تأثیر مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌های محرک رشد بر عملکرد پیکر رویشی و برخی ویژگی-های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) تحت شرایط تنش خشکی

زهرا اصلانی[۱]، عباس حسنی[*۱]، بابک عبدالهی مندولکانی[۲]، محسن برین[۳]، رامین ملکی[۴]

[*۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۲] گروه اصلاح و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۳] گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۴] گروه پژوهشی کروماتوگرافی، جهاد دانشگاهی آذربایجان‌غربی، ارومیه

[*]نویسنده مسئول: horthasani@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تأثیر همزیستی با قارچ *Piriformospora indica* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر عملکرد پیکر رویشی و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه مریم گلی تحت شرایط تنش خشکی، یک آزمایش گلدانی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل تلقیح با میکروارگانیسم‌ها در سه سطح (شاهد بدون تلقیح، تلقیح با قارچ *P. indica* و باکتری *P. fluorescens*) و تنش خشکی در سه سطح (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. نتایج نشان داد تنش خشکی و کاربرد میکروارگانیسم‌ها تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای اندازه‌گیری شده داشته‌اند. با کاهش میزان آب خاک، فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد اسانس افزایش در حالی‌که عملکرد پیکر رویشی، شاخص کلروفیل و عملکرد اسانس کاهش یافت. همچنین مقادیر کلیه صفات اندازه‌گیری شده در گیاهان تلقیح شده با قارچ و باکتری بیشتر از گیاهان بدون تلقیح بود. بیشترین و کمترین مقادیر عملکرد پیکر رویشی تر، خشک و اسانس به ترتیب در شرایط بدون تنش و در گیاهان تلقیح شده با قارچ و شرایط تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون تلقیح مشاهده گردید. درمجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌های محرک رشد می‌تواند منجر به کاهش اثرات سوء خشکی و بهبود رشد گیاه مریم‌گلی گردد.

کلمات کلیدی: اسانس، تنش کم‌آبی، فنل کل، قارچ اندوفیت، مریم‌گلی

مقدمه

مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) گیاهی علفی و چندساله متعلق به تیره نعناع می‌باشد که منشأ آن نواحی شمال مدیترانه گزارش شده است. اسانس این گیاه خواص ضدباکتریایی داشته و در صنایع داروسازی، غذایی و نیز آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (امیدبیگی، ۱۳۹۲).

آب یکی از عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای در رشد و نمو و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد. شرایط کم‌آبی علاوه بر کاهش رشد گیاه، باعث تحریک پاسخ‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی متعددی نظیر بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و تعرق، کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، انباشت مواد محلول و آنتی‌اکسیدان‌ها، بیان ژن‌های خاص تنشی و تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌گردد (Bettaieb *et al.*, 2009). Matteo و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی تأثیر تنش خشکی (آبیاری کامل بعنوان شاهد، آبیاری متوسط و بدون آبیاری) بر پارامترهای مورفولوژیکی و اکوفیزیولوژیکی گونه‌ای از گیاه مریم‌گلی (*Salvia sinaloensis*) گزارش کردند که در گیاهان آبیاری نشده محتوی کلروفیل کل به میزان ۱۴/۷٪ و شاخص رشد به میزان ۵۹/۴ ٪ کاهش یافت. همچنین در تنش متوسط

IrHC2019

محتوی کلروفیل و رشد گیاه نسبت به گیاهان شاهد کاهش در حالی‌که مقدار فنول و فلاونوئید افزایش یافت. Tatrai و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گونه‌ای از آویشن (*Thymus citriodorus*) به تنش خشکی گزارش نمودند که وزن تر پیکر رویشی، میزان کلروفیل و محتوی نسبی آب برگ در پاسخ به تنش خشکی کاهش یافتند در حالی‌که درصد اسانس در سطوح متوسط تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافت.

کودهای زیستی، متشکل از میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر غذایی یاری می‌کنند (Wu *et al*., 2005). امروزه اثبات شده است که این میکروارگانیسم‌ها علاوه بر کمک به جذب عناصر، باعث کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه، افزایش کمی و کیفی محصول و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی می‌شوند (Nagananda *et al*., 2010). در سال‌های اخیر، بحرانی-شدن وضعیت آب در ایران از یک سو و مصرف عمده آب در بخش کشاورزی از سوی دیگر، تجدیدنظر در نوع گیاهان مورد کشت را به یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر مبدل ساخته است. در همین راستا شناسایی و معرفی گیاهان متحمل به خشکی و جایگزینی آن‌ها بجای گیاهان دارای نیاز آبی بالا و نیز بخدمت گرفتن روشهای عملی کاهش و تعدیل اثرات خشکی بر گیاهان نظیر استفاده از کودهای زیستی اهمیت بالایی پیدا کرده است. به همین خاطر، تحقیق حاضر با هدف بررسی توان قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* در بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه مریم‌گلی به شرایط تنش خشکی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت یک آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل تلقیح با میکروارگانیسم‌ها در سه سطح (شاهد بدون مایه‌کوبی، تلقیح با قارچ *P. indica* و تلقیح با باکتری *P. fluorescens*) و تنش خشکی نیز در سه سطح (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ ظرفیت زراعی) بودند. برای تلقیح قارچ، بذرهای جوانه زده مریم‌گلی با مقداری مایه تلقیح قارچ *P. indica* حاوی ۵×۱۰^{۵} اسپور تلقیح و به مدت چهار ساعت بر روی شیکر با دور آرام قرار داده شدند تا امکان اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه‌چه فراهم شود. برای تلقیح باکتری نیز ابتدا بذور ضدعفونی سطحی گردیده و با محلول مایه تلقیح (با جمعیت $۱۰^{۸}$ سلول در هر میلی‌متر از سوسپانسیون سویه ۱۷۳ باکتری *P. fluorescens*) بمدت ۱ ساعت در شیکر قرار داده شده و نهایتاً به تعداد ۲۰ عدد بذر از هر کدام از تیمارها در هر گلدان کشت گردید. تا مرحله هشت برگی شدن بوته‌ها (یک ماه پس از کاشت بذور)، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گردیده و از این مرحله به بعد، تیمارهای آبیاری با توزین روزانه گلدان‌ها و جبران آب مصرفی (بر اثر تبخیر و تعرق) باتوجه به هر تیمار اعمال گردید. ۲ ماه بعد از اعمال تنش از هر واحد آزمایشی نمونه‌برداری گردیده و صفاتی نظیر شاخص کلروفیل (SPAD) توسط دستگاه کلروفیل‌سنج، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (Burits and Bucar, 2000)، فنل کل به روش فولین سیوکالتیو (Ebrahimzadeh *et al*., 2008)، محتوی و عملکرد اسانس (استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر) و نیز عملکرد پیکر رویشی تر و خشک در گلدان اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و مقایسات میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

طبق نتایج تجزیه‌ی واریانس (جدول ۱) اثرات متقابل تنش خشکی و مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌ها بر عملکرد ماده تر و خشک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد اسانس و اثرات ساده تنش خشکی و مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌ها بر شاخص کلروفیل، فنل کل و محتوی اسانس معنی‌دار بوده است. با تشدید تنش خشکی عملکرد ماده‌ی تر و خشک، عملکرد اسانس و شاخص کلروفیل کاهش یافت؛ این در حالی است که در تمام سطوح خشکی، تیمارهای تلقیح شده با قارچ و

IrHC2019

باکتری از میزان عملکرد ماده‌ی تر و خشک، عملکرد اسانس و میزان کلروفیل بیشتری نسبت به تیمار شاهد (بدون مایه‌کوبی) برخوردار بودند (جداول ۲ و ۳).

جدول «۱» نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تنش خشکی و مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌ها

منابع تغییرات	درجات آزادی	میانگین مربعات						
		عملکرد ماده تر	عملکرد ماده خشک	شاخص کلروفیل	فنل کل	فعالیت آنتی اکسیدانی	محتوی اسانس	عملکرد اسانس
میکروارگانیسم	۲	۲۲۲۱/۳۱**	۲۳۹/۱۲**	۶/۴۹**	۴/۶۵**	۳۷۸/۱۱**	۱/۰۱**	۰/۰۷۷**
خشکی	۲	۵۲۶۳/ ۶۲**	۶۵۰/۸۶**	۴۳/۹۰**	۰/۸۱*	۱۰۵۰/۰۶**	۰/۱۸**	۰/۰۹**
میکروارگانیسم × خشکی	۴	۲۷۹/۱۳*	۲۵ /۷۰**	۰/۵۹^{ns}	۰/۰۶۹^{ns}	۱۲۷/۱۵*	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۴*
خطای آزمایش	۱۸	۶۹/۲۴	۲/۶۵	۱/۰۴	۵/۳۴	۱۰/۰۳	۰/۰۱۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۱۷/۴۴	۷/۹۸	۲/۶۷	۱۷/۸۰	۶/۴۹۷	۷/۸۸	۱۴/۰۵

^{ns}، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد

جدول «۲» مقایسه‌ی میانگین‌های اثرات متقابل تنش خشکی و مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌ها بر صفات اندازه‌گیری شده

تیمار / صفات	عملکرد ماده تر (گرم در گلدان)	عملکرد ماده خشک (گرم در گلدان)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪)	عملکرد اسانس (میلی لیتر در گلدان)
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی× قارچ	۹۱/۱۶ a	۳۵/۱۶ a	۴۴/۷۵ cde	۰/۰۴۸ a
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی× باکتری	۸۱/۸۵ a	۳۳/۷۳ a	۳۸/۴۲ de	۰/۴۶۶ a
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی× شاهد	۴۷/۰۴ bc	۲۳/۸۶ b	۳۸/۱۳ e	۰/۲۴۳ c
۷۰ درصد ظرفیت زراعی× قارچ	۵۹/۸۷ b	۲۱/۷۱ b	۴۶/۱۶ c	۰/۳۶۶ a
۷۰ درصد ظرفیت زراعی× باکتری	۴۶/۸۳ bc	۲۰/۶۶ b	۴۲/۶۲ cde	۰/۳۴۳ b
۷۰ درصد ظرفیت زراعی× شاهد	۲۶/۵۷ de	۱۵/۰۹ c	۴۳/۳۰ cde	۰/۲۰۰ cd
۴۰ درصد ظرفیت زراعی× قارچ	۳۵/۶۱ cd	۱۴/۵۱ c	۷۳/۰۴ a	۰/۲۳۶ c
۴۰ درصد ظرفیت زراعی× باکتری	۲۵/۱۵ de	۱۴/۴۳ c	۶۳/۶۵ b	۰/۲۱۶ cd
۴۰ درصد ظرفیت زراعی× شاهد	۱۵/۲۰ e	۹/۴۵ d	۴۶/۱۶ cd	۰/۱۳۳ d

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند.

جدول «۳» مقایسه‌ی میانگین اثرات ساده تنش خشکی و مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌ها بر صفات اندازه‌گیری شده

تیمار / صفات	شاخص کلروفیل (SPAD)	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید برگرم ماده تر)	محتوی اسانس (درصد)
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی	۴۰/۰۲ a	۲/۵۴ b	۱/۳۳ b
۷۰ درصد ظرفیت زراعی	۳۸/۵۴ b	۳/۵ a	۱/۵۸ a
۴۰ درصد ظرفیت زراعی	۳۵/۶۷ c	۳/۴ ab	۱/۴۳ ab
P. indica	۳۸/۸۳ a	۳/۶ a	۱/۵۶ a
P. fluorescens	۳۸/۲۴ a	۲/۹ b	۱/۵۱ a
بدون تلقیح	۳۷/۱۶ b	۲/۴ b	۱/۲۸ b

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند.

IrHC2019

در اثر کم‌آبی سطح برگ، میزان کلروفیل، جذب نور و در نتیجه ظرفیت فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد. بدیهی است که با محدودشدن فرآورده‌های فتوسنتزی در این شرایط، رشد گیاه و نهایتاً عملکرد آن دچار نقصان می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007). تنش کم‌آبی رشد گیاه را با تأثیر بر فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نظیر فتوسنتز، تنفس، جذب و انتقال یون‌ها، کربوهیدرات‌ها و متابولیسم عناصر و افزاینده‌های رشد کاهش می‌دهد (Jaleel *et al*., 2009).

با کاهش رطوبت خاک محتوی فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی اسانس افزایش یافت. همچنین تیمارهای تلقیح شده با قارچ و باکتری از میزان فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی اسانس بیشتری نسبت به تیمار شاهد (بدون مایه‌کوبی) برخوردار بودند (جداول ۲ و ۳). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که محتوی کلی متابولیت‌های ثانویه گیاهان در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابند. به‌عنوان مثال در گیاه *Lamisia pumila* مقادیر فنل‌ها و فلاونوئیدهای کل در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافتند و به‌واسطه وجود همبستگی خوب بین افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و افزایش غلظت فنل‌ها، این محققین نتیجه گرفتند که میزان بیوسنتز ترکیبات یاد شده در گیاهان تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاهان خوب آبیاری‌شده شدیداً افزایش یافت (Jaafar *et al*., 2012). پژوهش‌ها نشان داده است قارچ *P. indica* علاوه بر تأثیر مستقیم در رشد گیاه از طریق تحریک سیستم دفاعی گیاه مقاومت آن را در برابر بیماری‌ها و همچنین کم‌آبی افزایش می‌دهد (Waller *et al*., 2005; Deshmukh *et al*., 2006). میکروارگانیسم‌های محرک رشد (باکتری‌ها) نیز معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر یاری می‌کنند (Wu *et al*., 2005).

یافته‌های این تحقیق نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش عملکرد پیکر رویشی و نیز عملکرد اسانس می‌شود و گیاه مریم‌گلی در پاسخ به شرایط کم‌آبی، محتوی فنل، اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را افزایش داده است. از سوی دیگر ملاحظه گردید که مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌های محرک رشد، با افزایش میزان کلروفیل، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند منجر به کاهش اثرات سوء خشکی و بهبود رشد و عملکرد گیاه مریم‌گلی در این شرایط گردد.

منابع

امیدبیگی، ر. ۱۳۹۲. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۴۲ صفحه.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine, betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.

Bettaieb, I., Zakhama, N. Wannes, W.A. Kchouk, M.E. and Marzouk, B. 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Scientica Horticulturae, 120(2): 271-275.

Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy Research, 14(5): 323-328.

Deshmukh, S., Huckelhoven, R., Schafer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F. and Kogel, k. 2006. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. PANS, 103:18450-18457.

Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidian, A. and Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacologonline. 1: 7-14.

Jaafar, H.Z.E., Ibrahim, M.H. and Mohamad Fakri, N.F. 2012. Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), malondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of Malaysian Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). Molecules, 17(6): 7305-7322.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M, Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of Agriculture and Biology, 11: 100-105.

Matteo, C., Francesca, A. D., Walter, C. H., Claudio, L., Barbara, R., Luisa, P., Laura, P. and Valentina, S. 2017. Ecophysiological and phytochemical responses of *Salvia sinaloensis* Fern. to drought stress. Journal of Plant Growth Regulation, 82: 384-394.

Nagananda, G.S., Das, A., Bhattacharya, S. and Kalpana, T. 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (Azotobacter and Rhizobium) on seed germination and development of *Trigonella foenum-*

IrHC2019

graecum L. using a novel glass marble containing liquid medium. International Journal of Botany, 6: 394-403.
Tátrai, Z.A., Sanoubar, R., Pluhár, Z., Mancarella, S., Orsini, F. and Gianquinto, G. 2016. Morphological and physiological plant responses to drought stress in *Thymus citriodorus*. International Journal of Agronomy, 20(16): 1-8.
Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hckelhoven, R., Neunmann, C., Von Wettstein, D., Franken, P. and Kogel, K. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt- stress tolerance, disease resistance, and higher yield. PNAS, 38(102): 13386-13391.
Wu, C.H., Wood, T.K., Mulchandani, A. and Chen, W. 2005. Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals. Applied and Environmental Microbiology, 72: 1129–1134.

Effects of Inoculation with Plant Growth-Promoting Microorganisms on Herb Yield and Some Physiological and Phytochemical Parameters of Sage (*Salvia officinalis*) under Drought Stress Conditions

Zahra Aslani[1], Abbas Hassani[1]*, Babak Abdollahi Mandoulakani[2], Mohsen Barin[3], Ramin Maleki[4]
[1*]Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia
[2]Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia
[3]Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia
[4]Research Department of Chromatography, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia
[*]*Corresponding Author: horthasani@yahoo.com*

Abstract
In order to evaluate the effect of *Piriformospora indica* fungi and plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* inoculation on herb yield and some physiological and phytochemical characteristics in *Salvia officinalis* under drought stress condition, a pot experiment was arranged in a factorial experiment based on completely randomized design with three replications. The treatments including inoculation with microorganism at three levels (non-inoculation and inoculation with *P. indica and P. fluorescens*) and drought stress at three levels (100, 70 and 40% of field capacity). The results showed that drought stress and inoculation with microorganism had a significant effect on the measured parameters, so that by decreasing the soil water content, total phenol, antioxidant activity and essential oil content increased while the herb yield, chlorophyll index and essential oil yield decreased. The amounts of all parameters in fungi and rhizobacteria inoculation were more than non-inoculation treatments. The highest and the lowest fresh and dry herb yield and essential oil yield were observed in 100% of field capacity + inoculation with fungi and 40% of field capacity + non-inoculation treatments, respectively. The findings of this study showed that plant growth-promoting microorganisms can reduce the adverse effects of drought stress and improve plant growth of sage plant.

***Keywords*:** Endophytic fungi, Essential oil, Sage (*Salvia officinalis*), Total phenol, Water deficit stress

IrHC2019