماد در دردهای رماتیسمی استفاده کرد. با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، نکته قابل توجه در تولید این گیاهان، افزایش تولید زیست‌توده آن‌ها بدون کاربرد نهاده‌های شیمیایی است. در همین راستا، استفاده از گونه‌های میکروبی همیار با گیاهان دارویی در بهبود عملکرد و کیفیت آن‌ها مؤثر خواهد بود. در این رابطه مشخص شده است که باکتری‌های محرک رشد می‌توانند رشد گیاه را با ساز و کارهای مختلفی افزایش دهند (Abbas-zadeh *et al.*, 2012). امروزه مکانیسم‌های مستقیم اثربخشی انواع باکتری‌های مانند تولید فیتوهورمون‌ها، یونوفورها، افزایش دسترسی گیاه از طریق آنزیمی و غیرآنزیمی فسفات‌های نامحلول آلی و معدنی، توسعه سیستم ریشه‌ای، فعالیت‌های آنزیمی مانند ACC- د آمیناز و تولید ریزوبیتوکسین به‌منظور کاهش اثرات سوء اتیلن استرسی و افزایش گره‌زایی و نهایتاً تثبیت بیولوژیک ازت مولکولی به اثبات رسیده است. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه با تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین و تولید ACC- د آمیناز، باعث افزایش وزن ریشه، افزایش رشد طولی و انشعابات فرعی، تولید ریشه‌های نازک‌تر و افزایش تولید تارهای کشنده و در نتیجه افزایش سطح ریشه و جذب آب و عناصر غذایی می‌شوند (Sarcheshmeh poor *et al.*, 2014). علاوه براین باکتری‌های حل‌کننده فسفات هم که در ریزوسفر به وفور یافت می‌شوند، با ترشح اسیدهای آلی و فسفاتازها قادرند ترکیبات فسفاتی غیرمحلول را به شکل قابل استفاده برای گیاهان در آورند. بنابراین تلقیح گیاهان با این میکروارگانیسم‌ها باعث افزایش جذب فسفر شده و به تبع آن رشد گیاهان افزایش‌می‌یابد (Abbas-zadeh *et al.*, 2012).

مطالعات نشان داده است که کاربرد باکتری‌هایی مثل ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و جایگزینی آن‌ها با تنظیم کننده‌های رشد شیمیایی، در بهبود رشد و ترکیب اسانس گیاه مریم گلی[1] کارایی بالایی داشت (Youssef *et al.*, 2004). Leithy و همکاران (۲۰۰۶) نیز اثر ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس و برخی ترکیبات عمده آن را در گیاه رزماری مثبت گزارش کردند. El-Ghadbane و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که در نتیجه مصرف کودهای زیستی، رشد گیاه و عملکرد روغن رازیانه افزایش یافت. علاوه براین کیفیت ترکیبات شیمیایی آن نیز تغییر کرد. تأثیر کودهای زیستی بر رشد گیاه دارویی آویشن باغی[2] (Vital *et al.*, 2002) و نعناع[3] (Kaymak *et al.*, 2008) نیز مثبت ارزیابی شده است.

با توجه به اهمیت سلامت محیط زیست، سلامت غذایی جامعه و حفظ بستر تولید و باروری سیستم‌های کشاورزی، لازم است که در بهره‌گیری از روش‌های رایج تجدید نظر شود و توجه بیشتری به روش‌های نوین و سازگار با محیط‌زیست معطوف گردد. در این رابطه استفاده از کودهای بیولوژیک و بیوپرایمینگ به ویژه استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاهی به جای مصرف کودهای شیمیایی از مهم‌ترین راهبردهای تغذیه‌ای در مدیریت پایدار بوم نظام‌های کشاورزی به شمار می‌روند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات تیمارهای تلقیح باکتریایی بر صفات مرفولوژیک و میزان اسانس گیاه دارویی بادرشبو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۸ تیمار و سه تکرار در سال ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تیمار بیولوژیک بیوپرایم با ۸ سطح

1- *Salvia officinalis*
2- *Thymus vulgaris* L.
3- *Mentha piperita* L.

تلقیح باکتریایی شامل عدم تلقیح باکتریایی (شاهد)، تلقیح با هفت گونه باکتریایی *Bacillus* sp.، *Mycobacterrium* sp.، *Rhodococcus* sp.، *Corynebacterium* sp.، *Azotobacter* sp.، *Pseudomonas fluorescens*، *Pseudomonas putida* بودند. باکتری‌های اول تا چهارم از پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه شهرکرد، باکتری‌های پنجم و ششم از بانک میکروب ایران و باکتری هفتم از موسسه انسیتوپاستور ایران تهیه شدند. به‌منظور انجام آزمایش، بذور بادرشبو رقم اصلاح شده SZK-1، ابتدا با اتانول ۷۰٪ به مدت ۱۰ ثانیه ضدعفونی و بعد از شستشو با آب مقطر، با محلول هیپوکلرید ۲٪ به مدت ۱۰ دقیقه استریل و سپس چند بار با آب مقطر شستشو شدند. بذور استریل شده به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق، در آب مقطر (برای تیمار شاهد) یا سوسپانسیون باکتریایی (برای تیمارهای تلقیحی) که میزان جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر برای دستیابی به تراکم مایه‌ی تلقیح ۵×۱۰^{۸} واحد تشکیل‌دهنده کلونی (CFU) بر میلی‌لیتر روی ۰/۵ تنظیم گردید بود، فرو برده شدند (Burd *et al.*, 1998). بذور تلقیح شده در تاریخ ۲۵ فروردین‌ماه ۱۳۹۳ در کرت‌هایی با ۴ خط کشت به فاصله ردیف ۴۰ سانتی‌متر و فاصله بوته ۲۰ سانتی‌متر کشت گردید. فاصله بین تکرارها و کرت های مجاور نیز یک متر در نظر گرفته شد. قبل از شروع آزمایش، به‌منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، پس از نمونه‌برداری و تهیه نمونه مرکب، خصوصیات خاک در آزمایشگاه خاک‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهار محال و بختیاری ارزیابی گردید. نتایج آزمون خاک در جدول (۱) ارایه شده است.

به‌منظور جلوگیری از سله بستن خاک، پس از کشت و تا قبل از سبز شدن گیاه، آبیاری‌ها به‌طور مرتب دو روز یک‌بار انجام شد. پس از سبز شدن کامل گیاهچه‌ها آبیاری‌ها مطابق با نیاز گیاه با شیلنگ و با دبی و زمان یکسان برای همه کرت‌ها صورت گرفت. وجین علف‌های هرز نیز طی سه مرحله انجام شد. به‌منظور محاسبه شاخص‌هایی چون سرعت رشد گیاه و سطح برگ، از ۲۰ روز قبل از شروع گلدهی دو نمونه‌برداری به فاصله ۱۴ روز صورت گرفت. هم‌چنین پس از برداشت نهایی (در مرحله‌ی گلدهی کامل و در تاریخ ۲۵ مرداد ۱۳۹۳)، شاخص‌هایی از قبیل ارتفاع بوته، وزن خشک برگ و ساقه، تعداد شاخه‌های فرعی و تعداد سرشاخه‌های گلدار در هر بوته، عملکرد بیولوژیک، میزان کلروفیل a و b، درصد و عملکرد اسانس اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان غلظت کلروفیل برگ، از روش پیشنهادی Wellburn (۱۹۹۴) استفاده شد. برای اسانس‌گیری از اندام‌هوایی گیاه در مرحله گلدهی کامل مقدار ۵۰ گرم از نمونه‌های حاصل از هر واحد آزمایشی را آسیاب کرده و سپس با روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری انجام شد. از سولفات سدیم خشک جهت آبگیری نمونه‌ها استفاده شد. درصد اسانس به صورت وزنی/ وزنی تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS و هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1. Some chemical properties of soil in experimental site

Cu $mg.kg^{-1}$	Fe $mg.kg^{-1}$	Mn $mg.kg^{-1}$	Zn $mg.kg^{-1}$	N %	K_{ava} $mg.kg^{-1}$	P_{ava} $mg.kg^{-1}$	T.N.V. %	O.C %	pH	EC $dS.m^{-1}$	عمق خاک Soil Depth
0.98	6.27	9.38	0.69	0.166	592	86.3	33.5	1.541	7.69	1.581	0-30

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر ارتفاع، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، تعداد سرشاخه‌های گلدار و عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال ۱٪ و بر تعداد شاخه‌های فرعی در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری داشت.

ارتفاع بوته

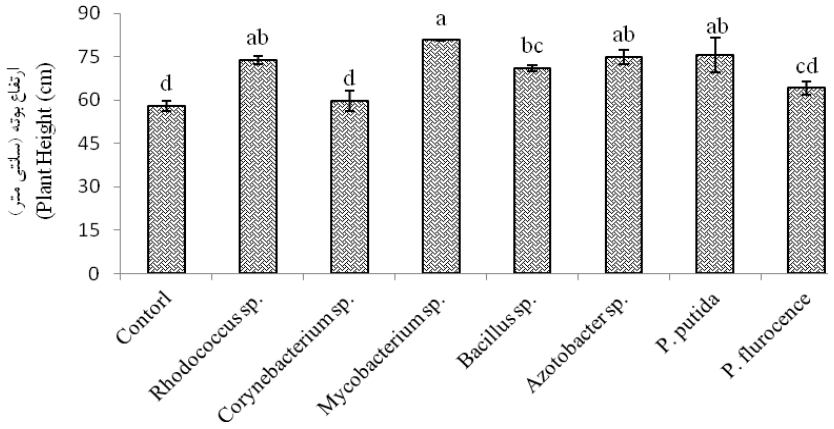
با توجه به شکل (۱)، تیمارهای تلقیحی *Rhodococcus* sp.، *Mycobacterium* sp.، *Azotobacter* sp. و *Pseudomonas putida* بیشترین ارتفاع بوته گیاه را به خود اختصاص دادند که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند. این تیمارهای تلقیح باکتریایی ارتفاع بوته را به ترتیب ۳۹/۳، ۲۷/۳، ۲۹/۱ و ۳۰/۳ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. Sheikhi-Ghahfarokhi و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کرد که تلقیح بذور گیاه دارویی همیشه‌بهار با تیمارهای باکتریایی *Azotobacter* sp. و *Pseudomonas putida* ارتفاع بوته را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. Rajaei و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کاربرد ازتوباکتر سویه‌ی AZT-13 با تولید مقدار ۷۰ میلی‌گرم بر لیتر ایندول استیک اسید (IAA)، منجر به افزایش ارتفاع بوته گندم از ۳۵/۵ در تیمار شاهد به ۴۲/۷ سانتی‌متر شد.

تعداد شاخه‌های فرعی

بیشترین تعداد شاخه‌های فرعی مربوط به تیمار تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp. می‌باشد که با سایر تیمارهای تلقیح باکتریایی به جز *Rhodococcus* sp. فاقد اختلاف معنی‌دار بود (شکل ۲). هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که همه‌ی تیمارهای تلقیح باکتریایی توانستند به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد تعداد شاخه‌های فرعی را افزایش دهند.

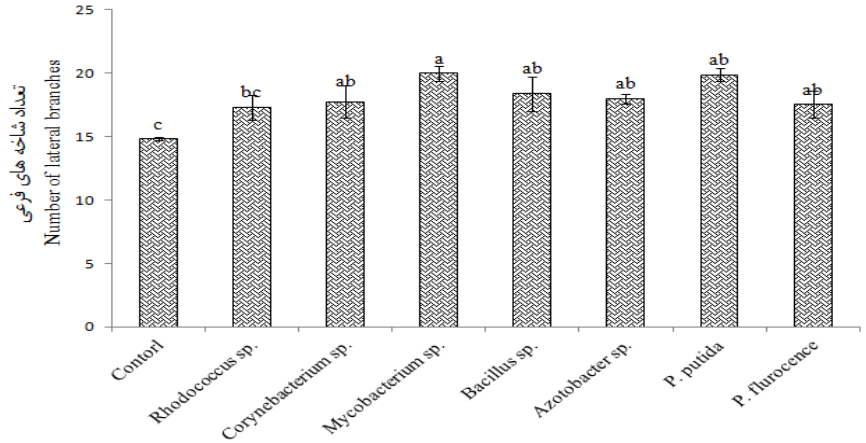
Kandeel و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که کاربرد ازتوباکتر و آزوسپریلیوم با نصف مقدار مطلوب کود نیتروژن در گیاه ریحان ارتفاع، تعداد شاخه‌های جانبی، وزن خشک و تر برگ و ریشه‌ها را افزایش داد. احتمالاً باکتری‌های محرک رشد با تغییر در ساختار سیستم ریشه‌ای سبب بهبود جذب عناصر غذایی، تخصیص کربوهیدرات‌ها به ریشه، کاهش فعالیت پراکسیداز ریشه و سنتز پروتئین‌های جدید شده و در نتیجه سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (Saghafi *et al.*, 2013).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که این میکروارگانیسم‌ها قادرند علاوه‌بر تولید هورمون‌های محرک رشد، بواسطه تولید اسیدهای آلی، سیدروفورها و ترشح فسفاتازها، قابلیت دسترسی گیاه به عناصر غذایی و به تبع آن رشد و شاخه‌دهی را افزایش دهند (Naderi, 2012؛ Sheikhi-Ghahfarokhi *et al.*, 2014).



شکل ۱- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر ارتفاع بوته

Fig. 1. Effect of bacterial inoculation treatments on plant height



شکل ۲- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر تعداد شاخه‌های فرعی

Fig. 2. Effect of bacterial inoculation treatments on the number of lateral branches

وزن خشک برگ

تیمارهای تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp.، *Bacillus* sp. و *Rhodacoccus* sp. بیشترین وزن خشک برگ را به خود اختصاص دادند که در مقایسه با دیگر تیمارهای تلقیح باکتریایی و شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند (شکل ۳). این تیمارها به ترتیب وزن خشک برگ را نسبت به شاهد به میزان ۱۸۹/۵، ۱۷۸/۶ و ۱۵۷/۲ درصد افزایش دادند. نتایج تحقیقات قبل نشان می‌دهد که باکتری‌های جنس‌های باسیلوس، سودوموناس و رودوکوکوس از توانایی تولید اکسین برخوردارند (Abbas-zadeh *et al.*, 2012؛ Naderi, 2012). از طرف دیگر Taiz, and Zeiger (۲۰۰۲) نیز گزارش دادند که جیبرلین‌ها به تنهایی اثر نمی‌کنند و هورمون‌های دیگر نظیر اکسین نیز به شکل‌های گوناگون با آن‌ها برهمکنش دارند. به‌عنوان مثال، مشخص شده است که اکسین در بعضی گونه‌ها، متابولیسم GA را تنظیم می‌کند. بنابراین می‌توان احتمال داد که تیمار تلقیح باکتریایی باسیلوس و رودوکوکوس با تولید مقادیر بالای اکسین می‌تواند تولید بیشتر جیبرلین را نیز تحریک کنند، لذا افزایش تولید برگ و اندام هوایی و در نتیجه افزایش زیست‌توده تحت تأثیر دوگانه‌ی اکسین و جیبرلین قرار می‌گیرد.

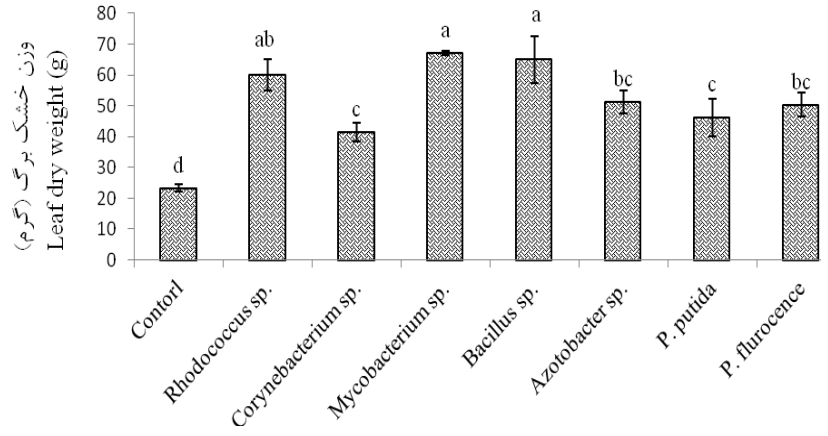
وزن خشک ساقه

تمام تیمارهای باکتریایی به جز *Pseudomonas flurocence* وزن خشک ساقه گیاه بادرشبو را در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (شکل ۴). از این نظر بیشترین میزان وزن خشک ساقه در تیمار تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp. مشاهده گردید. این تیمار که نسبت به سایر تیمارهای تلقیحی و شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود توانست به میزان ۳۵۳/۲ درصد وزن خشک ساقه را افزایش دهد.

تعداد سرشاخه گلدار

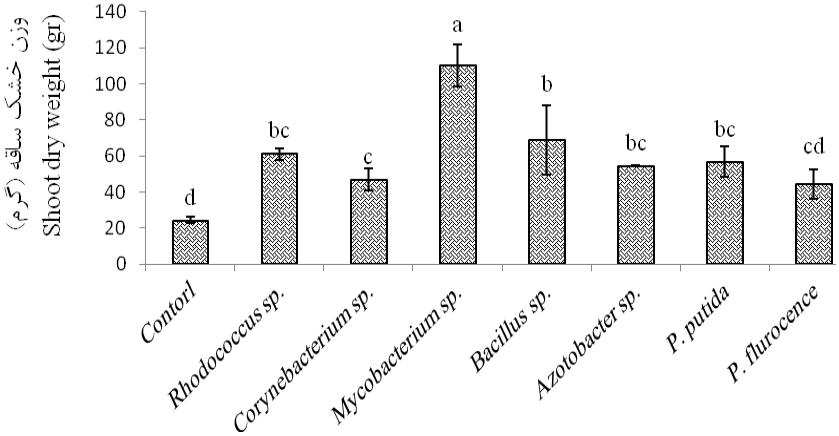
تمام تیمارهای تلقیحی تعداد سرشاخه‌های گلدار را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (شکل ۵). مطابق نتایج مقایسه میانگین، تیمارهای تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp. و *Bacillus* sp. بیشترین تعداد سرشاخه‌های گلدار را دارا بودند که از این لحاظ نسبت به سایر تیمارهای تلقیحی و هم‌چنین شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند. تیمارهای تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp. و *Bacillus* sp. میانگین تعداد شاخه‌گلدار را از ۱۶/۲ به ۱۴۲/۲ و ۱۳۹/۷۵ افزایش دادند. نتایج مطالعات Yousefzadeh و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که تلقیح بذور بادرشبو با باکتری‌های محرک رشد در سطح احتمال ۵ درصد تعداد شاخه‌های

گل‌دهنده را افزایش داد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد از طریق معدنی کردن فسفر آلی بواسطه تولید آنزیم فسفاتاز و حل کردن فسفر معدنی بواسطه تولید اسید آلی، دسترسی گیاه را به فسفر محلول افزایش می‌دهند. علاوه براین از طریق اکسیداسیون ناقص قندها و مواد پلی‌ساکاریدی که توسط ریشه گیاه ترشح می‌شوند، اسیدهای آلی مانند گلوکونیک اسید، اسید اگزالیک و اسید سیتریک تولید می‌نمایند (Han *et al.*, 2006). این دو اسید قادرند که با کلسیم تشکیل کلات دهند و از این رو به‌طور مؤثری در حل کردن فسفات‌تری کلسیک و آزاد شدن یون فسفات از آن دخالت نمایند. لذا تلقیح گیاهان با این باکتری‌ها سبب افزایش جذب فسفر در گیاه می‌گردد. در این شرایط علاوه بر نقش مستقیم فسفر بر گلدهی و رشد اندام‌های زایشی گیاه، به دلیل نقشی که در ذخیره و انتقال انرژی دارد، افزایش جذب فسفر این امکان را فراهم می نماید که گیاه بتواند انرژی بیشتری را صرف تولید اندام‌های زایشی نماید (Rodriguez and Fraga, 1999).



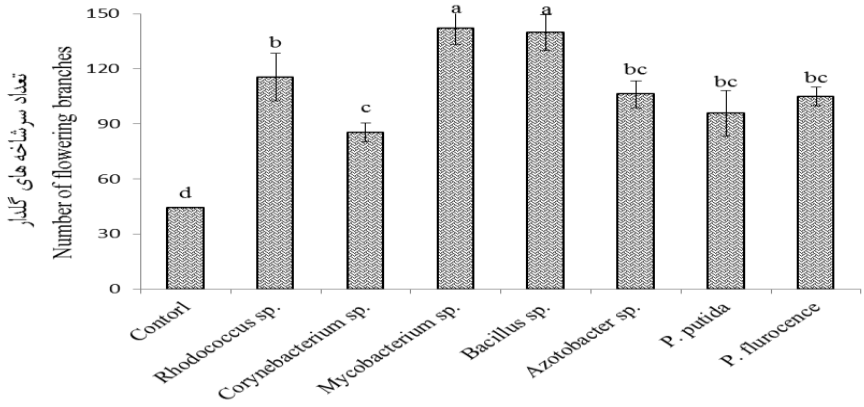
شکل ۳- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر وزن خشک برگ

Fig. 3. Effect of bacterial inoculation treatments on leaf dry weight



شکل ٤- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر وزن خشک ساقه

Fig. 4. Effect of bacterial inoculation treatments on shoot dry weigh



شکل ۵- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر تعداد سرشاخه‌های گلدار

Fig. 5. Effect of bacterial inoculation treatments on the number of flowering branches

عملکرد بیولوژیک

تیمار تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp. بالاترین عملکرد بیولوژیک در مقایسه با دیگر تیمارهای باکتریایی و شاهد را به خود اختصاص داد و عملکرد بیولوژیک را نسبت به شاهد، ۲۷۲/۳ درصد افزایش داد (شکل ۶). این درحالی بود که همه تیمارهای تلقیح باکتریی توانسته بودند به‌طور معنی‌داری عملکرد بیولوژیک را نسبت به شاهد افزایش دهند.

محققین مکانیسم‌های احتمالی باکتری‌های محرک رشد گیاه برای افزایش جذب عناصر غذایی را شامل تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها در ریزوسفر و در نتیجه کاهش pH (Erturk *et al.*, 2011)، افزایش فعالیت پمپ پروتون ATPase و هم‌چنین افزایش ترشحات ریشه‌ای از قبیل مواد احیایی و کلات‌کننده مانند سیدروفور (Naderi, 2012)، توسعه سیستم ریشه‌ای، محدود کردن جذب کلر و سدیم و نهایتاً تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه مانند اکسین ذکر کرده‌اند (Tsavkelova *et al.*, 2005). بنابراین می‌توان احتمال داد تیمار باکتریایی *Mycobacterium* sp. با تولید IAA (Tsavkelova *et al.*, 2005) و سیدروفور می‌تواند باعث افزایش جذب آهن، فسفر و به تبع آن افزایش تقسیم و رشد سلولی و در نتیجه افزایش عملکرد بیولوژیک گردد.

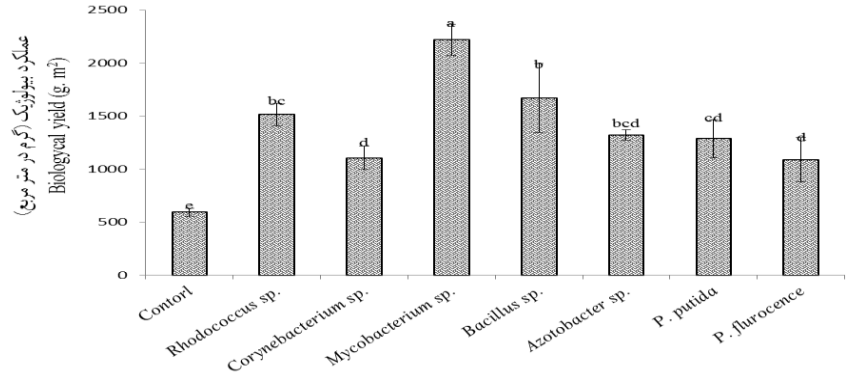
سطح برگ (LA)

تمام تیمارهای تلقیح باکتریایی نسبت به شاهد توانستند سطح برگ را افزایش دهند. بالاترین سطح برگ مربوط به تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. بود که نسبت به سایر تیمارهای تلقیحی و هم‌چنین نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۷).

Sheikhi-Ghahfarokhi و همکاران (۲۰۱۴) نیز، گزارش کرد که تلقیح بذور گل همیشه‌بهار با تیمارهای باکتریایی، *Bacillus* sp. بیشترین تأثیر را بر سطح برگ داشت. وی بیان داشت گونه‌های باسیلوس با تولید سیدروفور و ایندول استیک اسید، آهن و عناصر قابل جذب برای گیاه را افزایش می‌دهد و هم‌چنین با انحلال فسفات آن را به فرم قابل جذب برای گیاه تبدیل می‌نمایند و به این طریق رشد گیاه را افزایش می‌دهند.

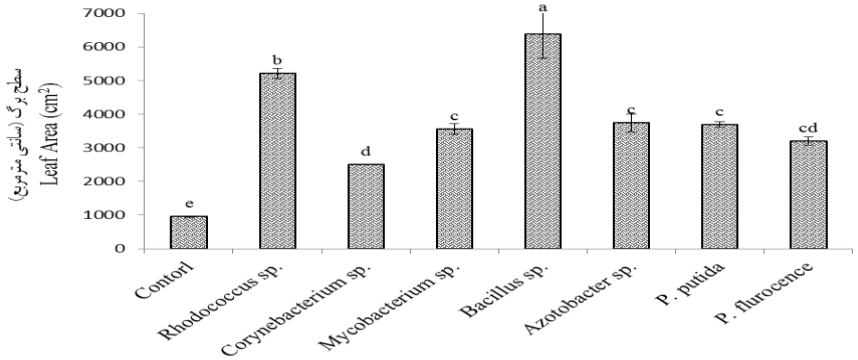
سرعت رشد گیاه

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تمامی باکتری‌های تلقیح شده توانستند سرعت رشد گیاه در بادرشبو را نسبت به شاهد افزایش دهند (شکل ۸). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، بالاترین سرعت رشد گیاه مربوط به تیمارهای *Rhodococcus* sp. و *Pseudomonas putida* می‌باشد. این تیمارها سرعت رشد گیاه را به‌ترتیب از ۹/۸ گرم در روز به ۳۸/۵ و ۳۵/۲ گرم بر متر مربع در روز افزایش دادند.



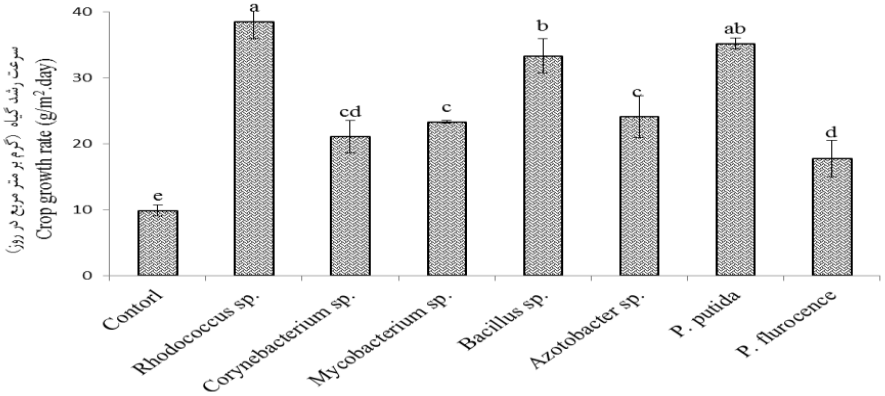
شکل ٦- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر عملکرد بیولوژیک

Fig. 6. Effect of bacterial inoculation treatments on biological yield



شکل ۷- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر سطح برگ

Fig. 7. Effect of bacterial inoculation treatments on leaf are



شکل ۸- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر سرعت رشد گیاه

Fig. 8. Effect of bacterial inoculation treatments on crop growth rate

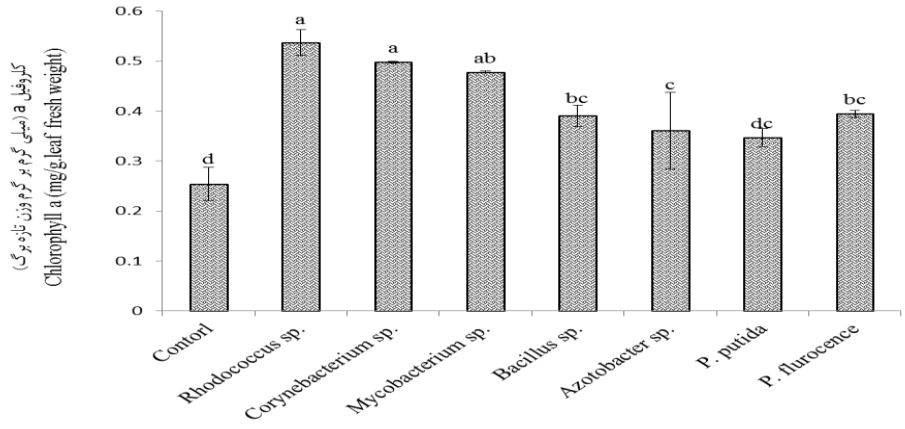
تیمارهای باکتریایی *Bacillus* sp. و *Rhodococcus* sp. با دارا بودن بیشترین سطح برگ و هم‌چنین بیشترین نسبت وزن برگ در بین سایر تیمارهای تلقیحی و هم‌چنین تیمار شاهد، بالاترین

سرعت رشد گیاه را داشتند. این تیمارها با تولید بیشترین اندام جذب‌کننده نور و در نتیجه افزایش فتوسنتز و به تبع آن بیشترین سرعت رشد گیاه را داشتند. تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. با دارا بودن بالاترین میزان سطح برگ و در نتیجه احتمال ایجاد سایه‌اندازی بیش‌تر در برگ‌های تحتانی، سرعت رشد گیاه پایین‌تری نسبت به تیمار *Rhodococcus* sp. نشان داد.

کلروفیل a و b برگ

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که همه تیمارهای تلقیحی نسبت به شاهد میزان کلروفیل a را افزایش دادند و بالاترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمارهای *Rhodococcus* sp.، *Corynebacterium* sp. و *Mycobacterium* sp. بود (شکل ۹). این تیمارها مقدار کلروفیل a را ۱۱۱/۸۵، ۹۶/۴۵ و ۸۸/۵ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. Jahanshahi و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که غلظت کلروفیل گیاه دارویی گشنیز در اثر کاربرد ورمی کمپوست و باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج مطالعه Sheikhi-Ghahfarokhi و همکاران (۲۰۱۴) نیز حاکی از آن است که تیمارهای باسیلوس، سودوموناس پوتیدا، سودوموناس فلورسنس و ازتوباکتر و کورینه باکتریوم قادر بودند به‌طور معنی‌داری میزان کلروفیل a را در گیاه همیشه‌بهار نسبت به شاهد افزایش دهند.

تیمارهای تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp.، *Rhodococcus* sp. و *Corynebacterium* sp. بیشترین میزان کلروفیل b را دارا بودند به‌طوری‌که این تیمارها مقدار کلروفیل b را به نسبت شاهد ۵۳/۳، ۵۲/۴ و ۴۸/۶ درصد افزایش دادند (شکل ۱۰). نتایج آزمایش Kazemalilou and Rasouli-Sedghiani (۲۰۱۲) نیز نشان داد که تلقیح بذور گیاه بنگدانه[1] با باکتری‌های سودوموناس فلورسنت سبب افزایش میزان کلروفیل b گردید. دلیل کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل b در تیمار ازتوباکتر نسبت به تیمار شاهد را می‌توان به کافی بودن میزان نیتروژن خاک طی آزمایش و در نتیجه ممانعت از فعالیت تثبیت نیتروژن در این تیمار نسبت داد (شکل ۱۰). در این رابطه Mafakheri و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که تلقیح بادرشبو با ازتوباکتر در هیچ یک از صفات مورد بررسی از جمله میزان کلروفیل اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد.



شکل ۹- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر میزان کلروفیل a

Fig. 9. Effect of bacterial inoculation treatments on chlorophyll a content

1- Hyoscyamus niger

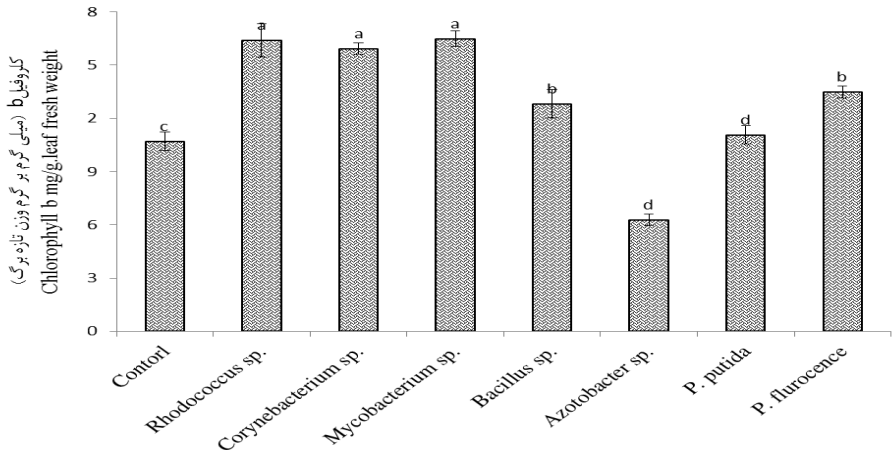
درصد اسانس

مقایسه میانگین‌ها نشان داد همه تیمارهای تلقیح باکتریایی به جز *Pseudomonas flurocence* نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند؛ به طوری‌که تیمارهای تلقیحی *Pseudomonas putida* و *Bacillus* sp. بیشترین میزان اسانس را به خود اختصاص دادند (شکل ۱۱). این تیمارها به ترتیب درصد اسانس را به میزان ۱۹۰/۹ و ۱۷۲/۷ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. در این رابطه Banchio و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که باسیلوس سابتیلیس به‌طور معنی‌داری باعث افزایش زیست‌توده و درصد اسانس در مرزنگوش[1] شد. تلقیح بذور همیشه بهار با باکتری‌های محرک رشد گیاه نشان داد که تیمار سودوموناس پوتیدا و کورینه باکتریوم میزان اسانس استخراج شده را نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای باکتریایی به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (Sheikhi-Ghahfarokhi *et al.*, 2014).

Jamshidi و همکاران (۲۰۱۲) در تفسیر نتیجه حاصل از بهبود میزان اسانس در اثر مصرف مواد آلی بیان داشتند از آنجایی که اسانس‌ها ترکیب‌هایی ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آن‌ها (ایزوپرنوئیده) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات، (DMAPP) نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد، از این رو استفاده از مواد آلی می‌تواند از طریق بهبود فسفر و تا حدودی دیگر عناصر غذایی مانند نیتروژن توسط ریشه رازیانه، موجب افزایش اسانس این گیاه دارویی شده باشد و با توجه به این‌که مهم‌ترین باکتری‌های حل کننده فسفات از جنس سودوموناس و باسیلوس (Han *et al.*, 2006) می‌باشند می‌توان احتمال داد که دلیل افزایش اسانس در تیمارهای تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. و *Pseudomonas putida* افزایش جذب فسفر در این تیمارها می‌باشد.

عملکرد اسانس

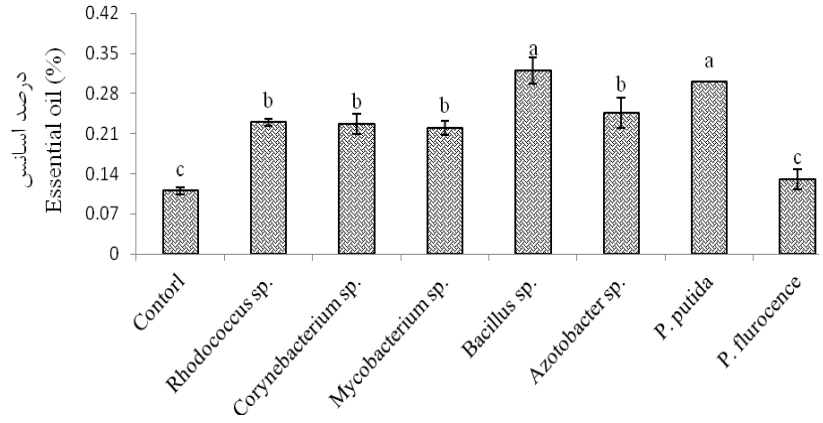
مقایسه میانگین‌ها نشان داد که همه‌ی تیمارهای تلقیحی به جز *Pseudomonas flurocence* نسبت به شاهد عملکرد اسانس را افزایش دادند. تیمارهای *Bacillus* sp. و *Mycobacterium* sp. بیشترین عملکرد اسانس را نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای تلقیح باکتریایی داشتند به‌طوری‌که این دو تیمار به ترتیب عملکرد اسانس را ۶۹۷/۲ و ۶۴۳/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۱۲).



شکل ۱۰- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر میزان کلروفیل b

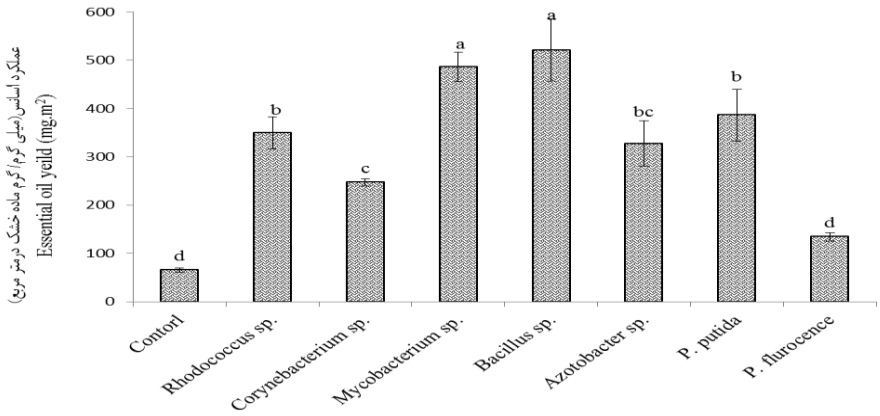
Fig. 10. Effect of bacterial inoculation treatments on chlorophyll b content

1- Origanum majorana



شکل ۱۱- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر درصد اسانس

Fig. 11. Effect of bacterial inoculation treatments on essential oil percent



شکل ۱۲- اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر عملکرد اسانس

Fig. 12. Effect of bacterial inoculation treatments on essential oil yield

همان‌طور که قبلاً ذکر گردید تیمارهای *Bacillus* sp. و *Mycobacterium* sp. بیشترین عملکرد بیولوژیک و تیمارهای *Bacillus* sp. و *Pseudomonas putida* بیشترین درصد اسانس را دارا بودند بنابراین همان گونه که انتظار می‌رفت، تیمارهای *Bacillus* sp. و *Mycobacterium* sp. بیشترین عملکرد اسانس را داشتند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاکی از آن است که تیمارهای تلقیح باکتریایی اثر یکسانی بر روی شاخص‌های رشدی، عملکرد و شاخص کیفی نشان ندادند با این حال تقریباً تمام تیمارهای تلقیح باکتریایی رشد، عملکرد و شاخص کیفی را نسبت به شاهد بهبود بخشیدند. در مجموع با توجه به نتایج این پژوهش از آنجا که تیمارهای *Mycobacterium* sp. و *Bacillus* sp. بیشترین تعداد سرشاخه گلدار، عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس را به خود اختصاص دادند، استفاده از تیمارهای تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. و *Mycobacterium* sp. به صورت بیوپرایمینگ جهت افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بادرشبو توصیه می‌گردد.

References

1. Abbas-zadeh, P., Savaghebi, G.R., Asadi-Rahmani, H., Rejali, F., Farahbakhsh, M. Motesharezadeh, B., and Omidvari, M. 2012. The effect of fluorescent pseudomonas on increasing the solubility of zinc compounds and improve its absorption by bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Soil Research, 26(2): 197-206. [In Farsi]

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

3. Burd, G.I., Dixon, D.G., and Glick, B.R. 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. Journal of Applied and Environmental Microbiology, 64: 3663-366.

4. El-Ghadbane, E.A.E., Shalan, M.N., and Abdel-Latife, T.A.T. 2006. Influence of biofertilizers on growth, volatile oil yield and constituents of fennel (Foeniculum vulgar Mill.). Egyptian Journal of Agricultural Research, 84(3): 977-992.

5. Erturk, Y., Cakmakci, R., Duyar, O., and Turan, M. 2011. The effects of plant growth promoting rhizibacteria on vegetative growth and leaf nutrient contents of hazelnut seedling (Turkish hazelnut CV. Tombul and Sivir). International Journal of Soil Science, 6 (3): 188-198.

6. Han, H., Supanjan, S., and Lee, K.D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant Soil Environ, 52(3): 130-136.

7. Jahanshahi, Sh., Baghreizadeh, M., and Abotalebi, 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): 391-400. [In Farsi]

8. Jamshidi, A., Gholavand, A., Sefidkon, F., and Mohamadi Gholtape, A. 2012. The effect of nutrition systems on quantitative and qualitative characteristics of Fennel (Foeniculum vulgare Mill.) under water deficit stress. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 28(2): 309-323. [In Farsi]

9. Kandeel, A.M., Naglaa, S.A.T., and Sadek, A. 2002. Effect of biofertilizers on the growth, volatile oil yield and chemical composition of *Ocimum basilicum* L. Annals of Agricultural Science, 47: 351- 371.

10. Kaymak, H.C., Yarali, F., Guvence, I., and Donmeze, M.F. 2008. The effect of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (*Mentha piperita* L.) cuttings. African Journal of Biotchnology, 7(24): 4479-4483.

11. Kazemalilou, S. and Rasouli-Sedghiani, M.H. 2012. Effect of soil cadmium pollution on some physiological parameters of Hyoscyamus plant (Hyoscyamus

niger) in presence/absence of growth-promoting microorganisms. Journal of Water and Soil Science, 22(4): 17-30. [In Farsi]

12. Leithy, S., El-Meseiry, T.A., and Abdallah, E.F. 2006. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary oil yield and quality. Journal of Applied Sciences Research, 2(10): 773-779.

13. Mafakheri, S., Omidbaigi, R., Sefidkon, F., and Rejali, F. 2012. Effect of vermicompost, biophosphate and azotobacter on quantity and quality of essential oil of Dracocephalum moldavica L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27(4): 245-254. [In Farsi]

14. Naderi, M.R. 2012. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on phytoremediation of Lead by sunflower in a Pb-bearing soil for long term. M.Sc. Thesis in Agroecology, Shahrekord University, 119 pp. [In Farsi]

15. Rajaei, S., Raeisi, F., and Alikhani, H.A. 2007. Effect of growth promoters potential of native strains of Azotobacter chroococcum on growth, yield and nutrient uptake in wheat. Scientific Journal of Agriculture, 30 (4): 33-47. [In Farsi]

16. Rodriguez, H. and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances, 17: 319-339.

17. Saghafi, D., Alikhani, H.R., and Motesharezadeh, B. 2013. Effect of plant growth promoting rhizobia on improving the nutritional status of canola (*Brassica napus* L.) under salinity stress. Journal of Water and Soil Science, 23(4): 159-176. [In Farsi]

18. Sarcheshmeh poor, M., savaghebi, G.R., Siadat, H., and Alikhani, H. A. 2014. The effect of plant growth rhizobacteria on improvement of growth and nutrition of pistachio seedlings under drought stress. Iranian Journal of Soil Research, 27(1): 107-119. [In Farsi]

19. Sheikhi-Ghahfarokhi, F. 2014. Effect of seed biopriming by PGPR bacteria on germination indices, growth and yield of Calendula of ficinalis L. M.Sc. Thesis in Seed Science and Technology, Shahrekord University, 93 pp. [In Farsi]

20. Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. Plant Physiology. 3rd edn. Sinaure Sunderland, 690 pp.

21. Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., and Netrusoe, A.I. 2005. Auxin production by bacteria associated with orchod roots. Microbiology, 74: 233-273.

22. Vital, W.M., Teixeira, N.T., Shigihara, R., and Dias, A.F.M. 2002. Organic manuring with pig biosolids with application of foliar biofertilizers in the cultivation of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Ecossistema, 27: 69-70.

23. Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology, 144: 307-313.

24. Yousefzadeh, S., Modarres-Sanavy, S.A.M., Sefidkon, F., Asgarzadeh, A., Ghalavand, A., Roshdi, M., and Safaralizadeh, A. 2013. Effect of biofertilizer,

azocompost and nitrogen on morphologic traits and essential oil content of Dracocephalum moldavica L. in two regions of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29 (2): 438-459. [In Farsi]

25. Youssef, A.A., Edris, A.E., and 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 of ficinalis L. Plant Annals of Agricultural Science, 49: 299-311.