View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد دوازدهم، شماره ۳(۴۷)، پاییز ۱۳۹۷، صفحه ۴۲۶-۴۱۱

اثر تنش کمبود آب و تیمار بیولوژیک بذر بر شاخص‌های فیزیولوژیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی مخلصه (*Tanacetum persicum* (Boiss.)Mozaff)

فاطمه بهمۀ[۱]، عبدالرزاق دانش شهرکی[۲*]، زهرا لری گوئینی[۳] و مهدی قبادی نیا[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۱ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۷/۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۴

چکیده

کشت گیاهان دارویی به‌منظور استفاده از ترکیبات دارویی حاصل از آنها و حفظ ذخایر ژنتیکی و تنوع در زیست‌بوم، اهمیت ویژه‌ای دارد. گیاه مخلصه از جمله گیاهان دارویی است که از خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی برخوردار می‌باشد. به‌منظور بررسی اثر تلقیح بذر با باکتری‌های ریزوسفری ارتقا دهنده رشد، شاخص‌های فیزیولوژیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی مخلصه تحت تنش کمبود آب، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، به‌صورت گلدانی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد در خرداد ماه ۱۳۹۵ انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل آبیاری ۱۰۰ درصد آبیاری کامل (شاهد)، ۷۵ درصد آبیاری کامل و ۵۰ درصد آبیاری کامل تلقیح بذر با باکتری در ۷ سطح مشتمل بر شاهد (عدم تلقیح باکتریایی)، تلقیح بذر با باکتری‌های *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus amyloliquefaciens*، *Bacillus* sp. strain A، *Bacillus* sp. strain B، *Pseudomonas fluorescence*، *Pseudomonas putida* بودند. نتایج نشان داد تیمارهای تلقیح باکتریایی در شرایط تنش اثر معنی‌داری بر تمام صفات مورد بررسی داشتند ($p\leq$۰/۰۱). تیمار تلقیح باکتریایی *Azotobacter chroococcum* بیشترین تاثیر را بر میزان کلروفیل a، کاروتنوئیدها، عملکرد بیولوژیک، عملکرد اسانس و آنتوسیانین (۰/۰۲۰ $\mu mol.ml^{-1}$)، *Bacillus* sp. strain A با افزایش ۲/۵ برابری میزان پرولین نسبت به شاهد بیشترین تاثیر را بر میزان پرولین و *Bacillus* sp. strain B بیشترین تاثیر را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}: ۵/۳۲ $\mu g.ml^{-1}$) داشتند. همچنین، *Pseudomonas fluoresence* موجب افزایش میزان کاروتنوئیدها در تنش ۵۰ درصد آبیاری کامل و *Pseudomonas putida* بیشترین تاثیر را بر میزان کلروفیل b، کلروفیل کل، پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ داشتند. با توجه به نتایج این بررسی تلقیح باکتریایی بذر مخلصه با باکتری‌های *Azotobacter* و *Pseudomonas* به‌ویژه در روش‌های کشت کم آبیاری جهت تخفیف اثرات تنش خشکی قابل استفاده است.

واژگان کلیدی: باکتری‌های ارتقا دهنده رشد، پایداری غشای سلولی، تنش خشکی، کشاورزی پایدار.

۱- کارشناس ارشد علوم تکنولوژی بذر، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. * نگارنده‌ی مسئول danesh-a@sku.ac.ir
۳- استادیار گروه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده علوم پایه سلامت،دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۴- استادیار گروه آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

مقدمه

کشت گیاهان دارویی و استفاده از ترکیبات دارویی مشتق شده از گیاهان، چه به صورت سنتی و چه به صورت صنعتی به‌دلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی و به‌منظور حفظ ذخایر ژنتیکی و تنوع در زیست‌بوم، جایگاه ویژه‌ای دارد. در این میان گیاه مخلصه (*Tanacetum persicum* (Boiss.) Mozaff) با داشتن خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی از جمله گیاهان با ارزش ایران، عراق و احتمالاً ترکیه است که اصولاً در نواحی صخره‌ای و گاهی مرطوب و زیر سایه سنگ‌ها و صخره‌ها و به‌ندرت در جویبارهای مرطوب، در استان‌های آذربایجان، زنجان، همدان، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، یزد، کهگیلویه و بویر احمد، فارس، خوزستان، خراسان، سمنان و تهران می‌روید (Mozaffarian, 2012). این گیاه روزبلند، سرما دوست و ماهیت آن پاییزه بوده و ارقام بهاره نیز از آن حاصل شده‌اند. بذرها در بهار یا پاییزکشت می‌شوند و تاخیر در کشت بهاره منجر به کاهش عملکرد گل و اسانس می‌شود (Hadj Seyed Hadi *et al.*, 2002).

تنش کمبود آب مهم‌ترین عامل محدود کننده رشد و تولید محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران است که وقوع خشک‌سالی‌های پی‌درپی در اثر تغییرات اقلیمی شدت آن را مضاعف نموده است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که تنش کمبود آب سبب افزایش تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. این ترکیبات زیان‌آور به‌طور بالقوه با بسیاری از ترکیبات سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشاء و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شوند. به‌طورکلی، تنش کمبود آب از طریق کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در قابلیت هدایت روزنه‌ها، کاهش آب‌گیری کلروپلاست و سایر بخش‌های پروتوپلاسم و کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل، سبب تقلیل فرایند فتوسنتز و در نهایت سبب کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Shojaei and Makarian, 2014).

با افزایش جمعیت بشر و تقاضای نامحدود برای استفاده از گیاهان زراعی و دارویی، به اجبار از اراضی با درجه مطلوبیت متفاوت جهت کشت و کار استفاده کرده و حتی الگوی کشت تغییر خواهد یافت. شرایط نامناسب محیطی، در جوانه‌زنی بذر و رشد و عملکرد گیاه اختلال ایجاد می‌کند. بنابراین باید از روش‌های کمکی جهت تقویت بذر و گیاه استفاده کرد تا اثر این عدم تعادل شرایط محیطی را کاهش داد. پرایمینگ یا بهبود بذر تکنیکی است که باعث افزایش دامنه، درصد و سرعت جوانه‌زنی و سبز شدن بذر و عملکرد مطلوب‌تر گیاه در شرایط محیطی تنش‌زا از قبیل تنش شوری، خشکی و دما می‌شود. در میان تکنیک‌های بهبود بذر، استفاده از باکتری‌ها، به‌خصوص در کشت‌های فشرده و خاک‌های فقیر از لحاظ عناصر غذایی، برای حفظ ارزش کیفی خاک مناسب به نظر می‌رسد (Ali *et al.*, 2005).

بررسی نتایج اغلب پژوهش‌های انجام شده بر روی انواع مختلف باکتری‌های ارتقا دهنده رشد نشان می‌دهد این باکتری‌ها با سنتز انواع ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه باعث افزایش رشد و کیفیت محصول شده و از طریق فرآیندهای مختلف باعث ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاهان می‌شوند. این مقاومت باعث می‌شود گیاه تنش‌های محیطی مانند عدم تهویه، آلودگی به عناصر سنگین، شوری، خشکی و آفات و بیماری‌ها

را تحمل نماید. باکتری‌های محرک رشد، جزو منابع زیستی می‌باشند و به‌طور مستقیم با افزایش درصد دسترسی گیاه به نهاده‌ها و عناصر غذایی از طریق مکانیزم‌های تثبیت زیستی نیتروژن، افزایش جذب و فراهمی یا محلول کردن عناصر غذایی، تولید و تغییر غلظت انواع هورمون‌های رشد گیاهی مانند اکسین، اتیلن، جیبرلین و سیتوکینین، تولید سیدروفورهای کلاته کننده آهن و محلول ساختن فسفات همچنین به صورت غیرمستقیم از طریق کنترل آفات و ایجاد مقاومت سیستماتیک در گیاه و افزایش مقاومت به تنش‌های غیرزنده موجب بهبود عملکرد و افزایش رشد گیاه می‌شوند (Arshad *et al.*, 2008). در این رابطه خسروی و همکاران (Khosravi *et al.*, 2018) نشان دادند که تلقیح بذر گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) با باکتری‌های ارتقاء دهنده رشد باعث بهبود اکثر شاخص‌های رشد و عملکرد این گیاه تحت تنش خشکی شد. همچنین، این باکتری‌ها در شرایط تنش باعث تحریک گیاه به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌گردند. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در مهار گونه‌های اکسیژن فعال، پایداری غشا و ایجاد مقاومت در تنش خشکی ایفا می‌کنند (Liu *et al.*, 2013). اکبری و همکاران (Akbari *et al.*, 2016)، با مطالعه گیاه سیر (*Allium sativum*) تحت شرایط تنش خشکی گزارش کردند با افزایش تنش، میزان آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد. سویه‌های *Pseudomonas fluorescence* باعث افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در قسمت‌های مختلف گیاه فلفل سیاه شدند (Diby and Sharma, 2005).

با توجه به ضرورت توسعه کشت گیاهان دارویی با استفاده بیشتر از پتانسیل بخش کشاورزی در شرایط نامساعد محیطی و افزایش تولید زیست توده با بهره‌گیری از روش تیمار بیولوژیک بذر، این پژوهش با هدف بررسی اثر باکتری‌های ارتقا دهنده رشد بر شاخص‌های فیزیولوژیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی مخلصه طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر باکتری‌های ارتقا دهنده رشد، بر شاخص‌های فیزیولوژیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مخلصه تحت تنش کمبود آب این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار به‌صورت گلدانی در خرداد ماه ۱۳۹۵، در فضای باز مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و ۲۰۱۶ متر ارتفاع از سطح دریا، میانگین دما ۱۱/۸ درجه سلسیوس و متوسط بارش سالیانه ۳۱۹ میلی‌متر با متوسط رطوبت نسبی ۴۶ درصد اجرا شد. فاکتورها شامل سه سطح تنش کمبود آب (۱۰۰ درصد آبیاری کامل (شاهد)، ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل) و بیوپرایم با ۷ سطح شامل عدم تلقیح باکتریایی (به‌عنوان شاهد) و تلقیح با باکتری‌های *Azotobacter chroococcum*، *Bacillus amyloliquefaciens*، *Bacillus* sp. (strain A)، *Bacillus* sp. (strain B)، *Pseudomonas fluoresence*، *Pseudomonas putida* بودند. باکتری‌های *Bacillus* از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه شهرکرد، باکتری‌های *Azotobacter* و *Pseudomonas* از بانک میکروب ایران تهیه گردیدند. به‌منظور انجام آزمایش، بذور مخلصه گونه *persicum* با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱۰ ثانیه و هیپوکلریت ۲ درصد به مدت ۵

دقیقه ضدعفونی شده و جهت انجام سرمادهی (پیش سرما) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸ درجه سلسیوس قرار داده شدند. مدت زمان بهینه سرمادهی طی آزمایشی با بررسی ۴ تیمار ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعیین گردید. سپس بذور استریل شده به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق، در آب مقطر (برای تیمار شاهد) یا سوسپانسیون باکتریایی (برای تیمارهای تلقیحی) که میزان جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی ۰/۵ تنظیم شده بود، فرو برده شدند (Burd *et al.*, 1998). پس از تلقیح بذور با سوسپانسیون باکتریایی، تعداد ۱۰ بذر در گلدان‌های ۷ کیلوگرمی با قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر که از خاک مزرعه پر شده بود در خرداد ماه ۱۳۹۵ کاشته شد. بوته ها در مرحله ۲ تا ۳ برگی گیاهچه‌ها تنک شدند به‌طوری‌که در نهایت ۳ بوته در هرگلدان باقی ماند. نیاز غذایی گیاه، با توجه به نتایج آزمون خاک (جدول ۱) و نیاز غذایی مخلصه که با توجه به نتایج تحقیقات حمیسی و همکاران (Hamisi *et al.*, 2012) بر گیاه *Tanacetum parthenium* L.، ۸۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار اعلام شده بود، محاسبه و اعمال شد. نیتروژن مورد نیاز از منبع اوره در سه نوبت به صورت سرک مصرف شد. گلدان‌ها تا زمان استقرار کامل بوته (مرحله ۳ تا ۴ برگی) تا حد تأمین کامل نیاز آبی گیاه به‌طور مرتب آبیاری شدند و پس از آن تا زمان برداشت گیاه یعنی خرداد ماه ۱۳۹۶، تیمارهای تنش کمبود آب اعمال شدند.

برای تعیین میزان و زمان آبیاری گیاه، با توجه به مقاومت گیاه نسبت به کمبود آب، با در نظر گرفتن حد تخلیه مجاز (MAD)[1] برابر ۵۰ درصد، حد پایینی رطوبت سهل‌الوصول (θ_{MAD}) از رابطه (۱) محاسبه شد (Bellingham, 2009):

$$\theta_{MAD} = \theta_{FC} - (\theta_{FC} - \theta_{PWP}) \qquad (۱)$$

که در آن θ_{FC} رطوبت حجمی در ظرفیت زراعی مزرعه (درصد)، θ_{PWP} رطوبت حجمی در نقطه پژمردگی دایم (درصد) و MAD ضریب تخلیه مجاز می‌باشد. سپس رطوبت خاک در تیمارهای شاهد با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج مدل (PMS-714) به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد. زمانی که رطوبت خاک به حدود θ_{MAD} می‌رسید آبیاری برای تیمار شاهد به میزان محاسبه شده از رابطه ۲ انجام می‌شد. تیمارهای تحت تنش ۷۵ و ۵۰ درصد آبیاری کامل نیز همزمان با تیمارها شاهد به‌ترتیب به‌میزان ۷۵ و ۵۰ درصد میزان آب مورد نیاز تیمار شاهد آب دریافت کردند.

$$V_w = (\theta_{FC} - \theta_{soil}).V_{pot} \qquad (۲)$$

که در رابطه فوق V: حجم آب مورد نیاز برای هر گلدان شاهد (لیتر) و V_{pot} حجم گلدان با توجه به عمق مؤثر ریشه گیاه (لیتر) است و θ_{Soil} رطوبت اندازه‌گیری شده خاک (درصد) به‌وسیله دستگاه می‌باشد.

برای تعیین میزان پایداری غشا از ترکیب تکنیک سنجش میزان نشت یونی والنتوویک و همکاران (Valentovic *et al.*, 2006) و رابطه ۳ استفاده شد. در این معادله هرچقدر نشت الکترولیت‌ها بیشتر باشد پایداری غشا کمتر است. نشت الکترولیت‌ها به‌وسیله دستگاه EC متر مدل (HI-98304) قرائت شد.

$$EL = EC_{1/} EC_2 \times 100 \qquad (۳)$$

که در این معادله: EL: نشت یونی غشا، EC_1: هدایت الکتریکی نمونه‌ها بعد از ۲۴ ساعت و

۱- Maximum Allowable Depletion

EC_2: هدایت الکتریکی نمونه‌ها بعد از اتوکلاو است.

محتوای نسبی آب برگ (RWC) به روش پیشنهادی (Martinez *et al.*, 2007) و با استفاده از رابطه (۴) محاسبه شد.

$$RWC = (FW - DW)/ (TW - DW) \times 100 \quad (۴)$$

که در آن: RWC: محتوای نسبی آب برگ، FW: وزن تر برگ، DW: وزن خشک برگ و TW: وزن آماس برگ می‌باشد.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی بر اساس روش پیشنهادی آرنون (Arnon, 1975)، کاروتنوئیدهای برگ از روش پیشنهادی لیچنتالر و باشمن (Lichtenthaler and Buschman, 2001) و آنتوسیانین از روش سیمز و گامون (Sims and Gamon, 2002) انجام شد. در نهایت جذب عصاره برگ با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (AE-UV160) در طول موج‌های۶۶۳، ۶۴۵، ۴۸۰، ۵۳۷ قرائت و با استفاده از روابط ۵ تا ۹ محاسبه شد.

(۵)

$$Chlorophyll_a = [12.7(A_{663}) - 2.59(A_{645})] \times [V/W*1000]$$

(۶)

$$Chlorophyll_b = [22.9(A_{645}) - 4.69(A_{663})] \times [V/W*1000]$$

(۷)

$$Chlorophyll_{Total} = [20.2 (A_{645}) +8.02 (A_{663})] \times [V / (W*1000)]$$

(۸)

$$Carotenoid = (1000A_{480} - 1.8\ Chlorophyll_a - 85.02\ Chlorophyll_b) / 198$$

(۹)

$$Anthocyanin = [0.08173 (A_{537}) - 0.00697 (A_{645}) - 0.002228 (A_{663})]$$

A_{663}: مقدار جذب نوری در طول موج ۶۶۳ نانومتر، A_{645}: مقدار جذب نوری در طول موج ۶۴۵ نانومتر، A_{480}: مقدار جذب نوری در طول موج ۴۸۰ نانومتر، A_{537}: مقدار جذب نوری در طول موج ۵۳۷ نانومتر، V: حجم نهایی نمونه، W: وزن نمونه تازه برگ بر حسب گرم.

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. جذب عصاره برگ در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت با استفاده از رابطه ۱۰ مقدار واقعی پرولین بر حسب میکرومول بر گرم ماده تر محاسبه شد.

$$Proline = [(T \times A_{520} \div 5/115) \div (W \div 5)] \quad (۱۰)$$

T: میزان تولوئن مصرفی (میلی‌لیتر)، A_{520}: مقدار جذب نوری در طول موج ۵۲۰ نانومتر، W: وزن نمونه به گرم.

استخراج اسانس به‌وسیله دستگاه کلونجر انجام شد که به روش تقطیر با آب عمل می‌کند. مقدار ۱۰۰ گرم از نمونه پودر شده گیاه مخلصه، اندازه‌گیری و به بالن متصل به کلونجر انتقال داده می‌شود. پس از افزودن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن، عمل استخراج به مدت ۴ ساعت انجام شد. سپس اسانس جمع‌آوری و با سولفات سدیم بدون آب آب‌گیری شد. اسانس تهیه شده تا زمان انجام آزمایش تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در یخچال ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد (Anonymous, 1993).

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و آنتی‌اکسیدان استاندارد از روش سنجش مهار رادیکال‌های آزاد یا DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydracyl) استفاده شد. در آزمون اصلاح شده ۲۰۰ µl محلول ۱۰۰mM از DPPH رادیکال در متانول با ۲۰µl اسانس در غلظت‌های مختلف مخلوط شد. بعد از مخلوط کردن به مدت ۳۰

دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. بعد از گذشت این زمان، مهار رادیکال DPPHها در طول موج ۴۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه ELISA reader مدل (Stat fax- 2100) قرائت و درصد RSC با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$RSC\ (\%) = 100 \times (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \quad (۱۱)$$

در این فرمول، A_{sample} و A_{blank} به‌ترتیب میزان جذب شاهد و نمونه می‌باشند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت IC_{50} بیان می‌گردد و نشان دهنده غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد. این مقدار، به‌وسیله آنالیز همبستگی برای غلظت‌های مختلف نمونه، RSC خطی حاصل از مقادیر تعیین می‌شود. نتایج به‌دست آمده با مقدار IC_{50} آنتی‌اکسیدان بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) به‌عنوان کنترل مثبت مقایسه می‌گردد (Moein *et al.*, 2007؛ Kim *et al.*, 2002). تجزیه آماری داده‌های آزمایش، با نرم‌افزار SAS 9.2، مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد و مقایسه میانگین اثرات متقابل به روش برش‌دهی انجام شد (Soltani, 2006).

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف تنش کمبود آب، تلقیح باکتریایی و اثر متقابل آنها بر تمام صفات مورد مطالعه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول‌های ۲ و ۳). بررسی مقایسه میانگین‌ها در مجموع نشان داد با افزایش شدت تنش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین، نشت یونی غشا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان پرولین به طور معنی‌داری افزایش و محتوای نسبی آب برگ، عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس کاهش یافت. نتایج حاصل با نتایج سایرام و ساکسنا (Sairam and Saxena, 2000) مطابقت داشت.

افزایش میزان کلروفیل متناسب با افزایش شدت تنش، احتمالاً به علت افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح و وزن به علت کاهش رطوبت نسبی برگ است. چرا که ارزیابی میزان کلروفیل در ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تازه برگ صورت گرفته است. مقایسه اثر تیمارها بر مقدار رنگیزه‌های مورد بررسی و محتوای نسبی آب برگ نیز مؤید این مطلب می‌باشد (شکل‌های ۱: A، B و C و شکل ۳-I).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که تنش کمبود آب باعث تخریب کلروپلاست‌ها می‌شود. کاهش جابجایی و جذب عناصر مورد نیاز پرمصرف و کم مصرف مانند نیتروژن و منیزیم، که جزء اصلی ساختار کلروفیل‌ها می‌باشند، قدرت بازسازی کلروپلاست تخریب شده را از سلول می‌گیرد. علاوه بر این، کاهش جابجایی عناصری که از اجزای اصلی سیتوکروم‌ها هستند، باعث اختلال در کارایی و راندمان سیستم انتقال الکترون می‌گردد. بدین ترتیب تداوم این چرخه باعث کاهش فتوسنتز و عملکرد گیاه می‌شود. کاهش کلروفیل در اثر کمبود نیتروژن در گیاه ذرت نیز گزارش شده است (Xiuliang *et al.*, 2015).

در سطوح ۱۰۰ درصد و ۷۵ درصد آبیاری کامل، تمام تیمارهای باکتریایی عملکرد بهتری نسبت به شاهد داشتند. علت برتری تیمارهای باکتریایی را می‌توان به اثر آنها در تغییر غلظت هورمون‌ها و افزایش جذب عناصر مورد نیاز گیاه به‌دلیل تولید سیدروفور در جنس *Bacillus* و افزایش فراهمی نیتروژن در *Azotobacter* نسبت داد. در تنش ۷۵ درصد آبیاری کامل که گیاه وارد

تنش می‌شود نقش باکتری‌ها در کنترل کلروفیل کل مؤثرتر است (شکل ۱-C). برتری این تیمارها از لحاظ غلظت کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل نشان می‌دهد که ارتباط نزدیکی بین میزان کلروفیل، میزان نیتروژن دریافتی و میزان آنتی‌اکسیدان‌های گیاه وجود دارد (Ahmadi *et al.*, 2007).

با توجه به شکل‌های۲: D، E، F و G و شکل ۳-H تیمارهایی که میزان کاروتنوئیدها (*Bacillus* sp. strain B، با میانگین ۸/۶۴ $mg.g^{-1}_{fw}$)، پرولین (*Pseudomonas putida* با میانگین ۱۲/۶۸ $\mu mol.g^{-1}fw$)، آنتوسیانین (*Azotobacter* با میانگین ۰/۰۲۰ $\mu mol.ml^{-1}$) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (*Bacillus* sp. strain B با میانگین ۴/۳۱ $\mu g.ml^{-1}$) بیشتری دارند، نشت الکترولیت‌ها در آنها کمتر است و از پایداری غشای بیشتری برخوردارند. هر تیمار با تولید بیشتر یکی از این متابولیت‌ها بقا خود را تضمین می‌کند، اما در تولید همه آنها انرژی یکسانی استفاده نمی‌شود. از این‌رو گیاه با کاهش عملکرد ماده خشک، این عدم توازن را کنترل می‌نماید (مقایسه شکل ۳-J با شکل‌های ۲: E، F و G).

در شرایط بروز تنش خشکی، گیاهان با ذخیره تنظیم کننده‌های اسمزی مانند، اسیدهای آمینه، قندها، برخی از یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها سعی در مقابله با تنش دارند. در بین ترکیبات آلی، پرولین یکی از مهم‌ترین تنظیم کننده‌های اسمزی به‌شمار می‌رود که سبب کاهش از دست‌روی آب از سلول و حفظ آماس سلول می‌شود. این واقعیت در مقایسه شکل ۲-F و ۳-I کاملاً مشهود است. وجود پرولین به علت داشتن کربن نامتقارن برای گیاه چه در شرایط تنش و چه غیر تنش ضروری است. زیرا اسیدهای آمینه دارای کربن نامتقارن، دارای ایزومر نوری هستند و قادرند نور پلاریزه را منحرف کنند (Roshani *et al.*, 2016). تیمار باکتریایی *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas fluorescence* و *Azotobacter* که در شرایط تیمارهای ۵۰ درصد آبیاری کامل، پرولین بیشتری تولید کرده‌اند، از لحاظ نگهداری و حفظ محتوای نسبی آب برگ نیز بهتر از بقیه تیمارها عمل کرده‌اند. علت کاهش پرولین در تیمار *Bacillus amyloliquefaciens* و *Bacillus* sp. strain B در این پژوهش (شکل ۲- F) احتمالاً این است که این *Bacillus* توانایی تولید آنزیم پرولین دهیدروژناز را دارد و در شرایط کم آبی پرولین را تجزیه و به‌عنوان منبعی از کربن و نیتروژن در اختیار گیاه قرار می‌دهد (Perez-Perez *et al.*, 2009). البته این نشان‌دهنده این موضوع نیز هست که تیمار این باکتری‌ها در همزیستی با گیاه مخلصه در تامین طبیعی مواد مورد نیاز گیاه، از طریق جذب عنصر از خاک موفق نیستند و گیاه را از طریق انتقال مجدد مواد، نسبت به تیمار شاهد برتر نگه داشته‌اند. مؤید این مطلب زرد شدن برگ‌های تحتانی بوته با شدت بیشتر نسبت به سایر تیمارهای باکتریایی بود که طی اجرای آزمایش در این تیمار مشاهده گردید.

با افزایش شدت تنش، عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس کاهش می‌یابد. عملکرد اسانس تحت تاثیر مستقیم عملکرد بیولوژیک است. تیمار *Azotobacter* در هر سه سطح آبیاری بیشترین عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس را به خود اختصاص داد. در تنش ۷۵ درصد باکتری *Bacillus* sp. strain A (۶/۶۰$g.pod^{-1}$) در صفت عملکرد اسانس تفاوت معنی‌داری با تیمار این باکتری نداشت. افزایش عملکرد اسانس به‌ویژه در تیمارهای باکتریایی می‌تواند ناشی از این موضوع

باشد که باکتری‌ها به‌واسطه افزایش فراهمی عناصر مورد نیاز گیاه، نقش مهمی در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس، کانال‌های اسانس، مجاری ترشحی و کرک‌های غده‌ای دارند. همچنین، با تاثیر مثبت بر افزایش عملکرد بیولوژیک منجر به افزایش عملکرد اسانس می‌گردند (Khosravi *et al.*, 2018؛ Zahir *et al.*, 2004). پایین‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در تیمارهای عدم تنش با میانگین ۷/۱۴ µg/ml (IC_{50} بیشترین)، و بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ۵۰ درصد آبیاری کامل و تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. strain B با میانگین ۴/۳۱ µg/ml (IC_{50} کمترین) مشاهده شد که با تیمارعدم تلقیح باکتریایی در همین سطح تنش اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۲-G). فرآیندهای تولید، انتقال و ذخیره ترکیب‌های ثانویه در گیاهان، نیاز به انرژی زیادی دارد و برای گیاه گران و هزینه‌بر است. از طرفی تولید ترکیب‌های حد واسط، هم از لحاظ تخلیه انرژی و هم به‌عنوان مکانیسم دفاعی، مانند سوپاپ اطمینان برای سلول به حساب می‌آید. گیاهان بدون تولید محصولات ثانویه اگرچه رشد بیشتری داشتند ولی سازگاری آنها نسبت به شرایط نامساعد، کمتر از گیاهان تولید کننده این ترکیب‌ها است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان تابع میزان ترکیبات فنلی تولید شده در متابولیت‌های ثانویه است (Ghasemi, 2010) که تعیین کننده پتانسیل بالای گیاه در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد در شرایط استرس‌های اکسیداتیو می‌باشد (Horvath *et al.*, 2007).

در این پژوهش تیمارهای باکتریایی که هورمون‌های رشد تولید می‌کردند قسمت اعظم متابولیت ثانویه آنها ترپن است که از مسیر استیل کوآنزیم (A) ساخته شده‌اند؛ بنابراین IC_{50} بیشتری از خود نشـــان دادند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که این کاهش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو دلیل است: یا نسبت به سایر تیمارها زیاد تحت تنش نبوده‌اند که این موضوع درون هر تنش (با توجه به شکل ۲-G، میزان IC_{50} هر تیمار و میزان کلروفیل شکل‌های ۱: A، B و C) منطقی به نظر می‌رسد و یا با توجه به میزان انرژی گیاه برای تولید متابولیت ثانویه، متابولیت‌هایی را برای مقابله با تنش ساخته‌اند که سریع‌تر سنتز می‌شوند و انرژی کمتری نیاز دارند. دسته دوم تیمار باکتریایی که تولید هورمون‌های رشد کمتری می‌کند و انرژی گیاه به جای تولید ماده خشک صرف تولید فنل‌هایی می‌شود که از مسیر اسید شیکمیک ساخته می‌شوند. نتایج نشان داد که با افزایش تنش، میزان IC_{50} کاهش و به تبع آن میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد (Ghasemi, 2010). به نظر می‌رسد هر دو دسته ترکیبات فنلی و ترپنی که در مقابله با تنش در تیمارها ساخته شده‌اند، دارای گروه‌های عاملی هستند که می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان نقش بسزایی داشته باشند. بنابراین، با توجه به جایگاه ویژه گیاهان با قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا در مطالعات و صنایع دارویی و غذایی، شاید بتوان از چنین تیمارهایی با توجه به اهداف خاص بهره جست.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد تیمارهای تلقیح باکتریایی از طریق افزایش محتوای نسبی آب برگ در تمام سطوح تنش کمبود آب، منجر به بهبود موازنه و تعادل آب در گیاه و به‌واسطه آن کاهش اثرات تنش، از جمله کاهش شاخص نشت یونی غشا می‌گردند. اگرچه تمام باکتری‌های مورد بررسی در

این پژوهش، از این لحاظ از توانایی یکسانی برخوردار نبودند؛ به‌طوری‌که در شرایط تنش، سودمندی تلقیح باکتریایی *Pseudomonas putida* و *Azotobacter* از سایر تیمارهای باکتریایی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. بررسی توانایی این دو باکتری از لحاظ مکانیسم بهبود موازنه و تعادل آب در گیاه و کاهش اثرات تنش نشان داد *Azotobacter* از طریق افزایش مقدار آنتوسیانین‌ها و *Pseudomonas putida* با افزایش میزان پرولین، منجر به تخفیف اثرات ناشی از تنش در گیاه مخلصه می‌گردند چرا که بهبود موازنه و تعادل آب تحت شرایط تنش به‌واسطه تیمارهای تلقیح باکتریای منجر به کاهش بروز تنش اکسیداتیو در گیاه شده است. شاهد این مدعا کاهش خسارت به غشا به‌واسطه کاهش شاخص نشت یونی در تیمارهای تلقیح باکتریایی می‌باشد. با توجه به موارد مطرح شده در نهایت از بین تیمارهای باکتریایی مورد بررسی، تلقیح باکتریایی بذر مخلصه با باکتری‌های *Pseudomonas* و *Azotobacter* به‌ویژه در سیستم کشت کم آبیاری می‌تواند مفید واقع گردد.

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 1- Some of the physical and chemical properties of the experimental soil

کلاس بافت Class	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	پتاسیم قابل جذب K ($mg.kg^{-1}$)	فسفر قابل جذب P ($mg.kg^{-1}$)	کربن آلی Organic C (%)	نیتروژن کل Total N (%)	pH	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)
رسی Clay	52	24	24	180	23	0.7	0.07	7.3	0.91

جدول ۲- تجزیه واریانس کلروفیلa، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها و آنتوسیانین

Table 2- Analysis of variance of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids and anthocyanin content

منابع تغییر (S.O.V)		درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
			کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g_{fw})	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/g_{fw})	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g_{fw})	کاروتنوئیدها Carotenoids (mg/g_{fw})	آنتوسیانین Anthocyanin ($\mu mol.ml^{-1}$)
بلوک	Block	3	0.0009 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.008 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.0000004 ^{ns}
تنش	Stress	2	1.68 **	0.18 **	3.039 **	84.49 **	0.00005 **
باکتری	Bacteria	6	0.05 **	0.03 **	0.129 **	3.25 **	0.0003 **
باکتری×تنش	Bacteria×stress	12	0.06 **	0.02 **	0.125 **	3.53 **	0.00001 **
خطا	Error	60	0.005	0.001	0.008	0.24	0.0000003
ضریب تغییرات	CV (%)		9.02	8.22	7.68	8.28	9.55

^{ns} و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

^{ns}, **: non-significant and significant at 1% probability level, respectively

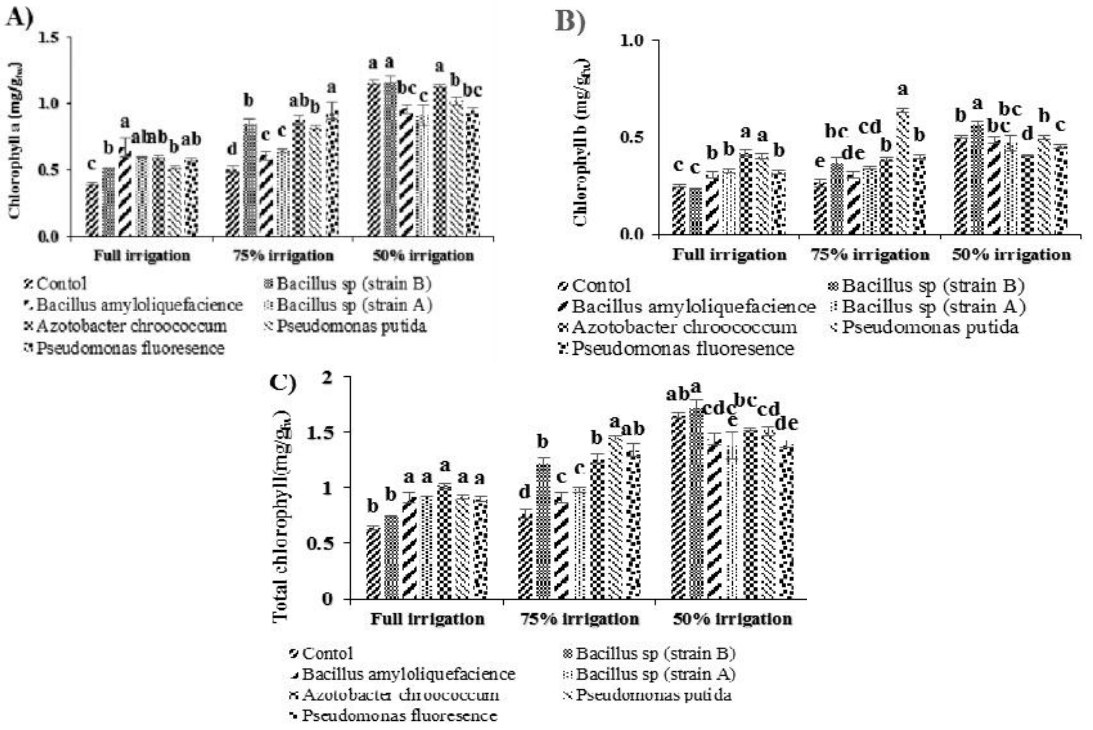
جدول ۳- تجزیه واریانس نشت یونی غشا، محتوای نسبی آب برگ، پرولین، عملکرد بیولوژیک، عملکرد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50})

Table 3- Analysis of variance of Electrical Leakage (EL), Relative Water Content (RWC), Proline, Biological yield (BY), Essential oil yield (EOY) and IC_{50}

منابع تغییر (S.O.V)		درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)					
			نشت یونی غشا EL (٪)	محتوای نسبی آب برگ RWC (٪)	پرولین Proline $mol.g^{-1}$ (µfw)	عملکرد بیولوژیک BY ($g.pod^{-1}$)	عملکرد اسانس EOY ($g.pod^{-1}$)	IC_{50} ($\mu g.ml^{-1}$)
بلوک	Block	3	0.05 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.21 ^{ns}	1.23 ^{ns}	0.20 ^{ns}
تنش	Stress	2	494.68 **	11337.52 **	324.84 **	123.23 **	29.10 **	23.63 **
باکتری	Bacteria	6	407.83 **	1163.001 **	11.71 **	54.41 **	16.44 **	1.45 **
باکتری×تنش	Bacteria×stress	12	45.66 **	100.07 **	10.55 **	5.84 **	4.77 **	0.62 **
خطا	Error	60	0.463	0.520	0.119	0.009	0.36	0.025
ضریب تغییرات	CV (%)		4.27	2.08	5.41	1.49	13.02	2.74

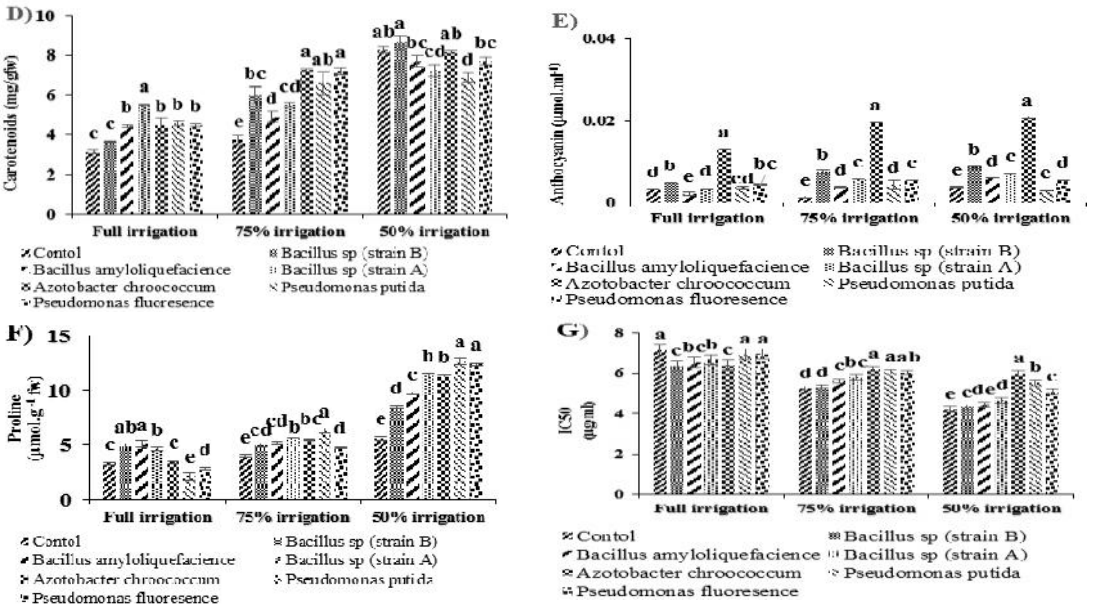
^{ns}، ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

^{ns}, **: non-significant and significant at 1% probability level, respectively



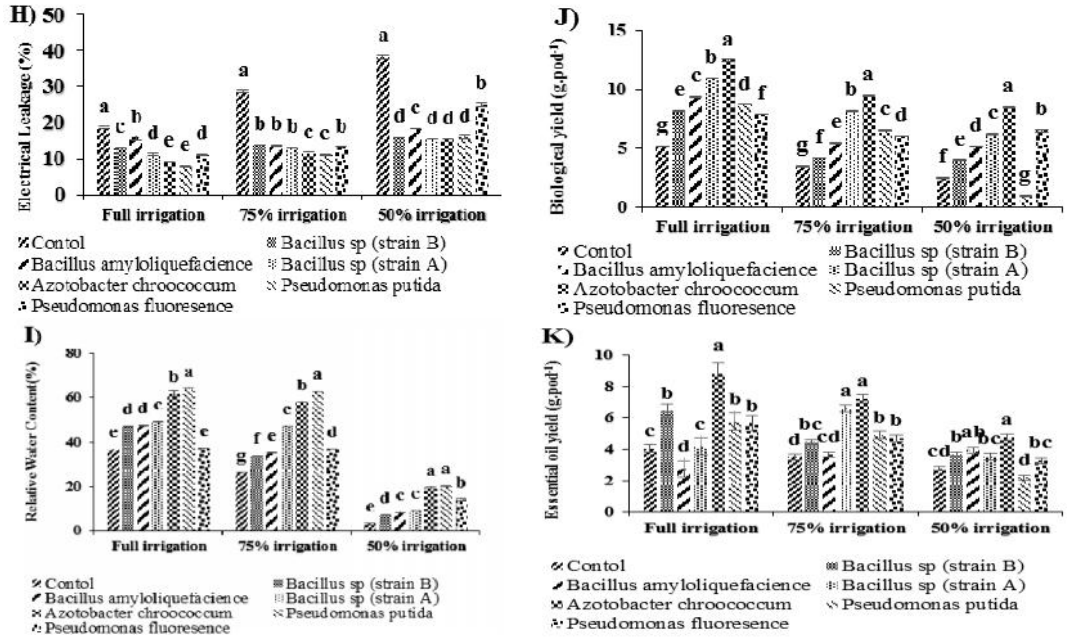
شکل ۱- اثر متقابل تنش کم آبی و تلقیح باکتریایی بر: A- کلروفیل a، B-کلروفیل b و C- کلروفیل کل

Figure 1- Interaction effects of water deficit stress and bacterial inoculation on A) chlorophyll a, B) chlorophyll b and C) Total chlorophyll



شکل ۲- اثر متقابل تنش کم آبی و تلقیح باکتریایی بر:D - کاروتنوئیدها، E-آنتوسیانین، F- پرولین و G- میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (IC50)

Figure 2- Interaction effects of water deficit stress and bacterial inoculation on D) carotenoids, E) anthocyanin, F) Proline and G) IC50



شکل ۳- اثر متقابل تنش کم آبی و تلقیح باکتریایی بر: H - نشت یونی غشا، I- محتوای نسبی آب برگ، -J عملکرد بیولوژیک و K- عملکرد اسانس

Figure 3- Interaction effects of water deficit stress and bacterial inoculation on H) Electrical Leakage, I) Relative Water Content, J) Biological yield and K) Essential oil yield.

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

Means fallowed with the same letter(s) don't have significantly different at the 5% probability level-using LSD test

References منابع مورد استفاده

- Ahmadi, A., P. Ehsanzadeh, and F. Jabbari. 2007. Introduction to plant physiology. University of Tehran Press. 651 pp. (In Persian).
- Akbari, Sh., M. Kafi, and Sh. Rezvan-Beidokhti. 2016. The effects of drought stress on yield, yield components and anti-oxidant of two garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes with different planting densities. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 8 (1): 95-106. (In Persian).
- Ali, S., M. Hamza, G. Amin, M. Fayez, M. El-Tahan, M. Monib, and N. Hegazi. 2005. Production of bio fertilizers using baker's yeast effluent and their application to wheat and barley grown in north Sinai deserts. *Archives of Agronomy and Soil Sciences*. 51(6): 589-604.
- Anonymous. 1993. Published on the recommendation of the medicines commission pursuant to the medicines Act 1968. British Pharmacopoeia. https://books.google.com/ books?id
- Arnon, D.I. 1975. Physiological principles of dry land crop production in physiological aspects of dry land farming. Oxford Press. 145 pp.
- Arshad, M., B. Shaharoona, and T. Mahmood. 2008. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-Deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). *Pedosphere*. 18(5): 611-620.
- Bates, I.S., R.P. Waldern, and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39(1): 205-207.
- Bellingham, B.K. 2009. Method for irrigation scheduling based on soil moisture data acquisition. Irrigation district sustainability strategies to meet the Challenges. U.S. Committee on Irrigation and Drainage. 383pp.
- Burd, G.I., D.G. Dixon, and B.R. Glick. 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. 64(10): 3663–3668.
- Diby, P., and Y.R. Sharma. 2005. *Pseudomonas fluorescens* mediated systematic resistance in black pepper (*Piper nigrum* L.) is driven through an elevated synthesis of defense enzymes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 38 (2): 139-149.
- Ghasemi, A. 2010. Medicinal and aromatic herbs (recognition and their effects). Shahrekord Islamic Azad University Press. 574pp. (In Persian).
- Hadj-Seyed-Hadi, M. R., N. Khodabandeh, N. Yasa, and M.T. Darzi. 2002. Effects of sowing date and plant density on flower yield and active substance in Chamomile. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 4(3):208-217. (In Persian).
- Hamisi, M., F. Sefidkon, M. Nasri, and M.H. Lebaschi. 2012. Effects of different amounts of nitrogen, phosphor and bovine fertilizers on essential oil content and composition of *Tanacetum parthenium* L. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants.* 28 (3): 399-410. (In Persian).

- Horvath, E., G. Szalai, and T. Janda. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation*. 26: 290-300.
- Khosravi, M., A. Danesh-Shahraki, M. Ghobadinia, and K. Saeidi. 2018. The effect of seed bio-priming treatments on morphological indices of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under water deficit stress**.** *Environmental Stresses in Crop Sciences.* 11(2): 353-363.
- Kim, D.O., K.W. Lee, H.J. Lee, and C.Y. Lee. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(13): 3713-3717.
- Lichtenthaler, H.K., and C. Buschman. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: Wrolstad R.e. (ed) Current Protocols in Food Analytical Chemistry Jhon Wiley and Sons, Inc. New York.
- Liu, J., Z. Xia, M. Wang, X. Zhang, T. Yang, and J. Wu. 2013. Overexpression of a maize E3 ubiquitin ligase gene enhances drought tolerance through regulating stomatal aperture and antioxidant system in transgenic tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*. 73: 114-120.
- Martinez, J.P.H., J. Silva, F. Ledent, and M. Pinto. 2007. Effect of drought stress on the osmoting adjustment cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.).*European Journal of Agronomy*.26(1):30-38.
- Moein, S., B. Farzami, S. Khaghani, M.R. Moein, and B.A. Larijani. 2007. Antioxidant properties and protective effect on cell cytotoxicity of *Salvia mirzayani*. *Pharmaceutical Biology*. 45(6): 458-463.
- Mozaffarian, V. 2012. Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Farhange Moaser Publishers, Tehran. 1444pp.
- Pérez -Pérez, J.G., J.M. Robles, J.C. Tovar, and P. Botía. 2009. Response to drought and salt stress of lemon 'Fino 49' under field conditions: Water relations, osmotic adjustment and gas exchange. *Scientia Horticulturae*. 122 (1): 83-90.
- Roshani, M., M. Valiopour, and A. Valipour. 2016. Chemistry of plant compounds. Noavaran Sharif Press. 229 pp.
- Sairam, R.K., and D.C. Saxena. .2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science.* 184(1): 55-6.
- Shojaei, H., and H. Makarian. 2014. The effect of nano and non-nano zinc oxide particles foliar application on yield and yield components of mungbean (*Vigna radiate*) under drought stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 12 (4):727-737.
- Sims, D.A., and J.A. Gamon. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment Journal*. 81(2): 337-354.
- Soltani, A. 2006. Revision of the application of statistical methods in agricultural research. Mashhad University Jihad Publications. P 74. (In Persian).

- Valentovic, P., M. Luxoval, L. Kolarov, and O. Gasparikova. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize cultivars. *Plant, Soil and Environment*. 52 (4): 186-191.
- Xiuliang, J., Y. Guijun, T. Changwei, and Z. Chunjiang. 2015. Effects of nitrogen stress on the photosynthetic CO_2 assimilation, chlorophyll fluorescence, and sugar-nitrogen ratio in corn. *Scientific Reports*. 5: 9311.
- Zahir, Z.A., M. Arshad, and W.T. Frankenberger. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*. 81 (1): 98-169.

Effect of Water Deficit Stress and Seed Biopriming on the Physiological Indices and Antioxidant Activity of Tansey (*Tanacetum persicum* (Boiss.) Mozaff)

Fatemeh Bahmeh [1], Abdolrazagh Danesh-Shahraki[2]*, Zahra Lorigooini[3] and Mahdi Ghobadinia[4]

Received: February 2017 , Revised: 12 August 2018, Accepted: 26 September 2018

Abstract

Growing medicinal plants is important for utilizing their drug precursors, and preserving the genetic resources and diversity in the ecosystem. Tansy is one of the medicinal plants with its valuable therapeutic and antioxidant properties. To investigate the effect of plant growth promoting rhizobacteria on the physiological indices and antioxidant activity of tansy under water deficit stress, a factorial pot experiment was conducted in a randomized complete block design at the Experimental Farm of Shahrekord University in 2016. The factors consisted at water deficit at three levels: full irrigation (control), 75% full irrigation and 50% full irrigation; and seed biopriming treatments at seven levels: non-bacterial inoculation (control), *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus* sp. strain A., *Bacillus* sp. strain B., *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. The results showed that bacterial inoculation treatments had a significant effect on all of the analyzed traits ($p \leq 0.01$). *Azotobacter chroococcum* inoculation had the most significant effect on chlorophyll *a* and carotenoids contents, biological yield, essential oil yield, and anthocyanin contents (0.020 $\mu mol.ml^{-1}$). *Bacillus* sp. strain A showed a 2.5-fold increase in proline content compared to that of control, and *Bacillus* sp. strain B had the greatest effect on antioxidant activity (IC_{50} 5.32 $\mu g.ml^{-1}$). Moreover, *Pseudomonas fluorescence* increased the carotenoids content in 50% full irrigation treatment, and *Pseudomonas putida* had the highest effect on chlorophyll *b* and total chlorophyll contents, membrane stability, and leaf relative water content. The results revealed that the inoculation of Tansy seeds with *Azotobacter* and *Pseudomonas* bacteria, especially in deficit irrigation practices, is recommended to alleviate the adverse effects of water stress.

Key words: Plant growth promoting rhizobacteria, cell membrane stability, water stress, sustainable agriculture.

1- MSc. Seed Technology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Agronomy, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3- Assistant professor of Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.
4- Assistant Professor, Department of Water Engineering, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
* *Corresponding Author: danesh-a@sku.ac.ir*