"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد دوم، شماره ۲، پائیز و زمستان ۹۲
شماره صفحه: ۲۰۶- ۱۹۷

تأثیر سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس*(*Pseudomona fluorescence*) بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه دو رقم جو

سید محمدرضا احتشامی[۱*] و محیل پورابراهیمی[۲]

۱- عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

چکیده

به منظور بررسی تأثیر سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه جو رقم فصیح و بهمن، آزمایشی در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به اجرا درآمد. در این آزمایش بذرها با سویه‌های ۳۶، ۱۰۳، ۹۳، ۳۶+۹۳، ۹۳+۱۰۳، ۱۰۳+۳۶ و ۳۶+۹۳+۱۰۳ *سودوموناس فلورسنس* تلقیح شدند و تیمار بدون تلقیح با باکتری به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. صفات مورد بررسی شامل وزن تر و خشک ساقه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، سرعت و درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه و درصد آب گیاهچه بودند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که اثر باکتری بر همه عوامل معنی‌دار بود، به‌طوری‌که تلفیق سه باکتری ۱۰۳+ ۶۳ + ۹۳ *سودوموناس فلورسنس* بیشترین اثر را بر عوامل مورد بررسی نسبت به کاربرد آن‌ها به صورت تنهایی و دوتائی، نشان دادند. برهمکنش باکتری در رقم به غیر از وزن تر و خشک ریشه‌چه و طول ریشه‌چه بر صفات دیگر معنی‌دار بود. در بین ارقام مورد مطالعه نیز رقم فصیح تنها از نظر شاخص بنیه، سرعت جوانه‌زنی و وزن تر ساقه‌چه بر رقم بهمن برتری نشان داد و در سایر صفات، رقم بهمن بهتر بود.

کلمات کلیدی: جو، *سودوموناس فلورسنس*، درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه، گیاهچه.

نویسنده مسئول: سید محمد رضا احتشامی، رشت- دانشگاه گیلان- دانشکده کشاورزی- گروه زراعت و اصلاح نباتات
E-mail:smrehteshami@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲
تاریخ تصویب: ۹۲/۹/۱۱

مقدمه

بررسی مرحله به مرحلهٔ دوران زندگی گیاه، اعم از جوانه‌زنی، رشد رویشی و زایشی می‌تواند کمک شایانی برای شناخت مسیرهای بهینه در تولید غلات باشد. در این راستا استفاده از تکنیک‌های مختلف برای بالا بردن سطح توانایی حفظ گیاه در طول دوره رشد می‌تواند مفید واقع شود. تعداد قابل‌توجهی از گونه‌های باکتریایی و قارچی خاک دارای روابط کارکردی با گیاهان بوده و اثرات مفیدی بر رشد آن‌ها دارند (Misko and Germida, 2002). ثابت شده است که این ریزجانداران[1] می‌توانند به طور مؤثر با شرایط محیطی جدید سازگار شوند (Kundu and Gaur, 1980). باکتری‌های محرک رشد[2] (PGPB) گروهی از باکتری‌ها هستند که به طور تأثیرگذاری فعالیت کلونیزه کردن ریشه‌های گیاه را افزایش داده و سبب رشد و افزایش عملکرد گیاهان می‌شوند. مکانیزمی که باکتری‌های محرک رشد به کار می‌برند، کاملاً شناخته شده نیست، اما شامل توانایی تولید فیتوهورمون‌ها (Egamberdiyeva, 2007; Shaharoona et al., 2006)، تولید سیدروفورها و سنتز آنتی‌بیوتیک، تولید یک سری آنزیم‌ها (Ahmad et al., 2006) و همچنین فراهم کردن فسفات معدنی محلول (Cattelan et al., 1999) است. مشاهده شده است که باکتری‌های محرک رشد، عملکرد گیاهان زراعی را افزایش می‌دهند (Goldstein, 1986; Walley and Germida, 1997). مزایای تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد شامل افزایش صفاتی چون سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، کنترل عوامل بیماری‌زا، سطح برگ، محتوی کلروفیل، مقاومت به خشکی، وزن ریشه و اندام هوایی و فعالیت میکروبی است (Lucy et al., 2004). همچنین نتایج تحقیقات نشان داده است که باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه می‌شوند (Mayak, 2004). انجی و همکاران (Ng et al., 2012) گزارش کردند که استفاده از *انتروباکتر گرگوویائه*[3] و گونه‌ای *باسیلوس*[4] باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذر و استقرار اولیه گیاهچه برنج می‌شود. نوماوو و همکاران (Noumavo et al., 2013) بیان داشتند که استفاده از *سودوموناس فلورسنس*[5] و *سودوموناس پوتیدا*[6] باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذر ذرت می‌شود. اثر باکتری‌های جنس *باسیلوس* و *رایزوبیوم*[7] بر افزایش درصد جوانه‌زنی و بهبود استقرار گیاهچه برنج نیز گزارش شده است (Mia et al., 2012). گزارش شده است که *آزوسپریلوم*[8]، *سودوموناس* و *ازتوباکتر*[9] می‌توانند باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی شوند (Shaukat et al., 2006). تلقیح با بذرها باکتری‌ها در افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی از قبیل درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه مؤثر بوده است (Lugtenberg et al., 2002). رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه نیز با استفاده از باکتری‌های محرک رشد، افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است (Kiers and

1. Microorganisms
2. Plant Growth Promoting Bacteria(PGPR)

3. *Enterobacter gergoviae*
4. *Bacillus* sp.
5 . Pscudomonus fluorescence
6 . P. putida
7 . Rhizobium spp.
8 . Azaspivillum spp.
9 . Azotobacter spp.

Denison, 2008). تلقیح بذر با این ریزجانداران نیز باعث افزایش مولفه‌های جوانه‌زنی در گیاهان مختلف تحت شرایط تنش‌های محیطی شده است (Ehteshami *et al.*, 2009). در بعضی گزارش‌ها بیان شده است که کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی تیمار تلقیح شده نسبت به تیمار شاهد شد (Gholami *et al.*, 2009).

همچنین سنتز هورمون اکسین توسط این باکتری‌ها نیز باعث افزایش بنیه گیاهچه‌ها می‌گردد (Bharathi *et al.*, 2004). همچنین استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث گسترش سیستم ریشه و وزن خشک گیاه و جوانه‌زنی بهتر ذرت می‌شود (Gholami *et al.*, 2009). هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه دو رقم جو بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* بر بنیه بذر و رشد گیاهچه دو رقم جو فصیح و بهمن، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. در این آزمایش بذرهای جو رقم فصیح و بهمن با سویه‌های ۳۶، ۱۰۳، ۹۳، ۹۳+۳۶، ۱۰۳+۹۳، ۱۰۳+۳۶ و ۱۰۳+۹۳+۳۶ *سودوموناس فلورسنس* تلقیح شدند. تیمار بدون تلقیح با باکتری به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. باکتری‌های مورد نظر در آزمایشگاه بیولوژی مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شدند. جمعیت باکتری‌ها در هر گرم مایه تلقیح، $۱۰^{۷}$ × ۹/۸ واحد تشکیل دهنده کلونی هر میلی متر CFU/ml برآورد شد (بر اساس روش شمارش کلنی و استفاده از محیط‌های کشت مناسب) (Becking, 2006). برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت Sperber استفاده شد (Alef and Nannipieri, 1995). در ابتدا بذرها با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد، ضدعفونی و ۲ تا ۳ بار با آب مقطر شسته شدند. سپس بذرها با سویه‌های مختلف باکتری مربوطه تلقیح شدند. برای چسبیدن به مایه تلقیح بذرها از صمغ عربی استفاده شد، به طوری‌که پوشش یکنواختی از مایه تلقیح روی بذرها را پوشاند. سپس بذرهای جو در ظرف‌های پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار گرفتند. ظرف‌های پتری درون ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تأمین رطوبت ظرف‌های پتری، هر روزه و به مقداری که کاغذ صافی نمناک باشد، انجام شد. اولین شمارش بذرهای جوانه‌دار در روز سوم و آخرین شمارش در روز هفتم انجام شد. پس از روز هفتم، تعداد ۱۰ گیاهچه به طور تصادفی از هر ظرف پتری انتخاب شد و ساقه‌چه و ریشه‌چه از بذر جدا گشت و وزن تر آن‌ها توسط ترازوی دیجیتالی محاسبه شد.

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند و سپس با ترازو توزین شدند. سایر صفات مورد اندازه‌گیری شامل قابلیت جوانه‌زنی (Scott *et al.*, 1984)، سرعت جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1980)، شاخص بنیه (Abdual-baki and Anderson, 1973) و درصد آب بافت گیاهچه (Tsonev, 1998) بودند. محاسبات آماری این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SAS(ver. 9.2) انجام شد. همچنین برای

مقایسه میانگین تیمارها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای آماری ۱ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر باکتری‌ها بر وزن خشک و تر ریشه‌چه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود، اما نوع تفاوت وزن خشک و تر ریشه‌چه ارقام و برهمکنش رقم باکتری تأثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک ریشه‌چه نداشت (جدول۱). بیشترین و کمترین وزن تر ریشه‌چه به ترتیب در تیمار تلقیح بذر با ترکیبی از سه سویه باکتری و تیمار شاهد مشاهده شد، اما تیمار تلقیح بذر با ترکیبی از دو باکتری سویه ۶۳ و۹۳ و تلقیح با ترکیبی از ۳ سویه در یک گروه آماری قرار گرفتند و دارای بیشترین مقدار وزن خشک ریشه‌چه بودند (جدول۲). اثر باکتری بر وزن تر و خشک ساقه‌چه در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما تفاوت وزن خشک و تر ریشه‌چه ارقام و برهمکنش باکتری و رقم تنها بر وزن تر ساقه‌چه معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین وزن تر و خشک ساقه‌چه در تیمار تلقیح بذر با ترکیبی از ۳ سویه مشاهده شد و کمترین مقدار در تیمار شاهد به دست آمد (جدول۲). بیشترین میزان وزن تر ساقه‌چه نیز در رقم فصیح مشاهده شد (جدول ۳). برهمکنش رقم در باکتری نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک ساقه‌چه در رقم فصیح با تیمار تلقیح باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه ۶۳+۹۳ به میزان ۰/۰۶۶ گرم به دست آمد و رقم با تیمار تلقیح با باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه ۱۰۳+۹۳+۶۳ به میزان ۰/۰۶۳ گرم در مرتبه بعدی قرار گرفتند (جدول ۴). زیدی (Zaidi, 2003) گزارش کرد تلقیح بذرهای سویا با *سودوموناس فلورسنس* و *برادی رایزوبیوم جاپونیکوم*[1]، جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاهچه را بهبود بخشید و باعث افزایش طول و تجمع ماده خشک در اندام‌های هوایی و ریشه، ماده خشک و جذب عناصر غذایی نسبت به شرایط بدون تلقیح گردید. افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه از طریق باکتری‌های محرک رشد گزارش شده است (Mishra *et al.*, 2010). افزایش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌تواند به دلیل القای نمو جنینی توسط مواد تنظیم کننده رشد حاصل از باکتری‌های محرک رشد گیاه باشد که قابلیت نفوذ پوسته بذر نسبت به آب را افزایش داده‌اند (Cassan *et al.*, 2009). با تولید و ترشح ترکیبات تحریک‌کننده رشد گیاه و یا برخی هورمون‌های تنظیم‌کننده، رشد گیاهچه بهبود یافته است که توسط باکتری‌های موجود در محیط رشد گیاه تولید شده و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار داده است. لیکن بر خلاف نتایج این تحقیق، گزارش شده است سویه‌های مختلف باکتری *سودوموناس فلورسنس* تأثیری بر وزن تر برگ‌ها و ساقه‌ها نداشته است (Gholami *et al.*, 2009).

اثر باکتری بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه معنی‌دار بود، اما برهمکنش رقم و باکتری تنها در طول ریشه‌چه معنی‌دار شد (جدول ۱). با توجه به جدول ۴ می‌توان بیان نمود که بیشترین میزان طول ساقه‌چه در تیمار تلقیح باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه ۱۰۳+۶۳+۹۳ در هر دو رقم فصیح و بهمن به ترتیب به میزان (۱۲۸/۰۹ و ۱۲۹/۳۹ سانتی‌متر) و تیمار شاهد رقم فصیح با میزان (۸۸/۶۹ سانتی‌متر) کمترین میزان را به

1 . Brady rhicobium juponicum

خود اختصاص داد. از آنجایی که طول ریشه و ساقه اولیه از شاخص‌های رشد و نمو و بنیه بذر محسوب می‌شوند، می‌توان اظهار نمود که تلقیح بذرها سویا با *برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم* و *سودوموناس فلورسنس* باعث افزایش بنیه بذر می‌گردد (Hampton and TeKrony, 1995). کلی و همکاران (Klee *et al.*, 1991) گزارش کردند که باکتری *سودوموناس فلورسنس* آنزیم آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دی‌آمیناز [1]تولید می‌کند که بلافاصله آمینو سیکلو پروپان -۱- کربوکسیلات را به پیش‌ماده اتیلن برای ساخت آمونیاک و آلفاکتوبوتیرات [2] تجزیه می‌کند. کاهش غلظت آمینو سیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات درون گیاه باعث کاهش مقدار اتیلن شده در گیاه و به دنبال آن سبب کاهش اثر بازدارندگی اتیلن بر طویل شدن ریشه و هدایت به سمت طویل شدن ریشه می‌گردد (Patten and Glick, 1996). باکتری مصرف‌کننده آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات از طریق کاهش غلظت اتیلن درون گیاه و تبدیل آن به منابع نیتروژن، باعث طویل شدن ریشه‌ها می‌گردند (Carteaux *et al.*, 2003).

دلیپ‌کومار و همکاران (Dileep Kumar *et al.*, 2001) نشان دادند که تلقیح بذرهای نخود با *سودوموناس فلورسنس* منجر به افزایش طول ساقه نسبت به تیمار شاهد شد. اخگر و همکاران (Akhgar *et al.*, 2011) نشان دادند که بذرهای کلزای تلقیح شده با باکتری *سودوموناس فلورسنس* طول ساقه و ریشه را نسبت به شاهد ۲۱/۷ و ۲۶/۸ درصد افزایش داد. مشاهده شد که(IAA)نقش مهمی در افزایش طول ساقه‌چه دارد (Mantelin and Touraine, 2004; Mia *et al.*, 2009). افزایش طول ساقه‌چه به تولید جیبرلین توسط باکتری محرک رشد نیز نسبت داده شده است (Cassan *et al.*, 2009).

طی مرحله جوانه‌زنی بذر، آنزیم آلفاآمیلاز در لایه آلورون نقش مهمی در هیدرولیز نشاسته بازی می‌کند که گلوکز حاصل، انرژی لازم برای رشد ساقه‌چه را فراهم می‌آورد (Akazawa and Hara-Mishimura, 1985; Beck and Ziegler, 1989). در برخی منابع افزایش رشد به افزایش تولید آمونیم اشاره دارد (Yadav *et al.*, 2010). شاید بتوان این امر را به قابل استفاده شدن بیشتر ذخیره‌های بذر و نیز تقسیم و تطویل سلولی توسط فیتوهورمون‌ها نسبت داد (Sharma *et al.*, 2007). برخی از محققین نیز افزایش طول ریشه‌چه توسط باکتری محرک رشد گیاه را به تولید اکسین نسبت داده‌اند (Patten and Glick, 2002; Verma *et al.*, 2010). البته اتیلن در غلظت‌های پائین، باعث تحریک رشد ریشه‌چه و در غلظت‌های بالا سبب جلوگیری از رشد ریشه‌چه می‌شود که باکتری محرک رشد گیاه از طریق آنزیم ACC deaminase باعث کاهش غلظت اتیلن می‌گردد (Saleem *et al.*, 2007).

با توجه به نتیجه تجزیه واریانس تفاوت درصد و سرعت جوانه زنی ارقام مورد بررسی، اثر باکتری و برهمکنش رقم و باکتری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱)، به طوری‌که بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی به ترتیب در تیمار ترکیبی از ۳ سویه و تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در تیمار تلقیح بذر با

1 . Amino cyclopropane-1- Carboxylate Deaminase(ACC-Deaminase)
2 . α- cetobutyrate

باکتری سویه ۱۰۳+۹۳+۶۳ در هر دو رقم فصیح و بهمن مشاهده شد ولی تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۶۳ و رقم فصیح با میزان ۶۹/۱۱ درصد و تیمار شاهد رقم همین با (۵۳/۸۵) به ترتیب کمترین میزان درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی را نشان دادند (جدول ۲). هرناندز و همکاران (Hernandez *et al*., 1995) مشاهده کردند که تلقیح بذرها با باکتری *سودوموناس فلورسنس* سبب افزایش درصد جوانه‌زنی گردید. توانایی ظهور گیاهچه، جنبه مهمی از کیفیت بذر می‌باشد که بستگی به جوانه‌زنی بالا دارد (Piteta-filho and Ellis, 1991). براتی و همکاران (Bharathi *et al*., 2004) معتقدند که افزایش تولید جیبرلین سبب آزاد شدن آنزیم‌هایی مانند آلفاآمیلاز شده و در نتیجه جوانه‌زنی تسریع می‌گردد. بیاری و همکاران (Bayari *et al*., 2009) بیان کردند که بین سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بذرها ذرت رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد و تأثیر باکتری‌ها بر جوانه‌زنی بیشتر ناشی از اثر آن ها بر طول ریشه در مقایسه با طول ساقه بوده است. به نظر می‌رسد که افزایش درصد جوانه‌زنی می‌تواند به‌واسطه افزایش سنتز هورمون‌هائی از قبیل جیبرلین باشد که فعالیت آنزیم‌های خاصی از جمله آلفاآمیلاز، پروتئاز و نوکلئاز را موجب می‌شود. این امر منتج به فعالیت بهتر آنزیم‌های میتوکندریائی می‌گردد که سبب افزایش مصرف اکسیژن و بالطبع جوانه‌زنی می‌گردد (Noumavo *et al*., 2013). مشخص است که اتیلن در رشد و نمو گیاه و رسیدگی میوه اهمیت زیادی دارد، با این حال افزایش غلظت اتیلن در گونه‌های گیاهی می‌تواند باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد ریشه گردد (Belimov, *et al*., 2001).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر باکتری های محرک رشد گیاه بر برخی صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه دو رقم جو

Table 1- Analysis of variance (mean squares) of plant growth promoting bacteria effect on some of germination indices and seedling growth of two barley cultivars

منبع تغییرات	S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square (MS)									
			درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination speed	درصد آب گیاهچه Seedling water%	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Plumule dry weight	وزن تر ریشه‌چه Radicle fresh weight	وزن تر ساقه‌چه Plumule fresh weight	طول ریشه‌چه Radicle lentgh	طول ساقه‌چه Plumule lentgh	شاخص بنیه Vigour Index
Cultivar	رقم	1	61.94**	0.57**	45.49^{ns}	0.00001^{ns}	0.00001^{ns}	0.001^{ns}	0.004**	33.20^{ns}	00.02^{ns}	76.42**
Bacterium strain	سویه باکتری	7	973.74**	4.12**	979.53**	0.0004**	0.0005**	0.11**	0.097**	1004.68**	873.92**	45.183**
Cultivar×Bacterium	رقم×باکتری	7	22.64**	0.072**	24.93**	0.00001^{ns}	0.00004**	0.004^{ns}	0.002**	1.99^{ns}	27.63**	3.93^{ns}
Error	خطا	52	3.14	0.007	6.40	0.00001	0.00007	0.001	0.0005	9.56	5.19	5. 41
CV (%)	ضریب تغییرات (درصد)	-	2.23	4.16	3.67	7.96	5.09	5.39	3.06	2.97	3.61	2.35

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ و یک درصد را نشان می‌دهد.

ns, * and ** show nonsignificant, significant at level 5% and significant at level 1% respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سویه باکتری در رقم جو بر برخی صفات

Table 2- Mean comparisons of intraction effet bacterium strain × barley cultivar on some of characteristics

Bacterium × Cultivar	رقم	باکتری	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination speed	درصد آب گیاهچه Seedling water percentage	وزن تر ساقه‌چه Plumule fresh weight (gr)	طول ساقه‌چه Plumule length (cm)	شاخص بنیه Vigor index
strain 103× Fasih	فصیح	سویه ۱۰۳	73.61 d	1.85 d	69.12 d	0.05 c	95.50 d	110.99 f
strain 93× Fasih	فصیح	سویه ۹۳	74.32 d	1.72 d	67.10 cd	0.05 c	94.28 d	109.74 fg
strain 63× Fasih	فصیح	سویه ۶۳	69.11 e	1.62 d	60.29 e	0/04 d	95.07 d	105.75 fg
strain 93+103× Fasih	فصیح	سویه ۹۳+۱۰۳	85.47 c	2.49 c	73.98 ab	0.05 c	102.86 c	145.53 d
strain 63+103× Fasih	فصیح	سویه ۶۳+۱۰۳	90.55 b	2.91 b	78.67 c	0.05 c	103.61 c	153.54 d
strain 63+93× Fasih	فصیح	سویه ۶۳+۹۳	84.73 b	2.61 c	74.35 ab	0.06 b	115.39 b	162.93 c
strain 63+93+103× Fasih	فصیح	سویه ۶۳+۹۳+۱۰۳	93.53 a	3.76 a	88.08 a	0.06 b	128.09 a	197.17 b
Control× Fasih	فصیح	شاهد (بدون تلقیح)	54.39 f	1.06 e	47.62 g	0.04 d	88.69 e	72.35 h
strain 103×Bahman	بهمن	سویه ۱۰۳	80.17 cb	1.30 d	67.23 cd	0.04 d	95.87 d	120.69 e
strain 93×Bahman	بهمن	سویه ۹۳	79.55 d	1.32 d	58.97 e	0.05 c	94.93 d	119.15 f
strain 63×Bahman	بهمن	سویه ۶۳	72.66 de	1.52 d	56.69 e	0.05 c	96.64 d	110.40 f
strain 93+103×Bahman	بهمن	سویه ۹۳+۱۰۳	84.87 b	2.42 c	67.47 cd	0.05 c	103.82 c	141.76 d
strain 63+103×Bahman	بهمن	سویه ۶۳+۱۰۳	86.36 c	2.74	82.34 b	0.06 b	105.72 c	145.64 d
strain 63+93×Bahman	بهمن	سویه ۶۳+۹۳	91.31 ab	2.52 c	76.93 c	0.07 a	117.78 b	175.02 c
strain 63+93+103×Bahman	بهمن	سویه ۶۳+۹۳+۱۰۳	95.12 a	3.32 a	87.07 a	0.06 b	129.39 a	205.20 a
Control×Bahman	بهمن	شاهد (بدون تلقیح)	53.85 f	1.13 d	46.94 g	0.04 d	92.65 cd	78.28 h

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شده بر اساس آزمون دانکن هستند.

Means of each column having similar letters are not significantly different at level 5% according Duncan test.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های صفات مورد بررسی برای رقم فصیح و بهمن تحت تأثیر باکتری‌های محرک رشد

Table3- Means comparison of investigated characteristics for Fasih's and Bahman's cultivars affected growth promoting bacteria

Cultivar	رقم	شاخص بنیه Vigor index	سرعت جوانه‌زنی Germination speed	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	وزن تر ساقه‌چه (گرم) Plumule fresh weight
Fasih	فصیح	13702.3 a	2.25 a	78.21 b	0.76 a
Bahman	بهمن	13225.4 b	2.03 b	80.48 a	0.74 b

میانگین‌ها در هر ستون میانگین‌هائی که دارای حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column, followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan Test.

جدول۴ – مقایسه میانگین صفات جوانه زنی تحت تأثیر باکتری های محرک رشد گیاه

Table4- Mean comparison of germination indices influenced plant growth promoting bacteria

Pseudomonas fluorescens strain	سویه *سودوموناس فلورسنس*	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight (g)	وزن تر ریشه چه Radicle fresh weight (g)	طول ریشه‌چه Radicle length (cm)	شاخص بنیه Vigour Index
strain 103	سویه ۱۰۳	0.04 c	0.72 cd	95.65 d	11584.4 e
strain 93	سویه ۹۳	0.04 c	0.68 d	94.61 d	11444.8 e
strain 63	سویه ۶۳	0.04 c	0.68 d	98.85 d	10808.3 f
strain 93+103	سویه ۹۳+۱۰۳	0.05 b	0.78 c	103.34 c	14365.2 d
strain 63+103	سویه ۶۳+۱۰۳	0.05 b	0.85 b	104.66 c	14959.2 c
strain 63+93	سویه ۶۳+۹۳	0.06 a	0.88 ab	116.58 b	16898.0 b
strain 63+93+103	سویه ۶۳+۹۳+۱۰۳	0.06 a	0.94 a	128.74 a	20119.0 a
Control	شاهد (بدون تلقیح)	0.04 c	0.50 e	90.67 d	7532.1 g

اعداد هر گروه در هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شده بر اساس آزمون دانکن هستند.

Means of each column having similar letters are not significantly different at level 5% according Duncan test.

باکتری‌های محرک رشد گیاه با توانایی تولید آنزیم آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دی‌آمیناز[1] می‌توانند میزان اتیلن گیاه را کاهش دهند و جوانه‌زنی گیاه را بهبود بخشند. باکتری‌های محرک رشد گیاه وقتی به سطح بذرها می‌چسبند در پاسخ به ترشح اسیدهای آمینه ترشح شده در بذر، اسید ایندول استیک سنتز می‌کنند که این اسید باعث تحریک سلول‌های گیاه و طویل شدن آن‌ها می‌شود در نتیجه می‌تواند بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها مؤثر باشند. در تحقیقی دیگر بیان شده است که افزایش جوانه-زنی می‌تواند به دلیل تأثیر باکتری‌ها در افزایش تولید برخی هورمون‌ها به‌ویژه جیبرلین باشد، زیرا این هورمون با فعال کردن برخی آنزیم‌ها مانند آمیلاز که در سوخت و ساز نشاسته دخالت دارند، جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gholami *et al*., 2009). تاثیر رقم، باکتری و برهمکنش رقم در باکتری بر شاخص بنیه در سطح یک درصد بسیار معنی دار بود (جدول۱). با توجه به جدول ۴ می توان بیان کرد که بیشترین و کمترین میزان شاخص بنیه به ترتیب در تیمار تلقیح بذر با باکتری سویه ۱۰۳+۶۳+۹۳ در رقم بهمن به میزان (۲۰۵۲۰/۵) و تیمار شاهد در رقم فصیح به میزان (۷۲۳۵/۶) مشاهده شد. در آزمایشی بر روی جوانه‌زنی ذرت مشخص شد که بیشترین شاخص بنیه را سویه‌ای از باکتری *Pseudomonas* سبب شد (Gholami *et al*., 2009). همچنین این باکتری‌ها با سنتز بهتر هورمون‌های گیاهی مثل آکسین، باعث افزایش بنیه، انرژی و استقرار بهتر گیاهچه می‌شود (Bharathi *et al*., 2004). گزارش شده است که باکتری‌های محرک رشد از طریق آنزیم آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دی‌آمیناز و کاهش تولید اتیلن توسط گیاهچه‌ها، مقاومت گیاه را به عوامل نامساعد مثل تنش خشکی و شوری افزایش می‌دهد بنابراین بنیه و استقرار گیاهچه را در شرایط مزرعه افزایش می‌دهد. شانموگایا و همکاران (Shanmugaiah *et al*., 2009) بیان کردند که تلقیح بذر پنبه با باکتری *سودوموناس فلورسنس* سبب افزایش ۲۰ درصدی شاخص بنیه نسبت به تیمار شاهد شد و آن ها علت این امر را تولید هورمون های گیاهی و متابولیت های ثانویه دانستند. با توجه به جدول تجزیه واریانس می‌توان بیان نمود که رقم تأثیری بر درصد آب بافت گیاهچه نداشت، اما باکتری و برهمکنش باکتری در رقم در سطح یک درصد بسیار معنی‌دار بود (جدول ۱). تیمار تلقیح با باکتری سویه ۱۰۳+۶۳+۹۳ در هر دو رقم فصیح و بهمن به ترتیب (۸۸/۰۸ و ۸۷/۰۷ درصد) بیشترین و تیمار شاهد هر دو رقم، فصیح و بهمن که در یک گروه آماری قرار گرفتند به ترتیب (۴۶/۹۴ و ۴۷/۶۲ درصد) کمترین میزان را نشان دادند.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج نشان داد که باکتری‌های *سودوموناس فلورسنس* از طریق همزیستی با بذر و احتمالاً به دلیل ترشح موادی چون ACC دآمیناز و هورمون‌هائی چون اتیلن می‌توانند باعث تحریک جوانه‌زنی شوند که نتایج ما با کایماک و همکاران (Kaymak *et al*., 2009) مطابقت دارد. البته همان‌گونه که در برخی از منابع نیز ذکر شده است، این ریزجانداران از طریق فراهم کردن بهتر و سریعتر عناصر و نیز سرعت بخشیدن به فعالیت‌های متابولیکی بذر باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و نیز افزایش رشد در مراحل اولیه رشد رویشی شوند.

منابع

References

Abdual-baki, A. A. and J. D. Anderson. 1973. Relationship between decarboxilation of glutamic acid and vigour in soybean seed. Crop Sci, 13: 222-226.

Ahmad, F., L. Ahmad and M. S. Khan. 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbial. Res.,Vol. 36, pp: 1-9.

1. ACC-Deaminase

Akazawa, T. and I. Hara-Mishimura. 1985. Topographic aspects of biosynthesis, extracellular section and intracellular storage of proteins in plant cells. Ann. Rev. Plant Physiol. 70: 441-472.
Akhgar, A., K. Khavazi and N. Khakipoor. 2011. Isolation, identification and effectiveness of ACC-deaminase producing rhizobacteria on the alleviation of salinity stress effects on canola growth. J. Water Soil. Vol. 25, pp: 29-41.
Alef, K. and P. Nannipieri. 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press.
Bayari, A., S. Nezarat and A. Gholami. 2009. Relationship between germination index of seed corn with inoculation of PGPR (*Pseudomonas*, *Azospirillium* and *Azotobacter*).11th Soil Science Congress of Iran, Gorgan.
Beck, E. and P. Ziegler. 1989. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 40: 95-117.
Becking, J. H. 2006. Prokaryotes 6: 759-783.
Belimov, A. A., V. I. Safronova, T. A. Sergeyeva, T. N. Egorova, V. A. Matveyeva, V. E. Tsyganov, A. Y. Borisov, I. A. Tikhonovin, C. Kluge, A. Preisfeld, K. J. Deitz and V. V. Stepanok. 2001. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. Can. J. Microbiol. 47: 642-652.
Bharathi, R., R. Vivekananthan, S. Harish, A. Ramanathan and R. Samiyappan. 2004. Rhizobacteria-based bio-formulations for the management of fruit rot infection in chillies. Crop Protec. 23: 835–843.
Cartieaux, F. P., L. Nussaume and C. Robaglia. 2003. Tales from the underground: molecular plant rhizobacteria interactions. Plant, Cell Environ, 26: 189-199.
Cassan, F., D. Perriga, V. Sgroya, O. Masciarellia, C. Pennab, V. Lunaa. 2009. Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). Eur. J. Soil Biol, 45, 28–35.
Cattelan, A. J., P. G. Hartel and J. J. Fuhrmann. 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. Soil Sci. Soc. Am. J., Vol. 63, pp: 1670–1680.
Dileep Kumar, S. B., I. Berggren and A. M. Martensson. 2001. Potential for improving pea production by coinoculation with *Fluorescent Pseudomonas* and *Rhizobium*. Plant Soil, 229: 25-34.
Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. Appl. Soil. Eco. 36: 184-189.
Ehteshami, S. M., M. Aghaalikhani, M. R. Chaichi and K. Khavazi. 2009. The effect of phosphorus biological fertilizer on quality and quantity corn on water tolerance. Iranian J. Field Crop Sci, 40: 15-27.
Ellis, R. H. and E. H. Roberts. 1980. Towards a rational basis for testing seed quality in seed production. 605-635. Butterworths. London.
Gholami, A., S. Shahsavani and S. Nezarat. 2009. The Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. World Aca. Scie, Engineering and Technol, p: 19-24.
Goldstein, A. 1986. Bacterial solubilizatin of mineral phosphates. Am. J. Altern.Agri., 1:51-57.
Hampton, J. G. and D. M. Tekrony. 1995. Handbook of vigour test methods. International Seed Testing Association (ISTA). Zurich, Swirztland, 730p.
Hernandez, A. N., A. Hernandez and M. Heydrich. 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. Cultivos Tropicales, 6: 5-8.
Kaymak, H. A., I. Guvenc, F. Yarali and M. F. Denmez. 2009. The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. Turk. J. Agric, 33: 173-179.
Kiers, E. T. and R. F. Denison. 2008. Sanctions, cooperation, and the stability of plantrhizosphere mutualisms. Ann. Rev. Ecol. Environ. System 39: 215-236.
Klee, H. J., M. B. Hayford, K. A. Kretzmer, G. F. Barry and G. M. Krishore. 1991. Control of ethylene sysnthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. Plant Cell 3:1187-1193.
Kundu, B. S. and A. C. Gaur. 1980. Establishment of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. Plant Soil. 57: 223–230.
Lucy, M., E. Reed and B. R. Glick. 2004. Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek, 86: 1–25.
Lugtenberg, B., T. Chin-A-Woeng and G. Bloemberg. 2002. Microbe–plant interactions: principles and mechanisms. Antonie van Leeuwenhoek. 81: 373–383.
Mantelin, S. and B. Touraine. 2004. Plant growth promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. J. Expt. Bot. 55: 27-34.
Mayak, S. 2004. Plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant Physiol. Biochem. 42: 565-572.

Mia, M. A. B., Z. H. Shamsuddin, W. Zakaria and M. Mariah. 2009. The effect of rhizobacterial inoculation on growth and nutrient accumulation of tissue-cultured banana plantlets under low N-fertilizer regime. Afr. J. Biotechnol. 8: 5855-5866.

Mishra, M., U. Kumar, P. K. Mishra and V. Prakash. 2010. Efficiency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for the Enhancement of *Cicer arietinum* L. Growth and Germination under Salinity. Adv. Biol. Res. 4 : 92-96.

Misko, A. L. and J. J. Germida. 2002. Taxonomic and functional diversity of *Pseudomonas* isolated from the roots of field-grown canola. FEMS Microbiol. Ecol. 42: 399–407.

Ng, L. C., M. Sariah, O. Sariam, O. Radziah, M. A. Zainal Abidin. 2012. Rice seed bacterization for promoting germination and seedling growth under aerobic cultivation system. Aus. J. Crop Sci, 6(1): 170-175.

Noumavo, P. A., E. Kochoni, Y. O. Didagbe, A. Adjanohoun, M. Allagbe, R. Sikirou, E. W. Gachomo, S. O. Kotchoni, L. Baba-Moussa. 2013. Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development. *Ame. J. Plant Scie*. 4: 1013-1021.

Patten, C. and B. R. Glick. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Cana. J. Microbiol. 42: 207-220.

Pieta-Filho, C. and R. H. Ellis. 1991. The development of seed quality in spring barley in four environments: A. Germination and longevity. Seed Science Research, 1: 163-177.

Saleem , M., M. Arshad, S. Hussain and A. S. Bhatti. 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 34: 635–648.

Scott, S. J., R. A. Jones and W. A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Scie. 24: 1192-1199.

Shaharoona, B., M. Arshad, Z. A. Zahir and A. Khalid. 2006. Performance of *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil. Biol. Biochem.. 38: 2971–2975.

Shanmugaiah, V., N. Balasubramanian, S. Gomathinayagam, P. T. Manoharan and A. Rajendran. 2009. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. African Journal of Agri. Res. 4: 1220-1225.

Sharma, K., G. Dak, A. Agrawal, M. Bhatnagar and R. Sharma. 2007. Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of *Cicer arietinum* seedes and seedling growth. J. Herbal Med. Toxicol. pp:59-61.

Shaukat, K., S. Affrasayab and S. Hasnain. 2006. Growth responses of *Helianthus annus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. J. Agri. Res. 1: 573-581.

Tsonev, T. D., G. N. Lazova, Z. G. Stoinova and L. P. Popova. 1998. A possible role for Jasmonic acid in adaptation of barley seedlings to salinity stress. Plant Growth Regu. 17: 153-159.

Verma, J. P., J. Yadav and K. N. Tiwari. 2010. Application of Rhizobium sp. BHURC01 and plant growth promoting rhizobactria on nodulation, plant biomass and yields of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Int. J. Agric. Res. 5: 148-156.

Walley, F. L. and J. J. Germida. 1997. Response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to interactions between *Pseudomonas* species and *Glomus clarum* NT_4. Biol. Fertility Soils. 24: 365–371.

Yadav, J., J. P. Verma and K. N. Tiwari. 2010. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Seed Germination and Plant Growth Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under in *Vitro* Conditions. Biol. Forum-Ann. Int. J. 2: pp. 15-18.

Zaidi, S. F. A. 2003. Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *fluorescent Pseudomonas* to control *Rhizoctonia solani* in soybean [*Glycine max* (L) Merr]. Ann. Agric Res. 24: 151-153.