مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/IJMAPR.2022.358451.3159
جلد ۳۸، شماره ۳، صفحه ۴۸۹-۴۷۶ (۱۴۰۱) | شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350905.1401.38.3.8.0

بررسی اثر کم آبیاری و باکتری تقویت‌کننده رشد بر میزان اینولین و صفات مورفولوژیک ریشه ژنوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی شنگ (*Tragopogon* spp.)

پروانه یاری[۱]، رقیه امینیان دهکردی[۲*]، امیرحسین کشت‌کار[۳]، هدایت باقری[۴] و سودابه مفاخری[۵]

۱- دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

پست الکترونیک: aminian@eng.ikiu.ac.ir

۳- استادیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۵- دانشیار، گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۱ | تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۴۰۱ | تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۱

چکیده

گیاه شنگ علاوه‌بر مصرف خوراکی به دلیل داشتن بسیاری از ترکیب‌های مفید دارای خواص دارویی متعدد می‌باشد. یکی از این ترکیب‌های شناسایی شده اینولین می‌باشد که در ریشه این گیاه وجود دارد. برای بررسی تأثیر تنش کم‌آبی و اثر رایزوباکتری تقویت‌کننده رشد (*Bacillus subtilis*) بر میزان اینولین و صفات مورفولوژیک ریشه در برخی ژنوتیپ‌های گیاه شنگ (*Tragopogon* spp.)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با سه عامل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بوعلی سینا در سال ۱۳۹۹ انجام شد. عامل اول، آبیاری در دو سطح بدون تنش (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش کم آبیاری (۵۰٪ ظرفیت زراعی)، عامل دوم، ژنوتیپ در ۱۵ سطح (ژنوتیپ‌های مختلف شنگ) و عامل سوم، رایزو باکتری تقویت‌کننده رشد در دو سطح تلقیح با باکتری *B. subtilis* و عدم تلقیح با باکتری در نظر گرفته شد. صفات طول، سطح، حجم، قطر، وزن و میزان اینولین در ریشه‌های گیاه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که اثر برهمکنش آبیاری، ژنوتیپ و باکتری بر تمام صفات مورد بررسی معنی‌دار شد. تنش کم‌آبی در بیشتر ژنوتیپ‌ها باعث افزایش طول، سطح و حجم ریشه شد ولی وزن ریشه و میزان اینولین در اثر تنش کم آبیاری کاهش یافت. اثر تلقیح با باکتری در ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. ژنوتیپ ایرانی شماره ۱۱ (کبودر آهنگ) بیشترین میزان اینولین را در سطوح مختلف تنش و *B. subtilis* به خود اختصاص داد و پس از آن ژنوتیپ ایتالیایی شماره ۴ در شرایط بدون تنش در هر دو سطح باکتری بیشترین مقدار را داشت. به‌طور کلی، تنش باعث کاهش میزان اینولین در ریشه گیاه شد، ولی اثر تلقیح با *B. subtilis* به نوع ژنوتیپ بستگی داشت.

واژه‌های کلیدی: تنش کم‌آبیاری، شنگ (*Tragopogon* spp.)، رایزوباکتری‌های تقویت‌کننده رشد گیاه، اینولین.

مقدمه

امروزه با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی، توجه عمومی به مصرف داروهای گیاهی افزایش یافته است (Hecl & Sustrikova, 2006). گیاهان دارویی، منابعی غنی از مواد مؤثره تشکیل‌دهنده بسیاری از داروها هستند. تولید مواد مؤثره در گیاهان دارویی به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند (Omid-Beigi, 2000).

گیاه شنگ (*Tragopogon* spp.) ازجمله گیاهان دارویی است که حاوی بسیاری از ترکیب‌های مفید می‌باشد. این گیاه از خانواده کاسنی یا آفتابگردان (Asteraceae) و دارای حدود ۱۵۰ گونه بوده که بیشتر در مناطق نیمه‌خشک و کوهستانی پراکنده شده است. این گیاه علاوه‌بر کاربردهای دارویی به‌عنوان سبزی خوراکی یا حتی علوفه دام کاربرد دارد (Zargari, 2011). ترکیب‌های شناسایی شده در گیاهان مختلف این جنس از دسته ترپن‌ها، فلاونوئیدها، ترکیب‌های فنلی، ساپونین‌ها، بی‌بنزیل و هیدروایزوکومارین، اینولین و استرول‌ها هستند (Bayrami Ardi *et al*., 2017). شنگ در ایران در چمنزارهای مرطوب مناطق شمال و غرب، در کردستان، چهارمحال و بختیاری و دامنه‌های البرز می‌روید. اما همچنان اطلاعات کمی در مورد این گیاه و ترکیب‌های آن وجود دارد (Milani, 2011).

یکی از ترکیب‌های مفید موجود در شنگ، اینولین می‌باشد که به‌علت دارا بودن ویژگی‌های بسیار مفید تغذیه‌ای و عملکردی، ازجمله استفاده به‌عنوان جایگزین مناسب برای چربی‌ها، بهبود بافت‌های آسیب دیده و اثرهای پروبیوتیک به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی در سطح جهان استفاده می‌شود. اینولین در ۱۵٪ از گونه‌های گیاهان گلدار مانند پیاز، سیر، مارچوبه، موز، کنگرفرنگی، کاسنی، قندرون، تره‌فرنگی و ریشه باباآدم به‌طور طبیعی وجود دارد و توسط برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها نیز تولید می‌شود. اینولین یک ترکیب شیمیایی با فرمول $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$ است. در واقع این ترکیب، یک هوموپلی‌ساکارید متشکل از واحدهای فروکتوز می‌باشد. اینولین توسط تعدادی از گیاهان به‌عنوان وسیله‌ای برای ذخیره انرژی به‌ویژه در ریشه‌ها و ساقه‌های زیرزمینی استفاده می‌گردد. بیشتر گیاهانی که اینولین را برای ذخیره انرژی سنتز می‌کنند از فرم‌های دیگر کربوهیدرات مانند نشاسته برای ذخیره انرژی استفاده نمی‌کنند (Kaur *et al*., 2002).

تأثیر تنش کم‌آبی بر رشد و عملکرد، بستگی به ژنوتیپ گیاه دارد (Attala *et al*., 2000)، اما شرایط محیطی و مدیریت نیز در میزان عملکرد کمّی و کیفی گیاهان تعیین‌کننده است (Tesfamariam *et al*., 2010). البته کمبود آب در جریان تولید می‌تواند صدمات سنگینی به رشد و نمو و همچنین بر مواد مؤثره دارویی گیاهان وارد کند (Omid-Beigi, 2000). در تحقیقی، افزایش شدت تنش خشکی سبب کاهش تولید اینولین ریشه کاسنی گردید (Vandoorne *et al*., 2012). در مطالعه Ahmadzadeh (۲۰۱۹) بر روی گیاه پروانش، تنش کمبود آب، ارتفاع گیاه و حجم ریشه را نسبت به گیاه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش داد ولی افزایش رشد طولی ریشه را به‌همراه داشت. البته افزایش رشد ریشه در اثر تنش کمبود آب، در گیاهانی مانند آفتابگردان نیز دیده شده است (Manivannan *et al*., 2007). همچنین براساس یافته‌های برخی از محققان، میکروارگانیسم‌های رایزوسفری، به‌عنوان محرک زیستی عمل کرده و می‌توانند سنتز تولیدات ثانویه را در گیاه القاء کنند (Sekar & Kandavel, 2010). محرک‌های زیستی به‌عنوان فرآورده‌های بدون خطر می‌توانند برای پایداری تولیدات کشاورزی مناسب باشند (Esmailzadeh Bahabadi & Sharifi, 2013). در میان میکروارگانیسم‌های موجود در رایزوسفر، رایزوباکتری‌های تقویت‌کننده رشد گیاه (plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)) از اهمیت زراعی بالایی برخوردار هستند (Ardakani *et al*., 2010). از بین جنس‌های مختلف این باکتری‌ها، جنس باسیلوس از مؤثرترین باکتری‌ها در افزایش شاخص‌های رشد گیاه می‌باشد. این باکتری‌ها محرک رشد، حل‌کننده فسفر، تولیدکننده انواع هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد، افزایش دهنده مقاومت گیاهان به شوری

و خشکی هستند و توان کنترل زیستی عوامل بیماری‌زای خاکزی را دارند. همچنین به دلیل توان اسپورزایی، این باکتری ها بیش از دیگر انواع باکتری های محرک رشد ماندگاری داشته و به‌راحتی به‌عنوان کودهای زیستی و مایه تلقیح قابل فرمولاسیون هستند (Younesi *et al.*, 2016).

استفاده تلفیقی از رایزوباکتری‌های تقویت‌کننده رشد گیاه و تنش کمبود آب می‌تواند همزمان با بهبود شرایط تنش، مقدار و عملکرد مواد مؤثره را در اندام گیاهان دارویی افزایش دهد (Ghorbanpour & Hatami, 2013؛ Jaleel *et al.*, 2007). این پژوهش با هدف بررسی اثر باکتری‌های تقویت‌کننده رشد بر مقدار اینولین و صفات ریشه در شرایط کم‌آبیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بوعلی سینا در سال ۱۳۹۹ انجام شد. عامل‌های آزمایش شامل ۱- آبیاری در دو سطح: بدون تنش (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش کم آبیاری (۵۰٪ ظرفیت زراعی)، ۲- ژنوتیپ شامل ۱۵ ژنوتیپ شنگ و ۳- رایزوباکتری تقویت‌کننده رشد (PGPR) در دو سطح تلقیح با باکتری *Bacillus subtilis* و عدم تلقیح با باکتری بودند.

برای تعیین ظرفیت زراعی خاک، در آزمایشی مقدماتی به مقداری از خاک خشک شده با وزن معلوم آب اضافه شد تا به حد اشباع برسد. گل اشباع حاصل، ۲۴ ساعت به حالت خود رها شد تا آب کاملاً جذب دانه‌های خاک شود، سپس ۵۰ گرم از نمونه گل اشباع به داخل ظرف فلزی با وزن معلوم ریخته و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه از آون بیرون آورده شد و توزین گردید. با استفاده از رابطه زیر میزان رطوبت اشباع خاک مشخص و به‌صورت تقریبی ۰/۷-۰/۶۵ آن به‌عنوان ظرفیت زراعی انتخاب شد (Alizadeh, 2010).

$$\text{میزان رطوبت اشباع} = \frac{Ww - Wd}{Wd}$$

Ww: وزن خاک تر و Wd: وزن خاک خشک می‌باشد.

بذرهای مربوط به ۱۰ ژنوتیپ گیاه شنگ از بانک ژن گیاهی آلمان تهیه گردید و ۵ ژنوتیپ ایرانی نیز از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری شدند (جدول ۱). بذرها با آب جاری شسته شده و برای ضدعفونی آنها از محلول هیپوکلریت سدیم (NaClO) ۰/۱٪ به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. سپس بذرها توسط آب مقطر استریل طی چهار مرحله شسته شدند (Peyvandi *et al.*, 2017) و در سینی کشت حاوی ترکیب کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۳ به ۱ در تاریخ ۱۵ بهمن ۱۳۹۹ کاشته شدند. قطر دهانه هر حفره سینی کشت ۴۰ میلی‌متر، قطر پایین حفره ۳۰ میلی‌متر و ارتفاع آن ۵۰ میلی‌متر بود. شرایط دمای محیط در روز ۲۵ و در شب ۱۶ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. گیاهچه‌ها پس از ظهور و در مرحله دو برگی (یک ماه پس از کشت)، از سینی کشت خارج و پس از شستشوی ریشه آنها، به مدت ۳۰ دقیقه در بشر حاوی مایع تلقیح باکتری *Bacillus subtilis* که از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور به‌صورت سوسپانسیون 10^{8} cfuL/ml تهیه شده بود، قرار گرفتند. از آب مقطر نیز به میزان مساوی و هم حجم با تیمار تلقیح باکتری به‌عنوان شاهد (عدم تلقیح باکتری) استفاده شد (Karthikeyan *et al.*, 2010). سپس گیاهچه‌های تلقیح شده، در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر که شامل دو قسمت خاک زراعی یک قسمت ماسه و یک قسمت کود دامی بودند، کشت شدند. تلقیح خاک قبل از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان انجام شد. برای تلقیح خاک گلدان نیز مقدار ۴۰۰ گرم از خاک گلدان با ۱۵۰ میلی‌لیتر مایه تلقیح ترکیب و مقدار ۲۰ گرم از ترکیب مذکور داخل هر گلدان و در محوطه ریشه گیاه ریخته شد (Ghorbanpour & Hatami, 2013). گلدان‌ها در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد در گلخانه نگهداری شدند. ۶ ماه

پس از کشت، دوباره در دو نوبت از مایه تلقیح باکتری همراه با آب آبیاری به میزان ۵ میلی‌لیتر برای هر گلدان در هر نوبت استفاده گردید تا در آزمایش‌های بعدی اثر باکتری بر بیان ژن‌های تولید اینولین هم اندازه‌گیری شود. پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان‌ها، برای اعمال تنش خشکی نیمی از گلدان‌ها با مقدار ۵۰٪ ظرفیت زراعی آبیاری شدند. بعد از گذشت ۷ ماه از رشد (در مرحله روزت و قبل از گلدهی)، برخی ویژگی‌ها ازجمله طول ریشه، سطح ریشه، حجم ریشه، قطر ریشه، وزن ریشه و میزان اینولین اندازه‌گیری گردیدند (Hosseini Nezhad *et al*., 2011).

برای استخراج اینولین، ریشه نمونه‌ها شستشو و خرد شد. برای تهیه عصاره گیاهی مقدار ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌های حاوی ۱۰ گرم از ریشه هر گیاه اضافه شد و به‌مدت ۱ ساعت در حمام آب‌گرم ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از صاف کردن عصاره با استفاده از کاغذ صافی واتمن، برای حذف ذرات کلوییدی مانند پکتین، پروتئین و مواد دیواره سلولی، اسیدیته عصاره با استفاده از هیدروکسید کلسیم ۵٪ از ۶ به ۹ رسانده شد. سپس عصاره‌ها به مدت نیم ساعت در حمام آب‌گرم ۶۰ درجه قرار گرفتند و پس از صاف کردن دوباره، برای رسوب سایر مواد گیاهی با استفاده از اسید فسفریک ۱۰٪ اسیدیته سوسپانسیون از ۹ به ۶ رسانده شد و به‌مدت ۲ ساعت در حمام آب‌گرم ۶۰ درجه قرار گرفتند و عصاره‌ها دوباره صاف شدند. برای حذف رنگ عصاره‌ها نیز از کربن فعال استفاده شد (Paseephol *et al*, 2007؛ Roberfroid, 2005).

برای تشکیل رسوب اینولین، سه برابر حجم عصاره‌ها اتانول ۹۶٪ به آنها اضافه شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در آون و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای خشک کردن اینولین، رسوب‌های حاصل در داخل پتری‌دیش ریخته شده و دو روز در دمای اتاق زیر هود قرار داده شدند (Roberfroid, 2005). نمونه‌ها به‌خوبی آسیاب و وزن شدند. سپس به نمونه‌ها ۹۰ میلی‌لیتر آب داغ اضافه شد و به‌مدت ۲۵ دقیقه در حمام آب لرزان با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا استخراج انجام شود. سپس نمونه‌ها در دمای اتاق خنک شدند و بعد به یک فلاسک حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل شدند. پس از فرایندهای همگن‌سازی و سانتریفیوژ (۱۰۰۰۰ × گرم، ۲۰ دقیقه) و قبل از تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) مدل Unicam, crystal-200 ساخت کشور انگلستان، محلول‌ها از فیلتر نایلونی بسیار ظریفی عبور داده شدند. نمونه‌ها سپس با دستگاه HPLC مورد سنجش قرار گرفتند. غلظت استانداردهای اینولین ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود (Dehnavi, 2021).

برای محاسبه حجم ریشه از استوانه مدرج ۱۰ میلی‌لیتری استفاده و تفاوت حجم آب استوانه مدرج قبل و پس از غوطه‌ور کردن ریشه به‌عنوان حجم ریشه در نظر گرفته شد. سطح ریشه نیز با استفاده از فرمول زیر (Ahmadzadeh *et al*., 2021) تعیین گردید.

$$RA= 2\ (MRL \times MRV) \times \pi$$

که در آن RA= سطح ریشه، MRL= طول ریشه، MRV= حجم ریشه و π = ۳/۱۴ می‌باشد.

قطر ریشه به‌صورت محاسبه میانگین قطورترین قسمت در سه ریشه با کمک کولیس اندازه‌گیری شد. طول ریشه نیز با خط‌کش اندازه‌گیری گردید. وزن تر ریشه، بلافاصله پس از نمونه‌برداری با استفاده از ترازوی دیجیتالی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد (Ahmadzadeh *et al*., 2021).

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SAS Ver.9.4 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های گیاه شنگ مورد استفاده در پژوهش

Table 1. *Tragopogon* spp. genotypes characteristics used in study

No.	Origin	Genotype	Genus- Species
1	Poland	TRA 39	*Tragopogon orientalist* L.
2	Germany	TRA 18	*Tragopogon porriolius* L. subsp. *porriolius*
3	Germany	TRA 17	*Tragopogon porriolius* L.subsp. *porrifolius*
4	Italy	TRA16	*Tragopogon porrifolius* L.
5	France	TRA9	*Tragopogon porrifolius* L.
6	Germany	TRA28	*Tragopogon pratensis* L.
7	Italy	TRA33	*Tragopogon porrifolius* L.
8	Germany	TRA17	*Tragopogon porrifolius* L.
9	Austria	TRA35	*Tragopogon orientalis* L.
10	Italy	TRA25	*Tragopogon porrifolius* L.
11	Iran	Kabudar Ahang	*Tragopogon* sp.
12	Iran	Eslamabad Gharb	*Tragopogon* sp.
13	Iran	Kermanshah	*Tragopogon* sp
14	Iran	Sanandagej	*Tragopogon* sp.
15	Iran	Hamadan	*Tragopogon* sp.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کم آبیاری و باکتری تقویت‌کننده رشد روی محتوی اینولین و صفات ریشه ژنوتیپ‌های مختلف گیاه شنگ

Table 2. ANOVA of low irrigation and growth-promoting bacteria effects on inulin content and root traits of different *Tragopogon* spp. genotypes

Source of variation	D. F	Mean squares					
		Root length	Root volume	Root surface	Root diameter	Root weight	Inulin
Stress (S)	1	318.06**	85.01**	137.59**	0.34^{ns}	164.0**	8354.9**
Bacteria (B)	1	318.6**	57.46**	561.67**	5.95**	12.5**	38.49*
Genotype (G)	14	35.30**	6.99**	106.37**	30.58**	3.27**	4278l.8**
S × B	1	129.20**	68.33**	115.41**	7.71**	4.13**	4.83^{ns}
G × S	14	1.27^{ns}	0.35 **	1.86**	0.31^{ns}	1.83**	234.68**
G × B	14	1.28^{ns}	0.26*	1.33*	0.49**	0.38**	9.82^{ns}
S × G × B	14	1.28*	0.27*	1.17*	0.53**	0.40**	12.84*
Error	120	0.79	0.129	0.73	0.21	0.08	5.79
CV (%)	-	7.07	4.06	2.65	5.36	5.27	4.99

ns, *, and **: non-significant, and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم آبیاری × باکتری تقویت‌کننده رشد × ژنوتیپ روی صفات طول و حجم ریشه ژنوتیپ‌های مختلف گیاه شنگ

Table 3. Means comparison of low irrigation stress × growth-promoting bacteria × genotype interaction effects on length and root volume of different *Tragopogon* spp. genotypes

Genotype	Root volume (cm^3)				Root length (cm)			
	100% FC		50% FC		100% FC		50% FC	
	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria
1	8.0^{k-m}	11.0^{c-j}	11.12^{f-k}	12.33^{c-i}	6.83^{l-o}	9.30^{c-h}	9.63^{c-g}	9.63^{c-g}
2	4.5^{n}	9.0^{j-m}	9.01^{j-m}	11.32^{e-j}	5.05^{o}	7.33^{k-n}	7.86^{i-l}	7.63^{j-k}
3	10.0^{h-m}	14.12^{a-e}	14.00^{a-e}	14.00^{a-c}	7.23^{k-o}	9.26^{c-h}	9.50^{c-g}	9.53^{c-g}
4	7.33^{n}	12.50^{c-f}	12.39^{c-i}	13.17^{c-g}	6.03^{o}	8.26^{h-k}	8.53^{e-j}	8.50^{f-j}
5	9.0^{j-m}	15.00^{a-c}	15.00^{a-c}	15.66^{ab}	7.13^{l-o}	9.53^{c-g}	9.70^{b-g}	9.63^{c-g}
6	8.3^{j-m}	13.33^{c-g}	13.33^{c-g}	14.33^{a-c}	6.51^{l-o}	9.36^{c-h}	9.63^{c-g}	9.50^{c-g}
7	8.0^{k-m}	12.33^{c-i}	12.21^{c-i}	13.66^{c-i}	6.26^{n-o}	9.30^{c-h}	9.80^{a-d}	9.53^{c-g}
8	7.33^{mn}	13.0^{c-h}	13.0^{c-h}	14.00^{a-e}	6.43^{m-o}	9.30^{c-h}	9.73^{b-e}	9.46^{c-g}
9	7.83^{m}	14.66^{a-c}	14.67^{a-c}	15.33^{a-c}	6.40^{m-o}	9.63^{c-g}	9.80^{a-d}	9.63^{c-g}
10	9.5^{i-m}	13.0^{c-h}	13.0^{c-h}	14.33^{a-c}	7.60^{j-n}	9.46^{c-h}	9.76^{b-d}	8.46^{f-j}
11	12.5^{c-f}	14.33^{a-c}	14.33^{a-c}	17.00^{a}	8.46^{f-j}	9.90^{a-g}	10.13^{ab}	10.93^{a}
12	10.83^{g-k}	14.33^{a-c}	14.33^{a-c}	15.33^{a-c}	7.70^{j-l}	10.03^{a-c}	10.01^{a-d}	10.23^{ab}
13	10.33^{g-k}	14.67^{a-c}	14.67^{a-c}	15.00^{a-c}	7.43^{j-n}	9.66^{b-g}	9.86^{a-d}	9.82^{a-d}
14	9.0^{j-m}	13.0^{c-h}	13.03^{c-h}	14.02^{a-e}	7.13^{k-o}	9.20^{c-h}	9.46^{c-h}	9.73^{b-f}
15	13.0^{c-h}	16.66^{ab}	16.67^{ab}	17.10^{a}	8.76^{d-i}	10.86^{ab}	10.98^{a}	11.00^{a}

* Field capacity

In each column, the means with at least one common letter are not significantly different at 5% probability level (Tukey test).

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این تحقیق نشان داد که اثر ساده تنش کم‌آبیاری، باکتری و ژنوتیپ بر همه صفات معنی‌دار بود. اثرهای متقابل دوگانه در برخی صفات معنی‌دار بود و در برخی صفات معنی‌دار نبود، ولی اثر متقابل سه‌گانه تنش کم‌آبیاری، باکتری تقویت‌کننده رشد و ژنوتیپ در تمام صفات معنی‌دار شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تنش کم‌آبیاری، باکتری تقویت‌کننده رشد و ژنوتیپ برای صفات طول و حجم ریشه (جدول ۳) نشان داد که بیشترین طول ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵ و ۱۱ در شرایط تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری مشاهده شد. در شرایط بدون تنش و عدم استفاده از باکتری، بیشترین طول ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵ و ۱۱ (به‌ترتیب ۱۳ و ۱۲/۵۰ سانتی‌متر) مشاهده شد. در شرایط بدون تنش و تلقیح با باکتری، بیشترین طول ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵ و ۵ (به‌ترتیب ۱۶/۶۶ و ۱۵ سانتی‌متر) مشاهده شد. در شرایط تنش و عدم استفاده از باکتری، ژنوتیپ‌های ۱۵ و ۵ بیشترین طول ریشه را (به‌ترتیب ۱۶/۶۷ و ۱۵ سانتی‌متر) داشتند. در شرایط تنش و تلقیح با باکتری، ژنوتیپ‌های ۱۵ و ۱۱ بیشترین طول ریشه را (به‌ترتیب ۱۷/۱۰ و ۱۷ سانتی‌متر) به خود اختصاص دادند.

بیشترین حجم ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۱ و ۱۲ در شرایط تنش کم‌آبیاری مشاهده شد. در شرایط بدون تنش و عدم استفاده از باکتری، بیشترین حجم ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵ و ۱۱ (به‌ترتیب ۸/۷۶ و ۸/۴۶ سانتی‌مترمکعب) دیده شد. در شرایط بدون تنش و تلقیح با باکتری، بیشترین حجم ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۲ و ۱۱ (به‌ترتیب ۱۰/۸۶، ۱۰/۰۳ و ۹/۹۰ سانتی‌مترمکعب) مشاهده شد. در شرایط تنش کم‌آبیاری و عدم استفاده از باکتری، بیشترین حجم ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۱ و ۱۲ (به‌ترتیب ۱۰/۹۸، ۱۰/۱۳ و ۱۰/۰۱ سانتی‌مترمکعب) مشاهده شد. در شرایط تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری، ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۱ و ۱۲ بیشترین حجم ریشه را (به‌ترتیب ۱۰/۹۸، ۱۰/۱۳ و ۱۰/۰۱ سانتی‌مترمکعب) به خود اختصاص دادند. بیشتر گیاهان در شرایط تنش کم‌آبیاری حجم ریشه بیشتری نسبت به شرایط بدون تنش داشتند. گیاهان تلقیح شده با باکتری، حجم ریشه بیشتری نسبت به گیاهان فاقد باکتری داشتند. مشابه طول ریشه، اثر باکتری بر افزایش حجم ریشه در شرایط بدون تنش بیشتر از شرایط تنش کم‌آبیاری بود (جدول ۳).

بیشترین سطح ریشه در ژنوتیپ ۱۵ در شرایط بدون تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری مشاهده شد. در شرایط بدون تنش و عدم استفاده از باکتری، بیشترین سطح ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۱، ۱۴ و ۳ (به‌ترتیب ۳۳/۴۹، ۳۲/۹۱، ۳۲/۷۱ و ۳۲/۴۹ سانتی‌مترمربع) دیده شد. در شرایط بدون تنش و تلقیح با باکتری، بیشترین سطح ریشه در ژنوتیپ ۱۵ (۳۸/۸۶سانتی‌مترمربع) مشاهده شد. در شرایط تنش کم‌آبیاری و عدم استفاده از باکتری، ژنوتیپ‌های ۱۴، ۱۵، ۱۱ و ۴ بیشترین سطح ریشه (به‌ترتیب ۳۶/۲۵، ۳۵/۵۵، ۳۵/۷۹ و ۳۵/۱۶ سانتی‌متر) را داشتند.

در شرایط تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری، ژنوتیپ‌های ۱۴، ۱۵، ۳، ۴ و ۱۱ بیشترین سطح ریشه را (به‌ترتیب ۳۸/۴۶، ۳۸/۱۰، ۳۷/۵۵، ۳۶/۸۷ و ۳۶/۵۵ سانتی‌مترمربع) به خود اختصاص دادند. گیاهان تلقیح شده با باکتری محرک رشد، سطح ریشه بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری داشتند (جدول ۴). سطح و حجم ریشه به‌طور مستقیم تحت تأثیر طول ریشه، قطر ریشه و تعداد ریشه فرعی است و هر عاملی که این صفات را افزایش دهد به‌طور مستقیم سطح و حجم ریشه را افزایش می‌دهد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم آبیاری × باکتری تقویت‌کننده رشد × ژنوتیپ روی صفات سطح و قطر ریشه ژنوتیپ‌های مختلف گیاه شنگ

Table 4. Means comparison of low irrigation stress × growth-promoting bacteria × genotype interaction effects on area and root diameter of different *Tragopogon* spp. genotypes

Genotype	Root area (cm^2)				Root diameter (mm)			
	100% FC		50% FC		100% FC		50% FC	
	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria
1	27.76^{j-q}	33.13^{h-p}	31.19^{p-u}	33.43^{j-r}	11.20^{a-c}	11.93^{a}	11.20^{ab}	11.26^{ab}
2	26.03^{w}	32.27^{l-s}	31.60^{m-u}	32.91^{i-p}	10.23^{b-g}	10.73^{b-e}	10.23^{b-g}	10.30^{b-f}
3	32.49^{k-s}	35.87^{s-h}	34.03^{n-e}	37.55^{a-e}	9.83^{b-i}	9.83^{b-i}	9.83^{b-i}	9.60^{e-j}
4	30.67^{p-v}	36.36^{e-f}	35.16^{b-l}	36.87^{a-f}	9.73^{b-i}	9.83^{b-i}	9.83^{b-i}	9.46^{e-k}
5	29.73^{t-v}	35.20^{b-k}	33.10^{i-p}	35.11^{b-k}	8.77^{h-o}	9.20^{f-n}	8.77^{i-o}	8.53^{i-o}
6	26.49^{w}	32.67^{k-r}	29.80^{s-v}	32.60^{k-r}	7.53^{o-q}	7.90^{l-p}	7.53^{n-q}	7.63^{n-p}
7	25.52^{w}	31.69^{m-t}	30.16^{q-v}	42.25^{k-v}	8.73^{h-o}	9.66^{c-i}	8.73^{i-o}	8.50^{i-o}
8	28.69^{v-w}	35.03^{c-l}	33.72^{e-n}	35.67^{b-j}	7.38^{o-q}	7.37^{o-q}	7.37^{o-q}	7.33^{o-q}
9	22.62^{x}	28.10^{v-w}	25.95^{v-w}	27.76^{v-w}	4.83^{rs}	4.76^{rs}	4.83^{rs}	4.56^{rs}
10	30.44^{p-v}	34.25^{d-m}	32.92^{i-p}	32.33^{l-s}	6.93^{pq}	7.36^{o-q}	6.93^{rs}	6.23^{qr}
11	32.9^{1j-q}	35.53^{a-i}	35.79^{a-i}	36.57^{b-j}	7.80^{l-p}	8.73^{h-o}	7.76^{n-q}	8.10^{l-p}
12	28.83^{u-w}	33.52^{f-o}	33.52^{i-q}	33.85^{i-p}	7.54^{o-q}	7.86^{l-p}	7.55^{n-q}	7.70^{n-p}
13	25.86^{w}	30.13^{q-v}	27.88^{r-v}	30.06^{q-v}	8.77^{g-o}	9.11^{f-e}	8.77^{i-o}	8.63^{h-o}
14	32.71^{j-r}	37.63^{a-c}	36.25^{a-g}	38.46^{a}	7.33^{o-q}	7.50^{o-q}	7.33^{o-q}	8.00^{l-p}
15	33.49^{f-o}	38.86^{a}	35.55^{a-j}	38.10^{ab}	10.88^{a-d}	10.80^{a-d}	10.13^{b-g}	10.20^{b-g}

* Field capacity

In each column, the means with at least one common letter are not significantly different at 5% probability level (Tukey test).

بیشترین قطر ریشه در ژنوتیپ ۱ در شرایط تلقیح با باکتری در شرایط بدون تنش مشاهده شد. در شرایط بدون تنش و عدم استفاده از باکتری، ژنوتیپ‌های ۱ و ۱۵ (به‌ترتیب با ۱۱/۲۰ و ۱۰/۸۱ میلی‌متر) بیشترین قطر ریشه را داشتند. در شرایط بدون تنش و تلقیح با باکتری، بیشترین قطر ریشه در ژنوتیپ‌های ۱ و ۱۵ (به‌ترتیب ۱۱/۹۳ و ۱۰/۸۰ میلی‌متر) مشاهده شد. در شرایط تنش کم‌آبیاری و عدم استفاده از باکتری، ژنوتیپ ۱۵ بیشترین قطر ریشه را (۱۰/۲۶ میلی‌متر) داشت. در شرایط تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۱۵، ۳ و ۴ (به‌ترتیب با ۱۱/۲۰، ۱۰/۳، ۱۰/۱۳، ۹/۸۳ و ۹/۸۳ میلی‌متر) بیشترین قطر ریشه را داشتند. اغلب گیاهان در شرایط تنش قطر ریشه کمتری نسبت به شرایط بدون تنش داشتند و تلقیح با باکتری نیز باعث افزایش قطر اغلب گیاهان گردید (جدول ۴).

بیشترین وزن ریشه در ژنوتیپ ۱۱ در شرایط بدون تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری مشاهده شد. در شرایط بدون تنش و عدم استفاده از باکتری، ژنوتیپ‌های ۹، ۱۱ و ۱۰ (به‌ترتیب ۷/۲۶، ۷/۲۳ و ۷/۱۶ گرم) بیشترین وزن ریشه را داشتند. در شرایط بدون تنش و تلقیح با باکتری، ژنوتیپ‌های ۱۱، ۱۰ و ۱۵ (به‌ترتیب با ۷/۴۷، ۷/۱۷ و ۷/۰۳ گرم) بیشترین وزن ریشه را داشتند. در شرایط تنش کم‌آبیاری و عدم استفاده از باکتری بیشترین وزن ریشه در ژنوتیپ‌های ۱۱ و ۱۵ (به‌ترتیب با ۵/۲۷ و ۵ گرم) مشاهده شد. در شرایط تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری ژنوتیپ‌های ۱۱، ۱۲ و ۱۵ (به‌ترتیب ۵/۹۹، ۵/۹۷ و ۵/۹۰ گرم) بیشترین وزن ریشه را داشتند. بیشتر گیاهان در شرایط تنش کم‌آبیاری وزن ریشه کمتری نسبت به شرایط بدون تنش داشتند و تلقیح با باکتری نیز باعث افزایش وزن بیشتر گیاهان شد (جدول ۵).

بیشترین میزان اینولین را ژنوتیپ ۱۱ در شرایط بدون تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری نشان داد. در شرایط بدون تنش و عدم تلقیح با باکتری، ژنوتیپ‌های ۱۱، ۴ و ۱۴ بیشترین میزان اینولین را (به‌ترتیب با ۹۴، ۸۱/۱۰ و ۷۷/۵۳ میلی‌گرم بر صد گرم) نشان دادند. در شرایط بدون تنش و تلقیح با باکتری ژنوتیپ‌های ۱۱ و ۴ (به‌ترتیب با ۹۶/۳۰ و ۸۲/۱۷ میلی‌گرم بر صد گرم) بیشترین میزان اینولین را داشتند. در شرایط تنش کم‌آبیاری و بدون باکتری ژنوتیپ ۱۱ بیشترین میزان اینولین (۸۱/۱۳ میلی‌گرم بر صد گرم) را نشان داد و در شرایط تنش کم‌آبیاری و تلقیح با باکتری ژنوتیپ ۱۱ بیشترین میزان اینولین (۸۳/۰۹ میلی‌گرم بر صد گرم) را نشان داد. تنش کم‌آبیاری باعث کاهش اینولین در بیشتر ارقام شد. مقدار این کاهش در ارقام ۲، ۸، ۴، ۱۰ و ۳ به‌ترتیب با ۶۱/۳، ۴۹/۰، ۳۴/۰، ۳۳/۷ و ۳۲/۵ درصد بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. تنش کم‌آبیاری باعث کاهش ۱۴ درصدی میزان اینولین در ژنوتیپ ۱۱ شد. در حالی که اثر باکتری در بیشتر ارقام معنی‌دار نبود و کاربرد باکتری موجب افزایش ۵۰/۸ درصدی مقدار اینولین در رقم ۹ گردید (جدول ۵).

بحث

تنش کمبود آب می‌تواند صدمات زیادی به رشد و نمو و کمّیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی وارد کند (Babaee *et al*., 2010). در این پژوهش، تنش کم‌آبی باعث کاهش میزان اینولین و وزن ریشه و افزایش طول، سطح و حجم ریشه شد. به‌نظر می‌رسد در شرایط تنش طول ریشه گیاهان برای استفاده از آب عمقی افزایش یافته است. گیاهان تلقیح شده با باکتری محرک رشد، طول ریشه بیشتری نسبت به گیاهان فاقد باکتری داشتند. اما اثر باکتری بر رشد طول ریشه در شرایط بدون تنش بیشتر از شرایط تنش بود. بسیاری از پژوهشگران گزارش کرده‌اند که در اثر تنش کم‌آبی در طول رشد گیاه، طول و سطح ریشه افزایش می‌یابد (Asch *et al*., 2005). افزایش طول ریشه به‌دلیل بهبود قدرت جذب آب از قسمت‌های عمقی خاک که در تنش خشکی نسبت به سطح خاک دارای رطوبت بیشتری است، بسیار اهمیت دارد.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم آبیاری × باکتری تقویت‌کننده رشد × ژنوتیپ روی صفات وزن و محتوی اینولین ریشه ژنوتیپ‌های مختلف گیاه شنگ

Table 5. Means comparison of low irrigation stress × growth-promoting bacteria × genotype interaction effects on weight and root inulin content of different *Tragopogon* spp. genotypes

Genotype	Root weight (cm^3)				Inulin (mg/100g)			
	100% FC		50% FC		100% FC		50% FC	
	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria	Without inoculation	Inoculation with bacteria
1	6.03^{c-f}	6.93^{b-e}	4.23^{k-q}	5.24^{h-k}	30.46^{q-t}	31.93^{q-t}	25.80^{t-x}	24.83^{u-x}
2	4.53^{j-q}	4.58^{j-p}	3.57^{p-q}	4.13^{o-r}	54.16^{j-k}	54.50^{h-k}	20.96^{wx}	20.10^{w}
3	5.16^{h-l}	5.33^{h-i}	4.66^{j-o}	5.10^{i-j}	62.23^{f-i}	63.11^{d-g}	42.63^{m-p}	44.76^{l-n}
4	6.02^{c-i}	6.10^{c-i}	3.73^{p-r}	4.53^{j-p}	81.10^{b}	82.17^{b}	54.26^{i-k}	56.26^{g-k}
5	6.27^{c-g}	6.67^{b-e}	4.55^{j-p}	4.10^{o-r}	33.13^{q-s}	36.00^{p-r}	25.17^{t-x}	28.83^{r-w}
6	6.60^{b-f}	6.60^{b-f}	4.95^{p-r}	4.20^{l-p}	42.63^{m-p}	42.67^{m-p}	31.84^{q-t}	35.18^{q-s}
7	6.00^{b-f}	6.80^{b-e}	3.57^{q-r}	4.30^{j-q}	38.28^{n-q}	39.51^{n-p}	27.16^{t-w}	27.17^{t-w}
8	6.33^{c-f}	6.33^{c-f}	3.20^{r}	4.57^{j-p}	51.97^{k-l}	53.83^{j-k}	27.40^{t-w}	29.13^{r-v}
9	7.23^{ab}	6.84^{b-c}	3.47^{q-r}	5.23^{h-k}	28.06^{t-w}	27.00^{t-w}	17.90^{x}	27.27^{t-w}
10	7.16^{ab}	7.17^{ab}	4.47^{j-p}	5.20^{h-k}	42.73^{m-p}	44.07^{m-o}	29.24^{r-u}	21.80^{xv}
11	7.26^{ab}	7.47^{a}	5.27^{q}	5.99^{c-i}	94.00^{a}	96.30^{a}	81.13^{b}	83.09^{b}
12	6.32^{c-f}	6.50^{b-f}	4.00^{o-r}	5.97^{c-i}	62.43^{e-h}	63.17^{d-g}	54.63^{h-k}	56.26^{g-k}
13	6.63^{c-f}	6.76^{b-e}	4.20^{l-q}	5.07^{j-o}	51.83^{k-l}	54.60^{h-k}	49.27^{kl}	51.27^{kl}
14	6.36^{c-f}	6.53^{b-f}	4.60^{j-o}	4.38^{j-q}	77.55^{bc}	69.30^{c-e}	63.06^{d-g}	65.98^{d-f}
15	6.93^{b-d}	7.03^{a-c}	5.00^{j-o}	5.90^{h-i}	69.86^{cd}	71.17^{cd}	69.86^{g-j}	65.11^{d-f}

* Field capacity

In each column, the means with at least one common letter are not significantly different at 5% probability level (Tukey test).

افزایش رشد ریشه در اثر تنش کم‌آبی، در گیاهانی مانند آفتابگردان (*Helianthus annuus*) (Tahir *et al*., 2002) و جو (*Hordeum vulgare*) (Cartwright & Emam, 1988) نیز گزارش شده است. یک سیستم ریشه‌ای گسترده، می‌تواند مزیت رشد سریع را برای گیاه فراهم کند، زیرا آب موجود در لایه‌های سطحی خاک را که به‌راحتی از طریق تبخیر از دست می‌رود، جذب می‌کند (Jaleel *et al*., 2009). در مطالعه‌ای که بر روی ژنوتیپ‌های مختلف گیاه ماش (*Vigna radiata*) انجام شد، اثر تنش خشکی بر حجم ریشه معنی‌دار گردید و مشخص شد که حجم ریشه بیشتر، دسترسی به آب را افزایش داده و موجب افزایش دوام گیاه در شرایط خشکی می‌شود. همچنین مشخص شد که بیشترین سطح ریشه مربوط به تیمار بدون تنش بود (Assgharipoor & Rafiei, 2010). در این پژوهش، قطر ریشه در اثر تنش کاهش یافت، ولی معنی‌دار نبود اما کاهش وزن ریشه در اثر تنش کم‌آبی معنی‌دار بود. کاهش وزن ریشه در تنش کم‌آبیاری ممکن است ناشی از مصرف مواد غذایی ریشه برای افزایش طول ریشه‌ها و یا تولید انشعابات زیاد باشد. به‌طوری که با اعمال تنش خشکی وزن تر گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) کاهش یافت (Saheb Hasan *et al*., 2020).

در این پژوهش در شرایط بدون تنش با بکارگیری باکتری‌های PGPR، صفات طول ریشه، حجم ریشه و سطح ریشه در بیشتر ارقام افزایش پیدا کردند، به‌نحوی که با نتایج Bosh و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی که روی گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) انجام دادند، مشابه است. اثر باکتری‌های PGPR بر صفت وزن ریشه در شرایط تنش کم‌آبی در ارقام مختلف متفاوت بود و در برخی ارقام باعث افزایش معنی‌دار این صفت شد. بررسی‌های متعدد نشان داده است که رایزوباکتری‌های تقویت‌کننده رشد گیاه اثرهای سودمندی را بر رشد و نمو گیاه اعمال می‌کنند. سازوکارهای عمومی تقویت رشد گیاه توسط انواع PGPR عبارت است از: تثبیت نیتروژن، کاهش سطوح اتیلن، تولید فیتوهورمون‌ها، القای مقاومت به پاتوژن، انحلال مواد غذایی و کاهش سمّیت آلاینده‌ها (Bhattacharyya & Jha, 2012).

در این پژوهش باکتری *Bacillus subtilis* در مورد صفات ریشه‌ای، در شرایط عدم تنش کمبود آب، به‌خوبی عمل کرده و افزایش طول، حجم و سطح ریشه را در پی داشته است. این گونه باکتری در بهبود سیستم ریشه‌ای گیاه نیشکر از طریق افزایش ریشه‌های مویین، جانبی و نابجا مؤثر بوده است (Gouda *et al*., 2018). بکارگیری PGPR باعث سنتز ویتامین‌ها و اسید آمینه تریپتوفان می‌شود که اسیدآمینه تریپتوفان پیش‌ماده تولید اکسین بوده و این هورمون با تمایز سلولی، تحریک تقسیم سلولی و رشد طولی سلول به‌طور مستقیم در افزایش رشد ریشه و پیکره رویشی تأثیر می‌گذارد (Gutierrez Manero *et al*., 2003). در تلقیح ارقامی از گندم با دو سویه از باکتری PGPR در غلظت 10^8 cfu/ml و شرایط بدون تنش وزن ریشه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Ghassemi & Mostajeran, 2018). باکتری‌های PGPR در تنظیم تولید اتیلن و کاهش آن در گیاه نیز نقش دارند و تنظیم تولید اتیلن در افزایش رشد طولی ریشه و تاثیر غیرمستقیم بر افزایش ریشه‌زایی مؤثر است (Ahmadzadeh, 2019). براساس تحقیقات مختلف، باکتری‌های محرک رشد با سیستم ریشه‌ای ترکیب شده و جذب منابع را از محیط افزایش داده و در رشد، توسعه و سازگاری به تنش سهم دارند (Sharma, 2002). Figiredo و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که تلقیح گیاهان زراعی با PGPR می‌تواند موجب افزایش تحمل به تنش در گیاه شود. آنان علت این موضوع را به تولید IAA، سیتوکینین، آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم ACC دآمیناز نسبت دادند.

براساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان اینولین در شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی همراه با کاربرد باکتری و کمترین میزان آن در شرایط تنش و عدم کاربرد باکتری مشاهده شد (جدول ۵). در پژوهش دیگری نیز بیشترین میزان اینولین در کاسنی (*Cichorium intybus*) در شرایط عدم تنش خشکی تولید شد (Saeedi, 2015).

بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌دار وجود داشت که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا از نظر صفات اندازه‌گیری شده در همه ژنوتیپ‌ها می‌باشد. برهم‌کنش میان ژنوتیپ، شرایط آبیاری و کاربرد باکتری

برای همه صفات معنی‌دار بود. این بدان معنی است که پاسخ ژنوتیپ‌ها به تنش کم‌آبی و استفاده از باکتری یکسان نبوده و میزان تغییرات صفات در تیمارهای آبیاری و باکتری برای برخی از ژنوتیپ‌ها بیشتر یا کمتر از برخی دیگر بوده است. برای نمونه، در حالی که اثر باکتری در شرایط تنش در افزایش وزن ریشه بیشتر ارقام معنی‌دار نبود ولی منجر به افزایش معنی‌دار وزن ارقام ۸، ۹، ۱۱، ۱۲ و ۱۵ شد. به همین ترتیب کاربرد باکتری در شرایط تنش، تنها باعث افزایش معنی‌دار مقدار اینولین در رقم ۹ شد.

در این پژوهش ژنوتیپ‌های ۱۱ و ۱۵ که به‌ترتیب مربوط به مناطق کبودرآهنگ و همدان هستند در تمام صفات مربوط به ریشه بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در بین ژنوتیپ‌های ایرانی، ژنوتیپ کبودرآهنگ (۱۱) بیشترین میزان اینولین را در تمام تیمارها داشت. در بین ژنوتیپ‌های خارجی ژنوتیپ ۴ با منشأ ایتالیا بیشترین میزان اینولین را در شرایط بدون تنش در هر دو سطح باکتری داشت و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با ژنوتیپ ۱۱ ایران نداشت، ولی در شرایط تنش مقدار اینولین ژنوتیپ ۴ کاهش بسیار معنی‌داری نسبت به ژنوتیپ ۱۱ داشت، که دلالت بر سازگاری بیشتر ژنوتیپ ایرانی نسبت به شرایط نامساعد محیطی دارد.

References

- Ahmadzadeh, M., 2019. Biological Control of Plant Diseases, Plant Probiotic Bacteria. University of Tehran Press, 490p.
- Ahmadzadeh, M., Keshtkar, A.H., Moslemkhany, K. and Ahmadzadeh, M., 2021. Evaluation of water deficite stress and plant growth-promoting rhizobacteria effect on some of morphological traits and expression level of TDC and STR at the root of *Catharanthus roseus*. Journal of Plant Research, 34(3): 795-805.
- Alizadeh, A., 2010. The Relationship Between Water, Soil and Plants. Imam Reza University Publications, 484p.
- Ardakani, S., Heidary, A., Tayebi, L. and Mohammadi, M., 2010. Promotion of cotton seedling growth characteristics by the development and use of new bioformulations. International Journal of Botany, 6(2): 95-100.
- Asch, F., Dingkuhn, M., Sow, A. and Audebert, A., 2005. Drought-induced changes in rooting patterns and assimilate partitioning between root and shoot in upland rice. Field Crops Research, 93(2-3): 223-236.
- Assgharipoor, M.R. and Rafiei, M., 2010. Effect of drought stress on different morphological characteristics of root and root: shoot ratio on mung bean genotypes. Proceedings of the 11th Iranian Crop Sciences Congress, Shahid Beheshti University, 26 July.
- Attala, E., Amal, S., El-seginy, M. and Eliwa, G.I., 2000. Response of le conte pear trees to foliar application with active dry yeasts. Journal of Agricultural Sciences, 25: 7701-7707.
- Babaee, K., Arnini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabbari, R. 2010., Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251.
- Bayrami Ardi, Z., Haji Aghaei, R., Khaliqi Sigaroudi, F., Abdollahi, M., Rahimi, R. and Farzae, M.H., 2017. A review of the medicinal plants from the *Tragopogon* spp. Journal of Medicinal Plants, 15(60): 1-13.
- Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): brasilense on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. Biology and Fertility of Soils, 32: 259-264.
- Bosh, Z., Danesh Shahraki, A, Ghobadinia, M. and Saeedi, K., 2019. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on agro-morphological traits of black cumin (*Nigella sativa* L.) under water stress. Environmental Stresses in Agricultural Sciences, 12(1): 525-537.
- Cartwright, P.M. and Emam, Y., 1988. Root and shoot responses of barley plants to chlormequat in moist and drying soil. Agronomy Abstracts, ASA., 105.
- Dehnavi, Z., 2021. Evaluation of inulin and biosynthesis genes in *Chondrilla juncea*, *Tragopogon dubius* and *Cichorium intybus*. Master of Science, Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Bu Ali Sina National University, Hamadan.
- Esmailzadeh Bahabadi, S. and Sharifi, M., 2013. Increasing the production of plant secondary metabolites using biological aliquots. Journal of Cell and Tissue, 4(2): 119-128.
- Figiredo, M.V.B., Burity, H.A., Martinez, C.R. and Chanway, C.P., 2008. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. Applied Soil Ecology, 40: 182-188.
- Ghassemi, H.R. and Mostajeran, A., 2018. Study of associative relationship effects of Azospirillum brasilense (Sp7 and Sp245) on some growth and biochemical indices of wheat seedlings (*Triticum aestivum*) under saline conditions. Journal of Plant

lappa) using high intensity ultrasound. International Journal of Food Science and Technology, 46(8): 1699-1704.
- Omid-Beigi, R., 2000. Production and Products of Medicinal Plants (Vol. 3). Astane Qodse Razavi Press, Mashhad, 397p.
- Paseephol, T., Small, D. and Sherkat, F., 2007. Process optimization for fractionating Jerusalem artichoke fructans with ethanol using response surface methodology. Food Chemistry, 104: 73-80.
- Peyvandi, M., Seyed Talebi, S.M. and Majd, A., 2017. Effect of magnetic field, culture medium and growth regulators on seed germination of *Catharanthus roseus* L. Journal of Developmental Biology, 9(1): 69-78.
- Roberfroid, M.B., 2005. Introducing inulin-type fructans. British Journal of Nutrition, 93: S13-S25.
- Saeedi, F., 2015. Effects of different fertilizer sources and drought stress qualitative and quantitative yield of chichory (*Cichorium intybus* L.). Master of Science, Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Zabul university, Zabul.
- Saheb Hasan, M., Selahvarzi, M.J., Nabati, J. and Azizi, M., 2020. Effect of mycorrhiza fungi and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant capacity and some morphophysiological traits of medicinal marigold (*Calendula officinalis* L.) under drought stress. Environmental Stresses in Crop Sciences, 13(2): 425-440.
- Sekar, S. and Kandavel, D., 2010. Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants for phytochemicals. Journal of Phytology, 2(7): 91-100.
- Sharma, A.K. 2002. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India, 407p.
- Tahir, M.H.N., Imran, M. and Hussain, M.K., 2002. aluation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbred lines for drought tolerance. International Journal of Agriculture and Biology, 3: 398-400.
- Tesfamariam, E.H., Annandale, J.G. and Steyn, J.M., 2010. Water stress effects on winter canola growth and yield. Agronomy Journal, 102(2): 658-666.
- Vandoorne, B., Mathieu, A.S., Van den ende, W., Vergauwen, R., Perilleux, C., Javaux, M. and Lutts, S., 2012. Water stress drastically reduces root growth and inulin yield in *Chicorium intybus* (var. *sativum*) independently of photosynthesis. Journal of Experimental Botany, 63(12): 4359-4373.
- Younesi, S., Asgharzadeh, A. and Darvish Kojouri, F., 2016. Evaluation of plant growth promoting characteristics of some strains of Bacillus Bacteria. 2nd International Conference on Agricultural Engineering and Natural Resources, Tehran, 16 February.
- Zargari, A., 2011. Medicinal Plant (Vol. 3). Tehran University Press, Iran, 250p.

Research (Iranian Journal of Biology), 31(3): 629-641.
- Ghorbanpour, M. and Hatami, M., 2013. PGPR strains affect seedling vigor index and seed secondary metabolites accumulation of black henbane under water stress. Trakia Journal of Sciences, 2: 135-143.
- Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.S. and Patra, K., 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological Research, 206: 131-140.
- Gutierrez Mañero, F.J., Probanza, A., Ramos, B., Colón Flores, J., Lucas, J. and Garcia, J.A. 2003. Effects of culture filtrates of rhizobacteria isolated from wild lupine on germination, growth and biological nitrogen fixation of Lupine seedlings. Jounal of Plant Nutrition, 26(5): 1101-1115.
- Hecl, J. and Sustrikova, A., 2006. Determination of heavy metals in chamomile flower drugan assurance of quality control. Program and Abstract Book of the 1st International Symposium on Chamomile Research, Development and Production: 69.
- Hosseini Nezhad, M., Nahardani, M. and Elhami Rad, A.H., 2011. Characterization of inulin extract from iranian native chicory in comparison with some other source. Research and Innovation in Food Science and Technology, 1(1): 39-46.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R., 2009. Traditional and non-traditional plant growth regulators alter phytochemical constituents in *Catharanthus roseus*. Process Biochemistry, 44(2): 205-209.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R., 2007. Pseudomonas fluorescens enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 60(1): 7-11.
- Karthikeyan, B., Joe, M.M., Jaleel, C.A. and Deiveekasundaram, M., 2010. Effect of root inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on plant growth, alkaloid content and nutrient control of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Natura Croatica, 19(1): 205-212.
- Kaur, N. and Gupta, A.K., 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. Journal of Bioscience, 27(7): 703-714.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Alagu Lakshmanan, G.M. and Panneerselvam, R., 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 59: 141-149.
- Milani, E., Koocheki, A. and Golimovahhed, Q., 2011. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium*

Study on low irrigation and growth-promoting bacteria effects on inulin content and morphological characteristics of different *Tragopogon* spp. genotypes root

P. Yari[1], R. Aminian Dehkordi[2*], A.H. Keshtkar[3], H. Bagheri[4] and S. Mafakheri[5]

1- Ph. D. student, Department of Genetics and Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
2*- Corresponding author, Department of Genetics and Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
E-mail: aminian@eng.ikiu.ac.ir
3- Department of Genetics and Plant Breeding, Bu- Ali Sina University, Hamadan, Iran
4- Department of Biotechnology, Bu- Ali Sina University, Hamadan, Iran
5- Department of Horticultural Sciences, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

Received: April 2022 Revised: May 2022 Accepted: June 2022

Abstract

Tragopogon spp. has many medicinal properties in addition to its edible consumption due to its many useful compounds. One of these identified compounds is inulin, which is present in the roots of this plant. To investigate the effects of low irrigation stress and growth-promoting rhizobacteria (*Bacillus subtilis*) on inulin content and root morphological traits in some genotypes of *Tragopogon* spp., a factorial experiment with three factors in a completely randomized design with three replications was conducted in the research greenhouse of Bu Ali Sina University in 2020. The factors included irrigation at two levels of without stress (100% of field capacity) and low irrigation stress (50% of field capacity) as the first factor, genotype at 15 levels (different genotypes of *Tragopogon* spp) as the second factor, and plant growth-enhancing rhizobacteria (PGPR) at two levels of inoculation with *B. subtilis* and without inoculation as the third factor. Length, area, volume, diameter, weight, and inulin content of the plant roots were measured. The results showed that the irrigation × genotype × bacteria interaction effect was significant on all studied traits. Low irrigation stress increased length, area, and volume of the plant roots in most genotypes, but decreased root weight and inulin content. Inoculation with *B. subtilis* affected genotypes differently. Iranian genotype No. 11 (Kaboudar Ahang) had the highest inulin content at different stress and *B. subtilis* levels, followed by Italian genotype No. 4 at both *B. subtilis* levels under non-stress conditions. Overall, stress reduced inulin content of the plant roots, but the effect of inoculation with *B. subtilis* depended on the genotype.

Keywords: Low irrigation stress, *Tragopogon* spp., plant growth-promoting rhizobacteria, inulin.