

تأثیر تنش کم آبی و تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر خصوصیات مورفولوژیکی، عملکرد و ترکیب اسانس آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Clack)

علی عبداللهی آرپناهی^{۱*}، محمد فیضان^۲ و غزاله مهدی پوریان^۳

*- نویسنده مسئول، دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

پست الکترونیک: abdollahi.al@fa.lu.ac.ir; abdollahi.a@gmail.com

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۹

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و تنش کم آبی بر اسانس (EO) و ترکیب اسانس گیاه آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Clack)، آزمایشی گلخانه‌ای در سال ۱۳۹۶ در شهرکرد انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. فاکتورها شامل چهار سطح رژیم آبیاری و دو سطح تلقیح باکتریایی بودند. فاکتور اول شامل آبیاری در حد ظرفیت مزرعه (FC) (A: عدم تنش)، آبیاری پس از کاهش ۲۰-۲۵٪ ظرفیت مزرعه (L: تنش کم)، آبیاری پس از کاهش ۳۵-۴۰٪ ظرفیت مزرعه (M: تنش متوسط) و آبیاری پس از کاهش ۶۰-۵۵٪ ظرفیت مزرعه (S: تنش شدید) بود. فاکتور دوم شامل عدم تلقیح با باکتری‌های PGPR (C: شاهد) و تلقیح با باکتری‌های PGPR (*Pseudomonas fluorescens*) P و (*Pseudomonas aeruginosa*) (P: تلقیح باکتریایی) بود. نتایج نشان داد که پارامترهای مورفولوژیکی در تیمارهای باکتریایی به طور معنی‌داری افزایش یافته بودند، اما تنش کم آبی باعث کاهش کلیه پارامترها شد. با افزایش تنش کم آبی، میزان اسانس در تنش کم آبی افزایش یافته و با افزایش شدت تنش کم آبی کاهش یافت. تلقیح باکتریایی مقدار اسانس را افزایش داد، اگرچه این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. تلقیح با باکتری‌های PGPR و تنش کم آبی به ترتیب بر ۱۳ و ۱۴ ترکیب اسانس تأثیر معنی‌داری داشت. اثر متقابل PGPR و تنش کم آبی بر مؤلفه ۱۳ ترکیب اسانس اثر معنی‌داری داشت. تیمول و کارواکرول دو جزء مهم اسانس آویشن دناپی با افزایش شدت تنش کم آبی کاهش یافتند، اما تلقیح با باکتری‌های PGPR آنها را به ویژه در تیمارهای تنش کم آبی افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Clack)، اسانس، باکتری‌های محرک رشد گیاه، تنش کم آبی.

مقدمه

۱۸ گونه آن در بسیاری از مناطق ایران به صورت وحشی رویش دارد (Jamzad, 2009)، به ویژه آویشن دناپی (*Thymus daenensis* L.) که یک گونه مستقل بومی

آویشن (*Thymus*) یکی از مهمترین گیاهان دارویی و معطر، متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که

Ghorbanpour *et al.*, Liddycoat *et al.*, 2009) با در نظر گرفتن تأثیرات مثبت باکتری‌های PGPR بر گیاهان، می‌توان گفت که استفاده از PGPR در سامانه‌های کشاورزی به‌طور قابل توجهی می‌تواند سلامت و بهره‌وری گیاه را به‌ویژه در شرایط تنش زیستی و غیرزیستی بهبود بخشد.

تاکنون آزمایش‌های زیادی نقش تلقیح با PGPR را در گیاهان معطر مورد مطالعه قرار داده‌اند و نشان داده‌اند که رشد و تولید گیاهان دارویی با استفاده از باکتری‌های PGPR بهبود یافته است (Banchio *et al.*, 2008; Santoro *et al.*, 2011; Banchio *et al.*, 2009; Cappellari *et al.*, 2013; Cappellari *et al.*, 2015; Tahami *et al.*, 2017). به‌عنوان مثال Banchio و همکاران (۲۰۰۸) در یک آزمایش گزارش کردند که عملکرد اسانس گیاه مرزنگوش (*Origanum majorana* L.) به‌طور قابل توجهی در گیاهان تلقیح شده با PGPR افزایش یافته بود. Mahmoudzade و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای در شرایط گلخانه نشان دادند که تلقیح گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) با باکتری‌های محرک رشد گیاه سبب افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ، عملکرد وزن تر و خشک اندام هوایی و غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم در اندام هوایی شد. همچنین Rasipour و Aliasgharzadeh (۲۰۰۷) طی تحقیقی در شرایط گلخانه‌ای گزارش کردند که تلقیح سویا با باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی، غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و نیتروژن در اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و تعداد گره‌های روی ریشه شد. در تحقیقی Roumani و همکاران (۲۰۱۴) بر روی اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر گیاه شلغم علوفه‌ای بیان کردند که بیشترین عملکرد تر و خشک علوفه و شاخص‌های کیفی شاخساره و ریشه در کاربرد همزمان کود شیمیایی و باکتری‌های محرک رشد گیاه بدست آمد. از آنجا که اطلاعات کمی در مورد پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه آویشن دنیایی به تلقیح

ایران است که در دامنه کوه‌های زاگرس، مناطق غربی و جنوب‌غربی ایران رشد می‌کند (Alavi-samani *et al.*, 2013). آویشن گیاهی است که ساختار بوته‌ای دارد و دارای ساقه مستقیم و علفی و یا چوبی و پرشاخه به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر است. بیشترین پراکندگی آویشن در ایران در مناطق شمال و غرب است که ۱۰ گونه آن در استان‌های شمالی (گرگان، گیلان و مازندران)، ۱۱ گونه در استان‌های غربی (آذربایجان شرقی و غربی، همدان، کرمانشاه، لرستان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد و اصفهان)، ۷ گونه در مرکز (تهران، سمنان، قزوین، اراک و یزد) و یک گونه در فارس و دو گونه در کرمان وجود دارد (Naghdi Badi & Makizade Tafti, 2003). گل‌آذین و اسانس آویشن معمولاً به‌عنوان چای گیاهی، چاشنی‌ها، ادویه‌جات و مقاصد دارویی استفاده می‌شود (Stahl-Biskup & Saez, 2002). اسانس و عصاره قسمت‌های هوایی آویشن دنیایی عمدتاً حاوی مونوترپن‌ها، سزکویی‌ترین‌ها، ترکیب‌های فنولیک و فلاونوئیدها می‌باشد و ترکیب‌های اصلی اسانس آن تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-ترینن هستند (Ghasemi Pirbalouti & Nickavar *et al.*, 2005; *et al.*, 2014).

باکتری‌های محرک رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (PGPR) نوعی باکتری‌های مفید هستند که عمدتاً در ریزوسفر گیاه زندگی می‌کنند (Ghorbanpour *et al.*, 2015) و هنگامی که این باکتری‌ها در ارتباط با یک گیاه رشد می‌کنند، به‌طور غیرمستقیم (مانند کاهش یا از بین بردن برخی از اثرهای زیان‌آور یک ارگانیزم بیماری‌زا) یا مستقیم (مانند تولید فیتوهورمون‌ها، تولید سایدروفورها، تسهیل جذب مواد مغذی و سنتز آنزیم‌ها) رشد گیاه میزبان را بهبود می‌بخشند (Glick, 1995; Vessey, 2003; Gray & Smith, 2005; Van Loon, 2007). علاوه‌براین، PGPR تنش کم آبی را در گیاهان دارویی کاهش می‌دهد، بنابراین عملکرد گیاه و کیفیت اسانس را نیز افزایش می‌دهد

پس از چهار هفته نهال‌ها به گلدان‌ها منتقل گردیدند (ابعاد گلدان: قطر بالای ۲۶ سانتی‌متر، قطر پایه ۲۰ سانتی‌متر و عمق ۲۰ سانتی‌متر). گلدان‌ها با خاک مزرعه پر شدند (خاک اتوکلاو شده (۱۱/۰) مگاپاسکال، ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، ۲ ساعت)). این آزمایش در هفته اول اردیبهشت‌ماه در شهرکرد، استان چهارمحال و بختیاری و در جنوب‌غربی ایران انجام شد. طبق استاندارد اقلیمی آمبرگر، آب و هوای مناطق استان چهارمحال و بختیاری سرد و نیمه‌خشک است (Ghasemi Pirbalouti et al., 2013). خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. هیچ‌گونه کود شیمیایی و آفت‌کش در طی آزمایش استفاده نشده است. علف‌های هرز در صورت لزوم به‌صورت دستی کنترل شده است.

با باکتری‌های PGPR به‌ویژه در شرایط تنش کم‌آبی وجود دارد، بنابراین هدف اصلی از این پژوهش، بررسی تغییرات پارامترهای فیزیولوژیکی مرتبط با تنش کم‌آبی، زیست‌توده و محتوای اسانس گیاه آویشن دناپی در پاسخ به تلقیح با دو گونه باکتری *Pseudomonas fluorescens* و *Pseudomonas aeruginosa* در شرایط تنش کم‌آبی و شرایط بدون تنش بود.

مواد و روش‌ها

خصوصیات منطقه

پس از بدست آوردن بذر آویشن دناپی از شرکت پاکان بذر، میزان زنده ماندن بذر (تقریباً ۹۵-۹۰٪) اندازه‌گیری شد. در اسفندماه ۱۳۹۵، بذرهای در سینی پلاستیکی (بستر استریلیزه Plantflora) کاشته شدند و

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه

خصوصیت خاک	بافت	pH	هدایت الکتریکی (dS/m)	نیترژن کل (%)	کربن آلی (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم در دسترس (ppm)
مقدار	لوم	۸/۲۶	۱/۳	۰/۰۲۵	۱/۲۳	۵۵/۸۷	۶۰۶/۸

طرح آزمایش

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل چهار سطح رژیم آبیاری و دو سطح تیمار تلقیح با باکتری بودند. فاکتور اول شامل آبیاری در حد ظرفیت مزرعه (FC) (A: عدم تنش)، آبیاری پس از کاهش ۲۵-۲۰٪ ظرفیت مزرعه (L: تنش کم)، آبیاری پس از کاهش ۴۰-۳۵٪ ظرفیت مزرعه (M: تنش متوسط) و آبیاری پس از کاهش ۶۰-۵۵٪ ظرفیت مزرعه (S: تنش شدید) بود. در تیمارهای کشت شده، برای ۴ ماه اول (مرحله استقرار) تنش کم‌آبی اعمال نشد. دستگاه بازتاب‌سنجی دامنه زمان (TDR) (TRIME-FM، انگلیس) برای اندازه‌گیری محتوای آب خاک (θ_v) در گلدان‌های آزمایشی در عمق صفر تا ۲۰ سانتی‌متر استفاده

شد تا رطوبت خاک در چهار سطح تنش مختلف حفظ شود. اطلاعات مربوط به محتوای حجمی آب خاک در هر روز در فصول رشد جمع‌آوری شد. فاکتور دوم شامل عدم تلقیح با باکتری‌های PGPR (C: شاهد) و تلقیح با مخلوط مساوی از باکتری‌های PGPR (*Pseudomonas fluorescens*) (P) و (*Pseudomonas aeruginosa*) (P) تلقیح باکتریایی) بود. مایع تلقیح باکتریایی PGPR (10^8 CFU mL⁻¹) از گروه میکروبیولوژی انستیتوی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهران ایران خریداری گردید و سوبیه‌های باکتریایی به‌دلیل در دسترس بودن و آزمایش‌های قبلی انتخاب شدند (Bahadur et al., 2007; Ndeddy Aka & Babalola, 2016; Mohammadi et al., 2015; Mohammadi et al., 2017). در تیمارهای تلقیح با باکتری، بذرهای قبل از کاشت

موئین سیلیکای گداخته از نوع (۵٪ قطر ابعاد با Phenyl Methylpolysiloxan (BP-X5) 95٪ با ابعاد قطر داخلی ۰/۲۲ میلی متر، ضخامت فیلم نازک ۰/۲۵ میکرومتر و طول ۳۰ متر انجام شد. خصوصیات کروماتوگرافی و طیف‌سنجی همانند مطالعه Abdollahi Arpanahi و Feizeian (۲۰۱۹) بود.

تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه و نرم‌افزار SPSS (۱۹) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح $P \leq 0.01$ اختلافات بین میانگین تیمارها مقایسه شد.

نتایج

پارامترهای رشد

نتایج نشان داد که تلقیح با باکتری‌های PGPR بر وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی ($P \leq 0.01$) و قطر ریشه و اندام هوایی، قطر شاخه و تعداد سرشاخه ($P \leq 0.05$) اثر مثبت معنی‌داری داشت. این پارامترها در تیمارهای تلقیح با PGPR به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند، در حالیکه ارتفاع ساقه، تعداد ساقه‌چه و وزن تر اندام هوایی از نظر آماری تغییری نکردند (جدول ۲). از سوی دیگر، تنش کم آبی تأثیر معنی‌داری روی تمام پارامترها داشت ($P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$). تنش کم آبی باعث کاهش تمامی پارامترها بجز وزن تر ریشه شد که این فاکتور در تنش کم آبی افزایش ولی با افزایش شدت تنش، کاهش یافت (جدول ۲). اثر متقابل تلقیح با PGPR و تنش کم آبی فقط برای قطر شاخه ($P \leq 0.05$) (جدول ۲) معنی‌دار بود. نتایج نشان دادند که تنش کم آبی بر پارامترهای مورفولوژیکی آویشن دناهی تأثیر منفی داشت اما تلقیح با PGPR بر این پارامترها اثرهای مثبتی نشان داد و باعث بهبود آنها شد (جدول ۲).

به مدت ۱ ساعت در مایع تلقیح باکتری قرار داده شدند و پس از انتقال نهال‌ها به گلدان، ۲۰ میلی لیتر از مایع تلقیح به ازای هر گلدان (۱۰ میلی لیتر از هر سویه باکتری) به خاک گلدان در اطراف ساقه نهال تزریق شد.

اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیکی

قسمت‌های هوایی و ریشه گیاه در اوایل مرحله گلدهی گیاه (شهریور ماه) برداشت شد. قطر ریشه، وزن تر ریشه (FW)، وزن خشک ریشه (DW)، قطر ساقه، ارتفاع ساقه، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، تعداد سرشاخه (plumule) و تعداد پنجه در گلدان اندازه‌گیری شد. ارتفاع ساقه اصلی از سطح خاک تا نوک بلندترین گل‌آذین اندازه‌گیری گردید. بافت‌های برداشت شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی خشک شدند تا به یک وزن ثابت برسند. عملکرد اسانس براساس ماده خشک (V/W) و ترکیب شیمیایی اسانس به شرح زیر اندازه‌گیری شد.

استخراج اسانس

مقدار ۳۰ گرم ماده گیاهی به‌صورت پودر (در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر) به مدت ۳ ساعت با استفاده از دستگاه Clevenger به‌عنوان روش توصیه شده در فارماکوپه بریتانیا در معرض تقطیر قرار گرفت (British Pharmacopoeia, 1988). نمونه اسانس‌ها با استفاده از سولفات سدیم بی‌آب (شرکت Merck آلمان) خشک و قبل از استفاده در ویال‌های سرپوشیده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آنالیز کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی/طیف‌سنجی جرمی (GC/MS و GC)

برای تجزیه و شناسایی ترکیب‌های اسانس‌ها، از یک کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu GC-17A (کیوتو ژاپن) به‌همراه یک طیف‌سنج جرمی Shimadzu Quadruple-MS مدل QP5050 استفاده شد. جداسازی ترکیبات در ستون

جدول ۲- اثر باکتری‌های PGPR و تنش کم‌آبی و اثر متقابل آنها بر خصوصیات رشدی گیاه آویشن دناپی

تیمار	قطر ریشه (mm)	وزن تر ریشه (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	ارتفاع ساقه (cm)	قطر ساقه (mm)	تعداد ساقه‌چه	تعداد پنجه	وزن تر اندام هوایی (gr)	وزن خشک اندام هوایی (gr)
تلقیح									
C	۲/۰۴±۰/۰۹ b	۳۸/۰۲±۴/۲۱ b	۱۴/۵۲±۱/۸۲ b	۲۳/۳۲±۱/۸۴	۲/۰۲±۰/۱۵ b	۱۱/۹۱±۲/۳۵	۱۱/۲۵±۱/۲۱ b	۲۴/۳۸±۴/۱۰	۱۰/۵۹±۱/۵۷ b
P	۲/۰۹±۰/۱۰ a	۳۹/۸۶±۴/۲۲ a	۱۶/۵۶±۲/۳۹ a	۲۳/۸۷±۲/۳۳	۲/۱۰±۰/۱۱ a	۱۱/۷۵±۱/۸۶	۱۲/۰۸±۱/۰۰ a	۲۵/۳۴±۵/۲۶	۱۲/۱۳±۱/۸۰ a
ANOVA	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	n.s	$P \leq 0.05$	n.s	$P \leq 0.05$	n.s	$P \leq 0.01$
تنش خشکی									
A	۲/۱۳±۰/۰۴ a	۴۲/۸۶±۱/۱۷ a	۱۶/۲۴±۱/۰۹ b	۲۵/۱۷±۲/۳۲ a	۲/۲۴±۰/۰۶ a	۱۴/۵۰±۱/۰۵ a	۱۲/۵۰±۱/۰۵ a	۳۰/۴۰±۳/۱۲ a	۱۳/۰۹±۱/۰۱ a
L	۲/۰۶±۰/۰۵ b	۴۲/۶۳±۱/۲۸ a	۱۷/۷۳±۲/۳۶ a	۲۴/۹۸±۱/۴۱ a	۲/۱۴±۰/۰۱ b	۱۱/۵۰±۱/۰۵ b	۱۱/۵۰±۱/۰۵ ab	۲۵/۰۲±۵/۳۷ b	۱۲/۱۷±۱/۸۳ a
M	۱/۹۴±۰/۰۶ c	۳۶/۶۸±۱/۴۵ b	۱۵/۳۰±۱/۱۲ b	۲۱/۶۳±۱/۰۲ b	۱/۹۹±۰/۰۴ c	۱۱/۸۳±۱/۱۷ b	۱۲/۰۰±۰/۸۹ a	۲۲/۵۸±۱/۱۴ b	۱۰/۰۶±۱/۲۰ b
S	۲/۱۲±۰/۰۹ ab	۳۳/۶۰±۱/۴۶ c	۱۲/۸۸±۱/۳۷ c	۲۲/۵۸±۰/۴۹ b	۱/۹۴±۰/۰۹ c	۹/۵۰±۱/۰۵ c	۱۰/۶۷±۱/۰۲ b	۲۴/۴۵±۱/۳۶ b	۱۰/۱۳±۱/۱۷ b
ANOVA	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$
اثر متقابل									
CA	۲/۱۱±۰/۰۵	۴۱/۹۹±۰/۶۵	۱۵/۶۳±۱/۰۴	۲۴/۶۷±۱/۵۳	۲/۲۲±۰/۰۹ a	۱۵/۰۰±۱/۰۰	۱۲/۰۰±۱/۰۰	۳۰/۷۲±۰/۷۳	۱۲/۵۷±۱/۱۷
CL	۲/۰۶±۰/۰۶	۴۱/۷۱±۰/۴۸	۱۵/۷۳±۱/۰۵	۲۴/۶۷±۱/۵۳	۲/۱۴±۰/۰۱ b	۱۲/۰۰±۱/۰۰	۱۱/۰۰±۱/۰۰	۲۳/۷۲±۱/۲۱	۱۰/۷۹±۱/۰۸
CM	۱/۹۲±۰/۰۷	۳۵/۶۸±۱/۱۶	۱۴/۷۷±۱/۰۹	۲۱/۲۷±۱/۱۰	۱/۹۹±۰/۰۴ c	۱۱/۶۷±۰/۵۸	۱۲/۰۰±۱/۰۰	۲۲/۵۳±۱/۰۷	۹/۵۱±۰/۷۲
CS	۲/۰۶±۰/۰۵	۳۲/۷۲±۱/۱۲	۱۱/۹۶±۰/۸۹	۲۲/۶۷±۰/۵۸	۱/۸۶±۰/۰۳ d	۹/۰۰±۱/۰۰	۱۰/۰۰±۱/۰۰	۲۰/۵۷±۱/۲۲	۹/۵۱±۱/۰۲
PA	۲/۱۶±۰/۰۴	۴۳/۷۲±۰/۸۵	۱۶/۸۶±۰/۸۷	۲۵/۶۷±۳/۲۱	۲/۲۵±۰/۰۴ a	۱۴/۰۰±۱/۰۰	۱۳/۰۰±۱/۰۰	۳۰/۰۹±۴/۸۵	۳۱/۶۱±۰/۶۱
PL	۲/۰۶±۰/۰۶	۴۳/۵۵±۱/۱۷	۱۹/۷۴±۰/۹۰	۲۵/۳۰±۱/۵۴	۲/۱۴±۰/۰۱ b	۱۱/۰۰±۱/۰۰	۱۲/۰۰±۱/۰۰	۲۶/۳۱±۸/۱۰	۱۳/۵۶±۱/۲۰
PM	۱/۹۷±۰/۰۰	۳۷/۶۸±۰/۹۸	۱۵/۸۴±۱/۰۲	۲۲/۰۰±۱/۰۰	۱/۹۹±۰/۰۴ c	۱۲/۰۰±۱/۷۳	۱۲/۰۰±۱/۰۰	۲۲/۶۲±۱/۴۵	۱۰/۶۱±۱/۴۷
PS	۲/۱۸±۰/۰۷	۳۴/۴۹±۱/۳۰	۱۳/۸۱±۱/۱۵	۲۲/۵۰±۰/۵۰	۲/۰۲±۰/۰۱ c	۱۰/۰۰±۱/۰۰	۱۱/۳۳±۱/۰۰	۲۲/۳۳±۰/۹۰	۱۰/۷۵±۱/۱۰
ANOVA	n.s	n.s	n.s	n.s	$\leq p 0.05$	n.s	n.s	n.s	n.s

C: شاهد، P: تیمار تلقیح با باکتری، A: عدم تنش کم‌آبی، L: تنش کم‌آبی کم، M: تنش کم‌آبی متوسط، S: تنش کم‌آبی شدید، n.s: عدم اختلاف معنی‌دار میانگین‌های (±SD) با حرف مشترک دارای عدم اختلاف معنی‌دار در سطوح $P \leq 0.01$ و $P \leq 0.05$ بر اساس آزمون میانگین چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

بازده اسانس

نتایج نشان داد که تنش کم آبی اثر معنی داری بر مقدار اسانس داشت. به طوری که با افزایش شدت تنش کم آبی ابتدا میزان اسانس در تنش کم افزایش نشان داد که با افزایش شدت تنش کم آبی مقدار آن کاهش یافت ($P \leq 0.01$). تلقیح با باکتری های PGPR باعث افزایش مقدار اسانس شد، اگرچه

این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۳). به طور مشابه، اثر متقابل تلقیح PGPR و تنش کم آبی بر مقدار اسانس از نظر آماری معنی دار نبود، اگرچه افزایش اسانس در تیمارهای تلقیح شده با تنش کم آبی دیده شد، در حالیکه با افزایش شدت تنش کم آبی مقدار اسانس کاهش یافت (جدول ۳).

جدول ۳- اثر باکتری های PGPR و تنش کم آبی و اثر متقابل آنها بر بازده اسانس گیاه آویشن دناپی

		تنش خشکی				تلقیح				اسانس
ANOVA	S	M	L	A	ANOVA	P	C		(میلی لیتر	
$P \leq 0.01$	0.20 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.27 ± 0.01	n.s	0.27 ± 0.04	0.26 ± 0.04		بر	
اثر متقابل										
ANOVA	PS	PM	PL	PA	CS	CM	CL	CA	گرم ماده	
n.s	0.20 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.27 ± 0.01	(خشک)	

C: شاهد، P: تیمار تلقیح با باکتری، A: عدم تنش کم آبی، L: تنش کم آبی، M: تنش کم آبی متوسط، S: تنش کم آبی شدید

n.s: عدم اختلاف معنی دار، میانگین های ($\pm SD$) با حرف مشترک دارای عدم اختلاف معنی دار در سطوح $P \leq 0.05$ و $P \leq 0.01$ بر اساس آزمون میانگین چند دامنه ای دانکن می باشند.

ترکیب های اسانس

ترکیب های شیمیایی تشخیص داده شده در جدول ۴ ارائه شده است. تجزیه و تحلیل طیف های GC-MS منجر به شناسایی ۴۰ ترکیب تشکیل دهنده اسانس شامل برخی ترکیب های اصلی یعنی ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن، بورتول، تیمول، کارواکرول، تیموکینون، کاریوفیلن اکسید، لینالول و کامفن شد (جدول ۴). تحلیل آماری این تحقیق نشان داد که تلقیح با باکتری های PGPR و تنش کم آبی به ترتیب بر ۱۳ و ۱۴ ترکیب اسانس تأثیر معنی داری داشتند ($P \leq 0.01$). اثر متقابل تلقیح با باکتری های PGPR و تنش کم آبی بر ۱۲ ترکیب اسانس در سطح ($P \leq 0.01$) و یک ترکیب در سطح ($P \leq 0.05$) اثر معنی داری داشت (جدول ۴). با تلقیح باکتریایی مقادیر ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن، بورتول، لینالول و کامفن کاهش یافت، در حالیکه مقادیر تیمول،

کارواکرول، تیموکینون و کاریوفیلن اکسید افزایش نشان دادند. سطوح مختلف تنش کم آبی بر ترکیب های اسانس اثرهای متفاوتی نشان داد. به طور کلی مقادیر ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن، بورتول، تیموکینون و کامفن با افزایش شدت تنش کم آبی افزایش یافتند، در حالیکه تیمول، کارواکرول، کاریوفیلن اکسید و لینالول در تیمارهای تحت تأثیر تنش کم آبی کاهش یافتند. اثر متقابل تلقیح با باکتری های PGPR و تنش کم آبی نتایج متفاوتی را نشان داد (جدول ۴). بالاترین درصد تیمول (یک جزء سازنده مهم اسانس آویشن دناپی) در تیمار بدون تلقیح و بدون تنش کم آبی استخراج شد. تلقیح با باکتری های PGPR این ترکیب را در تیمارهای تنش کم آبی شدیدتر افزایش داد. همانند تیمول، تلقیح با باکتری های PGPR، مقدار کارواکرول، یکی دیگر از ترکیب های مهم اسانس آویشن دناپی را افزایش و روند مشابهی را نشان داد (جدول ۴).

جدول ۴- اثر باکتری‌های PGPR و تنش کم آبی و اثر متقابل آنها بر ترکیب‌های اسانس گیاه آویشن دنايي

ANOVA	اثر متقابل (%)									تنش خشکی	تلقیح	RI	ترکیب اسانس
	PS	PM	PL	PA	CS	CM	CL	CA					
$P \leq 0.01$	0.62 ± 0.01 g	0.76 ± 0.06 f	2.16 ± 0.10 c	1.64 ± 0.03 d	1.67 ± 0.06 d	2.56 ± 0.03 a	1.54 ± 0.03 e	2.44 ± 0.04 b	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	939	α-pinene	
$P \leq 0.01$	1.39 ± 0.08 g	1.81 ± 0.08 f	2.13 ± 0.09 e	2.64 ± 0.04 d	3.45 ± 0.12 b	4.28 ± 0.04 a	2.92 ± 0.07 c	2.89 ± 0.04 c	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	953	camphene	
$P \leq 0.05$	1.96 ± 0.02 a	1.45 ± 0.04 c	1.68 ± 0.09 b	1.91 ± 0.06 a	1.93 ± 0.05 a	0.79 ± 0.05 d	1.48 ± 0.13 c	1.44 ± 0.04 c	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1068	cis-sabinene hydrate	
$P \leq 0.01$	-	1.14 ± 0.16 e	1.97 ± 0.06 c	2.36 ± 0.03 b	1.45 ± 0.04 d	1.90 ± 0.05 c	1.26 ± 0.07 e	2.65 ± 0.10 a	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	991	myrcene	
$P \leq 0.01$	8.49 ± 0.67 d	0.34 ± 0.50 e	26.15 ± 1.68 b	28.20 ± 1.55 c	37.88 ± 1.87 b	43.71 ± 2.15 a	44.61 ± 1.21 a	28.08 ± 1.55 c	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1026	p-cymene	
$P \leq 0.01$	7.11 ± 0.20 c	7.95 ± 0.10 bc	7.85 ± 0.33 bc	7.22 ± 0.83 c	11.06 ± 0.18 a	11.88 ± 0.47 a	8.43 ± 0.75 b	8.36 ± 1.00 b	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1033	1,8-cineole	
$P \leq 0.01$	2.06 ± 0.13 a	1.37 ± 0.06 c	1.13 ± 0.11 d	2.09 ± 0.07 a	-	1.44 ± 0.06 c	1.41 ± 0.05 c	1.60 ± 0.07 c	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1098	linalool	
$P \leq 0.01$	2.09 ± 0.09 a	1.93 ± 0.02 b	0.92 ± 0.06 f	1.25 ± 0.04 d	2.14 ± 0.04 a	1.63 ± 0.06 c	1.20 ± 0.07 d	1.09 ± 0.03 e	$P \leq 0.01$	n.s	1144	verbenol	
$P \leq 0.01$	6.22 ± 0.10 c	8.05 ± 0.12 a	4.14 ± 0.11 f	4.62 ± 0.08 e	7.75 ± 0.09 b	5.49 ± 0.18 d	6.29 ± 0.15 c	4.54 ± 0.03 e	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1165	borneol	
$P \leq 0.01$	6.20 ± 0.13 a	4.87 ± 0.09 b	3.22 ± 0.06 c	2.10 ± 0.06 d	2.19 ± 0.08 d	1.05 ± 0.04 e	2.15 ± 0.04 d	0.83 ± 0.06 f	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1249	thymoquinone	
n.s	16.81 ± 1.04	16.77 ± 1.04	20.75 ± 9.34	25.20 ± 1.16	10.40 ± 1.23	10.79 ± 1.81	14.68 ± 1.48	25.89 ± 1.41	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1290	thymol	
$P \leq 0.01$	1.83 ± 0.51 a	1.83 ± 0.08 a	1.33 ± 0.10 b	1.84 ± 0.11 a	1.02 ± 0.09 b	0.64 ± 0.09 c	0.97 ± 0.05 bc	1.83 ± 0.08 a	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1298	carvacrol	
$P \leq 0.01$	8.37 ± 0.04 b	11.51 ± 0.37 a	1.82 ± 0.06 e	1.77 ± 0.06 e	2.94 ± 0.06 c	1.34 ± 0.04 f	2.31 ± 0.06 d	2.35 ± 0.04 d	$P \leq 0.01$	$P \leq 0.01$	1581	caryophyllene oxide	
-	9/70	15/10	12/77	14/16	9/90	9/30	6/19	13/91	-	-	-	Others	

C: شاهد، P: تیمار تلقیح با باکتری، A: عدم تنش کم آبی، L: تنش کم آبی، M: تنش کم آبی متوسط، S: تنش کم آبی شدید، n.s: عدم اختلاف معنی‌دار میانگین‌های (±SD) با حرف مشترک دارای عدم اختلاف معنی‌دار در سطوح $P \leq 0.01$ و $P \leq 0.05$ بر اساس آزمون میانگین چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

بحث

گزارش شده است که خصوصیات مورفولوژیکی آویشن دناپی تحت تنش خشکی به طور معنی داری کاهش می یابد (Bahreininejad *et al.*, Alavi-samani *et al.*, 2013). به طور کلی، تنش کم آبی پارامترهای مورفولوژیکی را کاهش می دهد، اما اثر آن در تیمارهای تلقیح شده همان طور که در جدول ۲ نشان داده شده کمتر است. پیش از این نشان داده شده بود که تلقیح با باکتری های PGPR رشد بسیاری از گیاهان را افزایش می دهد (Gray & Smith, Vessey, 2003; 2005; Van Loon, 2007; Banchio *et al.*, 2009). مثال، Cappellari و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه ای گزارش کردند که پارامترهای رشد گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L. در گیاهان تلقیح شده با باکتری های PGPR در مقایسه با گیاهان شاهد (غیر تلقیح شده) ۷۰٪ افزایش یافته است. همچنین همانند نتایج ما، Singh و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که تلقیح بذر نخود با باکتری های *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*، به صورت جداگانه یا به صورت ترکیبی باعث افزایش برخی متابولیت های ثانویه می شود. از سوی دیگر، Mohammadi و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه ای گزارش کردند که گیاهان تلقیح شده با *P. fluorescens*-135 درصد اسانس آنها را در شرایط رطوبت خوب و تنش کم آبی افزایش دادند، در حالی که گیاهان تلقیح شده با *P. fluorescens*-108 کاهش در عملکرد اسانس آنها را در شرایط تنش کم آبی نشان دادند. همانند نتایج ما، Bahadori و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تلقیح با باکتری های PGPR هیچ تأثیر معنی داری بر عملکرد اسانس در آویشن دناپی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده ندارد. همان طور که برخی محققان نیز گزارش کرده اند رشد گیاه می تواند تحت تأثیر اثرهای جوامع میکروبی خاک با همدیگر یا تولید مواد شیمیایی نامطلوب در ریزوسفر کاهش یابد (Glick, 1995; Bahadori *et al.*, 2013). پیش از این گزارش شده است که تنش کم آبی و تلقیح با باکتری های PGPR می تواند به طور قابل توجهی ترکیب های اسانس را در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار دهد (Mohammadi *et al.*, 2016). همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه ای نشان دادند که درصد برخی از ترکیب های شیمیایی موجود در اسانس استخراج شده از

گزارش شده است که خصوصیات مورفولوژیکی آویشن دناپی تحت تنش خشکی به طور معنی داری کاهش می یابد (Bahreininejad *et al.*, Alavi-samani *et al.*, 2013). به طور کلی، تنش کم آبی پارامترهای مورفولوژیکی را کاهش می دهد، اما اثر آن در تیمارهای تلقیح شده همان طور که در جدول ۲ نشان داده شده کمتر است. پیش از این نشان داده شده بود که تلقیح با باکتری های PGPR رشد بسیاری از گیاهان را افزایش می دهد (Gray & Smith, Vessey, 2003; 2005; Van Loon, 2007; Banchio *et al.*, 2009). مثال، Cappellari و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه ای گزارش کردند که پارامترهای رشد گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L. در گیاهان تلقیح شده با باکتری های PGPR در مقایسه با گیاهان شاهد (غیر تلقیح شده) ۷۰٪ افزایش یافته است. همچنین همانند نتایج ما، Singh و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که تلقیح بذر نخود با باکتری های *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*، به صورت جداگانه یا به صورت ترکیبی باعث افزایش برخی متابولیت های ثانویه می شود. از سوی دیگر، Mohammadi و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه ای گزارش کردند که گیاهان تلقیح شده با *P. fluorescens*-135 درصد اسانس آنها را در شرایط رطوبت خوب و تنش کم آبی افزایش دادند، در حالی که گیاهان تلقیح شده با *P. fluorescens*-108 کاهش در عملکرد اسانس آنها را در شرایط تنش کم آبی نشان دادند. همانند نتایج ما، Bahadori و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تلقیح با باکتری های PGPR هیچ تأثیر معنی داری بر عملکرد اسانس در آویشن دناپی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده ندارد. همان طور که برخی محققان نیز گزارش کرده اند رشد گیاه می تواند تحت تأثیر اثرهای جوامع میکروبی خاک با همدیگر یا تولید مواد شیمیایی نامطلوب در ریزوسفر کاهش یابد (Glick, 1995; Bahadori *et al.*, 2013). همانند نتایج ما، Alavi-samani و همکاران (۲۰۱۳) و Bahreininejad و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که عملکرد اسانس آویشن دناپی تنها در تنش کم آبی کم افزایش یافت. گزارش شده است که افزایش اسانس در تیمارهای تنش کم آبی می تواند به دلیل تراکم بیشتر غدد اسانس ساز در سطح این گیاهان باشد (Simon *et al.*, 1992). همچنین، گزارش شده است که گیاهان غلظت بالاتری از متابولیت های ثانویه را در شرایط خشکسالی ذخیره می کنند و این متابولیت ها جزء ساختارهای اساسی اسانس آنها هستند (Selmar &

ندارد اما در مقابل، تنش کم آبی با سطح کم تأثیر مثبت معنی داری بر روی مقدار اسانس داشت. در نتیجه باکتری‌های PGPR بر خصوصیات مورفولوژیکی، عملکرد اسانس و ترکیب‌های آن در شرایط تنش کم آبی کم تأثیر مثبت معنی داری نشان دادند. به طور خلاصه، نتایج نشان دادند که تلقیح آویشن دناایی با باکتری‌های PGPR می‌تواند به طور قابل توجهی زیست‌توده گیاهی و عملکرد اسانس را در شرایط تنش کم آب افزایش دهد. از تغییرات مثبت ناشی از تنش کم کم آبی می‌توان برای بهبود غلظت متابولیت‌های مورد علاقه بهره‌برداری کرد، بنابراین تنش کم کم آبی در کشاورزی را می‌توان به عنوان یک راهبرد زراعی برای بهبود ترکیب‌های فعال زیستی خاص در آویشن دناایی نام برد. از نتایج این تحقیق می‌توان پیشنهاد کرد که کشاورزان مناطق نیمه‌خشک می‌توانند آویشن دناایی را با استفاده از باکتری‌های PGPR در تنش کم کم آبی برای بیشترین میزان اقتصادی اسانس استخراج شده تولید کنند.

منابع مورد استفاده

- Abdollahi Arpanahi, A. and Feizian, M., 2019. Variation in the essential oil composition and morphological parameters of *Thymus daenensis* Clack with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(3): 675-684.
- Alavi-Samani, S.M., Ghasemi Pirbalouti, A., Ataei Kachuei, M. and Hamedi, B., 2013. The influence of reduced irrigation on herbage, essential oil yield and quality of *Thymus vulgaris* and *Thymus daenensis*. *The International Journal of Herbal Medicine*, 4(3): 109-113.
- Alavi-Samani, S.M., Kachouei, M.A. and Pirbalouti, A.G., 2015. Growth, yield, chemical composition, and antioxidant activity of essential oils from two thyme species under foliar application of Jasmonic acid and water deficit conditions. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56(4): 411-420.
- Bahadori, F., Sharifi Ashorabadi, E., Mirza, M., Matinizade, M. and Abdosi, V., 2013. Improved

آویشن دناایی تحت تنش کم آبی بیشتر از گیاهان بدون تنش بود. آنان گزارش کردند که محتوای تیمول تحت شرایط تنش کم آبی به طور قابل توجهی کاهش یافت. همچنین همانند نتایج ما، نشان داده شده است که تنش کم آبی محتوای تیمول و کارواکرول اسانس آویشن دناایی را کاهش می‌دهد (Ghasemi, Alavi-samani et al., 2015; Pirbalouti et al., 2013). تلقیح با باکتری‌های PGPR ترکیب‌های اصلی برخی گیاهان را افزایش داد. به عنوان مثال در یک مطالعه، ترکیب‌های اصلی اسانس گیاه نعناع (*Mentha piperita*) در تیمارهای تلقیح شده با باکتری‌های PGPR نسبت به شاهد بالاتر بود (Cappellari et al., 2015). همانند نتایج ما، گزارش شده است که تلقیح باکتریایی با *P. fluorescens* غلظت تیمول را در آویشن دناایی در مقایسه با گیاهان شاهد به طور معنی داری افزایش داد (Bahadori et al., 2013). Banchio و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تلقیح گیاه مرزنجوش شیرین (*Origanum vulgare* L.) با PGPR غلظت برخی از ترکیب‌های اسانس را افزایش می‌دهد. همانند نتایج ما، Mohammadi و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که تلقیح گیاه مرزه (*Satureja hortensis*) با برخی از سویه‌های *P. fluorescens* می‌تواند تعدادی از ترکیب‌های اسانس را در شرایط تنش کم آبی به میزان قابل توجهی افزایش دهد. البته سازوکاری که باکتری‌های PGPR ترکیب اسانس را تغییر داده و یا می‌دهد تاکنون به خوبی تشخیص داده نشده است. Banchio و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تغییر در سنتز ترکیب‌های اسانس می‌تواند به عنوان یک پاسخ دفاعی در مورد همزیستی توسط میکروارگانیسم‌ها در نظر گرفته شود، زیرا نشان داده شده است که چندین نوع اسانس خاصیت ضد میکروبی دارند.

به طور کلی، نتایج نشان داد که تلقیح با باکتری‌های PGPR در سطح کم تنش کم آبی برخی از خصوصیات مورفولوژیکی آویشن دناایی را افزایش می‌دهد ولی تأثیری بر مقدار اسانس

- production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. Turkish Journal of Biology, 37: 350-360.
- Ghorbanpour, M., Hatami, M., Kariman, K. and Khavazi, K., 2015. Enhanced efficiency of medicinal and aromatic plants by PGPRs: 43-70. In: Egamberdieva, D., Shrivastava, S. and Varma, A., (Eds.). Plant-Growth-Promoting *Rhizobacteria* (PGPR) and Medicinal Plants. Springer International Publishing, Switzerland, 442p.
 - Glick, B.R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41: 109-117.
 - Gray, E.J. and Smith, D.L., 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signalling processes. Soil Biology and Biochemistry, 37: 395-412.
 - Jamzad, Z., 2009. *Thymus* and *Satureja* species of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, 172p.
 - Liddycoat, S.M., Greenberg, B.M. and Wolyn, D.J., 2009. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on Asparagus seedlings and germinating seeds subjected to water stress under greenhouse conditions. Canadian Journal of Microbiology, 55: 388-394.
 - Mohammadi, H., Dashi, R., Farzaneh, M., Parviz, L. and Hashempour, H., 2016. Effects of beneficial root pseudomonas on morphological, physiological, and phytochemical characteristics of *Satureja hortensis* (Lamiaceae) under water stress. Brazilian Journal of Botany, 40: 41-48.
 - Mohammadi, M., Khavazi, K., Malakouti, M.J. and Rejali, F., 2017. Improve the quality of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with using Phosphate and Zinc biofertilizers. Iranian Journal of Pulses Research, 8(2): 44-56.
 - Mohammadi, M., Malakouti, M.J., Khavazi, K., Rejali, F. and Davoodi, M.H., 2015. The effect of bio-fertilizer and chemical fertilizers (phosphate and zinc) on yield and yield components of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Water and Soil, 29(1): 176-187.
 - Mahmoudzade, M., Rasouli Sedghiani, M.H. and Asagari Lajayer, H., 2016. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on growth characteristics and concentration of macronutrients in peppermint (*Mentha piperita* L.) under greenhouse conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 6(24): 155-167.
 - Naghdi Badi, H. and Makizade Tafti, M., 2003. An growth, essential oil yield and quality in *Thymus daenensis* Celak on mycorrhizal and plant growth promoting *Rhizobacteria* inoculation. International Journal of Plant Production, 4(12): 3384-3391.
 - Bahadur, A., Singh, U.P., Sarma, B.K., Singh, D.P., Singh K.P. and Singh, A., 2007. Foliar application of plant growth-promoting *Rhizobacteria* increases antifungal compounds in pea (*Pisum sativum*) against *Erysiphe pisi*. Mycobiology, 35(3): 129-134.
 - Bahreinnejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M. 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. International Journal of Plant Production, 7: 155-166.
 - Banchio, E., Bogino, P.C., 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.
 - Banchio, E., Xie, X. Zhang, H. and PAR, P.W., 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 653-657.
 - Barea, J., Pozo, M., Azcon, R. and Azcon-Aguilar, C., 2005. A microbial co-operation in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany, 56(417): 1761-1778.
 - Cappellari, L., Santoro, M.V., Nievas, F., Giordano, W. and Banchio, E., 2013. Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. Applied Soil Ecology, 70: 16-22.
 - Cappellari, L., Santoro, M.V., Reinoso, H., Travaglia, C., Giordano, W. and Banchio, E., 2015. Anatomical, morphological, and phytochemical effects of inoculation with plant growth-promoting *Rhizobacteria* on peppermint (*Mentha piperita*). Journal of Chemical Ecology, 41(2): 149-158.
 - Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M. and Taherian Ghahfarokhi, F., 2013. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. Industrial Crops and Products, 48: 43-48.
 - Ghasemi Pirbalouti, A., Samani, M.R., Hashemi, M. and Zeinali, H., 2014. Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak) under reduced irrigation. Plant Growth Regulation, 72: 289-301.
 - Ghorbanpour, M., Hatami, M. and Khavazi, K., 2013. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid

- rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita*). Plant Physiology and Biochemistry, 49: 1177-1182.
- Selmar, D. and Kleinwachter, M., 2013. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: the impact of the stress-related overreduction on the accumulation of natural products. Plant and Cell Physiology, 54: 817-826.
 - Singh, U.P., Sarma, B.K. and Singh, D.P., 2003. Effect of plant growth-promoting rhi-zobacteria and culture filtrate of *Sclerotium rolfsii* on phenolic and salicylic acid contents in Chickpea (*Cicer arietinum*). Current Microbiology, 46: 131-140.
 - Stahl-Biskup, E. and Saez, F., 2002. Thyme the genus *Thymus*. Taylor & Francis, 352p.
 - Tahami, M.K., Jahan, M., Khalilzadeh, H. and Mehdizadeh, M., 2017. Plant growth promoting rhizobacteria in an ecological cropping system: A study on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil production. Industrial Crops and Products, 107: 97-104.
 - Van Loon, L.C., 2007. Plant response to plant growth-promoting *Rhizobacteria*. European Journal of Plant Pathology, 119: 243-254.
 - Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571-586.
 - overview of *Thymus vulgaris* L. Journal of Medicinal Plants, 2(7): 1-12.
 - Ndeddy Aka, R.J. and Babalola, O.O., 2016. Effect of bacterial inoculation of strains of *pseudomonas aeruginosa*, *alcaligenes feacalis* and *bacillus subtilis* on germination, growth and heavy metal (Cd, Cr, and Ni) uptake of *Brassica juncea*. International Journal of Phytoremediation, 18(2), 200-209.
 - Nickavar, B., Mojab, F. and Dolat-Abadi, R., 2005. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. Food Chemistry, 90: 609-611.
 - Rasipour, L. and Aliasgharzadeh, N., 2007. Interactive Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria and *Bradyrhizobium japonicum* on Growth, Nodule Indices and Some Nutrient Uptake of Soybean. Journal of Water and Soil Science, 11(40): 53-64.
 - Roumani, A., Ehteshami, S.M.R. and Rabiei, M., 2014. Effect of seed inoculation with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on forage quality and yield of turnip (*Brassica rapa* L.) at the different values of nitrogen and phosphorus fertilizers. Plant Production Technology, 14(2): 89-99.
 - Simon, J.E., Reiss-Bubenheim, D., Joly, R.J. and Charles, D.J., 1992. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research, 4:71-75.
 - Santoro, M.V., Zygadlo, J., Giordano, W. and Banchio, E., 2011. Volatile organic compounds from

Influence of drought stress and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on morphological characteristics, essential oil yield and composition of *Thymus daenensis* Clack

A. Abdollahi Arpanahi^{1*}, M. Feizian² and G. Mehdipourian³

1*- Corresponding author, Soil Sciences Department, Agriculture Faculty, Lorestan University, Khurramabad, Iran
E-mail: abdollahi.al@fa.lu.ac.ir; a.abdollahi.a@gmail.com

2- Soil Sciences Department, Agriculture Faculty, Lorestan University, Khorramabad, Iran

3- Soil Sciences Department, Agriculture Faculty, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Received: February 2020

Revised: May 2020

Accepted: May 2020

Abstract

To investigate the effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and drought stress on essential oil of *Thymus daenensis* Clack, a greenhouse experiment was conducted in Shahrekord, Iran in 2017. The experiment was arranged as a factorial in a completely randomized design with three replications. The first factor included four levels of irrigation: well-watered (No stress), irrigation after depletion of 20-25% of field capacity (FC) (Low stress), irrigation after depletion of 35-40% of FC (Mild stress) and irrigation after depletion of 55-60% of FC (Severe stress). The second factor included two levels of PGPR treatments: no inoculation (Control) and inoculation with PGPR. The results showed that the morphological parameters were significantly increased in PGPR treatments, while water stress decreased all parameters. The essential oil amount increased in low stress and decreased in severe stress. PGPR inoculation increased the amount of essential oil, although this increase was not statistically significant. PGPR incubation and drought stress had a significant effect on 13 and 14 components, respectively. The interaction of PGPR and drought stress had a significant effect on the oil components. Thymol and carvacrol, two important components of *T. daenensis* essential oil, decreased with increasing severity of drought stress, but PGPR inoculation increased them, especially at drought stress treatments.

Keywords: *Thymus daenensis* Celak, essential oil, plant growth promoting rhizobacteria, drought stress.