اثرات تلقیح ریزوباکتریایی محرک رشد گیاهی بر برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق

محمد بهمنی، غلامعلی جلالی[1]، احمد اصغرزاده و مسعود طبری‌کوچکسرایی

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس؛ M_Bahmani@rocketmail.com

دانشیار دانشگاه تربیت مدرس؛ Jalali_g@modares.ac.ir

استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور؛ a_asgharzadeh_2000 @yahoo.com

دانشیار دانشگاه تربیت مدرس؛ masoudtabari@yahoo.com

دریافت: 92/7/23 و پذیرش: 93/6/10

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بهبود صفات مرتبط با جوانه‌زنی و بنیه بذر گیاه دارویی و صنعتی استبرق (*Asclepias procera* Ait.) با استفاده از میکروارگانیزم‌های ریزوباکتریایی محرک رشد انجام شده است. این آزمایش با 8 سطح تلقیح ریزوباکتریایی (شاهد، *سودوموناس*، *آزوسپریلوم*، *ازوتوباکتر*، *سودوموناس+ آزوسپیریلوم*، *سودوموناس + ازوتوباکتر*، *آزوسپیریلوم +ازوتوباکتر* و تلفیق *سودوموناس +آزوسپیریلوم +ازوتوباکتر*) در چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تلقیح ریزوباکتریایی اثر معنی‌داری بر صفات مرتبط با جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق داشته به‌طوری که بیشترین درصد جوانه زنی (72 درصد) و سرعت جوانه‌زنی (1/8 عدد در روز) به تیمار تلقیح *سودوموناس پوتیدا* سویه 169 تعلق داشت که به ترتیب 1/8 و 1/63 و هم‌چنین بزرگترین طول ریشه چه (19/84 میلی متر) و کوتاه ترین میانگین مدت زمان جوانه (7/97 روز) متعلق به *سودوموناس+ازتوباکتر* بود که نسبت به شاهد به ترتیب 1/6 برابر بیشتر و 0/7 برابر کمتر بود به‌طوری‌که بزرگترین شاخص بنیه بذر (17/8) به *ازتوباکتر+ آزوسپیریلوم* اختصاص داشت که 1/82 برابر بیشتر از شاهد بود.این تحقیق آشکار ساخت که تلقیح میکروارگانیزم‌های ریزوباکتریایی به عنوان یک رهیافت نوین می‌تواند در بهبود صفات جوانه زنی بذر درختچه استبرق مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: استبرق (*Asclepias procera*.)، ریزوباکتریایی محرک رشد، جوانه‌زنی بذر

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: مازندران، نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی، گروه جنگل

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

گیاه استبرق (*Asclepias procera* Ait.) از تیره استبرقیان (*Asclepiadaceae*) درختچه‌ای دائمی و چند ساله است که در بسیاری از نواحی گرم بیابانی جنوب غربی آسیا و ناحیه مدیترانه تا سواحل آفریقا همچنین در جنوب ایران (خوزستان تا بلوچستان) پراکنش دارد. استبرق دارای ارزش‌های اقتصادی و منحصر به فردی است که در جنگل‌کاری و احیای اراضی تخریب یافته مناطق خشک و بیابانی به خصوص در جنوب کشور نقش مهمی داشته و نیز دارای اهمیت‌های صنعتی، پزشکی و مواد دارویی ویژه‌ای است.این گونه با توجه به ویژگی-های شفا بخشی‌اش (خانزاده و همکاران، 2007) اخیراً در سطح جهان به‌عنوان آنتی روماتیسم، ضد اسهال، خلط آور، درمان آسم برونشیال، عفونت‌های پوستی، تومورها و سلول‌های سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (کریستووا و تیسوت، 1995). این گیاه کائوچویی دارای ارتفاع 3 تا 4 متر و ریشه‌های عمودی است که از آن اسانس‌هایی نیز ترشح می‌شود. در شرایط طبیعی بذر زیادی تولید می‌کند اما از پراکنش کمی که دارد. به نظر می‌رسد که این درختچه در طبیعت با مشکل استقرار روبرو است (خائف و همکاران، 1390).

تحقیقاتی چند در ارتباط با بذر استبرق صورت گرفته است که از آن جمله می‌توان به تحقیق خائف و همکاران (1390) روی اثر متقابل نور و دما بر جوانه‌زنی بذر تقوایی و همکاران (2012) پیرامون اثرات تنش شوری و پرایمینگ بر بهبود جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه، کردستانی و همکاران (1391) روی اثر پوشش آلی بر بنیه اولیه بذر، تقوایی و کردستانی (1391) در ارتباط با بررسی تأثیر بستر کشت بر بنیه اولیه بذر، موسوی و تقوایی (1391) مرتبط با تأثیر سطوح مختلف سوپر جاذب بر بنیه اولیه و رشد گیاهچه استبرق (*Asclepias procera*) اشاره کرد.

در سال‌های اخیر رویکرد به کارگیری باکتری-های ریزوسفری همزیست گیاهان جهت تحریک و تسریع صفات رویشی گیاهان سوق پیدا کرده است. برخی از این ریزوباکترها، گونه‌های جنس *ازتوباکتر*، *آزوسپریلوم* و *سودوموناس* که مهم‌ترین انواع باکتری‌های محرک رشد[1] گیاه‌های فعال در محیط ریشه (ریزوسفر) می‌باشند. این ریزوباکترها با تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای هورومون‌های تحریک کننده رشد به‌ویژه انواع اکسین، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها، رشد و نمو و عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (زهیر و همکاران، 2004). این ریزوباکترها همچنین قادر به افزایش سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن گیاهچه می‌باشند (خان و همکاران، 2003). از این رو برخی گزارش‌ها که در این راستا انجام شده است در زیر اشاره می‌گردد.

یاداو و همکاران (2010) با بررسی روی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت شرایط درون شیشه‌ای به این نتیجه رسیدند که بیشترین طول ساقه و ریشه به ترتیب در سویه‌های ریزوباکتریایی *Psedomonus putida* و *P. aeruginosa* و بیشترین وزن خشک ساقه و ریشه در سویه ریزوباکتریایی *P. aeruginosa* مشاهده شد. نوماوو و همکاران (2013) با مطالعه جوانه‌زنی بذر و توسعه گیاهچه ذرت (*Zea may* L.) دریافتند که بیشترین درصد جوانه زنی و شاخص بنیه در تلقیح تلفیقی ریزوباکتر *Pseudomonas fluorescents* و *P. putida* نشان داده شد به طوریکه تلفیق ریزوباکتر *Pseudomonas fluorescens* و *P. putida* نیز وزن خشک اندام هوایی را افزایش داد. شیرین زاده و همکاران (2013) با بررسی صفات آگرونومیک و عملکرد ارقام جو (*Hordeum vulgare*) به این نتیجه رسیدند که طول گیاه، طول سنبله، تعداد سنبله در واحد سطح، تعداد دانه در واحد سطح، وزن هزار دانه و عملکرد آن به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفتند و بیشترین بهبود صفات جوانه‌زنی در تلقیح ریزوباکتر *آزوسپریلوم* مشاهده شد. معین زاده و همکاران (2010) با تحقیق روی بیوپرایمینگ بذر آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، سویه‌های ریزوباکتریایی *Pseudomonas fluorescens* UTPf76 و UTPf86 را بهترین تیمار در بهبود و رشد گیاهچه معرفی کردند. غلامی و همکاران (2009) نیز پی بردند که تلقیح ریزوباکتریایی به طور معنی‌داری جوانه‌زنی بذر و بنیه بذر گیاهچه ذرت را افزایش می‌دهد. جاها و سارف (2011) نیز با تحقیق بر رفتار جوانه‌زنی بذر و گیاهچه *Jatropha curcas* بالاترین درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه را در تلقیح *Acienentobacter calcoaceticus* MS گزارش کردند. نتایج شریفی و خاوازی (1390) نیز حاکی است که در گیاهچه ذرت، ریزوباکتر *آزوسپریلوم* سبب افزایش طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و نسبت آن در مقایسه با سایر ریزوباکترها و شاهد شده است.

از آنجا که تاکنون تحقیق خاصی در ارتباط با اثرات تلقیح ریزوباکتری‌های محرک رشد بر بهبود صفات مرتبط با جوانه زنی و بنیه بذر گیاه دارویی و صنعتی استبرق در داخل و خارج کشور گزارش نشده است لذا

[1] Plant Growth Promotion Rhizobacteria

Archive of SID

www.SID.ir

تحقیق حاضر برای اولین بار با به کارگیری تلقیح ریزوباکتریایی در صدد نیل به اهداف فوق بوده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه تکنولوژی مرتع دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس در سال 1391 انجام شد. بدین منظور، غوزه‌های رسیده و تازه استبرق در مرداد ماه از رویشگاه طبیعی آن در روستای آباد شهرستان تنگستان از توابع استان بوشهر (عرض جغرافیایی 28 درجه، 53 دقیقه و 13 ثانیه و طول جغرافیایی52 درجه، 1دقیقه و 6 ثانیه و ارتفاع از سطح دریا 58 متر) جمع‌آوری و در شرایط دمای اتاق تحت سایه خشک شدند. در جدول 1 برخی خصوصیات بذر جمع آوری شده گیاه استبرق ارائه شده است.

جدول 1- خصوصیات بذر جمع آوری شده استبرق

گونه	مبدا	تاریخ جمع آوری	تاریخ آزمایش	خلوص فیزیکی (%)	وزن هزار بذر (گرم)	تعداد (در کیلوگرم)	رطوبت (%)	قوه نامیه (%)
استبرق	بوشهر	مرداد91	مهر 91	100	8/41	11800	52/2	95

ابتدا قوه نامیه یا زیست‌پذیری بذر استبرق را به روش رنگ آمیزی تترازولیوم 1 درصد با مدت زمان 24 ساعت در دمای اتاق انجام (اوسا، 1970) و سپس بذرهای همسان و یکنواخت جهت ضدعفونی در محلول قارچکش Carboxin Tiram (2 گرم در لیتر) به مدت دو دقیقه قرار داده شده و با آب مقطر به طور کامل شسته شدند. طبق دستورالعمل موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، تلقیح ریزوباکتریایی بذرها بدین صورت بود که ابتدا 1000 عدد بذر با محلول چسباننده (صمغ عربی2%) چسبناک شدند و بر اساس تیمار تلقیحی در شرایط تاریکی بذرهای چسبناک با 10 میلی‌لیتر اینوکلوم ریزوباکتریایی محرک رشد به صورت ساده و تلفیقی (شاهد، 169 *Psedomonus putida strain* با جمعیت $3/6\times10^9$cfu/ml ، 12 *Azetobacter chrococoom strain* با جمعیت 2×10^9cfu/ml و *Azosprillum lipoferum* of *strain*با جمعیت 6×10^7 cfu/ml) تلقیح شدند. اینوکلوم‌های ریزوباکتریایی مورد استفاده در این تحقیق بومی خاک‌های کشور بوده و توسط بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور شناسایی، جداسازی و تخلیص شده بود.

جهت ادامه مطالعه، کلیه وسایل از جمله ظرف های پتری (ابعاد 8 سانتی‌متری) و کاغذ صافی ا دراتوکلاو استریل شدند، آنگاه درون هر ظرف پتری 30 عدد بذر تلقیح شده استبرق با پراکنش یکنواخت قرار داده شد و به هریک از ظرف‌های پتری روزانه 5 میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. بذرهای تلقیح شده در ژرمیناتور با شرایط آزمون جوانه‌زنی (16 ساعت روشنایی با شدت 1000 لوکس نوری و 8 ساعت تاریکی، دمای 20 درجه سانتی-گراد و رطوبت نسبی 65 درصد) به مدت 21 روز مورد بررسی قرار گرفتند. در طی دوره آزمایش ظرف‌های پتری استریل وکاغذ صافی نیز هر 3 روز یک‌بار تعویض شدند. یادداشت برداری‌ها با توجه به تاریخ اولین جوانه‌زنی با شمارش روزانه بذرهای جوانه زده صورت گرفت که مبنای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه در حدود 2 میلی‌متری از بذر بود. شمارش تا زمانی که تعداد بذرهای جوانه زده تا 3 روز متوالی در هر نمونه ثابت باقی ماند ادامه یافت. پس از اتمام دوره آزمایش، صفات مرتبط با جوانه‌زنی و بنیه بذر از جمله درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه، شاخص بنیه و ضریب سرعت کوتوسکی توسط کولیس، ترازوی دیجیتال با دقت 0/01میلی‌متر ، 0/001 گرم و دستگاه آون با دمای 70 درجه سانتی‌گراد با مدت زمان 48ساعت اندازه‌گیری شد (جدول 2).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح پایه آزمایشی کاملً تصادفی با چهار تکرار بود، بدین صورت که پس از برداشت داده‌ها آزمون نرمالیته، همگنی واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kolmogorov- Smirnov)، لِوِن (Levene) و چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) انجام شد. ضمنا تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه 21 و رسم جداول از نرم افزار Sigma plot و Excel و هم‌چنین تبدیل مختصات جغرافیایی به درجه نیز از نرم‌افزار UTM Converter استفاده شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 2- روش محاسبه برخی صفات جوانه‌زنی بذر استبرق در شرایط آزمایشگاه

صفات جوانه زنی	روش محاسبه	منابع
درصد جوانه زنی	$GP= n/(N\times100)$	(Panwar and Bhardwaj, 2005)
سرعت جوانه زنی	$GS= \sum(n_i/t_i)$	(Panwar and Bhardwaj, 2005)
متوسط زمان جوانه زنی	$MGT= \sum (n_i .t_i) / \sum n$	(Kulkarni *et al*., 2007)
شاخص بنیه بذر	$SVI= GP \times Mean\ (Sl+Rl)/100$	(Biradar *et al*., 2007)
ضریب سرعت کوتوسکی	$KC=(\sum n_i/\sum (n_i .t_i)\times100$	(Gonzalez-Zertuche and Orozco-Segovia, 1996)
	n_i:تعداد جوانه‌زنی بذرها در یک فاصله زمانی	n: تعداد جوانه‌زنی بذرها در طول دوره
	t_i : تعداد روزهای بعد جوانه‌زنی	N : تعداد کل بذرهای کشت شده
	Rl : طول ریشه‌چه	Sl : طول ساقه‌چه

نتایج

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که صفات جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق، به طور معنی-داری (در سطح 1 و 5 درصد) تحت تأثیر تلقیح ریزوباکتریایی محرک رشد قرار گرفتند (جدول 3). به طوریکه در اکثر موارد صفات جوانه‌زنی به طور چشمگیری نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت (جدول 4).

همان‌طور که از جدول پیداست، بیشترین میزان جوانه‌زنی (87/01 درصد) و سرعت جوانه زنی (63/6درصد بذر در روز) در تیمار تلقیحی ریزوباکتر سودوموناس پوتیدا سویه 169در مقایسه با عدم تلقیح مشاهده شد. به‌طوری‌که بیشترین میانگین زمان جوانه زنی (4/52 درصد کاهش) و بزرگترین طول ساقه‌چه (22/92درصد) به تیمار تلقیح تلفیقی *ازتوباکتر کروکوکوم* سویه 12 + ریزوباکتر *آزوسپریلوم لیپوفروم* سویه *of* در قیاس با شاهد اختصاص داشت.

بیشترین طول ریشه‌چه (60/77درصد) در تیمار تلقیح تلفیقی ریزوباکتر *سودوموناس پوتیدا* سویه 169+*ازتوباکتر کروکوکوم* سویه 12 نسبت به عدم تلقیح مشاهده شد. بیشترین وزن تر گیاهچه (20/56 درصد) متعلق به تیمار تلقیح تلفیقی ریزوباکتر س*ودوموناس پوتیدا* سویه 169+ *آزوسپریلوم لیپوفروم* سویه *of* بوده است. بیشترین وزن خشک گیاهچه (27/24 درصد) در تیمار تلقیحی *آزوسپریلوم لیپوفروم* سویه *of* در مقایسه با شاهد، دیده شد (جدول4). بنابراین بیشترین شاخص بنیه بذر (81/89 درصد) در تیمار تلقیح تلفیقی *ازتوباکتر کروکوکوم* سویه 12 + *آزوسپریلوم لیپوفروم* سویه *of* دیده شد و هم‌چنین بیشترین ضریب سرعت کوتوسکی (47/11 درصد) در تیمار تلقیح *آزوسپریلوم لیپوفروم* سویه *of* نسبت به عدم تلقیح رویت شد (جدول4).

بحث و نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که پاسخ صفات جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق به طور معنی‌داری (5 و 1 درصد) تحت تأثیر تلقیح ریزوباکتریایی محرک رشد قرار می‌گیرد و تلقیح انواع ریزوباکتریایی که شامل ریزوباکتر *سودوموناس*، *آزوسپریلوم* و ازتوباکتر (به صورت مجزا و تلفیقی) سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه-زنی، شاخص بنیه بذر، طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک گیاه‌چه و ضریب سرعت کوتوسکی شد. به طوریکه ریزوباکتر *سودوموناس* پوتیدا سویه 169 و *آزوسپریلوم لیپوفروم* سویه *of* و تلفیقی از آنها در اکثر صفات جوانه‌زنی بذر استبرق، بیشترین تأثیر معنی‌دار را نسبت به عدم تقلیح (شاهد) و سایر تیمارها نشان دادند.

مطالعات مشابه روی سایر گونه‌ها با استفاده از ریزوباکترهای محرک رشد دلالت بر بهبود جوانه‌زنی بذر دارد. از این رو نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های یزدانی و پیردشتی (1390) روی گندم (*Triticum aestivum* L.)، یاداو و همکاران (2010) روی نخود (*Cicer arietinum* L.)، نوماوو و همکاران (2013) و شریفی و خاوازی (1390) روی ذرت (*Zea mays* L.)، معین زاده و همکاران (2010) روی آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، همخوانی دارد. همچنین، در این تحقیق تلقیح تلفیقی ریزوباکتریایی محرک رشد سبب افزایش برخی صفات جوانه‌زنی بذر استبرق از جمله ،میانگین زمان جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن ترگیاهچه و شاخص بنیه بذر شده است که احتمالاً بیانگر ارتقاء رابطه هم‌افزایی تلقیح انفرادی و تلفیقی ریزوباکتریایی با سایر میکروارگانیزم‌ها می‌باشد (پان و همکاران 1999، رودلاس و همکاران، 1999).

Archive of SID

www.SID.ir

یافته‌های سایر محققین از جمله یزدانی و پیردشتی (1390) و باشان (1997) نیز دلالت بر نقش مؤثر تلقیح تلفیقی ریزوباکتریایی محرک رشد بر بهبود صفات فیزیولوژیک گیاه دارد.

نوماوو و همکاران (2013) با بررسی اثرات ریزوباکتریایی محرک رشد گیاهی مختلف بر جوانه زنی بذر و توسعه گیاهچه ذرت دریافتند که بالاترین درصد جوانه زنی و شاخص بنیه در تلقیح ترکیبی ریزوباکتر *Pseudomonas fluorescens* و *P.putida* مشاهده شد.

بیشترین ارتفاع گیاه با تلقیح *Azosprillum lipoferum* با افزایش 37/2 درصدی و بیشترین وزن خشک اندام زمینی نیز با تلقیح *آزوسپریلوم لیپوفروم* با افزایش بیش از 56 درصد نسبت به شاهد بود. به‌طوریکه که تلفیق ریزوباکتر *Pseudomonas fluorescens* و *P.putida* وزن خشک اندام هوایی را تا 59/1 درصد افزایش دادند.

جدول 3- میانگین مربعات صفات جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق تحت تلقیح ریزوباکتریایی

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	متوسط زمان جوانه زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	وزن تر گیاهچه	وزن خشک گیاهچه	شاخص بنیه بذر	ضریب سرعت کوتوسکی
ریزوباکتریایی	7	0.048*	0.394**	4.652*	6.894*	58.4*	14499.2**	25.98**	31.89*	1.269**
خطا	24	0.003	0.063	2.567	3.383	19.76	7.05	0.026	7.81	0.504
کل	31									

**، * و ^{ns} به ترتیب معنی‌داری در سطح 1، 5٪ و عدم معنی‌داری است

جدول 4- مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق تحت تلقیح ریزوباکتریایی

تلقیح ریزوباکتریایی	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی (تعداد در روز)	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	وزن‌تر گیاه‌چه (میلی‌گرم)	وزن خشک گیاه‌چه (میلی‌گرم)	شاخص بنیه بذر	ضریب سرعت کوتوسکی
شاهد(عدم تلقیح)	38/5^{d} (0/009)	1/1^{c} (0/11)	11/28^{b} (1/46)	13/13^{b} (1/63)	12/34^{abc} (0/57)	341/62^{d} (0/07)	21/91^{g} (0/03)	9/83^{d} (0/9)	3/12^{b} (0/41)
سودوموناس	72^{a} (0/04)	1/8^{a} (0/15)	9/36^{ab} (0/14)	11/76^{ab} (0/73)	9/75^{c} (0/32)	214/7^{g} (0/07)	21/19^{h} (0/07)	15/57^{ab} (1/37)	3/73^{ab} (0/09)
آزوسپریلوم	48^{c} (0/03)	1/32^{b} (0/07)	10/23^{ab} (0/51)	16/14^{a} (0/98)	19/11^{ab} (2/66)	330/31^{e} (0/57)	27/88^{a} (0/03)	16/97^{ab} (2/34)	4/59^{a} (0/33)
ازتوباکتر	46^{d} (0/009)	1/36^{b} 0/09	10/35^{ab} (0/71)	13/27^{ab} (0/54)	10/25^{c} 0/36	288/8^{f} (3/68)	25/2^{e} (0/02)	10/95^{d} (0/49)	3/09^{b} (0/59)
سودوموناس+آزوسپریلوم	42^{cd} (0/02)	0/89^{c} 0/16	9/07^{ab} (0/80)	13/86^{ab} (0/78)	16/03^{abc} (2/45)	411/89^{a} (0/28)	25/7^{d} (0/2)	12/58^{bc} (1/44)	3/46^{ab} (0/22)
سودوموناس+ازتوباکتر	42^{cd} (0/02)	0/9^{c} (0/06)	7/97^{a} (0/93)	13/14^{ab} (0/79)	19/84^{a} (2/35)	385/12^{b} (0/16)	27/11^{c} (0/04)	13/81^{abc} (0/97)	3/76^{ab} (0/22)
ازتوباکتر+آزوسپریلوم	58^{b} (0/01)	1/13^{bc} (0/19)	10/77^{b} (0/53)	13/81^{ab} (0/28)	16/83^{abc} (3/21)	347/72^{c} (0/26)	27/56^{b} (0/02)	17/88^{a} (1/76)	4/43^{a} (0/43)
سودوموناس+ازتوباکتر+ آزوسپریلوم	48^{c} (0/02)	0/97^{bc} (0/05)	9/12^{ab} (0/61)	12/24^{b} (0/97)	15/53^{abc} (3/14)	346/97^{c} (0/16)	23/75^{f} (0/01)	13^{bc} (1/02)	4/14^{ab} (0/27)

میانگین‌های دارای حروف مشترک در ستون آزمون چند دامنه‌ای دانکن بیانگر عدم تفاوت معنی‌داری است

در تحقیقی روی کنگر فرنگی (*Cynara scolymus*) تلقیح تلفیقی ریزوباکتریایی *سودوموناس پوتیدا* + *ازتوباکتر* + *آزوسپیرلوم* بیشترین تأثیر را بر جوانه‌زنی و رشد اولیه داشت (جهانیان و همکاران، 2012). در تحقیقی دیگر، تلقیح ریزوباکتریایی بذر باعث افزایش گره‌زایی، جذب نیتروژن، رشد و تولیدگیاهان شد

Archive of SID

www.SID.ir

(ورما و همکاران، 2010). از طرفی می‌توان اظهار داشت که پاسخ رویشی گیاه، به ژنوتیپ و سویه ریزوباکتریایی آن بستگی دارد (خالد و همکاران، 2004).

از آنجا که مکانیزم تحریک رشدی ریزوباکتریایی هنوز به طور کامل شناخته نشده است اما بررسی‌ها نشان می‌دهد که ریزوباکترهای محرک رشد علاوه بر تثبیت نیتروژن (نیکولاری و همکاران، 2006) به تولید مواد مختلف محرک رشد از جمله اسید ایندول استیک (IAA)، جیبرلین‌ها، ویتامین‌ها و افزایش تارهای کشنده ریشه کمک می‌کنند (کاکماسی، 2005). امروزه محققین سنتز باکتریایی هورمون گیاهی IAA و تنظیم باکتریایی تولید اتیلن در گیاهچه‌های جوان را مهم‌ترین مکانیزم PGPR در تحریک رشد گیاهان می‌دانند (گلیک و همکاران، 1998). احتمال قوی وجود دارد که باکتری‌ها قادر به تولید و تغییر یکسری هورمون‌ها در گیاه از جمله جیبرلین که نقش کلیدی در جوانه‌زنی دارند، می‌باشند (هیل هورست و توروپ، 1997).

علت اصلی افزایش سرعت جوانه‌زنی در تلقیح ریزوباکتریایی به تولید هورمون‌های گیاهی (Phytohormons) مربوط می‌شود (توران و همکاران، 2006). این ریزوباکترها با افزایش سرعت جوانه‌زنی، افزایش طول و وزن ریشه‌چه، افزایش تعداد ریشه‌های جنینی و جانبی، تسریع در طویل شدن ریشه و استقرار گیاه، موجب افزایش کمی و کیفی گیاهان مختلف می‌شوند (دوبلر، 2003). ریزوباکترها با تحریک سنتز فیتوهورمون‌ها (ساریگ و همکاران، 1992) و کاهش اثرات پاتوژن‌ها (ولر و همکاران، 2002) سبب بهبود رشد گیاه و ریزوباکترهای دارای آنزیم ACC دِ آمیناز از طریق کاهش سطح اتیلن در گیاه باعث افزایش طول ریشه می‌گردند (گلیک، 2001).

به طور کلی، ریزوباکتر *سودوموناس* با تولید آنزیم‌های آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلات دِآمیناز[2] و سپس آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلات (ACC)[2] که پیش ماده مستقیم اتیلن در گیاهان را به آمونیاک و آلفا کتوبوتیرات[3]تجزیه می‌کند باعث کاهش غلظت اتیلن و افزایش طول ریشه می‌شود.

در پایان، با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که تلقیح تلفیقی ریزوباکترهای محرک رشد می‌تواند عامل مهمی در افزایش صفات جوانه‌زنی و بنیه بذر استبرق باشد تا از اینرو بتواند از مکانیزم‌ها و سویه-های مختلف ریزوباکتریایی اثر بخشی مؤثری بر بهبود صفات جوانه‌زنی بذر داشته باشد. پیشنهاد می‌شود تا تلقیح ربزوباکتریایی به عنوان یک رهیافت نوین در تحقیقات احیاء و توسعه پایدار رویشگاه‌های رو به تخریب درختچه دارویی و چند منظوره استبرق نیز به کار گرفته شود.

تشکر و قدردانی

از همکاری مسئولین محترم آزمایشگاه تکنولوژی مرتع دانشکده منابع طبیعی تربیت مدرس، بخش بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، کارشناسان مرکز رشد سازمان تحقیقات و جهاد خودکفایی نیروی دریایی سپاه پاسداران، مرکز تحقیقات منابع طبیعی بوشهر و تمامی کسانی که به نحوی در پیشبرد این تحقیق دخیل بودند بی نهایت سپاسگزاری و قدردانی می‌گردد.

فهرست منابع:

1. خائف، ن.، تقوایی، م.، صادقی، ح و نیازی، ع. 1390، بررسی اثرهای متقابل نور و درجه حرارت بر جوانه‌زنی بذر استبرق (*Calotropis procera* L)، مجله علمی پژوهشی مرتع، 5 (1):26-19
2. شریفی، س.ر.، خاوازی، ک. 1390. تأثیر باکتری‌های محرک رشد برگیاه بر مولفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت (*Zea mas* L.). نشریه بوم شناسی کشاورزی، 3(4):513-506.
3. کردستانی، م.، تقوایی، م.، افضلی، ف و زارعی م.1391، بررسی اثر پوشش آلی بر بنیه اولیه بذر استبرق (*Calotropis procera* L). اولین همایش ملی بیابان . تهران، مرکز تحقیقات بین المللی بیابان دانشگاه تهران.
4. تقوایی، م و کردستانی، م. 1391. بررسی تأثیر بستر کشت بر بنیه اولیه بذر استبرق(*Calotropis procera* L.)، اولین همایش ملی بیابان. تهران، مرکز تحقیقات بین المللی بیابان دانشگاه تهران.

Archive of SID

www.SID.ir

5. موسوی، ف و تقوایی، م. 1391. تأثیر سطوح مختلف سوپرجاذب بر بنیه اولیه و رشدگیاهچه استبرق (*Calotropis procera* L.)، اولین همایش ملی بیابان. تهران، مرکز تحقیقات بین المللی بیابان دانشگاه تهران.

6. یزدانی، م، پیردشتی، ه.1390، تأثیر ریزوباکترهای محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشدگیاهچه گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط شوری، نشریه زراعت،92(3):30-24.

7. AOSA. 1970. Tetrazolium Testing Handbook to the Handbook on Seed Testing, Prepared by the Tetrazolium Subcommittee of the Association of Official Seed Analysts.
8. Bashan, Y. and Holguin, G. 1997. Azosprillum-plant relationships: environmental and physiological advances. Canadaian Journal of Microbiology 43: 103-121.
9. Biradar, K.S., Salimath, P.M. and Ravikumar, R.L. 2007. Genetic variability for seedling vigour, yield and yield Components in local germplasm collections of Greengram (*Vigna radiata (*L.) wilczek). Karnataka Journal Agriculture Science 20 (3): 608-609.
10. Cakmaci, R., Akmakc, I. A., Figen, B. Adil., A. Fikrettin. S. and Ahin. B. C. 2005. Growth promotion of plants by plant growth promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. Biochemistry 38: 1482-1487.
11. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. and yacovokon, Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Review Plant Science 22: 107-149.
12. Gholami, A., Shahsavani, S., Nezarat, S. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of *maize*. International Journal of Biology Life Science 1(1): 35-40.
13. Gonzalez-Zertuche, L. and Orozco-Segovia, A. 1996. Metodos de analisis de datos en la germinacion de semillas, UN ejemplo: Manfreda brachystachya. Buletin de la Sociedad Botanica de Mexico 58: 15-30.
14. Glick**,** BR., Penrose, D. and Wendo, M. 2001. Bacterial promotion of plant growth. Biotechnology Advances19: 135-138.
15. Glick, B. R., Penrose, M.D. and Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth-promoting bacteria. Journal of Theoretical Biology 190: 63-68.
16. Jha, K.S., and Saref, M. 2011. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Seed Germination Behaviour and Seedling Vigor of *Jatropha curcas*. International journal of biotechnology and biosciences 1(1).
17. Jahanian**,** A., Chaichi, M R., Rezaei, K., Rezayazdi, K. and Khavazi, K. 2012. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination and Primary Growth of Artichoke (Cynara scolymus). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4 (14), 923-929.
18. Hilhorst, H.W.M and Toorop, P.E. 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. Advance of Agronomy 61: 111–165.
19. Khan, M.R., Talukdar, N.C. and Thakuria, D. 2003. Detection of *Azosprillum* and PSB in rice rhizosphere soil by protein and antibiotic resistance profile and their effect on grain yield of rice. Indian Journal of Biotechnology 2: 246-250.
20. Khnzada**,** S.K., Shaikh, W., Kazi, T.G. and Kabir, S. 2007. Antifungal activity, total protein and elemental analysis of seaweed, *Solie ria robusta* (Greville) Kylin from the coast of Karachi,Pakistan. Journal of Botany 39: 931-937.
21. Kulkarni, M.G, Street, R.A. and Staden, J.V. 2007, Germination and seedling growth requirements for propagation of *Diosscorea dregeana* (Kunth) Dur. And Schinz-A tuberous medicinal plant. South African Journal of Botany 33: 131-137.
22. Khirstova, P. and Tissot, M. 1995. Soda anthroquinone pulping of *Hibiscus sabdariffa* (Karkadeh) and *Calotropis procera* from Sudan. Bioresource Technology 53: 67-72.

Archive of SID

www.SID.ir

23. Khalid, A., Arshad, M and Zahir, Z.A. 2004. Screening plant growth-promoting wheat of yield for improving growth and rhizobacteria. Journal of Applied Microbiology 96 (3): 473-480.
24. Moeinzadeh, A., Sharif-Zadeh, F., Ahmadzadeh, M. and Heidari Tajabadi, F.2010. Biopriming of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed with *Pseudomonas fluorescens* for improvement of seed invigoration and seedling growth. Australian Journal of Crop Science 4(7):564-570.
25. Noumavo, P. A., Kochoni, E., Didagbé, Y. O., Adjanohoun, A., Allagbé, M., Sikirou, R., Gachomo, E. W., Kotchoni, S. O. and Baba-Moussa, L. 2013. Effect of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination and Seedling Development, American Journal of Plant Sciences 4:1013-1021.
26. Nikolay, S., Strigul A. and Kravchenko. V. 2006. Mathematical modeling of PGPR inoculation in to the rhizosphere. Environmental Modeling and Software 21: 1158- 1171.
27. Panwar, P. and Bhardwaj, S.D. 2005. Handbook of practical forestry, Agrobios (India), 191p.
28. Pan, B., Bai, Y. M. Leibovitch, S. and Smith. D. L. 1999. Plant growth promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short-growing-season area. European Journal of Agronomy 11(4):179-186.
29. Rodelas, B., Lopez, J., G. Toledo., M. V. Pozo., C. and Salmeron, V. 1999. Influence of Rhizobium/Azotobacter and Rhizobium/Azosprillum combined inoculation on mineral composition of faba bean (*Vicia faba* L.). Biology and Fertility of Soils 29: 165–169.
30. Shirinzadeh, A., Soleimanzadah, H. and Shirinzadeh, Z. 2013. Effect of Seed Priming with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Agronomic Traits and Yield of Barley Cultivars. World Applied Sciences Journal 21 (5): 727-731.
31. Taghvaei, M., Khaef, N., Sadeghi H. 2012. The effects of salt stress and prime on germination improvement and seedling growth of *Calotropis procera* L.seeds. Journal of Ecology and Biology 35 (2):73-78.
32. Turan, M., Ataoglu N. and Sahin, F. 2006 Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. Sustainable Agriculture 28: 99-108.
33. Verma, J.P., Yadav, J., Taiwari, K.N. and Singh, V. 2010.Impact of Plant Growth Promotion Rhizobacteria on Crop Production, International Journal of Agricultural Research 5(11):954-983.
34. Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., Mcspadden, B.B. and Thomashow, L.S. 2002.Microbial populations responsible for specific soil suppressive- ness to plant pathogens. Annual. Review. Phytopathology 40:309–348.
35. Xie, H., Pasternak, J.J. and Glick, B.R. 1996. Isolation and character- ization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that over produce indoleacetic acid. Currently Microbiology 32: 67–71.
36. Yazdani, M., Bahmanyar, M. A., Pirdashti, H. and Esmaili, M. 2009. Effect of Phosphate solubilization microorganisms (PSM) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of Corn (*Zea mays* L.). Proc World Academic Science Engineering Technology 37: 90-92.
37. Yadav, J., Verma, J. P. and Tiwari, K. N. 2010. Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Seed Germination and Plant Growth Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under in Vitro Conditions. In Biological: Forum-Annual of International Journal 2:15-18.
38. Zahir, Z. A., Arshad, M. and Frankenberger, W. T. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: application and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy 81: 97-167.

Archive of SID

www.SID.ir