تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری سودومونادس بر رشد، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)

منصور قربانپور[1*]، ناصر حسینی[2]، مهدی خدایی مطلق[3]، موسی سلگی[4]

۱- استادیار، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۲- کارشناس ارشد، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، ایران

۴- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، ایران

*آدرس مکاتبه: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه گیاهان دارویی

کدپستی: ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶، تلفن: ۰۹۱۱۳۹۲۷۲۹۹، نمابر: ۲۷۶۱۰۰۷ (۰۸۶۳)

پست الکترونیک: m_ghorbanpour@yahoo.com، m-ghorbanpour@araku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۷ **تاریخ تصویب:** ۹۳/۷/۲

چکیده

مقدمه: باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، گروه ویژه‌ای از میکروارگانیسم‌های خاک هستند که با کلونیزاسیون در محیط ریشه باعث افزایش رشد و کارآیی گیاه از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم می‌شوند.

هدف: این مطالعه با هدف بررسی اثرات محرک رشدی سویه‌های سودومونادس روی رشد قلمه‌ها و تغییرات محتوی و عملکرد و نوع ترکیبات اسانس گیاه مریم‌گلی انجام شد.

روش بررسی: در این تحقیق از با کتری‌های سودومونادس (پوتیدا: سویه‌های ۴۱ و ۱۵۹ و فلورسنس: سویه ۲۳) با ویژگی‌های مختلف محرک رشدی استفاده شد. به طوری که در ابتدا قلمه‌های ساقه، خاک و در ادامه اندام‌های هوایی محلول پاشی (۵۰ میلی‌لیتر محلول مایه تلقیح با جمعیت 10^9 سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری) شد. نمونه‌های گیاهی پس از برداشت، به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری و سپس توسط دستگاه GC و GC/MS آنالیز شد تا درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و نوع ترکیب‌های آن معلوم شود.

نتایج: نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه و شاخساره گیاه در نتیجه تلقیح باکتری‌های مذکور افزایش یافت. به طوری که بیشترین وزن خشک ریشه و برگ در تیمار پوتیدا سویه ۱۵۹ حاصل شد که به ترتیب باعث افزایش ۴۵ و ۳۳ درصدی نسبت به گیاهان شاهد (عدم تلقیح باکتری) شد. بیشترین عملکرد اسانس در تیمار سویه‌های پوتیدا و کمترین آن در گیاهان شاهد و تیمار فلورسنس مشاهده شد. فراوانترین ترکیبات اسانس گیاه *cis*-Thujone، Camphor، 1,8-Cineol، Camphene، α-Pinene، Viridiflorol، α-Humulene، Borneol و trans-*meta*-Mentha-2,8-diene شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش بیانگر تأثیر معنی‌دار باکتری‌های ریزوسفری سودومونادس بر رشد ریشه و برگ و افزایش محتوی و عملکرد اسانس گیاه مریم‌گلی می‌باشد. تیمار باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، موجب افزایش میزان فقط برخی از ترکیبات اصلی و عمده اسانس در مقایسه با شاهد شد.

گل‌واژگان: مریم‌گلی، اسانس، الیسیتورهای زیستی، باکتری‌های ریزوسفری، رشد، *cis*-Thujone

مقدمه

گیاهان تیره نعناعیان (Lamiaceae) و برخی جنس‌های آن از جمله جنس *Salvia* و یا گونه *S. officinalis* از نظر شناسایی ترکیب‌های اسانس مورد توجه محققان داخلی و خارجی بوده‌اند. جنس مریم‌گلی با ۷۰۰ تا ۹۰۰ گونه، در سراسر جهان رویشی وسیع دارد، این جنس در ایران ۵۸ گونه گیاه علفی یک ساله و چند ساله دارد که در سراسر کشور پراکنده‌اند و ۱۷ گونه آن انحصاری ایران می‌باشند [۱].

گزارش‌های زیادی درخصوص ترکیبات اسانس گونه‌های مختلف مریم‌گلی وجود دارد. در تحقیقی که توسط رسولی و رضایی (۱۳۷۹) صورت گرفت ترکیبات اصلی اسانس مریم‌گلی شامل ß-Pinene (16%)، Borneol (9.4%)، Glubulol (9.3%)، *a*-Humulene (8.4%)، *a*-Thujene (6.4%)، *a*-Pinene (5.5%) و Camphene (5%) به عنوان اجزای اصلی گزارش شدند [۲]. همچنین در مطالعات انجام شده بر روی گیاه *S. officinalis* مشخص شد که دو ترکیب Linalol (۳۲ – ۲۲ درصد) و Linalol acetate (۵۱ – ۲۵ درصد) بیشترین میزان را در بین ترکیبات به خود اختصاص دادند [۳]. اهمیت شناسایی اسانس‌ها به دلیل کاربردهای وسیع آنها در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی، صنعتی و غیره می‌باشد. ترکیبات مؤثره این گیاه دارای خواص ضدباکتری، ضدقارچی، ضدتوموری، آنتی‌اکسیدانتی و ضدالتهابی می‌باشد [۶، ۵، ۴].

فعالیت بیولوژیک و کاربرد اسانس در صنایع مختلف بستگی به ترکیبات شیمیایی موجود در آن دارد، که خود تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی (از قبیل نور، دما، اشعه ماورای بنفش و ...)، مراحل فیزیولوژیکی رشد و نمو، زمان کاشت و برداشت، کوددهی، شرایط کشت، اندام مورد استفاده و موجودات پیرامون گیاه قرار می‌گیرد [۸، ۷]. همچنین گزارش محققین حاکی از آن است که در گیاهان دارویی مسیرهای خاص سنتز متابولیت‌های ثانویه به وسیله تأثیر میکروارگانیسم‌ها القا می‌شود [۹].

برخی از باکتری‌های ریزوسفری (Rhizobacteria) که به طور مستقیم و غیرمستقیم اثرات مفیدی روی گیاهان دارند باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (Plant Growth Promoting Rhizobacteria: PGPR) نامیده می‌شوند. شواهد بسیاری مبنی بر توانایی باکتری‌های ریزوسفری در تولید و ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد از جمله اکسین، سیتوکنین و جیبرلین همچنین تأثیر آنها بر مرفولوژی، تغذیه و رشد گیاهان وجود دارد. در اغلب مطالعات، مشاهده شده که تنظیم کننده‌های رشد بخصوص اکسین، اغلب ویژگی‌های سیستم ریشه‌ای از قبیل رشد اولیه ریشه، تشکیل ریشه‌های جانبی و تارهای کشنده را تحت تأثیر خود قرار می‌دهند [۱۰]. امروزه محققین سنتز باکتریایی هورمون اکسین و تنظیم تولید اتیلن در گیاهچه‌های جوان را مهم‌ترین مکانیسم باکتری‌های ریزوسفری در تحریک رشد گیاهان دانسته‌اند [۱۱]. همچنین نقش مثبت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان به خوبی مشخص شده است [۱۲].

گزارش شده است که باکتری‌های ریزوسفری با تولید هورمون‌های رشد به عنوان محرک (الیسیتور) در سنتز تروپان آلکالوئیدهای گیاه بذرالبنج (*Hyoscymus niger*) عمل کرده و متعاقباً محتوی و عملکرد هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره افزایش پیدا کرد [۱۳]. در سال‌های اخیر، بسیاری از آزمایش‌ها روی نقش میکروبی و همزیستی قارچ‌های مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد تحت شرایط مختلف از قبیل تنش خشکی، شوری و... در گیاهان زراعی و گیاهان آلکالوئیدی انجام شده است [۱۴، ۱۳]. اما مطالعه‌ای که اثر این باکتری‌ها را روی ریشه‌زایی قلمه‌ها و عملکرد کمی و کیفی اسانس‌ها در گیاهان دارویی نشان دهد، انجام نشده است. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثرات محرک رشدی سویه‌های سودوموناس فلورسنس و پوتیدا (به عنوان محرک‌های بیولوژیک) روی رشد قلمه‌ها و تغییرات محتوی و عملکرد و نوع ترکیبات اسانس گیاه مریم‌گلی انجام شد.

مواد و روش‌ها

سویه‌های باکتری و شرایط رشد

باکتری‌های سودوموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*: سویه‌های ۴۱ و ۱۵۹ و سودوموناس فلورسنس

(*Pseudomonas fluorescence*: سویه ۲۳) با توانایی‌های متفاوت تولید اکسین و ویژگی‌های مختلف محرک رشدی (جدول شماره‌های ۱ و ۲) از بخش میکروبیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور واقع در کرج تهیه شد. برای تهیه مایه تلقیح از این سویه‌ها، یک لوپ از هر سویه باکتری برداشته شد و به طور اسپتیک به ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع (Tryptone Soybean TSB (Broth انتقال داده شد. سپس ارلن‌ها روی شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای محیط آزمایشگاه (۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. پس از ۷۲ ساعت رشد باکتری‌ها در محیط مایه تلقیح، آماده مصرف بودند.

مواد گیاهی، تلقیح باکتریها و شرایط رشد

این آزمایش در گلخانه گروه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه اراک در سال ۹۱ – ۱۳۹۲ انجام شد. در این بررسی، از گیاه مریم‌گلی موجود در گلخانه که طول عمری ۴ ساله داشتند قلمه‌هایی یکسان (به طول ۲۰ سانتی‌متر و به وزن ۲۵ گرم) از ساقه تهیه شد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر از محلول مایه تلقیح (با جمعیت $۱۰^{۹}$ سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری که بر اساس روش شمارش کلنی برآورد شد) از سویه‌های باکتری سودوموناس پوتیدا و فلورسنس در ۳ نوبت استفاده شد. ابتدا قبل از کشت قلمه‌های ساقه (تلقیح اول) و بلافاصله خاک گلدان (تلقیح دوم) و در نهایت ۲ ماه بعد و با شروع تشکیل برگ‌های اولیه تلقیح سوم باکتری‌های موردنظر به صورت محلول‌پاشی برگی برای بوته‌های هر گلدان (۲ بوته) انجام شد. از آب مقطر نیز به میزان مساوی و هم حجم با تیمار باکتری‌ها به عنوان شاهد (عدم تلقیح باکتری) استفاده شد. این آزمایش در چهار تکرار انجام شد و برای هر تیمار در هر تکرار پنج گلدان و در مجموع ۸۰ گلدان در نظر گرفته شد. با توجه به اینکه اثر متقابل میکروارگانیسم‌ها و گیاه می‌تواند در ریزوسفر (ریشه)، اندوسفر (سیستم انتقال درونی) و فیلوسفر

جدول شماره۱- برخی از خصوصیات محرک رشدی سویه‌های پوتیدا (۴۱ و ۱۵۹) و فلورسنس (۲۳)

سویه‌های باکتری	منشای اکولوژیکی جداسازی سویه‌ها	ویژگی‌های محرک رشدی سویه‌های باکتری				
		حل کنندگی فسفات (قطر هاله به کلونی)	حل کنندگی فسفات (میکروگرم در مبلی‌لیتر)	فعالیت آنزیم ACC دی آمیناز	تولید سیدروفور (قطر هاله به کلونی)	تولید HCN
پوتیدا – ۴۱	ریزوسفر گندم	۱/۲۸	۲۲۸/۲۰	–	۱/۹۸	–
پوتیدا – ۱۵۹	ریزوسفر گندم	۳/۱۱	۳۷۴/۸۶	+	۲/۲۱	نسبتاً کم
فلورسنس – ۲۳	ریزوسفر کلزا	۱/۵۲	۳۳۸/۳۰	–	۲/۷۳	خیلی کم

علائم – و + به ترتیب فاقد و دارای ویژگی محرک رشدی (بانک میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور)

جدول شماره ۲- تولید اکسین در غلظت‌های مختلف تریپتوفان توسط سویه‌های پوتیدا و فلورسنس [۱۵]

سویه‌های باکتری	غلظت تریپتوفان (میلی‌گرم در لیتر)			
	۰	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
پوتیدا – ۴۱	۰/۱۷	۶/۴۵	۸/۰۸	۲۱
پوتیدا – ۱۵۹	۰/۲۲	۱۰/۱۷	۲۵/۱۹	۳۹/۷۱
فلورسنس – ۲۳	۰	۱/۰۹	۱۰/۴۵	۶۳/۷

(اندام‌های هوایی) رخ دهد، در تحقیق حاضر خاک، قلمه‌های ساقه و برگ‌های گیاه توسط باکتری‌ها تلقیح و تیمار شدند. ۱۶۵ روز بعد از تلقیح سوم، گیاهان برداشت شدند. به عبارت دیگر کشت و تیمار باکتری‌ها در پاییز و زمستان سال ۹۱ انجام شد اما دوره رشد گیاهچه‌ها در بهار و تابستان ۹۲ تکمیل و سرانجام در مرحله حداکثر رشد رویشی در مردادماه برداشت شدند. تعدادی از بوته‌های برداشت شده (شش بوته از سه گلدان)، به بخش‌های ریشه و برگ جدا و بخش ریشه آن پس از شستشوی کامل به همراه برگ در مجاورت هوا خشک شدند. سایر بوته‌ها جهت بررسی تیمارها در مرحله گلدهی در گلخانه نگهداری شدند. همچنین از کرک‌های ترشحی سطح برگ گیاه تحت تیمارهای مختلف تصاویر میکروسکوپی (با بزرگنمایی ۴۰) تهیه شد. در طول این آزمایش، هیچ‌گونه مواد شیمیایی اعم از کود و انواع سموم استفاده نشد و آبیاری گلدان‌ها به صورت یکسان صورت گرفت. صفات مورد مطالعه در این تحقیق وزن خشک ریشه و برگ، درصد اسانس، عملکرد و ترکیبات اسانس بودند.

استخراج و شناسایی ترکیبات اسانس

نمونه‌های گیاهی (برگ و سرشاخه‌ها) پس از برداشت، در شرایط هوای آزاد درون آزمایشگاه خشک و توزین شدند. سپس مقدار مشخص و یکسان از آن در همه تیمارها (۲۰ گرم) به روش تقطیر با آب (Hydrodistillation) توسط دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. اسانس حاصل پس از آبگیری با سولفات سدیم خشک، توسط دستگاه GC و GC/MS آنالیز شد تا درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و نوع ترکیب‌های آن معلوم شود. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس به کمک شاخص بازداری (RI) آنها و مقایسه آن با شاخص‌های بازداری گزارش شده در منابع، مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه‌های دستگاه GC/MS و نیز تزریق همزمان نمونه‌های استاندارد از ترکیب‌های شناخته شده اسانس‌ها انجام پذیرفت [۱۶]. برای آنالیز GC از دستگاه کروماتوگراف (مدل ۹A شرکت Shimadzo) مجهز به ستون از نوع ۵- DB و طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون به مدت ۵ دقیقه در ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد و سپس تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. دمای قسمت تزریق و آشکارساز (FID) ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز حامل هلیوم با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه استفاده شد. برای آنالیز GC/MS از دستگاه Varian مدل ۳۴۰۰ مجهز به ستون ۵- DB به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد.

محاسبات آماری

این تحقیق در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی (CRD) با ۴ تیمار در ۴ تکرار اجرا شد. تجزیه آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (CoHort Software) نسخه ۹/۱ انجام گرفت. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تلقیح باکتری‌های ریزوسفری مورد نظر به طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۱$) بر وزن خشک ریشه، برگ و گل گیاه مریم‌گلی و همچنین درصد اسانس و عملکرد آن مؤثر بود (جدول شماره ۳). مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش نشان داد که وزن خشک ریشه گیاهان در نتیجه تلقیح باکتری‌ها افزایش یافت (جدول شماره ۴). به طوری که بیشترین وزن خشک ریشه (۴/۱۲۵ گرم) مربوط به تیمار پوتیدا سویه ۱۵۹ بود که باعث افزایش ۴۵ درصدی نسبت به گیاهان شاهد شد. همچنین بین تیمار پوتیدا سویه ۴۱ و فلورسنس سویه ۲۳ از این نظر اختلاف

جدول شماره ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر سویه‌های مختلف سودوموناس فلورسنس و پوتیدا بر وزن خشک ریشه، برگ، گیاه، درصد اسانس و عملکرد آن در گیاه مریم‌گلی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن خشک ریشه	وزن خشک برگ	وزن خشک گیاه	درصد اسانس	عملکرد اسانس
تیمار	۳	۲/۳۴۴**	۱/۹۲۶**	۸/۲۵۴۱**	۰/۰۹۵۳۸**	۸/۴۷۷۲**
اشتباه آزمایشی	۱۲	۰/۱۱۰۴	۰/۰۹۴۱	۰/۲۵۴۵	۰/۰۰۰۹۳	۰/۱۵۸۵
ضریب تغییرات		۱۰/۴۲	۷/۸۱	۷/۰۹	۸/۵۵	۱۴/۹۳

**معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول شماره ۴- نتایج مقایسه میانگین اثر سویه‌های مختلف باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد بر وزن خشک ریشه، برگ، گیاه، درصد اسانس و عملکرد آن در گیاه مریم‌گلی (n=4)

تیمار (باکتری‌های ریزوسفری)	صفات				
	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک برگ (گرم)	وزن خشک گیاه (گرم)	درصد اسانس (درصد)	عملکرد اسانس (گرم در گیاه)
شاهد (عدم تلقیح باکتری)	۲/۲۵±۰/۴۶ c	۳/۲۲±۰/۲۷ c	۵/۴۷±۰/۵۹ c	۰/۲۲±۰/۰۲۷ c	۱/۲۲±۰/۲۵ b
پوتیدا سویه ۴۱	۳/۱۷۵±۰/۲۹ b	۴/۰۷±۰/۲۷ b	۷/۲۵±۰/۴۱ b	۰/۵۳±۰/۰۲۶ a	۳/۸۸±۰/۳۸ a
پوتیدا سویه ۱۵۹	۴/۱۲۵±۰/۲۹ a	۴/۸۲±۰/۳۳ a	۸/۹۵±۰/۵۷ a	۰/۴۴±۰/۰۴۱ b	۳/۹۵±۰/۶۰ a
فلورسنس سویه ۲۳	۳/۲۰±۰/۲۱ b	۳/۵۷±۰/۳۴ c	۶/۷۷±۰/۴۰ b	۰/۲۳±۰/۰۲۳ c	۱/۵۹±۰/۲۲ b

میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

معنی‌دار آماری مشاهده نشد. کمترین میزان بیوماس ریشه (۲/۲۵ گرم) در گیاهان شاهد ثبت شد.

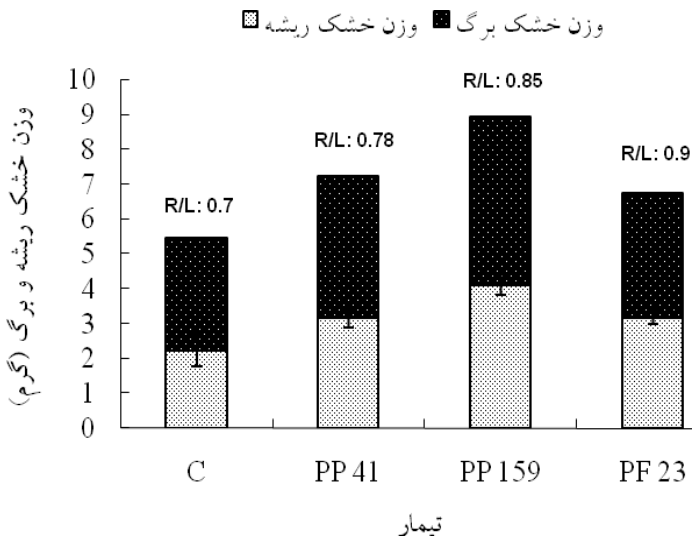
همچنین استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد باعث افزایش وزن خشک برگ در گیاهان مریم‌گلی شد. به طوری که بیشترین وزن خشک برگ (۴/۸۲ گرم) در گیاهان تحت تیمار پوتیدا سویه ۱۵۹ مشاهده شد. همچنین کمترین وزن خشک برگ (۳/۲۲ گرم) در گیاهان شاهد به ثبت رسید، هرچند با تیمار فلورسنس سویه ۲۳ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین (۸/۹۵ گرم) و کمترین (۵/۴۷ گرم) میزان ماده خشک گیاهی (ریشه + برگ) به ترتیب در گیاهان تحت تیمار پوتیدا سویه ۱۵۹ و شاهد (عدم تلقیح باکتری) به دست آمد. بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به برگ (۰/۹) در گیاهان تحت تیمار باکتری فلورسنس سویه ۲۳ مشاهده شد (شکل شماره ۱)، اما افزایش این نسبت در مقایسه با سایر تیمارها می‌تواند به دلیل رشد کمتر و بیوماس کمتر برگ در گیاهان تحت این تیمار باشد (جدول شماره ۴).

اثر تلقیح باکتری‌های محرک رشد بر درصد و عملکرد اسانس (حاصلضرب وزن خشک گیاه در محتوی اسانس) گیاه مریم‌گلی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. گیاهان تحت تیمار پوتیدا سویه ۴۱ با میانگین ۰/۵۳ درصد بیشترین میزان اسانس را داشتند. در حالی که کمترین مقدار در گیاهان شاهد (۰/۲۲ درصد) و تحت تیمار فلورسنس سویه ۲۳ (۰/۲۳ درصد) مشاهده شد. تغییرات عملکرد اسانس گیاه در تیمارهای مختلف در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. به طوری که ملاحظه می‌شود بیشترین عملکرد اسانس در تیمار پوتیدا (سویه‌های ۱۵۹ و ۴۱) و کمترین آن در گیاهان شاهد و تیمار فلورسنس سویه ۲۳ مشاهده شد.

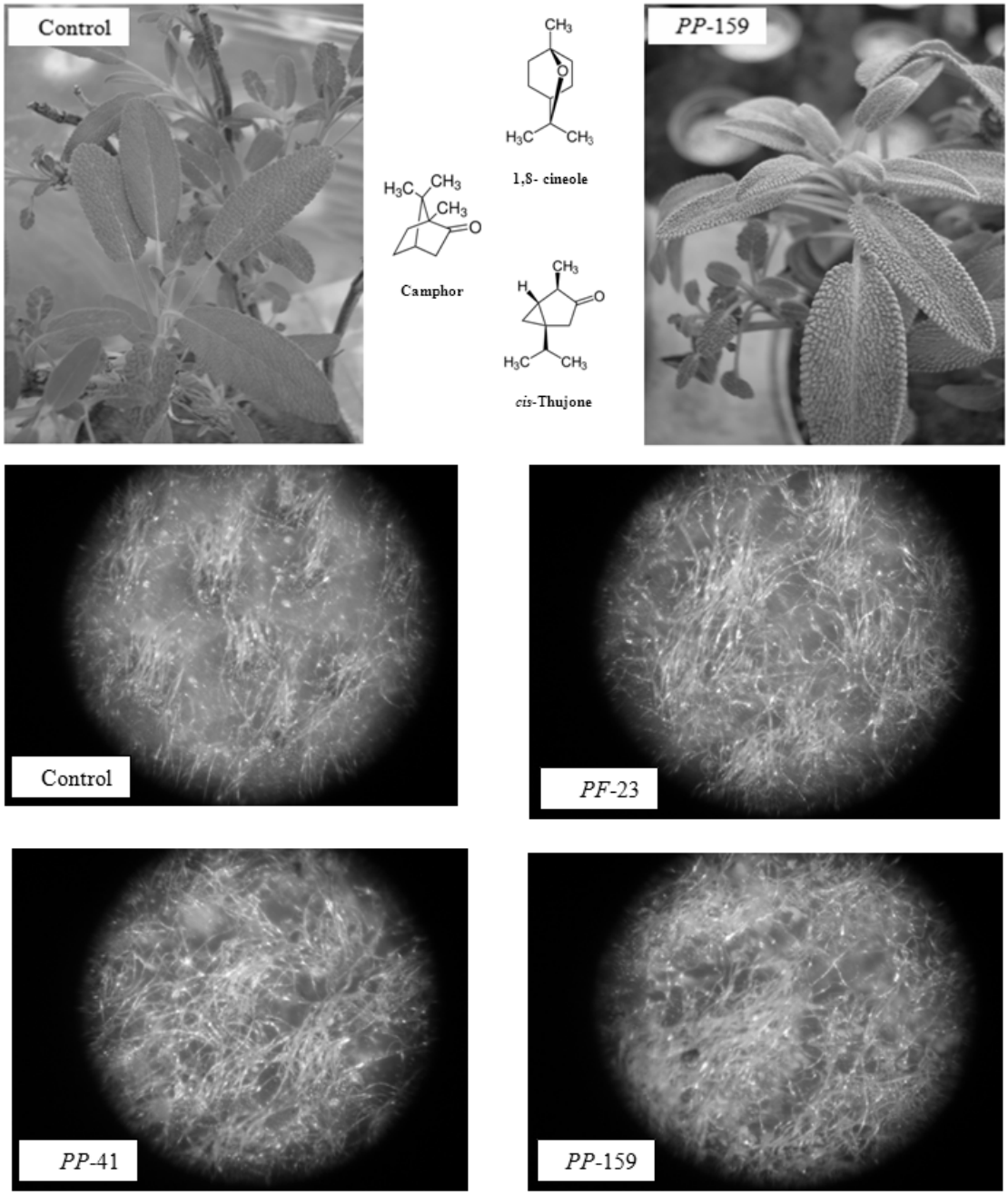
شکل شماره ۲ تغییرات تراکم کرک‌های ترشحی اسانس برگ

گیاه مریم‌گلی را تحت تیمار باکتری‌های ریزوسفری نشان می‌دهد. همان طوری که مشاهده می‌شود، زیاد بودن تراکم کرک‌های ترشحی اسانس در برگ گیاهان تحت تیمار سویه‌های ۱۵۹ و ۴۱ می‌تواند دلیلی بر تجمع بیشتر اسانس در این گیاهان باشد. به طوری که مجموع عملکرد اسانس در گیاه در نتیجه استفاده از باکتری‌های گونه پوتیدا (سویه‌های ۱۵۹ و ۴۱) در مقایسه با شاهد به ترتیب ۶۹/۱ و ۶۸/۵ درصد افزایش نشان داد. افزایش عملکرد اسانس در گیاهان تحت تیمار فلورسنس در مقایسه با شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت.

تغییرات ترکیبات اسانس گیاه مریم‌گلی (تغییرات کیفی) تحت تیمارهای مختلف و شاخص بازداری (RI) آنها در جدول شماره ۵ نشان داده شده است. به طور کلی در تمام تیمارها ۲۷ ترکیب که نشان دهنده بیش از ۹۹/۸ درصد کل ترکیبات اسانس می باشد شناسایی شد. از فراوان‌ترین اجزای اسانس می‌توان به *cis*-Thujone، Camphor، 1,8-Cineol، Camphene، α-Pinene، Viridiflorol، α-Humulene، Borneol و trans-*meta*-Mentha-2,8-diene را نام برد. اغلب ترکیبات اسانس، به غیر از سه ترکیب (*cis*-Thujone، Camphor، 1,8-Cineol)، تحت تأثیر تیمار باکتری‌های مختلف ریزوسفری قرار نگرفت و تغییرات آنها معنی‌دار نبود (جدول شماره ۵). به عبارت دیگر تیمار باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، فقط در افزایش میزان برخی از ترکیب‌های عمده اسانس در مقایسه با شاهد تأثیر مثبت داشت. به طوری که بیشترین میزان *cis*-Thujone در گیاهان تحت تیمار باکتری‌های فلورسنس سویه ۲۳ (۳۷/۳ درصد) و پوتیدا سویه ۱۵۹ (۳۶/۹ درصد) به دست آمد. همچنین بالاترین مقدار Camphor و 1,8-Cineol به ترتیب در گیاهان تحت تلقیح باکتری‌های پوتیدا سویه ۴۱ و ۱۵۹ مشاهده شد. در این میان، بیشترین (۱۶/۰۱ درصد) و کمترین (۱۴/۳۹ درصد) مونوترپن‌های هیدروکربنی به ترتیب در تیمارهای پوتیدا سویه ۱۵۹ و فلورسنس سویه ۲۳ به دست آمد. همچنین بیشترین (۷۶/۳۹) و کمترین (۷۲/۷) مونوترپن‌های اکسیژندار به ترتیب در تیمارهای پوتیدا سویه ۱۵۹ و شاهد مشاهده شد. مقدار سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژن‌دار و نیز تغییرات آنها تحت تیمارهای آزمایش معنی‌دار نبود. لازم به ذکر است که بیشترین مقدار ترکیبات مونوترپنی (۹۲/۴ درصد) و همچنین بیشترین میزان ترکیب 1,8-Cineol در گیاهان تحت تیمار پوتیدا سویه ۱۵۹ مشاهده شد.



شکل شماره ۱- اثر باکتری‌های ریزوسفری سودوموناس پوتیدا (سویه‌های ۴۱ و ۱۵۹) و سودوموناس فلورسنس (سویه ۲۳) بر وزن خشک ریشه و برگ گیاه مریم‌گلی (R/L, n=4: نسبت وزن ریشه به برگ)



شکل شماره ۲- تراکم کرک‌های پوششی و ترشحی اسانس در گیاه مریم‌گلی تحت تیمار باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد (PP: سودوموناس پوتیدا، PF: سودوموناس فلورسنس)، (بزرگنمایی ۴۰)

جدول شماره ۵- تأثیر تلقیح باکتری‌های مختلف ریزوسفری سودوموناس پوتیدا (سویه های ۴۱ و ۱۵۹) و سودوموناس فلورسنس (سویه ۲۳) بر ترکیبات اسانس گیاه مریم گلی (SD, n=4 ± میانگین)

تعداد	شاخص بازداری	ترکیبات	شاهد (عدم تلقیح)	تیمار پوتیدا سویه ۴۱	تیمار پوتیدا سویه ۱۵۹	تیمار فلورسنس سویه ۲۳
۱	۹۲۹	α-Thujene	۰/۱۷ ± ۰/۰۳	۰/۱۳ ± ۰/۰۲	۰/۱۴ ± ۰/۰۳	۰/۱۶ ± ۰/۰۴
۲	۹۴۰	α-Pinene	۳/۳ ± ۰/۵	۳/۷ ± ۰/۴	۴/۰۵ ± ۰/۴	۳/۲ ± ۰/۵
۳	۹۵۶	Camphene	۶/۱ ± ۰/۴	۵/۵ ± ۰/۶	۶/۲ ± ۰/۴	۵/۲ ± ۰/۶
۴	۹۷۶	Sabinene	۰/۱۱ ± ۰/۰۳	۰/۰۷ ± ۰/۰۲	۰/۰۸ ± ۰/۰۳	۰/۱۳ ± ۰/۴
۵	۹۸۳	trans-*meta*-Mentha-2,8-diene	۳/۱۱ ± ۰/۴	۲/۶۱ ± ۰/۵	۲/۹۲ ± ۰/۴	۲/۸۷ ± ۰/۳
۶	۹۸۸	Myrcene	۰/۹۷ ± ۰/۲	۰/۸۸ ± ۰/۱	۰/۶۴ ± ۰/۲	۰/۸۵ ± ۰/۲
۷	۱۰۱۹	α-Terpinene	۰/۱۱ ± ۰/۰۲	۰/۰۷ ± ۰/۰۲	۰	۰/۰۷ ± ۰/۰۲
۸	۱۰۲۷	*p*-Cymene	۱/۶۱ ± ۰/۱	۱/۷ ± ۰/۲	۱/۷ ± ۰/۲	۱/۴۸ ± ۰/۱
۹	۱۰۳۸	1,8-Cineol	۱۰/۷ ± ۰/۲	۱۱/۸ ± ۰/۳	۱۳/۲ ± ۰/۲	۱۱/۶ ± ۰/۲
۱۰	۱۰۵۹	γ-Terpinene	۰/۲۵ ± ۰/۰۴	۰/۱۷ ± ۰/۰۳	۰/۱۹ ± ۰/۰۳	۰/۲۱ ± ۰/۰۴
۱۱	۱۰۷۳	cis-Sabinene hydrate	۰	۰/۰۹ ± ۰/۰۲	۰	۰/۰۹ ± ۰/۰۱
۱۲	۱۰۹۰	Terpinolene	۰/۱۴ ± ۰/۰۲	۰/۱۱ ± ۰/۰۱	۰	۰/۱۱ ± ۰/۰۲
۱۳	۱۱۱۸	cis-Thujone	۳۲/۳۸±۲/۲	۳۲/۴۹ ± ۲/۱	۳۶/۹۳ ± ۱/۸	۳۷/۳۶ ± ۲/۴
۱۴	۱۱۲۴	trans-Thujone	۲/۹۴ ± ۰/۴	۲/۴۲ ± ۰/۳	۲/۳ ± ۰/۲	۲/۹۷ ± ۰/۴
۱۵	۱۱۵۷	Camphor	۲۳/۰۵ ± ۰/۸	۲۴ ± ۱/۲	۲۱/۷ ± ۰/۹	۲۱/۱ ± ۱/۱
۱۶	۱۱۶۶	trans-Pinocamphone	tr	۰/۱±۰/۰۲	۰/۲±۰/۰۳	tr
۱۷	۱۱۶۹	3-Thujanol	۰/۱ ± ۰/۰۱	۰/۲ ± ۰/۰۱	۰/۱ ± ۰/۰۱	۰/۲ ± ۰/۰۱
۱۸	۱۱۷۳	Borneol	۳/۰۶ ± ۰/۲	۲/۹۸ ± ۰/۱	۱/۷ ± ۰/۱	۱/۸۳ ± ۰/۱
۱۹	۱۱۸۲	Terpinen-4-ol	۰/۳۹ ± ۰/۰۴	۰/۳۵ ± ۰/۰۳	۰/۲۶ ± ۰/۰۲	۰/۳۲ ± ۰/۰۳
۲۰	۱۲۸۷	Bornyl acetate	۰/۲۸ ± ۰/۰۲	۰/۲۵ ± ۰/۰۳	۰	۱/۸ ± ۰/۲
۲۱	۱۴۳۳	(E)-Caryophyllene	۰/۸۸ ± ۰/۲	۰/۱۱ ± ۰/۰۴	۱/۱۳ ± ۰/۳	۰/۳۷ ± ۰/۰۵
۲۲	۱۴۵۲	Aromadendrene	۰/۱۴ ± ۰/۰۲	۱ ± ۰/۰۳	۰/۱۵ ± ۰/۰۲	۰
۲۳	۱۴۶۸	α-Humulene	۲/۵۵ ± ۰/۱	۲/۳۷ ± ۰/۲	۲/۲۶ ± ۰/۱	۲/۹۱ ± ۰/۳
۲۴	۱۵۰۷	Bicyclogermecrene	۰/۲۸ ± ۰/۰۲	۰/۱۵ ± ۰/۰۱	۰/۴۱ ± ۰/۰۲	۰/۹ ± ۰/۰۴
۲۵	۱۶۰۹	Viridiflorol	۳/۴۴ ± ۰/۵	۴/۰۲ ± ۰/۶	۱/۷ ±۰ /۲	۱/۶۴ ± ۰/۳
۲۶	۱۶۱۵	Rosifoliol	۰/۶۲ ± ۰/۰۳	۰/۵۸ ± ۰/۰۲	۰/۵۲ ± ۰/۰۲	۰/۷ ± ۰/۰۵
۲۷	۱۶۲۵	Humulene epoxide II	۱/۱۴ ± ۰/۲	۲/۰۹ ± ۰/۴	۱/۳ ± ۰/۱	۱/۶۶ ± ۰/۲
		مونوترپن‌های هیدروکربنی	۱۵/۸۸	۱۴/۹۴	۱۶/۰۱	۱۴/۳۹
		مونوترپن‌های اکسیژنی	۷۲/۷	۷۴/۴۳	۷۶/۳۹	۷۵/۵۸
		سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی	۳/۸۵	۳/۶۳	۳/۹۵	۴/۱۸
		سزکویی‌ترپن‌های اکسیژی	۵/۲	۶/۶۹	۳/۵۲	۴
		سایر ترکیبات	۰/۲۸	۰/۲۵	۰	۱/۸
		مجموع (درصد)	۹۷/۹۱	۹۹/۹۴	۹۹/۸۷	۹۹/۹۵

PF: سودوموناس فلورسنس، PP: سودوموناس پوتیدا ، tr: کمتر از ۰/۰۱

بحث

در تحقیق حاضر، استفاده از سودومونادس‌ها (پوتیدا و فلورسنس) اثر مثبتی روی رشد اندام‌های هوایی و زیرزمینی داشته است. علت اصلی این اثرات مثبت را می‌توان به ویژگی‌های چندگانه محرک رشدی این سویه‌ها نسبت داد که در جدول شماره‌های ۱ و ۲ آمده است. این سویه‌ها با مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم خود، نقش اساسی در رشد و فیزیولوژی گیاه بازی می‌کنند. مکانیسم‌های مستقیم مانند افزایش انحلال عناصر غذایی کم محلول مانند فسفر، تولید ACC – دآمیناز، تولید سیدروفور (از دیدگاه افزایش قابلیت جذب آهن)، ترشح هورمون‌های رشد از قبیل اکسین، سیتوکنین و جیبرلین که مراحل مختلف رشد گیاه یا آنزیم‌هایی که رشد و نمو گیاه را تنظیم می‌کنند تحت تأثیر خود قرار می‌دهند. این نتایج در راستای گزارش بسیاری از محققان مبنی بر تأثیر مثبت باکتری‌های ریزوسفری روی شاخص‌های رشد گیاهان تحت تلقیح آنها می‌باشد [۱۸، ۱۷].

در این آزمایش افزایش بیشتر وزن خشک ریشه در مقایسه با شاخساره در گیاهان تحت تیمار سویه‌های پوتیدا و فلورسنس می‌تواند به هورمون‌های گیاهی ترشح شده از این باکتری‌ها نسبت داده شود که الگوی تخصیص مواد فتوسنتزی در گیاهان را تغییر می‌دهند و از این طریق روی رشد ریشه تأثیر می‌گذارند و در نتیجه ریشه‌هایی انبوه با انشعاب زیاد حاصل می‌شوند، این نتایج با گزارش سایر محققان مطابقت دارد [۱۹، ۱۳]. مارسلو و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که لوبیای تلقیح شده با آزوسپریلوم (*Azospirillum brasilense*) که به عنوان یک باکتری محرک رشد و تثبیت‌کننده نیتروژن است، طول و سطح ریشه را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داده و سیستم ریشه‌ای با ریشه‌های نازک‌تر و طویل‌تر حاصل شده است [۲۰]. طبق گزارش اسموکر (۱۹۹۳) گیاهانی که دارای ریشه‌های توسعه یافته و خیلی ظریف هستند به دلیل مساحت بیشتر سطح ویژه ریشه در جذب آب و مواد غذایی و متعاقباً رشد گیاه کارآمدتر هستند [۲۱]. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که باکتری پوتیدا سویه ۱۵۹ کارآیی بهتری نسبت به سایرین روی پارامترهای رشد داشته است. که دلیل آن می‌تواند به برتری ویژگی‌های چندگانه محرک رشدی این سویه (جدول شماره‌های ۱ و ۲) نسبت داده شود. البته منشای اکولوژیکی سویه‌ها به عبارت دیگر ریزوسفر گیاهان در مناطقی که سویه‌ها از آن جداسازی می‌شوند، روی کارآیی آنها نیز می تواند مؤثر باشد [۲۲].

برگ و کرک‌های روی آن در گیاه مریم‌گلی به ترتیب مکان بیوسنتزی و تجمع متابولیت‌های ثانویه (اسانس‌ها) است و این متابولیت‌ها با مراحل نموی گیاه و شرایط رشد تغییر می‌کنند. دلیل عمده افزایش تولید اسانس در تیمار باکتری‌ها این است که این میکروارگانیسم‌ها با تولید هورمون‌های رشد به عنوان محرک (الیسیتور) در ساخت آنها عمل می‌کنند. طبق گزارش محققان، میکروارگانیسم‌ها (شامل باکتری‌ها) و همچنین هورمون‌های رشد به ترتیب به عنوان محرک‌های زیستی و شیمیایی در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی شناخته شده‌اند [۲۳]. با توجه به اینکه اثر متقابل میکروارگانیسم‌ها و گیاه می‌تواند در ریزوسفر (ریشه)، اندوسفر (سیستم انتقال درونی) و فیلوسفر (اندام‌های هوایی) رخ دهد، در تحقیق حاضر هم قلمه‌های ساقه و هم برگ‌های گیاهان توسط باکتری‌ها تلقیح و تیمار شدند.

سویه‌های باکتری استفاده شده در این آزمایش از نظر تولید اکسین، سیدروفور و انحلال فسفر متفاوت بودند (جدول شماره‌های ۱ و ۲). ظرفیت زیاد در تولید اسید آلی (حلالیت زیاد فسفر) توسط پوتیدا سویه ۱۵۹ ممکن است یکی از مکانیسم‌های عمده افزایش عملکرد اسانس در استفاده از این سویه باشد. نتایج مشابهی نیز در ارتباط با تولید ارگوت آلکالویید در ریشه‌های تلقیح شده گیاه فستوکای بلند که مستقیماً با فراهمی فسفر در خاک افزایش پیدا کرد پیشتر توسط مالینووسکی و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده است [۲۴]. همچنین، گزارش محققین حاکی از آن است که استفاده از کودهای زیستی (حاوی میکروارگانیسم‌هایی مثل ازتوباکتر و آزوسپریلوم) و جایگزینی آنها با تنظیم‌کننده‌های رشد مصنوعی در بهبود ویژگی‌های رشد و ترکیب‌های اسانس گیاه مریم‌گلی کارآیی بالایی دارد [۲۵]. گزارش لیتی (Leithy) و همکاران

(۲۰۰۶) نیز حکایت از اثر مثبت ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس و برخی از ترکیب‌های عمده اسانس در گیاه رزماری می‌باشد [۲۶]. مشخص شده است که ترکیب عمده اسانس‌ها ترپنوئیدها هستند بر پایه زیر واحدهای ایزوپرونوئید (C_5H_8)، که بیوسنتر آنها بستگی زیادی به استیل CoA، ATP، NADPH دارد که خود وابسته به غلظت فسفر معدنی در گیاه می‌باشد [۲۷]. مورد دیگری که بسیار مهم است این است که متابولیت‌های ثانویه از متابولیت‌های اولیه منشاء می‌گیرند، بنابراین تا زمانی که گیاه از رشد مناسب برخوردار نباشد (نقش متابولیت‌های اولیه) نمی‌تواند عملکرد متابولیت‌های ثانویه بالایی داشته باشد. همچنین گزارش شده است که هورمون‌های گیاهی، رشد گیاه را تحریک و بیوسنتزترپن‌ها را در تعداد زیادی از گونه‌های آروماتیک (معطر)، که منجر به تغییرات مفید در کمیت و کیفیت ترپن‌ها می‌شوند را نیز تحریک می‌کنند [۲۸]. آزمون بیوشیمایی نشان داد که باکتری‌های استفاده شده در این مطالعه توانایی خیلی کمی در تولید اسید سیانیدریک دارند. هر چند این ماده در رشد و نمو گیاه نقشی اعمال نمی‌کند اما به عنوان یک عامل فیتوتوکسیک بوده که قادر به بازداری آنزیم‌های دخیل در فرآیندهای متابولیک است. مطالعات زیادی از اثرات مفید فعالیت آنزیم ACC دی آمیناز باکتری‌های محرک رشد در گیاهانی که در شرایط تنش رشد می‌کنند را تأیید کرده‌اند [۱۷]. در بین باکتری‌های مورد استفاده در این تحقیق فقط باکتری پوتیدا سویه ۱۵۹ فعالیت آنزیم ACC دی آمیناز را داراست.

دارا بودن فعالیت ACC دی آمینازی سویه، می‌تواند رشد بهتر گیاه را در شرایط تنش سبب شود. با توجه به اینکه اکثر گیاهان دارویی به منظور تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش قرار می‌گیرند، استفاده از این سویه می‌تواند بسیار کارآمد باشد. همچنین گزارش شده است که افزایش تولید اسانس در تلقیح باکتری‌ها می‌تواند به دلیل فعال شدن مکانیسم دفاعی گیاهان باشد [۲۹]. در مطالعه حاضر وجود مقادیر زیاد *cis*-Thujone، 1,8-Cineol، Camphor با خاصیت ضدباکتریایی اسانس مرتبط است.

نتایج مطالعه ما با گزارش‌های سایر محققین در این مورد که تیمار باکتری‌های ریزوسفری باعث افزایش میزان ترکیبات اصلی اسانس در گیاهان دارویی یک‌ساله مثل ریحان (*Ocimum basilicum*) و چندساله مثل مرزنجوش (*Origanum majorana*) می‌شود، مطابقت دارد [۳۲، ۳۱، ۳۰].

نتیجه‌گیری

رشد گیاه، فعالیت بیولوژیک و تغییرات متابولیت‌های ثانویه آن تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد. نتایج این پژوهش بیانگر تأثیر مناسب باکتری‌های ریزوسفری سودوموناس روی رشد ریشه‌ی قلمه‌ها، برگ و افزایش محتوی و عملکرد اسانس گیاه مریم‌گلی می‌باشد. از فراوان‌ترین اجزای اسانس تحت تیمارهای مختلف می‌توان به cis-Thujone، Camphor، 1,8-Cineol، Camphene، α-Pinene، Viridiflorol، α-Humulene، Borneol و trans-meta-Mentha-2, 8-diene را نام برد. تیمار باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، فقط در افزایش میزان برخی از ترکیب‌های عمده اسانس در مقایسه با شاهد تأثیر مثبت داشت. در این میان، بیشترین مونوترپن‌های هیدروکربنی در تیمار پوتیدا سویه ۱۵۹ به دست آمد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از طرح پژوهشی به شماره ۹۱/۴۱۶۵ مورخ ۱۳۹۱/۰۴/۱۸ مصوب دانشگاه اراک می‌باشد، بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه به دلیل مساعدت در تأمین هزینه‌های آن اعلام می‌داریم.

منابع

1. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, Iran. 1996, p: 542.

2. Rasooli I and Rezaei MB. A Study on Antimicrobial Activity and Chemical Compositions of Essential Oils from Flowers of *Lavandula angutifolia* and *Salvia officinalis, Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2000; 7 (4): 173 - 81.

3. Mossi AJ, Cansian RL, Paroul N, Toniazzo G, Oliveira JV, Pierozan MK, Pauletti Gb, Rota L, Santos ACA and Serafini LA. Morphological characterisation and agronomical parameters of different species of *Salvia* sp. (Lamiaceae), *Braz. J. Biol*. 2011; 71: 121 - 9.

4. Baricevic D and Bartol T. The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. in: Kintzios, S.E., (Ed.), SAGE The Genus Salvia. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 2000, pp: 143 – 84.

5. Kelen M and Tepe B. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. *Bioresource Technol*. 2008; 99: 4096 - 104.

6. Loizzo MR, Tundis R, Menichini F, Saab AM, Statti GA and Menichini F. Cytotoxic activity of essential oils from Labiatae and Lauraceae families against *in vitro* human tumor models. *Anticancer. Res*. 2007; 27: 3293 - 9.

7. Shu CK and Lawrence BM. Reasons for the variation in composition of some commercial essential oils. In: Risch, S. J. & Ho, C. T. (eds) Spices – Flavor Chemistry and Antioxidant Properties. ACS Symposium Series 660, 1997, 254 pp.

8. Dragland S and Aslaksen TH. Effect of fertilization on yield and quality of the essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Norwegian Crop Research Institute, 1997, Report No. 20.

9. Sanchez BJ, Trinitario M, Ferradez M, Angeles M, Asuncio M and Juan JA. Variations in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions. *J. Plant Physiol*. 2004; 161: 675 – 82.

10. Glick BR. The enhacement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol*, 1995; 41: 109 - 17.

11. Glick BR, Penrose MD and Li J. A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth-promoting bacteria. *J. of Theoretical Biology* 1998; 190: 63 - 8.

12. Sangwan NS, AHA, Farooqi F, Shabih RS and Sangwan. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul*. 2001; 34: 3 - 21.

13. Ghorbanpour M, Majnoun Hoseini N, Rezazadeh SH, Omidi M, Khavazi K and Hatami M. Variations of Root and Shoot Tropane Alkaloids Production of *Hyoscyamus niger* under Two Rhizobacteria Strains Inoculation and Water Deficit Stress. *J. Medicinal Plants* 2011; 10 (40): 160 - 71.

14. Wu QS, Xi RX and Zou YN. Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three *Arbuscular mycorrhizal* fungi under drought stress. *Europ. J. of Soil Biol*. 2008; 44: 122 - 8.

15. Abbas-Zadeh P, Saleh-Rastin N, Asadi-Rahmani H, Khavazi K, Soltani A, Shoary-Nejati AR and Miransari M. Plant growth-promoting activities of fluorescent pseudomonads, isolated from the Iranian soils. *Acta Physiol Plant* 2009; DOI 10.1007/s11738-009-0405-1.

16. Adams RP. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Quadropole Mass Spectroscopy Carol Stream IL: Allured Publishing Crop, 2001, p: 465.

17. Rodrıguez H and Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv*. 1999; 17: 319 – 39.

18. Glick BR, Todorovic B, Czamy J, Cheng Z, Duan J and McConkey B. Promotion of Plant

Growth by Bacterial ACC Deaminase. *Critical Reviews in Plant Sci.* 2007; 26: 227 – 42.

19. Potters G, Pasternak TP, Guisez Y, Palme KJ and Jansen MAK. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends in Plant Sci.* 2007; 12: 98 – 105.

20. Marcelo AG, Saul B, Okon Y and Jaime K. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes. *Biol. Fertil. Soils* 2000; 32: 259 – 64.

21. Smucker AJM. Soil environmental modifications of root dynamics and measurement. *Annu. Rev. Phytopathol*. 1993; 31: 191 – 212.

22. Mayaka S, Tsipora T, Bernard R and Glick BR. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Sci.* 2004; 166: 525 – 30.

23. Ping L, Boland W. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. *Trends in Plant Sci.* 2004; 9 (6): 263 - 6.

24. Malinowski DP, Belesky NS, Hill VC and Baligar Fedders JM. Influence of phosphorus on the growth and ergot alkaloid content of *Neotyphodium coenophialum*-infected tall fescue (*Festuca arundinacea Schreb*.). *Plant and Soil* 1998; 198: 53 – 61.

25. Youssef AA, Edris AE and Gomaa AM. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. *Plant Annals of Agricultural Sci.* 2004; 49: 299 - 311.

26. Leithy S, El-Meseiry TA and Abdallah EF. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality. *J. Applied Sci. Res.* 2006; 2 (10): 773 - 9.

27. Loomis WD, Corteau R. Essential oil biosynthesis. *Recent Adv Phytochem*. 1972; 6: 147 – 185.

28. Farooqi AHA, Shukla A. Utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. *Chromatograph* 1990; 12: 152 - 7.

29. Banchio E, Bogino PC, Santoro M, Torres L, Zygadlo J and Giordano W. Systemic induction of monoterpene biosynthesis in *Origanum x majoricum* by soil bacteria. *J. Agric Food Chem.* 2010; 58 (1): 650 - 4.

30. Banchio E, Bogino P, Zygadlo J and Giordano W. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. *Biochemical Systematics and Ecol*. 2008; 36: 766 - 71.

31. Banchio E, Xie X, Zhang H and Pare PW. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. *Journal of Agriculture and Food Chem.* 2009; 57 (2): 653 - 7.

32. Maricel VS, Zygadlo J, Giordano W and Banchio E. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita*). *Plant Physiology and Biochem*. 2011; 49 (10): 1177 - 82.

The Effects of Inoculation with Pseudomonads Rhizobacteria on Growth, Quantity and Quality of Essential Oils in Sage (*Salvia officinalis* L.) Plant

Ghorbanpour M (Ph.D.)[1*], Hosseini N (M.Sc.)[1], Khodae Motlagh M (Ph.D.)[2], Solgi M (Ph.D.)[3]

1- Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran
2- Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran
3- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran
* Corresponding author: Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, 38156-8-8349, Iran
Tel: +98-911-3927299, Fax: +98-863-2761007
Email: m_ghorbanpour@yahoo.com

Abstract

Background: rhizobacteria are specific group of soil microorganisms that aggressively colonize the rhizosphere and rhizoplane, and substantially improve plant growth and efficiency via direct or indirect mechanisms.

Objective: To investigate the growth promoting effects of rhizobacteria strains on cuttings growth and variations of essential oils content and yield in *Salvia officinalis.*

Methods: In this research, different rhizobacteria including *Pseudomonas putida* (strains 41 and 159) and *fluorescence* (strain 23) with different growth promoting characteristics was used first on stem cuttings and later on aerial parts of *S. officinalis* L. (with final concentration of 10^9 CFU/ml). The essential oils were isolated from aerial parts of the plants by hydro-distillation method and then subjected to GC and GC-MS apparatus to determine the oil constituents.

Results: Results showed that the dry weight of above and below ground parts of plants were increased in response to employed rhizobacteria inoculation. The highest root and leaf dry weight were observed in plants treated with *Putida* strain 159 which is caused increase of 45% and 33% compared to control untreated plants, respectively. Also, the highest essential oil yield was obtained in plants treated with *putida* strains, and the lowest of that was gained in control plants and also plants treated with *fluorescence* strain. The most abundant essential oil components were cis-Thujone, camphor, 1,8-cineol, camphene, α-pinene, viridiflorol, α-humulene, borneol and trans-meta-mentha-2 ,8-diene.

Conclusion: Results from the current research indicate the plants inoculation with rhizobacteria had positive impact only on the major constituents of the essential oil compared to controls.

Keywords: *Salvia officinalis,* Biotic elicitors, *cis*-Thujone, Essential oil, Growth, Rhizobacteria