بررسی گونه‌های مختلف رایزوباکتری های محرک رشد بر شاخص‌های رشدی، میزان و ترکیبات اسانس گیاه دارویی ریحان *Ocimum basilicum*

مریم ذوالفقاری*[1]، احمد اصغرزاده[2]

۱-استادیار دانشگاه شهید چمران اهواز ۲- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب جهاد کشاورزی

*نویسنده مسئول: m.zolfaghari@scu.ac.ir

چکیده

امروزه گیاهان دارویی اهمیت بالایی در تامین نیازهای مرتبط با سلامت بسیاری از جوامع پیشرفته و سنتی دارند. در نتیجه تولید مواد گیاهی با عملکرد بالا و کیفیت مطلوب و مطابقت آن با استانداردهای لازم، مانند غلظت مناسب مواد فیتوشیمیایی و عاری بودن از بقایای سموم و کودهای شیمیایی در محصولات، ضرورت‌های لازم برای تولید گیاهان دارویی است. کودهای بیولوژیک مثل رایزوباکتری‌های محرک رشد، یکی از راهکارهای مفید جهت دستیابی به اهداف ذکر شده می‌باشد. گیاه دارویی ریحان، متعلق به خانواده نعناییان، با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا با خواص ضدمیکروبی و ضدسرطان، داشتن اسانس معطر و ارزشمند و سایر خواص دارویی، گیاهی بسیار مفید و ارزشمند به شمار می‌آید در این تحقیق اثر چهار گونه مختلف از رایزوباکتری‌های افزایش دهنده رشد شامل (*Azotobacter chroococcum* ؛ *Pseudomonas putida* ؛*Bacillus subtilis* ؛ *Azosprilium brasilence*)، در مقایسه با کود شیمیایی و گیاهان شاهد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از اثرات مثبت بعضی گونه‌های رایزوباکتری مثل ازتوباکترکروکوکوم و باسیلوس‌سابتیلیس بر پارامترهای مورد بررسی شامل شاخص های رشد رویشی، میزان و ترکیبات اسانس در گیاهان ریحان می‌باشد. نتیجه کلی نشان می دهد که باکتری های محرک رشد، توانایی رقابت با کود شیمیایی و حتی بهتر از آن در کشت گیاه ریحان بازده داشتند.

کلمات کلیدی: رایزوباکتری های افزایش دهنده رشد، ریحان، اسانس.

مقدمه

تولید و مصرف بی رویه نهاده‌های شیمیایی در کشاورزی متداول در چند دهه اخیر مشکلات زیست محیطی بسیاری را سبب گردیده است که در این میان می‌توان به آلودگی منابع آب و خاک، کاهش کیفیت محصولات غذایی و بر هم خوردن تعادل زیستی در محیط خاک که صدمات جبران ناپذیری به اکوسیستم‌ها وارد می‌سازد، اشاره کرد. راه حل اساسی این مشکلات حرکت به سوی کشاورزی پایدار بر پایه استفاده هرچه بیشتر از نهاده‌های درون مزرعه‌ای از جمله کودهای بیولوژیک می‌باشد. از انواع کودهای بیولوژیک می‌توان به میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی مثل رایزوباکتری‌های محرک رشد گیاه اشاره کرد، که امروزه کاربرد فراوانی در سیستم‌های کشاورزی پایدار به منظور دستیابی به افزایش کیفیت و پایداری عملکرد محصولات زراعی و باغی دارند. رایزوباکتری‌های محرک رشد ممکن است سرعت رشد گیاه را با اثر مستقیم یا غیرمستقیم فعالیتشان تحریک کنند. مکانیسم‌های اثر مستقیم شامل تولید مواد فرار باکتریایی تحریک کننده و فیتوهورمون‌ها؛ کاهش سطح اتیلن در گیاه؛ بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و تحریک مکانیسم‌های مقاومت به بیماری می‌باشد. ترکیبات ثانویه گیاهان، بر روی باکتری‌ها اثر می‌گذارند و تجمع این ترکیبات در گیاهان میزبان مربوطه، در طی استقرار میکروارگانیسم ها تجمع می‌یابند(ویرهیلینگ و پیچه، ۲۰۰۲).

گیاه ریحان، یکی از گیاهان تیره نعناع که از نظر دارویی با ارزش بوده و هر سه کاربرد دارویی، ادویه‌ای و عطری را دارد (بایس و همکاران، ۲۰۰۲). ارزش این گیاه به خاطر مقادیر بالای اسانس آن است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد (کاهکونن و همکاران، ۱۹۹۹).

مواد و روش‌ها

بعضی رایزوباکتری‌های افزایش دهنده رشد اثرات مطلوبی بر رشد و میزان اسانس گیاهان از جمله گیاه دارویی ریحان دارند. در این تحقیق اثر باکتری های محرک رشد بر شاخص های رشد رویشی و میزان اسانس گیاه دارویی ریحان مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح آزمایشی بلوک کامل تصادفی با شش تیمار شامل: چهار گونه مختلف رایزوباکتری محرک رشد گیاه(*Azotobacter chroococcum*؛ *Pseudomonas putida* ؛ *Bacillus subtilis*؛ *Azosprilium brasilence*)، شاهد (بدون کود) و کود شیمیایی (NPK به مقدار توصیه شده برای ریحان) در چهار تکرار و سه مشاهده گلدانی در هر تکرار انتخاب گردید. کشت گیاهان ریحان در گلدان و در گلخانه انجام شد. نحوه کاربرد رایزوباکتری‌ها برای تلقیح گیاهان ریحان، قرار دادن بذرها برای مدت یک ساعت در سوسپانسیون کشت باکتری ها و سپس کاشت بذرها بود. این رایزوباکتری‌ها قادر هستند که پس از ورود به خاک تکثیر شده و جمعیت مطلوبی را برای تلقیح گیاهان ریحان تشکیل دهند.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ بر شاخص های رویشی گیاهان ریحان تحت تیمارهای مختلف نشان می‌دهد. گیاهان ریحان در تیمار کود شیمیایی با میانگین وزنی۲۲ گرم، وزن‌تر بیشتری را نسبت به سایر تیمارها دارند این در حالی‌است که گیاهان ریحان در تیمار باسیلوس سابتیلیس، ازتوباکتر کروکوکوم و آزوسپریلیوم برازیلنس اگرچه وزن‌تر کمتری را دارند، اما تفاوت بین آن‌ها و تیمار کود شیمیایی معنی‌دار نمی‌باشد. گیاهان تیمار سودوموناس‌پوتیدا و گیاهان شاهد با میانگین وزنی ۱۰ گرم، کمترین میزان وزن‌تر را دارند. همچنین تیمار رایزوباکتری ازتوباکتر کروکوکوم با میانگین وزنی ۲/۸ گرم، بیشترین وزن خشک و با میانگین تعداد ۵۰ برگ، بیشترین تعداد برگ را در بین سایر تیمارها دارند.

جدول۱- میانگین صفات مورد بررسی در تیمارهای مختلف در گیاه دارویی ریحان

تیمار	وزن تربخش هوایی (گرم)	وزن‌خشک هوایی(گرم)	تعداد برگ	ارتفاع گیاه (سانتی متر)	میزان اسانس (درصد)
A. chroococcum	۱۷ ab	۲/۸a	۵۰	۳۷a	۰/۳b
P. putida	۱۰b	۱/۳ bc	۳۲cd	۳۵a	۰/۳b
B. subtilis	۱۹ ab	۲/۵ ab	۴۹ab	۳۷a	۰/۴۸a
A. brasilence	۱۷/۵ ab	۲/۶ ab	۴۷bc	۳۵a	۰/۲c
کودشیمیایی	۲۲a	۲/۹ a	۴۷c	۴۰a	۰/۲ c
شاهد	۱۰/۵ b	۱/۱c	۲۹d	۳۳a	۰/۲c

همچنین بر اساس نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در میزان اسانس گیاهان ریحان وجود دارد. گیاهان تلقیح شده با تیمارهای باکتری میزان اسانس بالاتری از گیاهان غیرباکتریایی دارند. گیاهان ریحان در تیمار باسیلوس‌سابتیلیس بیشترین میزان اسانس را دارند، اثر گونه‌های سودوموناس و ازتوباکتر بر مقدار اسانس مشابه است، اما رایزوباکتری آزوسپریلیوم در بین گونه‌ها، کمترین میزان اسانس را دارد و تفاوت معنی‌داری بین آزوسپریلیوم و تیمار کود شیمیایی و گیاهان شاهد وجود ندارد.

آنالیز ترکیبات اسانس: اسانس‌ها توسط دستگاه کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی با جرم سنجی مورد شناسایی و جداسازی قرار گرفتند. لینالول بیشترین جزء اسانس را تشکیل می‌دهد و تغییرات آن بر اساس تیمارهای اعمال شده قابل توجه است.

جدول ۲- درصد ترکیبات اسانس گیاهان ریحان در کشت با رایزوباکتری

ترکیب	شاخص بازداری	*A.brasilense*	*A.chrococum*	*B.subtilis*	*P. putida*	کود شیمیایی	شاهد
β –Pinene	۹۳۸	–	–	–	–	۰/۴	–
myrcene	۹۸۹	۱/۱	۰/۸	۰	۰/۲	۲/۱	–
1,8 cineole	۱۰۳۰	–	–	–	–	۵/۵	–
E-β-ocimene		–	–	–	–	۱/۲	–
Linalool	۱۰۹۵	۳۵/۰	۴۶/۸	۲۶/۸	۳۰/۰	۴۷/۵	۱۶/۹
camphor	۱۱۴۳	–	–	–	–	۰/۵	۰/۹
α- terpineol	۱۱۸۷	۰/۹	۰/۶	۰/۱	۰/۱	۰/۵	۲/۳
methyl chavicol	۱۱۹۶	۲/۰	۴/۷	–	۴/۲	۱/۲	۴/۵
nerol	۱۲۳۰	۰/۶	۲/۸	۱/۰	۰/۹	–	۱/۱
neral	۱۲۳۸	۵/۰	–	–	۱/۳	۱/۲	۱۱/۸
geraniol	۱۲۵۳	۵/۱	۱/۱	۱/۶	۳/۱	۱/۴	۰/۸
geranial	۱۲۶۷	۷/۵	۴/۱	۱/۸	۲/۶	۱/۹	۲/۰
β- elemene	۱۳۸۹	۵/۸	۳/۵	۰/۸	–	۴/۵	۱/۱
z- caryophyllene	۱۴۰۷	–	–	–	–	۱/۱	–
E-caryophyllene	۱۴۱۷	۳/۳	۲/۲	۱/۸	–	۲/۱	–
α-transbergamotene	۱۴۳۶	۹/۲	۱۰/۷	۳/۵	۹/۱	۵/۸	۵/۶
α-humulene	۱۴۵۴	۲/۳	۱/۵	۱/۵	–	۱/۳	۳/۶
Muurola4,5 diene(cis)	۱۴۶۳	۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۷	۰/۸	۲/۶
Muurola4,5diene (Trans)	۱۴۹۰	۲/۲	۲/۴	۰/۶	۲/۲	۲/۴	–
germacrene A	۱۵۰۳	۰/۷	۱/۶	۱/۱	۱/۵	۲/۴	۰/۷
cadinene	۱۵۱۳	۲/۹	۳/۲	۲/۵	۴/۱	۳/۱	–
elemol	۱۵۴۹	–	۰/۷	۱/۹	۰/۵	۰/۴	۱/۷
caryophyllene oxide		۱/۶	۰/۶	۴/۵	۱/۲	۰/۳	۴/۱
1,10-diepi-cubenol	۱۶۱۴	۲/۴	۱/۱	۵/۵	۱/۹	۰/۱	۵/۵
δ- cadinol	۱۵۲۴	۱/۱	۵/۷	۴/۵	۰/۶	۵/۵	۰/۶
epi- α-cadinol	۱۶۴۰	۱۰/۱	–	۳۰/۰	۶/۰	–	۷/۲
جمع ترکیبات		۹۹	۹۴/۷	۹۱/۱	۷۰/۲	۹۶/۷	۷۳

میزان لینالول در تیمار رایزوباکتری ازتوباکترکروکوکوم بیشتر از بقیه تیمارهاست و پس از آن رایزوباکتری آزوسپریلیوم براسیلنس و سودموناس‌پوتیدا قرار دارند. میزان متیل‌کاویکول در اسانس گیاهان ریحان در تیمار ازتوباکترکروکوکوم و پس از آن تیمار سودوموناس‌پوتیدا بالاتر از بقیه است. در کل حضور بیشتر ترکیبات سبک در اسانس کیفیت آن را افزایش می‌دهد، در بین تیمارها بیشترین درصد ترکیبات سبک در اسانس گونه ازتوباکتر حضور دارد و به دنبال آن آزوسپریلیوم برازیلنس و سودوموناس‌پوتیدا قرار دارند. گیاهان تیمار شیمیایی نیز از نظر کیفیت اسانس، در حد کمی‌پایین از رایزوباکتری‌های ذکر شده قرار دارد. بر اساس نتایج آزمایش رایزوباکتری ازتوباکتر کروکوکوم و باسیلوس سابتیلیس تاثیر بارزی بر افزایش شاخص‌های رویشی مورد بررسی داشته‌اند و پس از آن‌ها رایزوباکتری آزوسپریلیوم قرار دارد، اما رایزوباکتری سودوموناس‌مانند سایر نژادهای باکتری مورد استفاده، نتوانسته است اثرات افزایشی بر رشد و شاخص‌های رویشی گیاهان ریحان داشته باشد. در ارائه نتایج آزمایش، تاثیر گونه‌های مختلف رایزوباکتری با تیمارکود شیمیایی و گیاهان شاهد مورد مقایسه قرار گرفت، و نتایج نشان می‌دهد که تاثیر تیمار کود شیمیایی بر افزایش شاخص‌های رشدی گیاهان ریحان، بیشتر از تیمار رایزوباکتری‌ها می‌باشد. در واقع میزان عناصر موجود در کود شیمیایی، توانسته رشد رویشی مناسبی را برای گیاهان ریحان فراهم آورد. نتایج مثبت حاصل از تلقیح گیاهان با رایزوباکتری‌ها، ممکن است بواسطه نقش ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در تثبیت نیتروژن باشد. علاوه بر این آن‌ها مواد افزایش دهنده رشد گیاهی مثل ایندول استیک اسید و جیبرلین‌ها را تولید می‌کنند.

منابع

۱. رضا امید بیگی: تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد سوم، به نشر، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد ۱۳۸۵. ۳۹۷صفحه.

2. Bais, H. P., Walker, T. S., Schweizer, H. P. and Vivanco, J. M. 2002. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum* -Plant Physiol. Biochem. 983–995.
3. Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J Agric. Food Chemistry. 47:3954–3962.
4. Vierheilig, H. and Piché, Y. 2002. Signalling in arbuscular mycorrhiza: Facts and hypotheses, In: Flavonoids in Cell Functions, Eds. Buslig B, and Manthey J; Kluwer, Academic/Plenum Publishers, New York. 23-39.

The effect of different species of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on growth parameters, essential oil content and composition of *Ocimum basilicum*

1-- chamran university, m.zolfaghari@scu.ac.ir, 2-

*Corresponding author: m.zolfaghari@scu.ac.i

Abstract

The production of medicinal plant is important in health care needs these days, in developed countries or traditional systems. So production of plant material with high yield and quality, according to standards for the content of phytochemicals and without any residual of pesticide or any chemical fertilizers, is a need for the economic production of medicinal plant. Biofertilizer like plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) could help to achieve the goals. *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) belongs to Lamiaceae is a valuable and economically important plant, because of its antioxidant properties and anticancer properties, and its essential oil. In this experiment we compare the effect of four species of PGPR to chemical fertilizer and control plant, in the production of basil plant to investigate the effect of different species to increase desirable parameters such as growth and essential oil content. This experiment was done on two separate section; the result of the first one show that

Azotobacter chrococoum and Bacillus subtillis. Conclusion of results shows the PGPR as biofertilizers could be replace chemical fertilizer.

Key words: *Ocimum basilicum*, Plant Growth Promoting Rhizobacteria, essential oil.