بررسی امکان افزایش عملکرد فیزیولوژیکی گیاه دارویی *Lippia citriodora* L. با استفاده از محرک‌های زیستی در شرایط تنش شوری

رضا دهقانی بیدگلی[1*]

[1]استادیار، گروه مرتع و آبخیز، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۰۵

چکیده

تنش‌های محیطی مانند شوری، یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد در گیاهان دارویی به‌شمار می‌روند. تنش شوری از یک سو باعث ایجاد تغییر در رشد گیاهان دارویی شده و از طرف دیگر کمیت و کیفیت مواد موثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و روغن‌های فرار (اسانس‌ها) را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تاکنون روش‌های زیادی جهت مقابله با تنش شوری ارائه گردیده است. در سال‌های اخیر استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهان، نظیر باکتری‌های محرک رشد به عنوان راهکاری جهت کاهش اثرات سوء تنش شوری به کار گرفته شده است. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با ۱۲ تیمار و ٤ تکرار در بهار سال ۱۳۹۷ در گلخانه دانشگاه کاشان انجام شد. فاکتورهای مورد آزمایش شامل ۳ سطح شوری به میزان ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار و باکتری محرک رشد (PGPR) سویه *Pseudomonas fluorescens* در چهار غلظت شاهد (صفر)، 10^{-10}، 10^{-8} و 10^{-6} CFU/ml بود که پس از استقرار کامل گیاه و به خاک گلدان‌ها به صورت محلول قبل از اعمال تنش شوری اضافه گردید. پس از ٤۵ روز اندام هوایی گیاه شامل سرشاخه گلدار برداشت گردید و با روش استخراج و تقطیر با بخار به‌طور همزمان با یک حلال آلی با استفاده از دستگاه SDE اسانس گیری انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش تنش شوری تاثیر معنی‌داری در کاهش پارامترهای رشد شامل وزن خشک، طول ریشه، ارتفاع گیاه و عملکرد اسانس داشته است. همچنین با افزایش سطح شوری، درصد اسانس افزایش معنی‌داری را در سطح یک درصد نشان داد، به‌طوری که درصد اسانس از ۰/٤۵ در تیمار شوری ۲۵ میلی مولار به ۰/۹٦ در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار و استفاده از غلظت 10^{-8} مولار باکتری رسید. بر اساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که استفاده از این سویه باکتری محرک رشد سبب کاهش اثرات تنش شوری شده و بازدهی اسانس این گیاه را افزایش می‌دهد، بنابراین به نظر می‌رسد کاربرد این باکتری‌ها راهکار مناسبی برای سازگاری با تنش شوری باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، باکتری محرک رشد، به لیمو، تنش شوری، وزن خشک

[*]نویسنده مسئول: dehghanir@kashanu.ac.ir

مقدمه

کمبود منابع آبی از یک سو، و منابع آبی با کیفیت پایین مانند آبهای شور باعث شده است تا مدیریت تولید گیاهان در شرایط نامساعد محیطی مورد توجه قرار بگیرد (Denis Thomas, 2018). تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و سرما می‌توانند تاثیرات منفی بر تولیدات گیاهی داشته باشند و حتی بقای گیاه را تهدید کنند (Boyer, 1982). برای مثال، تنش شوری فرآیندهای بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و بیوسنتز متابولیتهای اولیه و ثانویه را در گیاهان دارویی تحت تاثیر قرار می‌دهد (El-Sherif et al., 1990).

عملکرد یک گیاه دارویی وقتی مقرون به‌صرفه است که علاوه بر تولید زیتوده مناسب، کمیت و کیفیت تولیدات آن مانند اسانسها به حد مطلوب رسیده باشد. بنابراین، با مدیریت عوامل محیطی می‌توان به حداکثر محصول دست یافت (Kusano et al., 2008). دمیر کایا و همکاران (Demir kaya et al., 2016) در تحقیقات خود نشان دادند که شوری عملکرد اسانس در گیاهان خانواده نعنائیان را کاهش می‌دهد و از طرفی استرس خشکی می‌تواند باعث افزایش درصد روغن‌های ضروری اکثر گیاهان دارویی شود زیرا در این حالت متابولیت‌های بیشتری تولید شده و این مواد باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون در سلول می‌شوند. همچنین دامبولنا و همکاران (Dambolena et al., 2017) تأثیر تنش شوری بر ارتفاع و عملکرد اسانس چند گونه گیاه دارویی را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که هرچند سطوح بالای این تنش، ارتفاع بوته، وزن تازه و خشک گیاه را کاهش داد، اما موجب افزایش میزان اسانس در مرحله گلدهی گردید.

یکی از مواردی که می‌تواند مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی را افزایش دهد، استفاده از تنظیم کننده‌های زیستی رشد گیاهان می‌باشند. در این میان باکتری محرک رشد به جهت تنوع و فراوانی سویه، سهولت استفاده و تاثیر نسبتاً سریع بر شاخص‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشند (Aktas et al., 2016). محرک‌های زیستی به عنوان فرآورده‌های بدون خطر می‌توانند برای پایداری تولیدات کشاورزی مناسب باشند. باکتری‌های محرک رشد به‌عنوان یک تنظیم کننده رشد حاصل از خاک، بدون اثرات مخرب زیست محیطی جهت بالا بردن عملکرد، به خصوص در شرایط متغیر می تواند در افزایش راندمان و مقاومت گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی مورد استفاده قرار گیرد (Jarosova et al., 2016; Khaled and Fawy, 2011; Kulikova et al., 2015).

باکتری‌های محرک رشد تحمل گیاهان را در محدوه وسیعی از استرس‌های محیطی از قبیل: خشکی، شوری و گرما افزایش داده‌اند (Clomse et al., 2014). رشد و تولید روغن‌های ضروری گیاهان دارویی می‌تواند تحت تاثیر استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی قرار بگیرد. سوامی و همکاران (Swamy et al., 2017) نشان دادند که با کاربرد مواد محرک، رشد گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و با کاربرد میزان ناچیزی از این مواد در حد میکروگرم، محتوای روغن ضروری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در تحقیق دیگر تارفیاس و همکاران (Tarfias et al., 2016) دریافتند که میزان روغن‌های اسانسی در گیاه بومادران با کاربرد باکتری‌های محرک رشد افزایش معنی‌داری نشان داد و ظهور پیامدهای سوء تنش را به تعویق انداخت.

گیاه دارویی به لیمو با نام علمی *Lippia citriodora* L. متعلق به خانواده Verbenaceae می‌باشد این خانواده با خانواده ی روناس و نعناع شباهت‌هایی دارد. جنس Lippia دارای ۲۲۰ گونه می‌باشد، البته در برخی منابع، گونه‌های این جنس را

۱۰۰ گونه معرفی کرده‌اند (Argyropoulou et al., 2017).

به لیمو درختچه‌ای است به ارتفاع متوسط ۳ متر که گاهی به ۷ متر هم می‌رسد. از مشخصات بارز آن بوی نافذ و مطبوع برگ‌های آن می‌باشد شباهتی به لیمو دارد. برگ‌های این گیاه دراز، نوک تیز، ساده، خشن و به رنگ سبز روشن هستند که به‌صورت فراهم روی محور ساقه قرار می‌گیرند. گل‌ها کوچک به رنگ سفید یا مایل به بنفش می‌باشند که در انتهای شاخه‌ها و مجموعاً به‌صورت هرمی حول محور شاخه ظاهر می شوند(Omidbaigi., 2004).

این گیاه بومی آمریکای جنوبی: شیلی، پرو و آرژانتین می‌باشد و اولین بار توسط اسپانیایی‌ها در سال ۱۷۸٤ میلادی از آمریکای جنوبی به اروپا آورده شد. این گیاه به نام پزشک گیاه شناسی بنام lippi که در حبشه به قتل رسید، نامگذاری شده است و citriodora به معنای شبه لیمو است که به خاطر شباهت بوی این گیاه که شبیه لیمو است، این نام را روی این گیاه نهاده‌اند (Aydin and Metin., 2012).

امروزه این گیاه در شمال کشورمان کشت و کار می شود. در طب گیاه درمانی ایران، برگ‌های این گیاه به‌صورت دم کردنی به منظور آرام بخشی، ضدتشنج و برطرف کننده تپش قلب و سرگیجه مصرف دارد. چای به لیمو فوق العاده آرام بخش و تسکین‌دهنده اعصاب است. بررسی‌های اخیر مواد عمده‌ی موجود در اسانس این گیاه را سیترال (ژرانیال، نرال)، ژرانیول، لیمونن و سینئول ذکر کرده‌اند (Argyropoulou et al., 2014).

به لیمو، بیشتر در زمین‌های آفتابگیر، با خاک دارای نفوذپذیری خوب (خاک لومی سبک) و محیط دارای رطوبت و آب کافی، رشد می‌نماید.این گیاه در برابر سرما و وزش باد شدید حساس است، این گیاه را می‌توان در نواحی با شرایط نزدیک به نقاط مدیترانه‌ای کشت نمود (Zargari, 2006).

گیاهانی که ارزش آن‌ها به دارو بودن و کیفیت و سلامت آن‌هاست اهمیت ویژه ای دارند. پس لازم است با توجه به افزایش عملکرد و سطوح برداشت در محصولات گلخانه‌ای به تفاوت‌های ترکیبات غذایی و دارویی گیاه نیز توجه نمود و طرح‌هایی برای استاندارد سازی و مقایسه‌ی تولید محصولات گلخانه ای و مزرعه‌ای نیز تدوین نمود. ایجاد چنین طرح‌هایی نیاز به مطالعه علمی یک محصول تولیدی در گلخانه و مزرعه دارد که بایستی با علوم فیتوشیمی، فیزیولوژی گیاهی، مبانی کشاورزی پایدار، بیوشیمی، اکولوژی و سایر حوزه‌های علمی به بررسی یک فرآیند تولیدی محصول پرداخت تا سلامت محصول تأمین گردد (Spector et al., 2012).

از آنجایی که تنش‌های محیطی و به ویژه تنش شوری یکی از موانع اصلی در کاهش تولید محصولات گیاهان دارویی در بسیاری از نقاط دنیا خصوصا در مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند ایران محسوب می‌شوند، بنابراین انجام آزمایشات مرتبط با کاربرد مواد موثر در کاهش اثرات سوء تنش‌ها برای حصول آستانه‌های اقتصادی عملکرد گیاهان زراعی و دارویی مهم به‌نظر می‌رسد با در نظر گرفتن این موارد، نقش باکتری‌های محرک رشد در کاهش آثار سوء تنش شوری و تاثیر آن بر عملکرد گیاهان دارویی مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه دانشگاه کاشان در خردادماه سال ۱۳۹۷ اجرا گردید. این گلخانه از نوع سازه فلزی با پوشش نایلونی به مساحت تقریبی ۲۵۰ مترمربع می‌باشد که دارای سیستم گرمایشی و تهویه

مناسب می‌باشد. در این تحقیق از گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر، ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر به ظرفیت ۵ کیلوگرم حاوی مخلوط کوکوپیت و پرلیت دانه متوسط به نسبت ۵۰ به ۵۰، استفاده گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی با ۱۲ تیمار و ٤ تکرار انجام شد. قبل از شروع تیمار تنش شوری، در طول مدت آزمایش، گلدان‌ها در دمای گلخانه (۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) با سقف پلاستکی نگهداری شدند.

تعداد ۳ نهال ریشه دار گیاه به لیمو (حاصل تکثیر به روش خوابانیدن) با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر در گلدان‌ها کشت گردیدند. در دو هفته اول بعد از کاشت نهال‌ها، فقط از آب خالص جهت آبیاری استفاده شد. در ادامه به‌مدت دو هفته از محلول یک چهارم هوگلند و سپس تا انتهای آزمایش از محلول یک دوم هوگلند، جهت تغذیه و آبیاری گیاهان استفاده شد. به‌منظور اعمال تیمار شوری، یک ماه بعد از کشت نهال‌ها و اطمینان از استقرار کامل آنها مقدار ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مول نمک کلرید سدیم به هر لیتر محلول غذایی یک دوم هوگلند اضافه گردید. آبیاری هر سه روز یک بار به‌طور منظم انجام شد و اعمال تیمارهای شوری به‌مدت ٤۵ روز و تا آغاز دوره گلدهی به طول انجامید (Sardashti et al., 2013).

سویه باکتری محرک رشد در این آزمایش، سویه *Pseudomonas fluorescens* بود که در چهار سطح شامل شاهد (صفر)، 10^{-10}، 10^{-8} و 10^{-6} مولار بود که به خاک گلدان‌ها به‌صورت محلول قبل از اعمال تنش شوری اضافه شد.در آغاز دوره گل‌دهی، گیاهان کشت شده در گلدان‌ها را به همراه ریشه‌ها به‌دقت از گلدان خارج کرده و صفات مورد نظر شامل ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و هم‌چنین وزن خشک تولیدی در واحد سانتی مترمربع اندازه‌گیری و محاسبه گردید. برای تعیین میزان اسانس از روش استخراج و تقطیر با بخار به‌طور همزمان با یک حلال آلی و دستگاه SDE[1] (ساخت شرکت اشک شیشه ایران) استفاده گردید به این صورت که ۵۰ گرم از بخش هوایی خشک شده گیاه کاملاً خرد شده و در بالن ۲۵۰ سی‌سی ریخته و به آن میزان ۱۵۰ سی‌سی آب مقطر اضافه گردید. بعد چهار ساعت با دانستن وزن ماده خشک گیاه و وزن اسانس، از طریق تناسب بازده اسانس به‌صورت درصد با استفاده از رابطه ۱ مشخص شد.

$$\text{بازده اسانس} = \frac{\text{وزن اسانس}}{\text{وزن خشک ماده}} \times ۱۰۰$$

رابطه ۱:

اطلاعات به‌دست آمده حاصل از صفات اندازه‌گیری شده، با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTAT-C تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام گرفت. رسم نمودارها به وسیله نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

ارتفاع بوته: اثر سطوح مختلف شوری در طول دوره اعمال تنش (٤۵ روز) و همچنین غلظت‌های مختلف باکتری محرک رشد بر ارتفاع بوته‌های به لیمو در سطح یک درصد معنی‌دار شد، اما اثر متقابل این دو فاکتور بر ارتفاع بوته معنی‌دار نشد (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین ارتفاع بوته در تیمار شوری ۲۵ میلی‌مولار و کمترین میزان آن در تیمار ۵۰ میلی مولار شوری حاصل شد (جدول ۲). بیشترین و کمترین ارتفاع گیاه به‌ترتیب در

1. Simultaneous steam distillation and extraction

تیمارهـای 10^{-8} مـولار و صـفر مـولار مشـاهده شـد (جدول ۳).

وزن خشک اندام هوایی: نتایج این تحقیـق نشـان داد که، اثر سطوح مختلف شـوری در طـول دوره اعمـال تنش (٤٥ روز) و همچنین غلظت‌های مختلف باکتری محـرک رشـد بـر وزن خشـک انـدام هـوایی (شـامل سرشاخه‌هـای هـوایی گلـدار) در سـطح یـک درصـد معنی‌دار می‌باشـد، در حـالی کـه اثـر متقابـل ایـن دو فاکتور بـر وزن خشـک انـدام هـوایی معنـی دار نبـود (جدول ۱). مقایسه میانگین عملکرد وزن خشک اندام هوایی نشان داد که تیمار شوری ۲۵ میلی‌مولار باعـث تولید بیشترین عملکرد وزن خشک اندام هوایی شد و افزایش سطح شوری باعث افت معنی‌دار ایـن صـفت، به‌ترتیب با کاهش ٤٥ و ۷۸ درصدی نسبت بـه شـاهد گردید (جدول ۲).

جدول ۱: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد مطالعه به لیمو تحت تاثیر سطوح مختلف شوری و غلظت‌های مختلف باکتری محرک رشد

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	درصد اسانس	عملکرد اسانس
شوری	۲	۲۵۰/۵ **	۲۸۰/۳ **	۱/۰۰۵ **	۰/٤۰۲ **	۰/۰٤۳ *
باکتری	۳	۷۰/٤۹ **	۸٦/۷۲ **	۰/۵ **	۰/۲۱ **	۵/۲۳۰ **
شوری×باکتری	٦	٤۰/٤٤ ^{ns}	۳۰/۱٤ ^{ns}	۰/۳۱ *	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/٦۷۵ *
خطای آزمایش	۳۳	۲۱/۰۹	۱۷/۸۱	۰/۰٥٤	۰/۰۰۵	۰/۳۰۹
ضریب تغییرات (%) CV	۱/٦	۸/۱	٤/۳	۷	۰/٥٤	٤/٤

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۲: اثر سطوح مختلف شوری بر صفات مورد مطالعه به لیمو

سطوح شوری	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	وزن خشک اندام هوایی(گرم)	درصد اسانس
۲۵	۱۹۰/۳۱^{a}	۲۵۹/۳^{a}	۰/٤۲^{a}
۵۰	۸۲/۳۲^{b}	۹۱/۱۲۸^{c}	۰/۸۲۲^{b}
۱۰۰	۱۲۹/٦^{ab}	۱٦۷/۰۷^{b}	۰/۵۳۷^{c}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک می‌باشند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

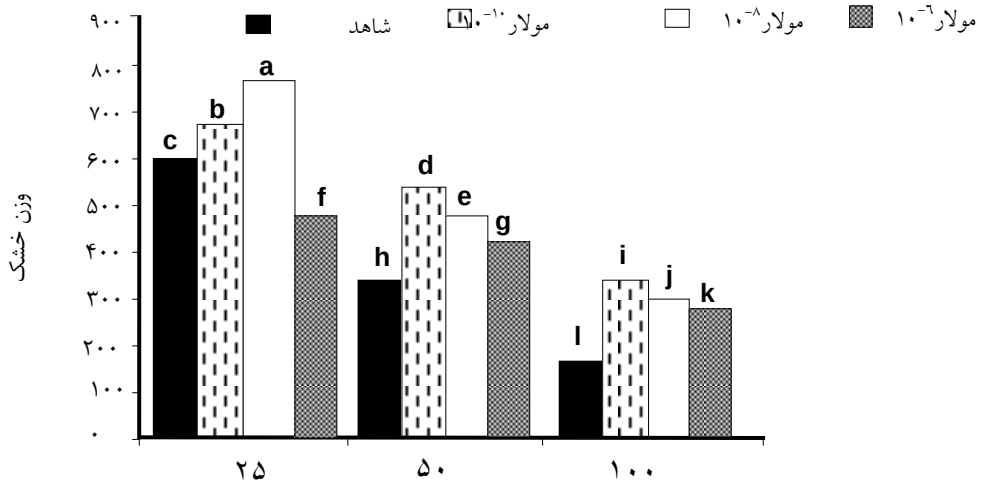
جدول ۳: اثر غلظت‌های مختلف باکتری محرک رشد بر صفات مورد مطالعه به لیمو

غلظت‌های باکتری	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	وزن خشک اندام هوایی(گرم)	درصد اسانس
۰	٥٦/۹۷^{c}	٦٥/۹۸^{c}	۰/٦۸^{d}
10^{-10}	٦٥/٥٤^{ab}	۷٤/۹۳^{b}	۰/۷۳^{b}
10^{-8}	۷۳/۳٥^{a}	۸٦/۳۹^{a}	۰/۸٦^{c}
10^{-6}	٦۷/۹٤^{bc}	۷٥/٤۳^{bc}	۰/٦٥^{a}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک می‌باشند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

مقایسـه میـانگین وزن خشـک انـدام هـوایی در غلظت‌های مختلف باکتری مورد استفاده نشان می‌دهد که تیمار 10^{-8} مولار از این ماده، بالاترین وزن خشک اندام هوایی به لیمو را با افزایش ۸۲ درصـدی نسـبت به شاهد را داراست (جدول ۳).

وزن خشک ریشه: اثر سطوح مختلف شوری در طول دوره اعمال تنش (٤٥ روز) و همچنین غلظت‌های مختلف باکتری محرک رشد و اثر متقابل این دو، بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱)؛ به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک ریشه مربوط به تیمارشوری ۲۵ میلی‌مولار و کاربرد 10^{-8} مولار باکتری محرک رشد بود که باعث افزایش ٤٥ درصدی نسبت به گیاهان شاهد گردید (شکل ۱). استفاده از باکتری محرک رشد در شرایط کاهش آبیاری، باعث بهبود معنی‌دار وزن خشک ریشه شد (شکل ۱).

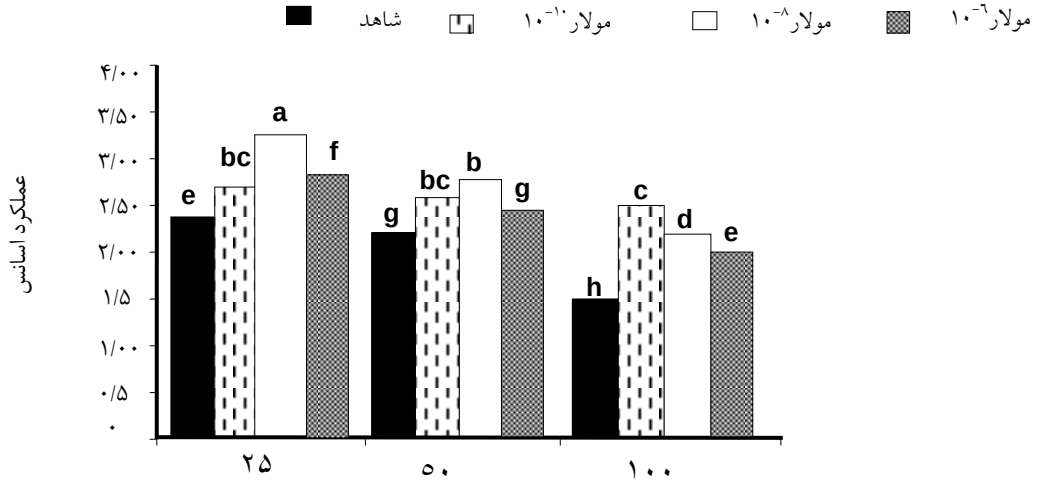


شکل ۱: اثرات متقابل سطوح مختلف شوری و غلظت‌های مختلف باکتری محرک رشد بر وزن خشک ریشه به لیمو

درصد اسانس: اثر سطوح مختلف شوری در طول دوره اعمال تنش (٤٥ روز) نیز و غلظت‌های مختلف باکتری محرک رشد بر درصد اسانس اندام هوایی گیاه به لیمو در دوره گلدهی در سطح یک درصد معنی‌دار شد، اما اثر متقابل این دو فاکتور بر درصد اسانس معنی‌دار نشد (جدول ۱). درصد اسانس به لیمو با افزایش سطح شوری، افزایش معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری که با افزایش سطح شوری به ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار به‌ترتیب افزایش ٦٥ و ۹۲ درصدی در درصد اسانس نسبت به تیمار شاهد ثبت شد (جدول ۲). نتایج نشان داد که تیمار 10^{-8} مولار بیشترین درصد اسانس را نسبت به سایر تیمارها تولید می‌کند (جدول ۳).

عملکرد اسانس: براساس نتایج به‌دست آمده، اثر سطوح مختلف تنش شوری، بر کاهش معنی‌دار عملکرد اسانس (درصد وزنی- وزنی اسانس) در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). تیمارهای تنش ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار نسبت به تیمار شاهد، به‌ترتیب ۲۵ و ۳۳ درصد عملکرد اسانس را کاهش داده است. نتایج نشان که کاربرد باکتری محرک رشد باعث افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس در سطح یک درصد گردید (جدول ۱). بیشترین میزان عملکرد اسانس به‌ترتیب مربوط به تیمار باکتری 10^{-8} مولار و با میانگین ۳/٤٥ گرم در سانتی مترمربع می‌باشد که بیش از ۸۰ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد (شکل ۲). اثرات متقابل سطوح شوری و

غلظت‌های مختلف باکتری بر عملکرد اسانس در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد اثر متقابل شوری و باکتری بر عملکرد اسانس، در گروه‌های مختلف آماری قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود در تیمار ۵۰ میلی مولار تنش شوری، استفاده از غلظت‌های 10^{-8} و 10^{-10} مولار باکتری محرک رشد باعث افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس شد و منجر به افزایش ۷۰ و ۷٤ درصدی این صفت نسبت به گیاهان شاهد گردید.



شکل ۲: اثرات متقابل سطوح مختلف شوری و غلظت‌های مختلف باکتری محرک رشد بر عملکرد اسانس به لیمو

بحث

در پژوهشی جلیلی و همکاران (Jalili et al., 2019) ضمن بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و اجزای عملکرد کلزا گزارش نمودند که تنش شوری باعث کاهش در میزان رشد، عملکرد بیولوژیک و عملکرد اسانس در گیاه کلزا گردیده به‌طوری‌که تلقیح با باکتری سودوموناس پوتیدا باعث افزایش نرخ رشد نسبی در شوریهای ۱۰ و ۱۵ دسیزیمنس بر متر گردید.

براساس تحقیقات گذشته (El-Keblawy and Hassan., 2006) از مهم‌ترین دلایل کاهش در وزن گیاه در طول دوره تنش را می‌توان به اثرات سوء تنش بر شاخص‌های رشد گیاه مانند ارتفاع گیاه دانست که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. همچنین در زمینه کاهش اثرات سوء تنش بر اثر استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نتایج این تحقیق با نتایج پژوهش (Aktas et al., 2016) مطابقت نشان داد که در هر دو تحقیق تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به‌طور محسوسی توانسته‌اند آثار سوء تنش را کاهش دهند. در مورد گیاهان دارویی این اثر مضاعف است زیرا تنظیم کننده‌های رشد گیاهی تولید متابولیت‌های گیاهی را نیز تحت تاثیر قرار می دهند.

مارسلو و همکاران (Marcelo et al., 2017) نشان دادند که لوبیای تلقیح شده با آزوسپریلوم (*Azospirillum brasilense*) که به‌عنوان یک باکتری محرک رشد و تثبیت کننده نیتروژن است، طول و

سطح ریشه را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داده و سیستم ریشه ای با ریشه‌های نازکتر و طویلتر حاصل شده است.

براساس یافته‌های انجاوی و همکاران (Enjavi et al., 2015) استفاده ار تنظیم‌کننده‌های رشد نقش قابل توجهی در افزایش رشد ریشه گیاهان دارد اگرچه این نقش در مورد گیاهان با ریشه غده‌ای بیشتر است، اما به‌نظر می‌رسد در مورد سایر گیاهان نیز این اثر قابل مشاهده باشد، از طرف دیگر از آنجایی که هرگونه افزایش در رشد ریشه گیاهان منجر به جذب مواد بیشتر و انتقال آن به سایر بخش‌های گیاه می‌گردد، بنابراین سایر عملکردهای گیاهی را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد.

سچیلینگ و همکاران (Schilling et al., 1991) نیز در تحقیقات خود گزارش نمودند که تنش‌های محیطی و مواد تغذیه ای ارتفاع گیاه را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. این محققین عنوان کردند به‌نظر می‌رسد نقش تنظیم‌کننده‌های رشد در این مورد، بیشتر از کودها و سایر مواد تغذیه‌ای باشد. در مورد تاثیر تیمارهای اعمال شده بر تغییرات اسانس، بر اساس نتایج، اگرچه تنش شوری موجب افزایش درصد روغن‌های ضروری گیاه به لیمو گردید؛ اما محتوی روغن ضروری تحت شرایط تنش خشکی کاهش یافت که این تاثیر در مورد اکثر گیاهان دارویی به‌همین صورت می‌باشد (Manieval et al., 2001). چنین تاثیری در شرایط تنش شدید شوری (۱۰۰ میلی‌مولار) افزایش ۶۰ و ۵۵ درصد عملکرد نسبت به گیاهان شاهد می‌باشد. در رابطه با نحوه اثرگذاری تنظیم‌کننده‌های رشد باید گفت که این مواد با بهبود پارامترهای رشد در شرایط عادی و تنش، باعث افزایش عملکرد اندام هوایی و افزایش عملکرد اسانس گیاهان اسانس‌دار می‌گردد. رحمانی و همکاران (Rahmani et al., 2008) نشان دادند که تنش شوری تاثیر معنی‌داری بر عملکرد روغن و درصد روغن ضروری گیاه همیشه بهار دارد. نتایج این آزمایش نشان داد که بالاترین عملکرد روغن در شرایط بدون تنش و بالاترین درصد روغن در شرایط تنش به‌دست آمد. اثر تنش شوری بر اسیدهای چرب، عملکرد و ترکیبات گیاه دارویی مریم گلی نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار محتوی اسید چرب این گیاه گردید (Bettaieb et al., 2008). گزارش لیتی و همکاران (Leithy et al., 2018) نیز حکایت از اثر مثبت ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس و برخی از ترکیب‌های عمده اسانس در گیاه رزماری می‌باشد.

براساس نتایج تحقیقات گذشته (Manieval et al., 2001)، تنش شوری درصد روغن‌های ضروری اکثر گیاهان دارویی را افزایش می‌دهد، چون در موارد استرس متابولیت‌های بیشتری تولید شده و این مواد باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون در سلول می‌شوند. تارفیاس و ابراهیم (Tarfias and Ibrahim, 2016) با آزمایشی که روی پاسخ فیزیولوژیک گیاه دارویی رزماری انجام دادند، دریافتند که میزان روغن‌های ضروری با کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد افزایش معنی‌داری را داشته است.

تولیدات گیاهان دارویی در اثر تنش‌های گیاهی به‌شدت تحت تاثیر قرار می گیرد همان طور که (Argyropoulou et al., 2017) گزارش نموده‌اند، تولید اسانس گیاهی کاکوتی از خانواده نعناعیان در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار نمک طعام ٤٥ درصد کاهش نشان داد که از این حیث با تحقیق حاضر مطابقت دارد. استفاده از سویه دیگری از باکتری محرک رشد توانست تا ۵ درصد اسانس این گیاه را نسبت به حالت تنش بهبود بخشد که این بهبود عملکرد، کمتر از پژوهش حاضر می باشد.

لی و همکاران (Li et al., 2008) در آزمایشی نشان دادند که کاربرد تنظیم‌کننده رشد باعث ایجاد

تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهچه‌های گوجه فرنگی، شامل افزایش حجم ریشه، محتوی آنتی‌اکسیدانی و محتوی پرولین آزاد می‌شود. اگرچه بیوسنتز پرولین با اسانس‌ها متفاوت می‌باشد ولی از این حیث که با کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد، تولید این متابولیت ثانویه نیز افزایش نشان داده است با پژوهش حاضر مطابقت دارد. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش سطح تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار ماده خشک تولیدی گیاه به لیمو شد. در این آزمایش تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار پارامترهای رشد شامل طول ریشه، وزن‌تر و خشک ریشه، ارتفاع گیاه، و در نهایت وزن تر و خشک اندام هوایی به لیمو گردید، هم‌چنین استفاده از باکتری محرک رشد در غلظت‌های 10^{-8} و 10^{-10} مولار از طریق کاهش اثرات تنش شوری باعث بهبود و افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد و عملکرد ماده خشک تولیدی در شرایط تنش ملایم و شدید می‌گردد. همان‌طور که بارتلس و اینگرام (Bartels and Ingram., 1996) در تحقیقات خود نشان دادند یکی از ترکیباتی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند تنظیم‌کننده‌های رشد هستند به‌خوبی روشن شده است که تنظیم‌کننده‌های رشد محافظت خوبی را در برابر تعدادی از تنش‌های غیرزنده فراهم می‌کنند. افزایش سطح تنش شوری به ۱۰۰ میلی مولار باعث افزایش درصد اسانس از ۰/٤٥ به ۰/۹٦ شد، که یکی از جنبه‌های مثبت تنش شوری در گیاهان داوریی می‌باشد. هرچند تنش شوری درصد روغن‌های ضروری گیاهان به لیمو را افزایش داد. اما محتوی روغن ضروری تحت شرایط تنش شوری کاهش یافت زیرا برهمکنش بین مقدار درصد روغن ضروری و عملکرد اندام گیاه، دو مولفه مهم و تعیین‌کننده مقدار روغن ضروری می‌باشد. با افزایش تنش هرچند درصد روغن ضروری افزایش یافته؛ اما همراه با تنش عملکرد اندام هوایی کاهش یافته و به نوبه خود باعث کاهش در محتوی روغن ضروری به لیمو گردید. در رابطه با تاثیر متقابل تنش خشکی و باکتری محرک رشد بر عملکرد اسانس به لیمو معلوم گردید، تنش ملایم و شدید باعث کاهش ۳۷ و ٤۰ درصدی عملکرد اسانس گیاهان تحت تنش و عدم مصرف هورمون نسبت به گیاهان شاهد گردید که با استفاده از غلظت‌های 10^{-8} و 10^{-10} مولار افزایش معنی‌داری در عملکرد اسانس در این شرایط ثبت شد. نحوه اثر تنظیم‌کننده رشد در کاهش اثرات تنش شدید نیاز به بررسی بیشتری دارد. به هر حال نتایج نشان می‌دهد که تیمار به وسیله تنظیم‌کننده رشد می‌تواند اثرات استرس آبی را در گیاه به لیمو کاهش دهد. بنابراین، این روش می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مدیریتی در بهبود عملکرد در مناطق خشک و نیمه‌خشک باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد که استفاده از غلظت‌های 10^{-8} مولار باکتری محرک رشد در شرایط تنش ملایم با تحریک پارامترهای رشد، تولید ماده خشک و عملکرد اسانس را افزایش می‌دهد و چون این افزایش در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار می‌باشد، از لحاظ اقتصادی، توجیه دارد. از نتایج بدست آمده مشخص شد که استفاده از ماده تنظیم‌کننده رشد گیاهی برای حفظ عملکرد اقتصادی گیاهان تحت تنش ضروری و قابل توجیه است، از طرفی بدست آوردن نقطه برخورد بین دو تیمار اعمال تنش شوری و باکتری محرک رشد برای تعیین عملکرد اقتصادی اسانس به لیمو قابل توجه است. از سوی دیگر براساس نتایج در شرایط تنش ملایم و شدید استفاده از باکتری محرک رشد باعث افزایش معنی‌دار تولید عملکرد اسانس نسبت به تیمار شاهد گردید؛ اگرچه مکانیسم این عملکرد به‌خوبی مشخص نیست و احتیاج به

تحقیقات بیشتری دارد، اما به‌نظر می‌رسد تولید زیتوده بیشتر در شرایط تنش با استفاده از این ماده منجر به این عملکرد شده است که نیاز است این موضوع با سویه‌های دیگر باکتری و اعمال تنش‌های دیگر در گونه‌های متخلف گیاهان دارویی مورد بررسی قرار بگیرد.

References

1. Aktas, H., Abak, K., Oztark, L. and Cakmak, I. 2016. The effect of PGPRs on growth and shoot concentrations of phosphor and potassium in wheat and barley cultivars under drought stress. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 30: 407- 411.
2. Argyropoulou, C.C, Daferera, D. and Tarantilis, P.A. 2014. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* (Verbenaceae) in salinity stress. Journal of Plant and Soil. 15: 14-20.
3. Argyropoulou, C.C., Daferera, D. and Tarantilis, P.A. 2017. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* (Verbenaceae) at two developmental stages. Journal of Plant Genom. 35: 31-37.
4. Aydin, A. and Metin, T. 2012. Humic acid application alleviates salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. African Journal of Agricultural Research. 7(7): 1073-1086.
5. Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W.A., Kchouk, M.E. and Marzouk, B. 2008. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Science Journal of Horticulture. 120 (2): 271-275.
6. Boyer, J.S. 1982. Plant productivity and environment. Science, 218: 443-448.
7. Barassi, C.A., Ayrault, G., Creus, C.M., Sueldo, R.J. and Sobero, M.T. 2018. Seed inoulation with *Azospirillum mitigates* NaCl effects on lettuce. Journal of Horticulture. 109: 8-14.
8. Clomse, S.D., Zurek, D.M., McMorris, T.C. and Baker, M.E. 2014. Effect of brassinolide on gene expression in elongating soybean epicotyls. Journal of Plant Physiology. 100: 1377-1388.
9. Dambolena, J.S., Zunino, M.P., Lucini, E.I., Olmedo, R., Banchio, E., Bima, P.J. and Zygadlo, J.A. 2017. Total phenolic content, radic alscavenging properties and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 1115-1120.
10. Demir Kaya, M., Gamze, O. and Yakup, M.C. 2016. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy. 24: 291-295.
11. Denis Thomas, T. 2018. The role of activated charcoal in plant tissue culture. Journal of Biotechnology Advances. 26: 618-31.
12. El-Keblawy, A. and Hassan, N. 2006. Salinity, temperature and light affects see of *Haloxylon salicornium*: acommon plant in sandy habitats Arabian Desert. International Symposium in Drylands, Ecology and Human Security, Dubai, United Arab Emirates, Pp: 15-32.
13. El-Sherif, A.F., Shehata, S.M. and Youssif, R.M. 1990. Response of tomato seedlings to zinc application under different salinity levels. Egyptian Journal of Horticulture, 17(1): 131-142.
14. Enjavi, F., Taghvaei, M., Sadeghei, H. and Hassanli, H. 2015. Effects of superabsorbent polymer on early vigor and wate use efficiency of (*Calotropis procera* L.) seedlings under drought stress. Iranian Journal of Range and Desert Research, 22(2): 216-230. (In Persian).
15. Hendawy, S.F. and Khalid, K.A. 2005. Response of sage *Salvia officinalis* L. plants to zinc application under different salinity levels. Journal of Applied Science Research. 1(2): 147-155.
16. Ingram, J. and Bartels D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Journal of Plant Physiology. 47: 377-403.

17. Inze, D. and Montag, M.V. 2000. Oxidative stress in plants. TJ International Ltd, Padstow, Carnawell. Great Britain, 321 p.
18. Jalili, F., Khavazi, K. and Asadi Rahmani, H. 2019. Effect of fluorescent *Pseudomonas* bacteria on plant growth and nutrient uptake of canola grown in saline conditions. In: 11th Iranian Soil Sciences Congress Soil Management& Food Security, Gorgan, Iran. P: 77-78
19. Jarosova, M., Klejdus, B., Kovacik, J., Babula, P. and Hedbavny, J. 2016. Humic acid protects barley against salinity. Journal of Acta Physiologiae Plantarum, 38(6):1-9.
20. Khaled, H. and Fawy, H.A. 2011. Effect of different levels of humic acids on the nutrient content, plant growth, and soil properties under conditions of salinity. Journal of Soil and Water Research. 6(3): 21-29.
21. Kulikova, N.A., Stepanova, E.V. and Koroleva, O.V. 2015. Mitigating activity of humic substances: Direct Influence on Biota. In: Use of Humic Substances to Remediate Polluted Environments: From Theory to Practice, NATO Science Series IV: Erath and Environmental Series, Perminova, I.V. (Eds). Kluwer Academic Publishers, USA, pp. 285-309.
22. Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C. and Takahashi, Y. 2008. Polyamines: essential factors for growth and survival. Journal of Planta, 228: 367-381.
23. Leithy, S., El-Meseiry, T.A. and Abdallah, E.F. 2018. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality. Journal of Applied Sciences Research. 2(10): 773-9.
24. Li, K.R., Wang, H.H., Han, G., Wang, Q. and Fan, J. 2008. Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water-stress. Journal of New Forests. 35: 255-266.
25. Marcelo, A.G., Saul, B., Okon, Y. and Jaime, K. 2017. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. Journal of Biology and Fertilizer Soils. 32: 259-64.
26. Manieval, S., Thierry, D. and Christiane, G. 2001. Relationship between biomass and phenolic in grain Sorghum grown under different conditions. Agronomy Journal. 93: 49-54.
27. Mozafarian, V.A. 1998. Culture of plants name of Iran. Contemporary Culture, 435 p. (In Persian).
28. Omidbaigi, R. 2004. Production and processing of medicinal plants. Publication of Astan Qods Razavi. (In Persian).
29. Rahmani, N., Aliabadi Farahani, H. and Valadabadi, S.A.R. 2008. Effects of nitrogen on oil yield and its component of Calendula (*Calendula officinalis* L.) in drought stress conditions. Abstracts Book of The world congress on medicinal and aromatic plants, South Africa, 364p.
30. Sardashti, A.R., Valizadeh, J. and Adhami Y. 2013. Variation in the essential oil composition of Perovskia abrotanoides of different growth stage in Baluchestan. Middle East. Journal of Scientific Research. (6): 781-4.
31. Schilling, G., Schiller, C. and Otto S. 1991. Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar-beet plants. In Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity, and Applications. ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington, 474: 208-219.
32. Sofo, A., Tuzio, A.C., Dichio, B. and Xiloyannis, C. 2005. Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate-glutathione cycle in four interspecific *Prunus* hybrids. Journal of Plant Science. 69: 403-412.
33. Spector, E. 2012. Lemon Herbs: How to grow and use 18 great plants, Stackpol Books. USA, p. 35.
34. Swamy, K., Ram, N. and Rao, S. 2017. Influence of 28-homobrassinolid on growth, photosynthesis metabolite and essential oil of geranium. American Journal of Plant Physiology. 3(4):173-179.
35. Yildirim, E. and Taylor, A.G. 2019. Effect of biological treatments on growth of bean plans under salt stress. Journal of Botany. 48(3): 176-177.
36. Tarfias, S. and Ibrahim, M. 2016. Physiological response of rosemary,

Rosmarinus officinalis L. plant to brassinosteroid and uniconazole. Cultivation and Production of Medicinal and Aromatic Plants, 230 p.

37. Zargari, A. 2006. Medicinal Plants. University of Tehran Press. 570p. (In Persian).

Investigating the Possibility of Increasing the Physiological Function of (*Lippia citriodora* L.) Using Biological Stimuli under Salinity Stress Conditions

Dehghani Bidgoli, R.[1*]

[1]Assistant Professor, Dept. of Watershed &Rangeland Management, University of Kashan, Kashan, Iran

Received: 2018-10-13 ; Accepted: 2019-5-26

Abstract

Environmental stresses such as salinity are one of the most important factors in the reduction of yield in medicinal plants. Salt stress is recognized as one of the important stressors that reduces the growth of medicinal plants and also the quantity and quality of their effective substances such as alkaloids, glycosides, steroids and volatile oils (essential oils). So far, many methods have been proposed to cope with salinity stress. In recent years, plant growth regulator materials such as growth-promoting bacteria, have been used as a way to reduce the effects of salt stress. The experiment was set up as factorial experiment in randomized complete block design with twelve treatments in four replications in spring of 2018 at greenhouse of Kashan University. The experimental factors included 3 levels of salinity of 25, 50 and 100 MM and Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Pseudomonas fluorescens* which was used in four concentrations of 0 (as a control), 10^{-10}, 10^{-8} and 10^{-6} CFU/ml. After deploying the plant in the flowerpot, the PGPR suspension was added to the soil prior to application of salinity stress. After 45 days, the aerial parts of the plant were harvested, and the essential oil extraction was carried out with an organic solvent using an SDE device. The results showed that increasing salinity stress had a significant effect on reducing the growth parameters including dry weight, root length, plant height, and essential oil yield. Also, with increasing salinity levels, the percentage of essential oil showed a significant increase at 1% level, so that essential oil percentage from 0.45 in salinity treatment of 25 mm reached to 0.96 in 100 mm treatment using a concentration of 10^{-8} CFU/ml bacteria. Based on the results, using growth-promoting bacteria strain increased the essential oil yield of this plant by reducing the effects of salt stress. Therefore, it seems these bacteria are an appropriate solution for coping with salinity stress.

Keywords: Essential oil, PGPR, *Lippia citriodora* L., Salinity stress, Dry weight

*Corresponding author; dehghanir@kashanu.ac.ir