نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2020.342064.2731
جلد ۳۶، شماره ۳، صفحه ۴۲۸-۴۱۷ (۱۳۹۹) | شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1398.36.417.101.3.1578.8204

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

علی عبداللهی آرپناهی[1*]، محمد فیضان[2] و غزاله مهدی پوریان[3]

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

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

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

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

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۸ | تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۹ | تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۹

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و تنش کم‌آبی بر اسانس (EO) و ترکیب اسانس گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Clack)، آزمایشی گلخانه‌ای در سال ۱۳۹۶ در شهرکرد انجام شد. این آزمایش به‌صورت 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 (P: *Pseudomonas fluorescens* و *Pseudomonas aeruginosa*) (P: تلقیح باکتریایی) بود. نتایج نشان داد که پارامترهای مورفولوژیکی در تیمارهای باکتریایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بودند، اما تنش کم‌آبی باعث کاهش کلیه پارامترها شد. با افزایش تنش کم‌آبی، میزان اسانس در تنش کم‌آبی افزایش یافته و با افزایش شدت تنش کم‌آبی کاهش یافت. تلقیح باکتریایی مقدار اسانس را افزایش داد، اگرچه این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. تلقیح با باکتری‌های PGPR و تنش کم‌آبی به‌ترتیب بر ۱۳ و ۱۴ ترکیب اسانس تأثیر معنی‌داری داشت. اثر متقابل PGPR و تنش کم‌آبی بر مؤلفه ۱۳ ترکیب اسانس اثر معنی‌داری داشت. تیمول و کارواکرول دو جزء مهم اسانس آویشن دنایی با افزایش شدت تنش کم‌آبی کاهش یافتند، اما تلقیح با باکتری‌های PGPR آنها را به‌ویژه در تیمارهای تنش کم‌آبی افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Clack)، اسانس، باکتری‌های محرک رشد گیاه، تنش کم‌آبی.

مقدمه

آویشن (*Thymus*) یکی از مهمترین گیاهان دارویی و معطر، متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که ۱۸ گونه آن در بسیاری از مناطق ایران به‌صورت وحشی رویش دارد (Jamzad, 2009)، به‌ویژه آویشن دنایی (*Thymus daenensis* L.) که یک گونه مستقل بومی

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 (آذربایجان‌شرقی 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 دنایی عمدتاً حاوی مونوترپن‌ها، سزکویی‌ترپن‌ها، ترکیب‌های فنولیک و فلاونوئیدها می‌باشد و ترکیب‌های اصلی اسانس آن تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن هستند (Nickavar *et al*., 2005؛ Ghasemi Pirbalouti *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 ارگانیسم 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 کم‌آبی را در گیاهان دارویی کاهش می‌دهد، بنابراین عملکرد گیاه و کیفیت اسانس را نیز افزایش می‌دهد (Liddycoat *et al*., 2009؛ Ghorbanpour *et al*., 2013). 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 یا 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؛ Banchio *et al*., 2009؛ Santoro *et al*., 2011؛ 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 دنایی به تلقیح

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 دنایی 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 دنایی از شرکت پاکان بذر، میزان زنده ماندن بذرها (تقریباً ۹۵-۹۰٪) اندازه‌گیری شد. در اسفندماه ۱۳۹۵، بذرها در سینی پلاستیکی (بستر استریلیزه Plantflora) کاشته شدند و 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 (۰/۱۱ 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.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه

خصوصیت خاک	بافت	pH	هدایت الکتریکی (dS/m)	نیتروژن 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 کم آبی 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 (*P: Pseudomonas fluorescens* 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 سویه‌های 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، بذرها قبل از کاشت

به‌مدت ۱ ساعت در مایع تلقیح باکتری قرار داده شدند و پس از انتقال نهال‌ها به گلدان، ۲۰ میلی‌لیتر از مایع تلقیح به ازای هر گلدان (۱۰ میلی‌لیتر 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 به‌شرح زیر اندازه‌گیری شد.

استخراج اسانس

مقدار ۳۰ گرم ماده گیاهی به‌صورت پودر (در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر) به‌مدت 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 و GC/MS)

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 موئین سیلیکای گداخته از نوع (۵٪ قطر ابعاد با Phenyl 95% Methylpolysiloxan (BP-X5 با ابعاد قطر داخلی ۰/۲۲ میلی‌متر، 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 تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح $P\leq0.01$ 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 ($P\leq0.01$) و قطر ریشه و اندام هوایی، قطر شاخه و تعداد سرشاخه ($P\leq0.05$) 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 کم‌آبی تأثیر معنی‌داری روی تمام پارامترها داشت ($P\leq0.05$, $P\leq0.01$). تنش کم‌آبی باعث کاهش تمامی پارامترها بجز وزن تر ریشه شد که این فاکتور در تنش کم کم‌آبی افزایش ولی با افزایش شدت تنش، کاهش یافت (جدول ۲). اثر متقابل تلقیح با PGPR و تنش کم‌آبی فقط برای قطر شاخه ($P\leq0.05$) (جدول ۲) معنی‌دار بود. نتایج نشان دادند که تنش کم‌آبی بر پارامترهای مورفولوژیکی آویشن دنایی تأثیر منفی داشت اما تلقیح با PGPR بر این پارامترها اثرهای مثبتی نشان داد و باعث بهبود آنها شد (جدول ۲).

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

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$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	n.s	$P\leq$۰/۰۵	n.s	$P\leq$۰/۰۵	n.s	$P\leq$۰/۰۱
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±۱/۰۳ b	۲۴/۴۵±۱/۳۶ b	۱۰/۱۳±۱/۱۷ b
ANOVA	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۵	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱
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	≤p ۰/۰۵	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$۰/۰۱ و $P\leq$۰/۰۵ براساس آزمون میانگین چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

بازده اسانس

نتایج نشان داد که تنش کم آبی اثـر معنـی‌داری بـر مقـدار اسانس داشت. به طوری که با افزایش شدت تنش کم آبی ابتـدا میزان اسانس در تنش کم افـزایش نشـان داد کـه بـا افـزایش شدت تنش کم آبی مقدار آن کاهش یافت ($P\leq0.01$). تلقیح بـا باکتری‌های PGPR باعث افزایش مقدار اسـانس شـد، اگرچـه این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبـود (جـدول ۳). بـه‌طـور مشابه، اثر متقابل تلقیح PGPR و تنش کم آبی بر مقدار اسانس از نظـر آمـاری معنـی‌دار نبـود، اگرچـه افـزایش اسـانس در تیمارهای تلقیح شده با تنش کم کم آبی دیده شد، در حالیکه با افزایش شـدت تـنش کـم‌آبـی مقـدار اسـانس کـاهش یافـت (جدول ۳).

جدول ۳- اثر باکتری‌های PGPR و تنش کم‌آبی و اثر متقابل آنها بر بازده اسانس گیاه آویشن دنایی

تیمار									
اسانس	تلقیح		تنش خشکی						
(میلی‌لیتر	C	P	ANOVA	A	L	M	S	ANOVA	
بر ۱۰۰	۰/۲۶±۰/۰۴	۰/۲۷±۰/۰۴	n.s	۰/۲۷±۰/۰۱	۰/۳۱±۰/۰۲	۰/۲۸±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	
گرم ماده	اثر متقابل								
خشک)	CA	CL	CM	CS	PA	PL	PM	PS	ANOVA
	۰/۲۷±۰/۰۱	۰/۳۰±۰/۰۱	۰/۲۸±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱	۰/۲۷±۰/۰۱	۰/۳۲±۰/۰۲	۰/۲۸±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱	n.s

C: شاهد، P: تیمار تلقیح با باکتری، A: عدم تنش کم‌آبی، L: تنش کم‌آبی، 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$۰/۰۱ و $P\leq$۰/۰۵ براساس آزمون میانگین چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

ترکیب‌های اسانس

ترکیب‌های شیمیایی تشخیص داده شده در جدول ۴ ارائه شده است. تجزیه‌وتحلیل طیف‌های GC-MS منجر به شناسایی ۴۰ ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس شامل برخی ترکیب‌های اصلی یعنی ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن، بورنئول، تیمول، کارواکرول، تیموکینون، کاریوفیلن اکسید، لینالول و کامفن شد (جدول ۴). تحلیل آماری این تحقیق نشان داد که تلقیح با باکتری‌های PGPR و تنش کم‌آبی به‌ترتیب بر ۱۳ و ۱۴ ترکیب اسانس تأثیر معنی‌داری داشتند ($P\leq0.01$). اثر متقابل تلقیح با باکتری‌های PGPR و تنش کم‌آبی بر ۱۲ ترکیب اسانس در سطح ($P\leq0.01$) و یک ترکیب در سطح ($P\leq0.05$) اثر معنی‌داری داشت (جدول ۴). با تلقیح باکتریایی مقادیر ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن، بورنئول، لینالول و کامفن کاهش یافت، در حالیکه مقادیر تیمول، کارواکرول، تیموکینون و کاریوفیلن اکسید افزایش نشان دادند. سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر ترکیب‌های اسانس اثرهای متفاوتی نشان داد. به‌طور کلی مقادیر ۸،۱-سینئول، پارا-سیمن، بورنئول، تیموکینون و کامفن با افزایش شدت تنش کم‌آبی افزایش یافتند، در حالیکه تیمول، کارواکرول، کاریوفیلن اکسید و لینالول در تیمارهای تحت تأثیر تنش کم‌آبی کاهش یافتند. اثر متقابل تلقیح با باکتری‌های PGPR و تنش کم‌آبی نتایج متفاوتی را نشان داد (جدول ۴). بالاترین درصد تیمول (یک جزء سازنده مهم اسانس آویشن دنایی) در تیمار بدون تلقیح و بدون تنش کم‌آبی استخراج شد. تلقیح با باکتری‌های PGPR این ترکیب را در تیمارهای تنش کم‌آبی شدیدتر افزایش داد. همانند تیمول، تلقیح با باکتری‌های PGPR، مقدار کارواکرول، یکی دیگر از ترکیب‌های مهم اسانس آویشن دنایی را افزایش و روند مشابهی را نشان داد (جدول ۴).

جدول ۴- اثر باکتری‌های PGPR و تنش کم‌آبی و اثر متقابل آنها بر ترکیب‌های اسانس گیاه آویشن دنایی

ترکیب اسانس	RI	تلقیح	تنش خشکی	اثر متقابل (٪)							ANOVA
				CA	CL	CM	CS	PA	PL	PM	PS	
α-pinene	۹۳۹	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۲/۴۴ ±۰/۰۴ b	۱/۵۴ ±۰/۰۳ e	۲/۵۶±۰/۰۳ a	۱/۶۷±۰/۰۶ d	۱/۶۴±۰/۰۳ d	۲/۱۶±۰/۱۰ c	۰/۷۶±۰/۰۶ f	۰/۶۲±۰/۰۱ g	$P\leq$۰/۰۱
camphene	۹۵۳	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۲/۸۹±۰/۰۴ c	۲/۹۲±۰/۰۷ c	۴/۲۸±۰/۰۴ a	۳/۴۵±۰/۱۲ b	۲/۶۴±۰/۰۴ d	۲/۱۳±۰/۰۹ e	۱/۸۱±۰/۰۸ f	۱/۳۹±۰/۰۸ g	$P\leq$۰/۰۱
cis-sabinene hydrate	۱۰۶۸	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۱/۴۴±۰/۰۴ c	۱/۴۸±۰/۱۳ c	۰/۷۹±۰/۰۵ d	۱/۹۳±۰/۰۵ a	۱/۹۱±۰/۰۶ a	۱/۶۸±۰/۰۹ b	۱/۴۵±۰/۰۴ c	۱/۹۶±۰/۰۲ a	$P\leq$۰/۰۵
myrcene	۹۹۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۲/۶۵±۰/۱۰ a	۱/۲۶±۰/۰۷ e	۱/۹۰±۰/۰۵ c	۱/۴۵±۰/۰۴ d	۲/۳۶±۰/۰۳ b	۱/۹۷±۰/۰۶ c	۱/۱۴±۰/۱۶ e	–	$P\leq$۰/۰۱
p-cymene	۱۰۲۶	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۲۸/۰۸±۱/۵۵ c	۴۴/۴۱±۱/۲۱ a	۴۳/۷۱±۲/۱۵ a	۳۷/۸۸±۱/۸۷ b	۲۸/۲۰±۱/۵۵ c	۳۶/۱۵±۱/۶۸ b	۰/۳۴±۰/۵۰ e	۸/۴۹±۰/۶۷ d	$P\leq$۰/۰۱
1,8-cineole	۱۰۳۳	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۸/۳۶±۱/۰۰ b	۸/۴۳±۰/۷۵ b	۱۱/۸۸±۰/۴۷ a	۱۱/۰۶±۰/۱۸ a	۷/۲۲±۰/۸۳ c	۷/۸۵±۰/۳۳ bc	۷/۹۵±۰/۱۰bc	۷/۱۱±۰/۲۰ c	$P\leq$۰/۰۱
linalool	۱۰۹۸	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۱/۶۰±۰/۰۷ c	۱/۴۱±۰/۰۵ c	۱/۴۴±۰/۰۶ c	–	۲/۰۹±۰/۰۷ a	۱/۱۳±۰/۱۱ d	۱/۳۷±۰/۰۶ c	۲/۰۶±۰/۱۳ a	$P\leq$۰/۰۱
verbenol	۱۱۴۴	n.s	$P\leq$۰/۰۱	۱/۰۹±۰/۰۳ e	۱/۲۰±۰/۰۷ d	۱/۶۳±۰/۰۶ c	۲/۱۴±۰/۰۴ a	۱/۲۵±۰/۰۴ d	۰/۹۲±۰/۰۶ f	۱/۹۳±۰/۰۲ b	۲/۰۹±۰/۰۹ a	$P\leq$۰/۰۱
borneol	۱۱۶۵	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۴/۵۴±۰/۰۳ e	۶/۲۹±۰/۱۵ c	۵/۴۹±۰/۱۸ d	۷/۷۵±۰/۰۹ b	۴/۶۳±۰/۰۸ e	۴/۱۴±۰/۱۱ f	۸/۰۵±۰/۱۲ a	۶/۲۲±۰/۱۰ c	$P\leq$۰/۰۱
thymoquinone	۱۲۴۹	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۰/۸۳±۰/۰۶ f	۲/۱۵±۰/۰۴ d	۱/۰۵±۰/۰۴ e	۲/۱۹±۰/۰۸ d	۲/۱۰±۰/۰۶ d	۳/۲۲±۰/۰۶ c	۴/۸۷±۰/۰۹ b	۶/۲۰±۰/۱۳ a	$P\leq$۰/۰۱
thymol	۱۲۹۰	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۲۵/۸۹±۱/۴۱	۱۴/۶۸±۱/۴۸	۱۰/۷۹±۱/۸۱	۱۰/۴۰±۱/۲۳	۲۵/۲۰±۱/۱۶	۲۰/۷۵±۹/۳۴	۱۶/۷۷±۱/۰۴	۱۶/۸۱±۱/۰۴	n.s
carvacrol	۱۲۹۸	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۱/۸۳±۰/۰۸ a	۰/۹۷±۰/۰۵ bc	۰/۶۴±۰/۰۹ c	۱/۰۲±۰/۰۹ b	۱/۸۴±۰/۱۱ a	۱/۳۳±۰/۱۰ b	۱/۸۳±۰/۰۸ a	۱/۸۳±۰/۵۱ a	$P\leq$۰/۰۱
caryophyllene oxide	۱۵۸۱	$P\leq$۰/۰۱	$P\leq$۰/۰۱	۲/۳۵± ۰/۰۴ d	۲/۳۱±۰/۰۶ d	۱/۳۴±۰/۰۴ f	۲/۹۴±۰/۰۶ c	۱/۷۷±۰/۰۶ e	۱/۸۲±۰/۰۶ e	۱۱/۵۱±۰/۳۷a	۸/۳۷±۰/۰۴ b	$P\leq$۰/۰۱
Others	–	–	–	۱۳/۹۱	۶/۱۹	۹/۳۰	۹/۹۰	۱۴/۱۶	۱۲/۷۷	۱۵/۱۰	۹/۷۰	–

C: شاهد، P: تیمار تلقیح با باکتری، A: عدم تنش کم‌آبی، L: تنش کم آبی‌کم، 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$۰/۰۱ و $P\leq$۰/۰۵ براساس آزمون میانگین چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

بحث

گزارش شده است که خصوصیات مورفولوژیکی آویشن دنایی تحت تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Alavi-samani *et al*., 2013؛ Bahreininejad *et al*., 2013). به‌طور کلی، تنش کم‌آبی پارامترهای مورفولوژیکی را کاهش می‌دهد، اما اثر آن در تیمارهای تلقیح شده همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده کمتر است. پیش از این نشان داده شده بود که تلقیح با باکتری‌های PGPR رشد بسیاری از گیاهان را افزایش می‌دهد (Vessey, 2003؛ Gray & Smith, 2005؛ Van Loon, 2007؛ Banchio *et al*., 2009). به‌عنوان مثال، Cappellari و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای گزارش کردند که پارامترهای رشد گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در گیاهان تلقیح شده با باکتری *P. fluorescens* به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. نتایج مشابه‌ای توسط Banchio و همکاران (۲۰۰۸) در مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) بدست آمد که نشان داد افزایش رشد در گیاهان تلقیح شده نسبت به شاهد نتیجه تلقیح باکتریایی است. باکتری‌های PGPR توسط بسیاری از سازوکارها مانند تولید سایدروفورها، تسهیل جذب مواد مغذی، حل کردن فسفر و سایر مواد معدنی، سنتز فیتوهورمون‌ها و سنتز آنزیم‌ها باعث بهبود رشد گیاه همزیست می‌شوند (Barea *et al*., 2005؛ Cappellari *et al*., 2013).

همانند نتایج ما، Alavi-samani و همکاران (۲۰۱۳) و Bahreininejad و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که عملکرد اسانس آویشن دنایی تنها در تنش کم‌آبی کم افزایش یافت. گزارش شده است که افزایش اسانس در تیمارهای تنش کم آبی می‌تواند به‌دلیل تراکم بیشتر غدد اسانس‌ساز در سطح این گیاهان باشد (Simon *et al*., 1992). همچنین، گزارش شده است که گیاهان غلظت بالاتری از متابولیت‌های ثانویه را در شرایط خشکسالی ذخیره می‌کنند و این متابولیت‌ها جزء ساختارهای اساسی اسانس آنها هستند (Selmar & Kleinwachter, 2013). گزارش‌های متناقضی در مورد اثر باکتری‌های PGPR بر مقدار اسانس وجود دارد. گزارش شده است که گیاهان دارویی تلقیح شده با باکتری‌های PGPR اسانس خود را در پاسخ به تنش افزایش می‌دهند (Banchio *et al*., 2008؛ Cappellari و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که عملکرد اسانس در گیاه گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های 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 باکتری‌های *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*، به‌صورت جداگانه یا به‌صورت ترکیبی باعث افزایش برخی متابولیت‌های ثانویه می‌شود. از سوی دیگر، Mohammadi و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای 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 حالیکه گیاهان تلقیح شده با *P. fluorescens*-108 کاهش در عملکرد اسانس آنها را در شرایط تنش کم‌آبی نشان دادند. همانند نتایج ما، Bahadori و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تلقیح با باکتری‌های PGPR هیچ تأثیر معنی‌داری بر عملکرد اسانس در آویشن دنایی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده ندارد. همان‌طور که برخی محققان نیز گزارش کرده‌اند رشد گیاه می‌تواند تحت تأثیر اثرهای جوامع میکروبی خاک با همدیگر یا تولید مواد شیمیایی نامطلوب در ریزوسفر کاهش یابد (Bahadori *et al*., 2013؛ Glick, 1995).

پیش از این گزارش شده است که تنش کم‌آبی و تلقیح با باکتری‌های PGPR می‌تواند به‌طور قابل توجهی ترکیب‌های اسانس را در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار دهد (Mohammadi *et al*., 2016). Ghasemi Pirbalouti و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای نشان دادند که درصد برخی از ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس استخراج شده از

آویشن دنایی تحت تنش کم‌آبی بیشتر از گیاهان بدون تنش بود. آنان گزارش کردند که محتوای تیمول تحت شرایط تنش کم‌آبی به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. همچنین همانند نتایج ما، نشان داده شده است که تنش کم‌آبی محتوای تیمول و کارواکرول اسانس آویشن دنایی را کاهش می‌دهد (Ghasemi Pirbalouti *et al*., 2013؛ Alavi-samani *et al*., 2015). تلقیح با باکتری‌های PGPR ترکیب‌های اصلی برخی گیاهان را افزایش داد. به‌عنوان 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 دنایی در مقایسه با گیاهان شاهد به‌طور معنی‌داری 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 کم‌آبی به میزان قابل توجهی افزایش دهد. البته سازوکاری که باکتری‌های PGPR ترکیب اسانس را تغییر داده و یا می‌دهد تاکنون به‌خوبی تشخیص داده نشده است. Banchio و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تغییر در سنتز ترکیب‌های اسانس می‌تواند به‌عنوان یک پاسخ دفاعی در مورد همزیستی توسط میکروارگانیسم‌ها در نظر گرفته شود، زیرا نشان داده شده است که چندین نوع اسانس خاصیت ضدمیکروبی دارند.

به‌طور کلی، نتایج نشان داد که تلقیح با باکتری‌های PGPR در سطح کم تنش کم‌آبی برخی از خصوصیات مورفولوژیکی آویشن دنایی را افزایش می‌دهد ولی تأثیری بر مقدار اسانس ندارد اما در مقابل، تنش کم‌آبی با سطح کم تأثیر مثبت معنی‌داری بر روی مقدار اسانس داشت. در نتیجه باکتری‌های PGPR بر خصوصیات مورفولوژیکی، عملکرد اسانس و ترکیب‌های آن در شرایط تنش کم‌آبی کم تأثیر مثبت معنی‌داری نشان دادند. به‌طور خلاصه، نتایج نشان دادند که تلقیح آویشن دنایی با باکتری‌های PGPR می‌تواند به‌طور قابل توجهی زیست‌توده گیاهی و عملکرد اسانس را در شرایط تنش کم‌آب افزایش دهد. از تغییرات مثبت ناشی از تنش کم کم‌آبی می‌توان برای بهبود غلظت متابولیت‌های مورد علاقه بهره‌برداری کرد، بنابراین تنش کم کم‌آبی در کشاورزی را می‌توان به‌عنوان یک راهبرد زراعی برای بهبود ترکیب‌های فعال زیستی خاص در آویشن دنایی نام برد. از نتایج این تحقیق می‌توان پیشنهاد کرد که کشاورزان مناطق نیمه‌خشک می‌توانند آویشن دنایی را با استفاده از باکتری‌های PGPR در تنش کم کم‌آبی 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

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 anddistinctions 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 pipperita* 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.
- Bahreininejad, 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

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 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 acidcontents 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.

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. Feizian[2] and G. Mehdipourian[3]

1*- Coresponding 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.