



## تأثیر بایوپرایمینگ بذر بر برخی از ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گونه *Astragalus ovinus* Boiss در شرایط تنش خشکی

مرضیه ثابتی قهفرخی<sup>۱</sup>، الهام قهساره اردستانی<sup>۲</sup>، پژمان طهماسبی کهیانی<sup>۳\*</sup>، فرزانه نیکوخواه<sup>۲</sup>

۱. کارشناسی ارشد مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
  ۲. استادیار، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ آزمایشگاه مرکزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
  ۳. دانشیار، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
- \* نویسنده مسئول: [pejman.tahmasebi@nres.sku.ac.ir](mailto:pejman.tahmasebi@nres.sku.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۰۵

### چکیده

پژوهش حاضر برای بررسی تأثیر بایوپرایمینگ بذر همراه باکتری‌های محرک رشد گیاهی بر برخی از صفات جوانه‌زنی و رشد گونه *Astragalus ovinus* Boiss در شرایط تنش خشکی صورت گرفت. پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در بررسی حاضر صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، کلروفیل a، b، کاروتنوئید، وزن تر و خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه، برگ جنینی و گیاه‌چه و طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاه‌چه اندازه‌گیری شد. عامل اول، باکتری‌های محرک رشد گیاهی در پنج سطح شامل *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula، *Bacillus cereus* Frankland، *Azospirillum lipoferm* (Beijerinck) Tarrand، *Azotobacter chroococcum* Beijerinck و تیمار شاهد مورد بررسی قرار گرفت. عامل دوم تنش خشکی بود که در ۴ سطح شامل صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ مگاپاسکال اعمال شد. از میان چهار باکتری مورد استفاده در تلقیح بذرها، باکتری‌های *A. chroococcum* و *lipoferm* به دلیل عدم موفقیت جوانه‌زنی حذف و به عنوان عامل بیماری‌زا شناسایی شد. نتایج پژوهش حاضر حاکی از این است که بهره‌گیری از دو باکتری محرک رشد *P. aeruginosa* و *B. cereus* کل ویژگی‌های جوانه‌زنی (درصد، سرعت، میانگین مدت جوانه‌زنی و بنیه بذر) و رشد (وزن تر و خشک، طول، رنگدانه‌های فتوسنتز) گونه *A. ovinus* را افزایش داد. همچنین بر پایه نتایج می‌توان استنباط کرد که این دو باکتری در سطح‌های مختلف تنش خشکی بر افزایش رشد گیاه *A. ovinus* موثر بوده‌اند. به طور کلی، این دو باکتری نقش کاهشی بر روی تأثیر منفی تنش خشکی در گیاه *A. ovinus* داشته‌اند.

واژگان کلیدی: تلقیح باکتری؛ تنش اسمزی؛ جوانه‌زنی بذر؛ رنگدانه‌های فتوسنتز

## ■ مقدمه

تنش‌های محیطی به طور رایج عامل خارجی هستند که تأثیر زیان‌آور بر گیاهان دارند. تنش آبی یا همان تنش خشکی یکی از مهمترین عوامل محدودکننده تولیدهای گیاهی در دنیا است که در حدود ۲۵ درصد از تولید زمین‌های جهان را مورد تأثیر قرار داده است (۳۸). مقدار خسارت وارده به گیاه در اثر تنش آبی، بسته به طول مدت خشکی، زمان وقوع تنش، فراوانی وقوع تنش، نوع گیاه، مرحله رشد و نمو گیاه و خصوصیات ذاتی خاک متفاوت است. گیاهان بر اساس این که در چه مرحله‌ای از نمو خود در معرض تنش خشکی و کم آبی قرار گرفته باشند به طور کاملاً متفاوتی به کمبود رطوبت واکنش نشان می‌دهند. در اغلب گیاهان، مرحله ابتدایی رشد، جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه به‌عنوان حساس‌ترین مرحله رشدی تلقی می‌شود که با موفقیت گذراندن این دوره نقش مهمی را در مراحل دیگر استقرار گیاه خواهد داشت (۲۹).

همچنین طبیعت زیستی برخی از گونه‌های گیاهی موجب پیدایش سازگاری‌های خواب بذر شده است. چنین پدیده‌ایی، ضمن اینکه برای بقا و ذخیره ژنتیکی گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک ضروری است، می‌تواند موجب بروز مشکل جدی در تکثیر و اهلی کردن گیاهان شود، به‌طوری‌که بذر بسیاری از این گیاهان حتی در صورت واقع شدن در موقعیت مساعد رطوبتی و حرارتی قادر به جوانه‌زنی نیست (۴۱).

احیا و زادآوری در رویشگاه‌های طبیعی برخی از گونه‌های گیاهی در ایران با مشکلات شدید تنش‌های محیطی، خواب بذر (خفتگی) و از طرفی برداشت غیراصولی از این منابع، رویشگاه‌های طبیعی را از گونه‌های خوشخوراک خالی و در برخی از مناطق امکان حضور آن‌ها قطعی به نظر می‌رسد، ولی این گونه‌ها در حد تک پایه‌هایی بر جای مانده‌اند، مواجه بوده و این رویشگاه‌ها هر چه سریعتر در معرض از بین رفتن، هستند (۴۱).

امروزه فناوری‌های مختلفی برای افزایش کیفیت بذر با هدف افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه تحت شرایط نامساعد محیطی از

جمله تنش خشکی و شکستن خواب بذر مورد استفاده است. یکی از این فناوری‌ها، تیمار پیش از کاشت یا پرایمینگ<sup>۱</sup> بذر است (۲۴). در حال حاضر، تقویت زیستی بذر با به کارگیری باکتری‌های محرک رشد گیاه<sup>۲</sup> یکی از کارآمدترین روش‌های بایوپرایمینگ<sup>۳</sup> بذر است. باکتری‌های محرک رشد گیاهی به دو طریق مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و نمو گیاه اثر می‌گذارند. در روش مستقیم باکتری‌های محرک رشد گیاهی با تولید ترکیبات خاص و موثر و نیز با تسهیل در جذب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، رشد آن را بهبود می‌بخشند. در روش غیرمستقیم، این باکتری‌ها با حذف و یا تعدیل برخی از اثرات مضر ریز جانداران بیماری‌زا، به سلامت گیاه کمک کرده و در نهایت منجر به افزایش رشد گیاه می‌گردند (۱۷، ۳۲).

هم اکنون مدارک و شواهدی که دلالت بر توانایی این باکتری‌ها در افزایش مقدار تحمل گیاهان نسبت به تنش‌های زنده و غیرزنده نظیر خشکی، شوری، کمبود عناصر غذایی و سمیت فلزات، رو به افزایش است (۲، ۱۴). مطالعه اثر تنش آبی روی جوانه‌زنی سه گونه *Agropyron A. desertorum*, *elongatum* (Host) P. Beauv. و *Secale montanum* (Fischer ex Link) Shultes Guss نشان داده است که کاهش پتانسیل آبی موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی، رشد ساقچه‌چه و ریشه‌چه شده است (۴۰). در پژوهشی دیگر از بین چهار سطح باکتری شامل تیمار شاهد، *Azotobacter chroococcum*، *Pseudomonas fluorescens* A. Weir، Beijerinck و *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula (MSU) بیشترین درصد جوانه‌زنی، زیست توده و ارتفاع بوته گیاه *Zea mays* L. یا ذرت از تلقیح باکتری *Azotobacter chroococcum* حاصل شده است و باکتری‌های محرک رشد بر درصد جوانه‌زنی و حداکثر سرعت جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری دارند (۵). در بررسی مرتبط با تأثیر بایوپرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه *Brassica napus* L یا کلزا مشخص

<sup>1</sup> Priming

<sup>2</sup> Plant Growth Promoting Bacteria =PGPB

<sup>3</sup> Biopriming

*ovinus* چندساله به ارتفاع ۳۵-۳۰ سانتی‌متر، بدون ساقه یا دارای ساقه بسیار کوتاه و دارای گل آذین قاعده‌ای، جام زرد، بدون کرک، میوه بیضوی بدون کرک و در راس منقاردار، منقار خمیده است (۲۳). گونه گیاهی *A. ovinus* دارای علوفه مرغوب است و برای گوسفند، بز، گاو و زنبور عسل مناسب است (۱۵). این گونه دارای دامنه زیست محیطی بسیار وسیعی است به طوی که در استان‌های آذربایجان، کردستان، باختران، لرستان، همدان، اصفهان، یزد، چهارمحال و بختیاری، فارس و تهران است (۲۳).

بررسی‌های انجام شده در زمینه مقاومت به تنش خشکی گیاهان با تلقیح بذر گیاه با باکتری‌های محرک رشد در ایران بیشتر روی گیاهان زراعی صورت گرفته است و در رابطه با گیاهان مرتعی تحقیقات ناچیزی صورت گرفته است، بنابراین لازم است در این زمینه تحقیقات وسیع‌تری صورت گیرد.

با توجه به اینکه حضور *A. ovinus* در رویشگاه‌های طبیعی به علت مواجه شدن با خشکسالی‌های مداوم و کمبود آب، خواب بذر و بهره‌برداری غیر اصولی کم شده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی کارایی و نقش تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد گیاهی بر تحمل به خشکی گونه *A. ovinus* در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. ضروری است با انجام این سری پژوهش‌ها حضور این گیاه را در رویشگاه‌های طبیعی از طریق کشت بذور آن با کاربرد فناوری‌های جدید و موثر در جهت ارتقای کیفیت بذر در سطح انبوه فراهم و باعث ارتقاء کیفیت مراتع کشور شود.

#### ■ مواد و روش‌ها

آزمایش در آزمایشگاه کشت و تکثیر بذر دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهرکرد در قالب آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد آزمایش در پژوهش حاضر شامل تیمارهای تلقیح باکتریایی در ۵ سطح شامل *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter)، *Migula Azospirillum lipoferm* (Beijerinck)، *Bacillus cereus* Frankland, Tarrand و *Azotobacter chroococcum* Beijerinck تیمار شاهد

شده است که بذرهای تلقیح یافته با *Pseudomonas putida* و *P. fluorescens* با افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه همراه شده است (۱۷). در پژوهشی، تأثیر باکتری‌های محرک رشد را روی جوانه‌زنی، رشد و مصرف مواد غذایی گونه *Onobrychis sativa* L. یا اسپرس تحت تنش خشکی نشان داده است که تحت تنش خشکی، تیمار ترکیب دو باکتری *Pantoea P. putida* و *agglomerans* (Tilford) Dowson (Trevisan) Migula در سطح ظرفیت زراعی سرعت جوانه‌زنی بذر این گونه را افزایش داده است در حالیکه اثر معنی‌داری روی درصد جوانه‌زنی ندارند (۱۱). در پژوهشی تأثیر بایوپرایمینگ بذر با ریزوباکترهای *Azospirillum* sp. و *Azotobacter* sp. بر عملکرد و مقاومت به تنش خشکی در گونه *Festuca arundinacea* Schreb یا فستوکای پابلند بررسی شده است. نتایج نشان داده است که تیمارهای بایوپرایمینگ در صفات مورد مطالعه موجب بهبود عملکرد نسبت به شاهد و افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی شده است (۲۸). در مطالعه‌ای تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های جوانه‌زنی *Medicago sativa* L. یا یونجه تحت تنش شوری از میان شاخص‌های مورد بررسی، شاخص درصد جوانه‌زنی یونجه با تلقیح باکتری‌های *Azotobacter* sp. و *Pseudomonas* sp. به نحو مطلوبی افزایش داد و به بالاترین مقدار خود در تیمار تلفیقی *Azotobacter* sp. و *Pseudomonas* sp. رسید (۳۸). در بررسی تأثیر بایوپرایمینگ گیاه *Helianthus annuus* L. یا آفتابگردان برای غلبه بر تنش خشکی و شوری طی مراحل جوانه‌زنی گزارش شده است که تأثیر بایوپرایمینگ به‌ویژه در باکتری‌های *Azotobacter* sp. و *Azospirillum* sp. بر سرعت، درصد و طول ریشه‌چه در پتانسیل‌های آب پایین‌تر یا به عبارتی منفی‌تر بیشتر نمایان شده است و بایوپرایمینگ در تنش‌های کمتر تأثیر چندانی بر سرعت، درصد و طول ریشه‌چه این گیاه ندارد (۱۳).

گیاه *Astragalus ovinus* Boiss متعلق به خانواده Papilionaceae و جنس گون می‌باشد. گونه گیاهی *A.*

به مدت یک ساعت با این مایه تلقیح آغشته شدند تا عمل تلقیح صورت گرفت (۷).

برای ارزیابی مقاومت به تنش خشکی یا همان تنش اسمزی در مرحله جوانه‌زنی و ایجاد سطوح مختلف پتانسیل آب از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ جهت سطوح خشکی ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ - مگاپاسکال به ترتیب ۰/۶، ۱/۴ و ۲/۰۵ گرم پودر در یک لیتر آب مقطر طبق دستورالعمل میچل و کافمن (۲۵) استفاده شد. همچنین برای ایجاد سطح شاهد خشکی با پتانسیل صفر از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد.

بلافاصله پس از تلقیح، بذره‌های تلقیح داده شده در ۳ تکرار ۲۰ تایی بر روی دو لایه کاغذ صافی واتمن در پتری دیش‌های به قطر ۸ سانتی‌متری قرار داده شدند. سپس مقدار ۷ میلی‌لیتر از محلول مربوط به اعمال سطوح خشکی به هر کدام اضافه شد. سپس پتری دیش‌ها به شرایط ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت ۵۰ درصد در اتاق رشد انتقال داده شدند.

#### اندازه‌گیری صفات و شاخص‌های جوانه‌زنی

شمارش و ثبت بذره‌های جوانه زده هر روز به مدت ۲۱ روز انجام گرفت و خروج ریشه‌چه به طول دو میلی‌متر به عنوان معیار بذر جوانه زده در نظر گرفته شد (۲۰). سپس صفات مورد مطالعه جوانه‌زنی از جمله طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه با استفاده از خط‌کش، وزن تر و خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و برگ جنینی با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم و وزن خشک پس از خشک شدن در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شدند. در پایان شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر به ترتیب از روابط ۱، ۲، ۳ و ۴ محاسبه شد.

$$100 = (S/T) \times GP \quad (1)$$

در این رابطه  $GP^3$ : درصد جوانه‌زنی بذور، S: تعداد بذور جوانه زده، T: تعداد کل بذور است (۱۹).

و سطوح تنش خشکی در ۴ سطح صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ - مگاپاسکال بود. در ضمن باکتری‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر توسط آزمایشگاه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد شناسایی شدند.

#### جمع‌آوری بذر

بذور گونه *Astragalus ovinus* Boiss در منطقه کرسنگ از توابع شهرستان شهرکرد، استان چهارمحال و بختیاری با وسعتی معادل ۶۰۰ هکتار بین مختصات جغرافیایی ۳۰° ۳۲' تا ۳۲° ۳۲' عرض شمالی و ۲۷° ۵۰' تا ۲۹° ۵۰' طول شرقی در فصل تابستان سال ۱۳۹۶ جمع‌آوری شدند.

#### آماده‌سازی بستر کشت و بذور

مجموع وسایل مورد استفاده در آزمایش من جمله پتری دیش، کاغذ واتمن و پنس در اتوکلاو استریل شد (۴۰). تعداد ۲۰ بذر به طور تصادفی برای هر پتری دیش انتخاب و پس از ضدعفونی به مدت ۳۰ ثانیه با هیپوکلرید سدیم ۱۰ درصد و شستشو با آب مقطر آماده مراحل بعدی آزمایش شد. ابتدا قبل از تلقیح بذور با باکتری‌ها بهترین تیمار جوانه‌زنی که تیمار آب داغ با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد است به مدت ۵ دقیقه بر روی این گونه اعمال شد (۱۰).

#### اعمال تیمارها

مایه تلقیح باکتری‌های مورد آزمایش با استفاده از محیط TSB<sup>۱</sup> و روش کدورت سنجی به نحوی تهیه شد که جمعیت  $5 \times 10^8$  سلول زنده باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح وجود داشته باشد (۷). برای تهیه مایه تلقیح مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ذخیره فریزری روی محیط کشت TSA<sup>۲</sup> و درون انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت تک کلونی باکتری به محیط کشت TSB انتقال یافت و در شیکر با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرار گرفت تا باکتری‌ها تخلیص و تکثیر شدند (۷). سپس بذور

<sup>1</sup> Tryptic Soy Broth

<sup>2</sup> Tryptic Soy Agar

<sup>3</sup> Germination percentage

## طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها

در آمار، تحلیل واریانس، مجموعه‌ای از مدل‌های آماری و روندهای وابسته به آن می‌باشد. به‌طور کلی تحلیل واریانس، میانگین‌ها را با استفاده از تخمین‌های واریانس با هم مقایسه می‌کند که در واقع مربوط به تغییرپذیری بین گروه‌ها و درون گروه‌ها است. در تقسیم‌بندی کلی می‌توان چندین نوع (طرح) تحلیل واریانس را بسته به تعداد متغیرهای مستقل و شیوه‌ایی که آن‌ها برای آزمودنی‌ها (گروه‌ها) به کار برده می‌شوند، و تعداد متغیرهای وابسته مورد استفاده در مدل در نظر گرفت. مدل‌سازی خطی عمومی چندین متغیر وابسته، از مدل‌های پیشرفته‌تر تحلیل واریانس محسوب می‌گردد که شامل مدل خطی عمومی  $(GLM^4)$  چند متغیره و مدل خطی عمومی با اندازه‌های تکراری<sup>5</sup> است (۸).

در پژوهش حاضر، در مجموع با بهره‌گیری از رابطه دو عامل (باکتری و تنش خشکی) با هجده متغیر وابسته (تحلیل واریانس چند متغیره) ارزیابی شد و این عامل‌ها بین آزمودنی‌ها (گروه‌ها) و یا درون آزمودنی‌ها بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون مدل خطی عمومی چندین متغیر وابسته استفاده شد. میانگین داده با استفاده از روش آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت (۳۷).

## ■ نتایج

اثر باکتری‌ها بر برخی از ویژگی‌های رشد و جوانه‌زنی گونه *Astragalus ovinus*

از میان تیمارهای باکتری‌های تلقیح، باکتری‌های *Azospirillum lipoferm* (Beijerinck) Tarrand و *Azotobacter chroococcum* Beijerinck به دلیل عدم جوانه‌زنی از بین تیمارها حذف شدند. بنابراین تیمارهای باکتری‌های تلقیح از پنج تیمار به سه تیمار *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula و *Bacillus cereus* Frankland و تیمار شاهد کاهش یافت.

$$MGT = \Sigma(Dn/N) \quad (2)$$

در این رابطه  $MGT^1$ : میانگین مدت جوانه‌زنی،  $D$ : تعداد روزها از شروع جوانه‌زنی،  $n$ : تعداد بذر جوانه‌زده در روز  $am$ ،  $N$ : تعداد کل بذور جوانه‌زده است (۳۶).

$$GR = \Sigma(Gt/Dt) \quad (3)$$

در این رابطه  $GR^2$ : سرعت جوانه‌زنی،  $Gt$ : تعداد بذر جوانه‌زده در  $t$  روز،  $Dt$ : تعداد روزها پس از جوانه‌زنی است (۲۲).

$$VI = GP \times MSH \quad (4)$$

در این رابطه  $VI^3$ : شاخص بنیه بذر،  $GP$ : درصد جوانه‌زنی و  $MSH$ : میانگین طولی گیاهچه (ریشه‌چه + ساقه‌چه) به میلی‌متر است (۱، ۳۵).

## اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری محتوی کلروفیل  $a$ ،  $b$  و کاروتنوئید رنگدانه‌های فتوسنتزی ۰/۲۵ گرم از بافت تازه برگ جنینی در مرحله دو برگگی و ۲۱ روز بعد از جوانه‌زنی بذر هر تیمار آزمایشگاهی انتخاب شد. نمونه‌ها پس از توزین با ۰/۱ گرم کربنات کلسیم در یک هاون چینی به طور همگن ساییده شد و با مقدار ۱۰ cc استون ۸۰٪ مخلوط شد. مخلوط حاصل در فالكون قرار داده شد و به مدت ۲۰ دقیقه با بهره‌گیری از لرزش‌گر (شیکر) به شدت به هم زده شد. سپس به مدت ۲ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل DR۶۰۰۰ کمپانی Hach شدت جذب محلول در طول موج‌های ۴۸۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد، سپس با استفاده از دستگاه مقدار کلروفیل  $a$ ،  $b$  و کاروتنوئید محاسبه شد (۷، ۲۶، ۳۴).

<sup>1</sup> Mean germination time<sup>2</sup> Germination rate<sup>3</sup> Vigor index<sup>4</sup> General Linear model<sup>5</sup> Repeated measured

میانگین طول گیاهچه و بنیه بذر در تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال تفاوت معنی دار با شاهد نداشته اما با افزایش تنش خشکی به ۰/۴- و ۰/۸- مگاپاسکال این دو شاخص کاهش معنی داری یافته‌اند. با اعمال تنش خشکی میانگین کلروفیل a و b نسبت به سطح شاهد خشکی کاهش معنی داری یافته‌اند. کمترین میانگین آن‌ها در تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال مشاهده شد و در سطوح ۰/۴- و ۰/۸- مگاپاسکال در میانگین دو صفت اختلاف معنی داری مشاهده نشد. میانگین طول ساقچه چه با افزایش تنش خشکی به طور معنی داری کاهش یافته است در صورتی که در سطوح ۰/۴- و ۰/۸- مگاپاسکال اختلاف معنی داری در میانگین این صفت مشاهده نشد. میانگین طول ریشه چه و وزن خشک برگ جنینی در سطح تنش خشکی ۰/۴- مگاپاسکال کمترین میانگین را دارا بودند که با سطح شاهد خشکی دارای اختلاف معنی دار بودند (جدول ۲).

**اثر متقابل باکتری و سطوح تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های رشد و جوانه‌زنی گونه *A. ovinus***  
نتیجه‌های تأثیر متقابل تلقیح انواع باکتری و سطوح مختلف خشکی نشان داد که اثر متقابل انواع باکتری و سطوح تنش خشکی به طور معناداری صفات وزن خشک گیاهچه، طول ریشه چه و گیاهچه را در سطح ۵ درصد مورد تأثیر قرار داد (جدول ۱).

میانگین عددی وزن خشک گیاهچه و طول ریشه چه و گیاهچه در تیمارهای تلقیح باکتری‌ها با سطوح مختلف تنش خشکی روی بذور، بیشتر از بذوری است که به تنهایی فقط تحت اعمال تنش خشکی قرار گرفته‌اند. به عبارتی دیگر زمانی که از باکتری‌های محرک رشد برای تیمارهای تنش خشکی روی بذور استفاده نشد، میانگین وزن خشک گیاهچه و طول ریشه چه و گیاهچه با سطوح مختلف تنش خشکی دارای کمترین میزان بود (شکل ۱- الف، ب و ج).

تیمارهای تلقیح باکتری در شرایط تنش خشکی ۰/۲- و ۰/۸- مگاپاسکال بیشترین افزایش را بر طول گیاهچه نسبت به شاهد باکتری در همان سطوح تنش خشکی دارا بود و باکتری *P. aeruginosa* بیشترین افزایش بر طول

بررسی نتایج نشان داد که اثر انواع باکتری بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده به جز وزن تر برگ جنینی بر بقیه صفات‌های اندازه‌گیری شده به طور معناداری در سطوح ۱ و ۵ درصد تفاوت داشت (جدول ۱).

تیمارهای باکتری‌های *P. aeruginosa* و *B. cereus* به تنهایی نسبت به تیمار شاهد، میانگین وزن تر ریشه چه، ساقچه چه و گیاهچه، وزن خشک ساقچه چه، برگ جنینی و گیاهچه، طول ساقچه چه، درصد جوانه‌زنی، بنیه بذر و سرعت جوانه‌زنی را به طور معناداری افزایش یافتند در صورتی که اختلاف معنی داری بین دو تیمار باکتری مشاهده نشد. میانگین مدت جوانه‌زنی در تیمارهای باکتری‌های *P. aeruginosa* و *B. cereus* به طور معناداری کمتر از تیمار شاهد بود. میانگین وزن تر برگ جنینی بین تیمار باکتری‌های *P. aeruginosa* و *B. cereus* و تیمار شاهد اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۲).

باکتری *P. aeruginosa* دارای بیشترین میانگین طول ریشه چه، گیاهچه، کلروفیل a و کلروفیل b بود که نسبت به تیمار باکتری *B. cereus* و تیمار شاهد در این چهار صفت تفاوت معناداری را نشان داد. همچنین باکتری *P. aeruginosa* دارای بیشترین میانگین کاروتنوئید بود که نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی دار بود. باکتری *B. cereus* دارای بالاترین میانگین وزن خشک ریشه چه بود که نسبت به باکتری *P. aeruginosa* و تیمار شاهد اختلاف معناداری را نشان داد (جدول ۲).

**اثر تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های رشد و جوانه‌زنی گونه *A. ovinus***

بررسی نتایج نشان داد که اثر سطوح تنش خشکی به استثنای وزن تر (ریشه چه، ساقچه چه، برگ جنینی و گیاهچه)، وزن خشک ریشه چه و ساقچه چه، درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بر بقیه صفات اندازه‌گیری شده به طور معناداری در سطوح ۱ و ۵ درصد تفاوت داشتند (جدول ۱).

سطح شاهد خشکی بالاترین میانگین وزن خشک گیاهچه و کاروتنوئید را به طور معنادار نشان داد و دیگر سطوح‌های تنش خشکی باهم اختلاف معنی دار نداشتند.

خشک گیاهچه نسبت به تیمار شاهد باکتری در همان سطوح تنش خشکی را نشان دادند (شکل ۱- ج).

#### همبستگی بین صفات مورد ارزیابی

بررسی نتایج ضرایب همبستگی نشان داد که میانگین مدت جوانه‌زنی دارای همبستگی بالا، منفی و معنادار با درصد جوانه‌زنی بود. سرعت جوانه‌زنی با درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر همبستگی بالا، مثبت و معنادار و با میانگین مدت جوانه‌زنی همبستگی بالا، منفی و معنی‌دار داشت. بنیه بذر همبستگی زیاد، مثبت و معنادار با طول گیاهچه و درصد جوانه‌زنی را نشان داد. وزن تر گیاهچه دارای همبستگی بالا، مثبت و معنادار با وزن تر ریشه‌چه، ساقه‌چه و برگ جنینی بود. وزن تر برگ جنینی همبستگی مثبت، بالا و معنی‌دار با وزن تر ساقه‌چه داشت. وزن خشک گیاهچه با وزن خشک ساقه‌چه همبستگی بالا، مثبت و معنادار داشت. طول گیاهچه دارای همبستگی زیاد، مثبت و معنادار با طول ریشه‌چه نشان داد. کلروفیل b با کلروفیل a و کاروتنوئید دارای همبستگی بالا، مثبت و معنادار بود (جدول ۳).

گیاهچه را در شرایط شاهد خشکی نسبت به شاهد باکتری در همان سطح شاهد خشکی نشان داد (شکل ۱- الف).

تلقیح باکتری محرک رشد *B. cereus* در شرایط تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال موجب بیشترین افزایش طول ریشه‌چه به مقدار ۲/۷۰۰ میلی‌متر شد که به طور معنادار نسبت به شاهد باکتری در همان سطح تنش خشکی دارای اختلاف معنی‌دار بود. باکتری *P. aeruginosa* در شرایط تنش خشکی صفر و ۰/۸- مگاپاسکال نسبت به تیمار شاهد باکتری در همان سطوح تنش خشکی باعث افزایش طول ریشه‌چه شد (شکل ۱- ب).

تلقیح باکتری *P. aeruginosa* و *B. cereus* در شرایط تنش خشکی ۰/۸- مگاپاسکال نسبت به تیمار شاهد در همان سطح تنش خشکی دارای بیشترین افزایش میانگین وزن خشک گیاهچه بود در صورتی که این دو تیمار باکتری در این سطح تنش خشکی اختلاف معنی‌داری را با هم نشان ندادند. تلقیح باکتری *P. aeruginosa* در شرایط تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال و *B. cereus* در شرایط سطح شاهد خشکی بیشترین وزن

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات‌های مورد بررسی در گونه *Astragalus ovinus* در شرایط سطوح خشکی (اعداد داخل جدول آمار F هستند)

منبع تغییرات	df	شماره صفت	نوع باکتری (A)	تنش خشکی (B)	AxB
درجه آزادی					
ریشه‌چه	۱	۱	۵/۳۴۱*	۲/۳۲۱ <sup>ns</sup>	۰/۹۱۶ <sup>ns</sup>
ساقه‌چه	۲	۲	۵/۱۶۷*	۱/۵۸۷ <sup>ns</sup>	۱/۹۲۵ <sup>ns</sup>
وزن تر (گرم)	۳	۳	۱/۴۳۷ <sup>ns</sup>	۱/۷۰۹ <sup>ns</sup>	۱/۱۹۸ <sup>ns</sup>
گیاهچه	۴	۴	۳/۶۰۶*	۱/۹۹۳ <sup>ns</sup>	۱/۴۲۴ <sup>ns</sup>
ریشه‌چه	۵	۵	۲۳/۹۶۸**	۲/۷۳۳ <sup>ns</sup>	۱/۹۷۹ <sup>ns</sup>
ساقه‌چه	۶	۶	۴/۳۶۷*	۲/۳۹۴ <sup>ns</sup>	۱/۲۵۵ <sup>ns</sup>
وزن خشک (گرم)	۷	۷	۶/۳۸۸**	۵/۰۷۵**	۲/۱۶۹ <sup>ns</sup>
برگ جنینی	۸	۸	۰/۲۴۰**	۳/۵۶۳*	۱/۷۴۴*
گیاهچه	۹	۹	۱۸/۵۵۸**	۶/۳۶۹**	۲/۸۵۵*
ریشه‌چه	۱۰	۱۰	۲۰/۲۹۵**	۲۰/۲۸۹**	۱/۴۰۳ <sup>ns</sup>
ساقه‌چه	۱۱	۱۱	۲۲/۷۴۱**	۹/۶۱۱**	۳/۱۷۷*
گیاهچه	۱۲	۱۲	۱۹/۱۳۲**	۰/۸۷۴ <sup>ns</sup>	۱/۰۱۵ <sup>ns</sup>
درصد جوانه‌زنی	۱۳	۱۳	۱۸/۰۴۸**	۱/۸۴۵ <sup>ns</sup>	۱/۷۲۸ <sup>ns</sup>
میانگین مدت جوانه‌زنی	۱۴	۱۴	۳۵/۲۵۴**	۵/۵۳۵**	۱/۱۴۲ <sup>ns</sup>
بنیه بذر	۱۵	۱۵	۵/۵۵۷**	۸/۰۰۸**	۲/۰۷۴ <sup>ns</sup>
کاروتنوئید	۱۶	۱۶	۱۳/۶۰۷**	۷/۳۲۶**	۲/۴۶۶ <sup>ns</sup>
کلروفیل a	۱۷	۱۷	۱۱/۸۵۸**	۸/۶۴۳**	۲/۴۲۷ <sup>ns</sup>
کلروفیل b	۱۸	۱۸	۲۰/۰۰۰**	۰/۹۰۰ <sup>ns</sup>	۱/۰۰۰ <sup>ns</sup>
سرعت جوانه‌زنی					

\*، \*\* : به ترتیب معنادار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و <sup>ns</sup>: عدم معناداری

## ■ بحث و نتیجه‌گیری

تأثیر باکتری‌ها بر برخی از ویژگی‌های رشد و

جوانه‌زنی گونه *Astragalus ovinus*

در پژوهش حاضر، باکتری‌های *Azospirillum* در *Azotobacter* و *lipoferm* (Beijerinck) Tarrand *chroococcum* Beijerinck به عنوان عامل بیماری‌زا برای گونه *Astragalus ovinus* معرفی شدند. در مطالعه‌ای گزارش شده است که تلقیح بذور *Triticum aestivum* L. یا گندم با *Azospirillum* sp. و *Azotobacter* sp. به تنهایی موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذر نسبت به تیمار شاهد شده است (۳۷). در صورتی که این دو باکتری در پژوهش حاضر به-عنوان عامل بیماری‌زا برای گونه *A. ovinus* شناخته شدند، که نتایج این مطالعه با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی ندارد.

افزایش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و عملکرد گیاه با استفاده از تیمارهای باکتری در دیگر

بررسی‌ها نیز ذکر شده است. افزایش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذر پایه مناسبی برای موفقیت مراحل بعد از جوانه زدن به شمار می‌رود. بنابراین می‌تواند شرایط مناسبی برای استقرار سریعتر گیاهچه، به خصوص در شرایط رخداد تنش ایجاد نماید (۳۷). همچنین *Azospirillum* spp.، *Pseudomonas* spp. و *Azotobacter* spp. بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه *Zea mays* L. از تأثیر مثبت و معناداری برخوردار است (۱۶). تیمار تلقیح *Pseudomonas* sp. و *Bacillus* sp.، سرعت جوانه‌زنی بذور *Hordeum vulgare* cv. Tokak جو را نیز افزایش داد (۲۷). همچنین در گیاهانی مانند *Saccharum officinarum* L. یا نیشکر (۳۰)، *Zea mays* L. (۲۷) و *Cynara scolymus* L. یا کنگرفرنگی (۲۱) افزایش سرعت جوانه‌زنی و عملکرد توسط این باکتری‌ها گزارش شده است که با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

جدول ۲. مقایسه میانگین تأثیر باکتری‌های محرک رشد و تنش خشکی بر صفات‌های مورد بررسی در گونه *Astragalus ovinus*

تیمارها	صفات	سطوح تلقیح باکتری			سطوح تنش خشکی (مگاپاسکال)		
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus cereus</i>	تیمار شاهد	سطح شاهد	-۰/۲	-۰/۴
وزن تر (گرم)	ریشه‌چه	۰/۱۸۳ <sup>a</sup>	۰/۱۸۳ <sup>a</sup>	۰/۱۱۹ <sup>b</sup>	۰/۲۰۱ <sup>a</sup>	۰/۱۳۴ <sup>a</sup>	۰/۱۵۰ <sup>a</sup>
	ساقه‌چه	۰/۴۸۰ <sup>a</sup>	۰/۴۹۲ <sup>a</sup>	۰/۳۲۷ <sup>b</sup>	۰/۵۱۷ <sup>a</sup>	۰/۳۷۹ <sup>a</sup>	۰/۴۲۳ <sup>a</sup>
	برگ جنینی	۰/۵۵۵ <sup>a</sup>	۰/۵۴۷ <sup>a</sup>	۰/۴۴۳ <sup>a</sup>	۰/۶۱۴ <sup>a</sup>	۰/۴۲۳ <sup>a</sup>	۰/۵۰۴ <sup>a</sup>
وزن خشک (گرم)	گیاه‌چه	۱/۲۱۸ <sup>a</sup>	۱/۲۲۲ <sup>a</sup>	۰/۸۹۰ <sup>b</sup>	۱/۳۳۲ <sup>a</sup>	۱/۰۹۳ <sup>a</sup>	۱/۰۷۲ <sup>a</sup>
	ریشه‌چه	۰/۰۳۵ <sup>b</sup>	۰/۰۴۱ <sup>a</sup>	۰/۰۲۰ <sup>c</sup>	۰/۰۳۷ <sup>a</sup>	۰/۰۲۷ <sup>a</sup>	۰/۰۳۱ <sup>a</sup>
	ساقه‌چه	۰/۰۷۰ <sup>a</sup>	۰/۰۶۸ <sup>a</sup>	۰/۰۵۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷۴ <sup>a</sup>	۰/۰۶۰ <sup>a</sup>	۰/۰۵۲ <sup>a</sup>
طول (میلی‌متر)	برگ جنینی	۰/۰۷۴ <sup>a</sup>	۰/۰۸۰ <sup>a</sup>	۰/۰۶۴ <sup>b</sup>	۰/۰۸۳ <sup>a</sup>	۰/۰۷۲ <sup>ab</sup>	۰/۰۷۴ <sup>a</sup>
	گیاه‌چه	۰/۱۸۰ <sup>a</sup>	۰/۱۹۰ <sup>a</sup>	۰/۱۳۴ <sup>b</sup>	۰/۱۹۴ <sup>a</sup>	۰/۱۷۰ <sup>b</sup>	۰/۱۵۷ <sup>b</sup>
	ریشه‌چه	۲/۵۷۳ <sup>a</sup>	۱/۸۶۷ <sup>b</sup>	۱/۲۱۰ <sup>c</sup>	۲/۱۸۲ <sup>a</sup>	۲/۱۸۸ <sup>a</sup>	۱/۷۷۸ <sup>ab</sup>
درصد جوانه‌زنی	ساقه‌چه	۱/۸۵۷ <sup>a</sup>	۲/۰۰۶ <sup>a</sup>	۱/۴۴۰ <sup>b</sup>	۲/۲۲۴ <sup>a</sup>	۱/۸۲۶ <sup>b</sup>	۱/۵۰۹ <sup>c</sup>
	گیاه‌چه	۴/۴۳۱ <sup>a</sup>	۳/۸۷۲ <sup>b</sup>	۲/۶۵۰ <sup>c</sup>	۴/۴۰۷ <sup>a</sup>	۴/۰۱۳ <sup>a</sup>	۳/۲۸۷ <sup>b</sup>
	میانگین مدت جوانه‌زنی	۳۴/۱۶۷ <sup>a</sup>	۳۶/۲۵۰ <sup>a</sup>	۱۵/۸۳۰ <sup>b</sup>	۳۱/۱۱۱ <sup>a</sup>	۳۰/۵۵۶ <sup>a</sup>	۲۵/۰۰۰ <sup>a</sup>
بنیه بذر	کاروتنوئید	۴/۹۴۳ <sup>b</sup>	۴/۷۰۰ <sup>b</sup>	۱۳/۰۸۹ <sup>a</sup>	۵/۹۳۴ <sup>a</sup>	۶/۶۴۳ <sup>a</sup>	۹/۹۶۸ <sup>a</sup>
	کلروفیل a	۱۴/۸۳۳ <sup>a</sup>	۱۳/۸۶۵ <sup>a</sup>	۴/۴۲۶ <sup>b</sup>	۱۳/۸۸۱ <sup>a</sup>	۱۲/۶۳۴ <sup>a</sup>	۹/۲۳۷ <sup>b</sup>
	کلروفیل b	۰/۴۲۰ <sup>a</sup>	۰/۳۸۸ <sup>ab</sup>	۰/۳۳۶ <sup>b</sup>	۰/۴۶۵ <sup>a</sup>	۰/۳۲۸ <sup>b</sup>	۰/۳۷۴ <sup>b</sup>
سرعت جوانه‌زنی	کلروفیل a	۰/۲۴۹ <sup>a</sup>	۰/۲۱۸ <sup>b</sup>	۰/۱۸۸ <sup>c</sup>	۰/۵۴۰ <sup>a</sup>	۰/۴۰۲ <sup>c</sup>	۰/۴۶۱ <sup>b</sup>
	کلروفیل b	۰/۵۳۴ <sup>a</sup>	۰/۴۷۰ <sup>b</sup>	۰/۴۰۰ <sup>c</sup>	۰/۲۵۵ <sup>a</sup>	۰/۱۸۱ <sup>c</sup>	۰/۲۱۹ <sup>b</sup>
	سرعت جوانه‌زنی	۰/۲۱۳ <sup>a</sup>	۰/۲۲۶ <sup>a</sup>	۰/۰۹۹ <sup>b</sup>	۰/۱۹۴ <sup>a</sup>	۰/۱۹۱ <sup>a</sup>	۰/۱۵۶ <sup>a</sup>

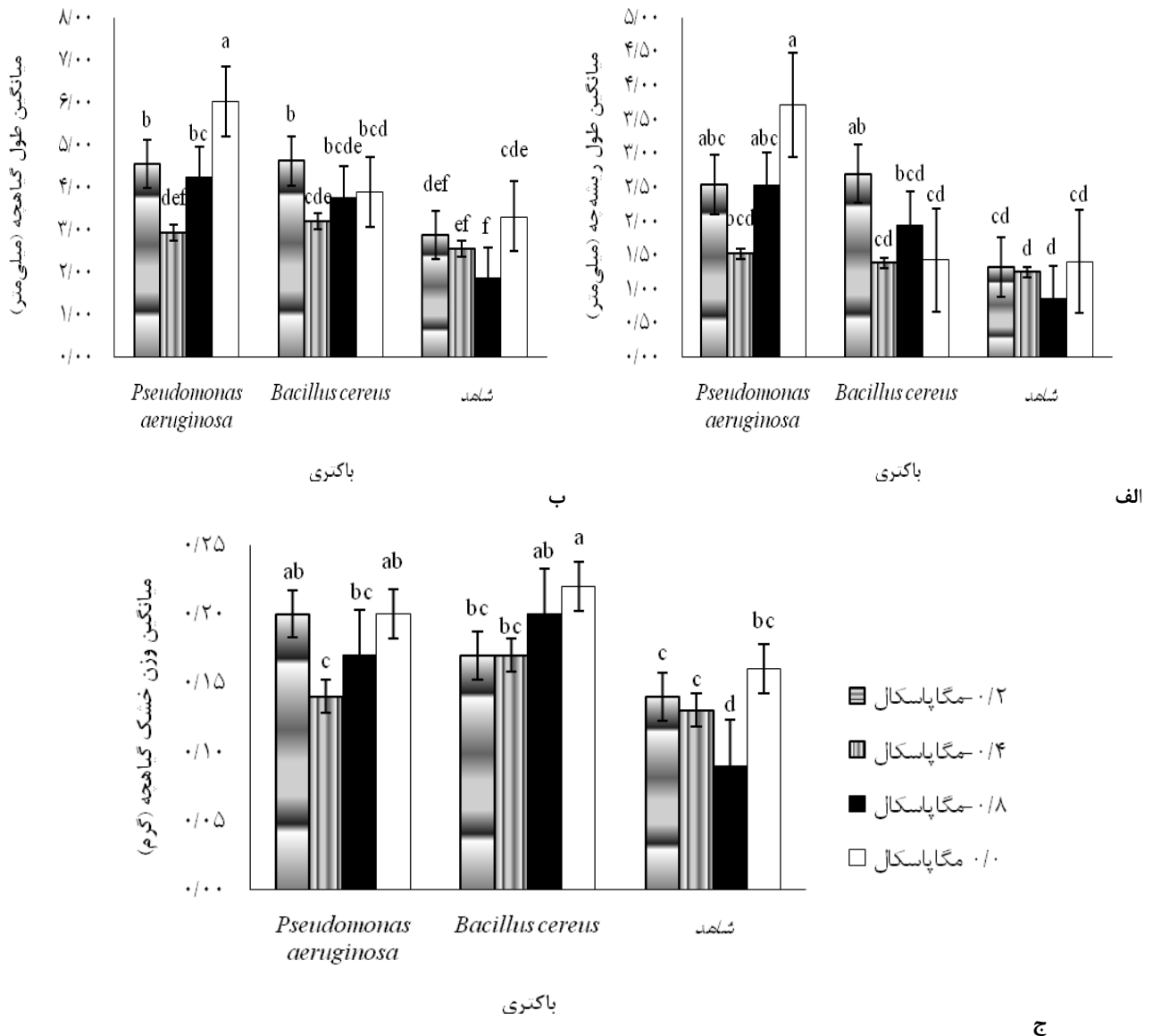
میانگین‌ها با حروف مشترک نشان دهنده عدم معنی‌داری است (آزمون چند دامنه‌ای دانکن با  $P < 0.05$ )



جدول ۳. ضریب همبستگی بین صفت‌های مورد بررسی گیاهچه *Astragalus ovinus*

۱۸	۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
																	۱/۰۰۰	۱	
																	۱/۰۰۰	۰/۷۴۶**	۲
															۱/۰۰۰	۰/۸۶۸**	۰/۷۳۱*	۳	
														۱/۰۰۰	۰/۹۶۳**	۰/۹۵۹**	۰/۸۲۸**	۴	
													۱/۰۰۰	۰/۵۰۵**	۰/۳۷۲*	۰/۵۴۳**	۰/۶۰۲**	۵	
												۱/۰۰۰	۰/۴۷۰**	۰/۳۸۰*	۰/۲۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۳۶۲*	۰/۵۸۹**	۶	
											۱/۰۰۰	۰/۴۵۸**	۰/۴۱۸*	۰/۴۲۱*	۰/۳۹۵*	۰/۴۲۲*	۰/۳۳۰*	۷	
										۱/۰۰۰	۰/۷۷۵**	۰/۸۶۳**	۰/۷۳۳**	۰/۵۳۰**	۰/۴۲۲*	۰/۵۳۳**	۰/۶۳۵**	۸	
								۱/۰۰۰	۰/۴۵۱**	۰/۳۳۷*	۰/۳۴۸*	۰/۴۱۵*	۰/۳۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۲۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۸۲ <sup>ns</sup>	۰/۴۴۷**	۰/۴۴۷**	۹	
								۱/۰۰۰	۰/۴۰۸*	۰/۶۶۴**	۰/۵۵۲**	۰/۴۸۳**	۰/۵۹۱**	۰/۵۲۰**	۰/۴۴۷**	۰/۵۲۳**	۰/۵۲۶**	۱۰	
							۱/۰۰۰	۰/۶۸۸**	۰/۹۴۳**	۰/۶۰۰**	۰/۴۶۹**	۰/۴۵۲**	۰/۵۴۵**	۰/۴۲۸**	۰/۳۴۳*	۰/۴۱۴*	۰/۵۴۷**	۱۱	
						۱/۰۰۰	۰/۳۶۵*	۰/۴۷۰**	۰/۲۴۴	۰/۴۶۵**	۰/۱۶۶ <sup>ns</sup>	۰/۳۸۵*	۰/۶۱۵**	۰/۵۱۸**	۰/۴۲۸**	۰/۴۹۵**	۰/۶۴۳**	۱۲	
					۱/۰۰۰	-۰/۸۱۸**	۰/۴۷۶**	-۰/۵۶۹**	۰/۳۳۸*	-۰/۵۷۷**	-۰/۳۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۵۰۸**	-۰/۵۷۹**	-۰/۴۴۴**	-۰/۳۲۴ <sup>ns</sup>	-۰/۴۶۸**	-۰/۵۵۹**	۱۳	
				۱/۰۰۰	-۰/۷۳۵**	۰/۸۲۰**	۰/۸۰۷**	۰/۶۷۲**	۰/۷۰۷**	۰/۶۲۰**	۰/۳۶۵*	۰/۴۹۲**	۰/۶۷۳**	۰/۶۱۴**	۰/۵۱۶**	۰/۵۷۳**	۰/۷۷۰**	۱۴	
			۱/۰۰۰	۰/۴۱۴*	-۰/۳۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۲۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۵۰۹**	۰/۴۴۱**	۰/۴۳۹**	۰/۵۹۸**	۰/۴۷۸**	۰/۴۸۹**	۰/۴۶۶**	۰/۳۶۱*	۰/۲۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۴۳۳**	۰/۴۰۸*	۱۵	
		۱/۰۰۰	۰/۶۸۵**	۰/۵۰۳**	-۰/۴۴۳**	۰/۳۹۳*	۰/۴۵۸**	۰/۴۵۲**	۰/۳۶۹**	۰/۵۶۵**	۰/۴۲۵**	۰/۴۸۵**	۰/۴۳۶**	۰/۲۷۰ <sup>ns</sup>	۰/۱۸۳ <sup>ns</sup>	۰/۲۵۸ <sup>ns</sup>	۰/۴۵۳**	۱۶	
	۱/۰۰۰	۰/۸۱۸**	۰/۸۱۰**	۰/۴۴۵**	-۰/۳۳۲**	۰/۳۰۲	۰/۴۵۱**	۰/۳۷۸*	۰/۳۹۴*	۰/۵۳۳**	۰/۳۵۷*	۰/۵۰۳**	۰/۳۸۸*	۰/۳۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۲۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۳۳۰*	۰/۴۰۴*	۱۷	
۱/۰۰۰	۰/۳۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۳۹۳*	۰/۲۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۸۱۵**	-۰/۸۱۶**	۰/۹۸۰**	۰/۳۶۵*	۰/۴۷۰**	۰/۲۴۴ <sup>ns</sup>	۰/۴۶۵**	۰/۱۶۶ <sup>ns</sup>	۰/۳۸۵*	۰/۶۱۵**	۰/۵۱۸**	۰/۴۲۸**	۰/۴۹۵**	۰/۶۴۳**	۱۸	

همبستگی  $\geq \pm 0.18$  در نظر گرفته شده و \*، \*\* به ترتیب معنادار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان داده است. اعداد ۱-۱۸ مربوط به شماره صفات در جدول ۱ است.



شکل ۱. اثر متقابل انواع باکتری و سطوح مختلف خشکی بر صفات مورد بررسی گیاهچه *Astragalus ovinus* الف- طول ریشه چه، ب- طول گیاهچه، ج- وزن خشک گیاهچه، میانگین‌ها با حروف مشترک نشان دهنده عدم معنی داری است (آزمون چند دامنه‌ای دانکن با  $P < 0.05$ )

ساقه چه و ریشه چه در تلقیح باکتری *Bacillus* sp. گزارش شده است (۹، ۳۳) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

در پژوهشی افزایش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی *Zea mays* L. در اثر تلقیح بذر با باکتری-های *Pseudomonas* spp. بیان شده است. باکتری‌های *Bacillus* sp. و *Pseudomonas* sp. جنس *Rhodococcus* توانایی تولید اکسین را دارا می‌باشند، بنابراین می‌توان احتمال داد که تیمارهای تلقیح باکتری‌های *Pseudomonas* sp. و *Bacillus* sp. با تولید

در تیمارهای باکتری‌های پژوهش حاضر، میانگین مدت جوانه زنی نسبت به شاهد کمتر بود، بنابراین بذرها در تیمار بایوپرایمینگ در زمان کوتاهتری جوانه زده بودند که موجب موفقیت بیشتر در رسیدن به مراحل بعدی رشد گیاهچه شد (جدول ۲).

در پژوهشی دیگر بیان شده است که باکتری *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula موجب افزایش طول ریشه، ساقه، ارتفاع بوته و حجم ساقه گیاه *Sorghum bicolor* (L.) Moench یا سورگوم شده است (۴). همچنین در بررسی‌های دیگر، افزایش طول

افزایش تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها و سطح برگ شده است (۳) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تنش خشکی باعث از هم گسیختگی ساختار سلول و اختلال در آنزیم‌های سلول می‌شود و موجب کاهش کلروفیل از طریق اثر کلروفیل‌لاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌شود که عامل اصلی در فرایند فتوسنتز است و در نتیجه کاهش عملکرد را به دنبال خواهد داشت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که وزن تر، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر سطوح تنش خشکی قرار نگرفته‌اند بنابراین می‌توان بیان نمود که گونه *A. ovinus* تا حدودی دارای مکانیسم مقاومت به خشکی بود (۴۰).

#### اثر متقابل باکتری و سطوح تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های رشد و جوانه‌زنی گونه *A. ovinus*

وزن خشک گیاهچه و طول ریشه‌چه و گیاهچه در تلقیح دو باکتری نسبت به تیمار شاهد در سطوح مختلف تنش خشکی از رشد بیشتری برخوردار بودند (شکل ۱-الف، ب و ج) و تلقیح این دو باکتری در این سطوح مختلف تنش خشکی تأثیر منفی از خودشان نسبت به تیمار شاهد در همان سطوح تنش خشکی نشان ندادند. تلقیح باکتری‌های *P. aeruginosa* و *B. cereus* در برخی از سطوح تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه‌چه نسبت به تیمار شاهد در همان سطوح تنش خشکی بودند. این دو تیمار باکتری موجب جذب بهتر آب و مواد غذایی از طریق توسعه ریشه برای گونه *A. ovinus* بود. بهبود وزن برخی از گیاهان از جمله *Onobrychis sativa L.* (۱۱) و *Avena sativa L.* (۱۲) با کاربرد باکتری‌های محرک رشد تحت تنش خشکی در یافته‌های پژوهش‌های دیگر نیز بیان شده است. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های مطالعه دیگر در گیاه *Triticum aestivum L.* یا گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد تحت تنش (۳۷) مطابقت دارد. همچنین در پژوهشی دیگر گزارش شده است که تلقیح بذور *Festuca arundinaceae Schreb* یا فستوکای پابلند با باکتری‌های *Azotobacter sp.* و *Azospirillum sp.* موجب بهبود

مقدار زیاد اکسین می‌تواند تولید بیشتر جیبرلین را تحریک کنند، لذا افزایش تولید برگ و اندام‌های هوایی تحت تأثیر دوگانه‌ی اکسین و جیبرلین قرار گیرد (۱۸). همچنین تلقیح بذور *Glycin max (L.) Merr* یا سویا با *Bacillus sp.*، *Pseudomonas sp.*، *Bradyrhizobium sp.*، جوانه‌زنی بذور و استقرار گیاهچه را بهبود بخشیده است و باعث افزایش طول و تجمع ماده خشک در اندام هوایی و ریشه و جذب عناصر غذایی نسبت به شرایط بدون تلقیح شده است (۳۹).

در پژوهشی نیز با بررسی باکتری‌های *Azospirillum sp.* و *Pseudomonas sp.* جدا شده از ریزوسفر کلزا، گزارش شده است که اثر تلقیح این باکتری‌ها بر وزن خشک اندام هوایی کلزا در سطح ۱ درصد معنادار است (۶) که این نتیجه با نتایج تحقیق حاضر مبنی بر افزایش وزن خشک ساقه‌چه، برگ جنینی و گیاهچه با استفاده از باکتری *P. aeruginosa* نسبت به تیمار شاهد مطابقت دارد.

در بررسی دیگر کاربرد *Pseudomonas sp.* و *Bacillus sp.* بر برخی صفات رویشی *Crocus sativus L.* یا زعفران از جمله کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید معناداری است (۲۶). همچنین مطالعه نقش باکتری *Pseudomonas sp.* در گیاه *Phaseolus vulgaris L.* یا لوبیا نشان داد که در شرایط تلقیح این باکتری نسبت به عدم تلقیح، غلظت کلروفیل a و کلروفیل b به ترتیب ۳۴ و ۴۸ درصد افزایش داد (۳۴) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

#### اثر تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های رشد و جوانه‌زنی گونه *A. ovinus*

در پژوهش حاضر وزن خشک گیاهچه، میانگین طول ساقه‌چه، کاروتنوئید، کلروفیل a و b تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت علت کاهش صفات فوق با افزایش تنش خشکی را می‌توان به حضور فراوان کاتیون‌ها و آنیون‌ها نسبت داد که علاوه بر ایجاد مسمومیت، پتانسیل آب را کاهش می‌دهد (۲۸) که موجب کاهش جذب آب توسط بذرها و همچنین مانع از ادامه فعالیت‌های گیاهچه می‌گردد. همچنین در تحقیقی گزارش شده است که

*ovinus* را افزایش داد. همچنین طبق یافته‌ها می‌توان بیان کرد که این باکتری‌ها در مقدرهای مختلف تنش (صفر، ۰/۲- و ۰/۸- مگاپاسکال) در افزایش رشد گیاه *A. ovinus* (وزن خشک گیاهچه، طول ریشه‌چه و گیاهچه) موثر واقع بود. این دو باکتری نقش کاهش‌دهنده روی تأثیرهای منفی تنش خشکی روی گیاه *A. ovinus* داشتند. باکتری‌های محرک رشد گیاه از روش‌های مختلفی از جمله تثبیت غیرهمزیست نیتروژن، افزایش حلالیت فسفر، تولید فیتوهورمون‌ها و یا تولید ترکیبات گوناگون با خواص پاتوژنی موجب رشد گیاه می‌شوند (۲۸). بدین معنا که باکتری‌های محرک رشد روی کاهش اثرات منفی تنش خشکی موثر بودند. تیمارهای باکتریایی به دلیل داشتن صفات‌های محرک رشدی مختلف از جمله تولید تنظیم‌کننده‌های رشدی مختلف مانند ایندول استیک اسید، سیتوکینین و جیبرلیک اسید، تولید سیدروفور، تولید ACC-دآمیناز قادر بودند، شاخص‌های رشد و جوانه‌زنی این گونه‌ها را در شرایط تنش خشکی را بهتر کنند.

جنبه دیگر که از اهمیت زیادی برخوردار است استفاده از نوع میکروارگانیسم‌ها برای انتخاب باکتری‌های مناسب هر اقلیم، نوع گیاه و شرایط محیطی است و به‌عنوان باکتری‌هایی که می‌تواند بیشترین تأثیر را بر روی رشد گونه گیاهی داشته باشند مد نظر قرار گیرد (۱۱). به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که تأثیر باکتری‌های محرک رشد روی گونه *A. ovinus* مثبت بود و به عبارت دیگر می‌توان در اصلاح و احیای مناطق از آن‌ها استفاده کرد که نیاز به بررسی‌های بیشتر در گلخانه و عرصه دارد.

عملکرد نسبت به تیمار شاهد و افزایش مقاومت تنش خشکی شده است. این نتیجه می‌تواند بیانگر رابطه تقویت‌کنندگی باکتری‌ها برای افزایش رشد گیاهچه *A. ovinus* باشد. همچنین به این نکته باید توجه نمود که عدم استفاده از تلقیح باکتری موجب کاهش طول ریشه‌چه و گیاهچه و وزن خشک گیاهچه همزمان با اعمال تنش‌های خشکی بود (شکل ۱- الف، ب و ج).

### همبستگی بین صفات مورد ارزیابی

نتایج جدول ضرایب همبستگی (جدول ۳) نشان داد که تغییرات درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی با حضور باکتری‌های محرک رشد افزایش و تحت شرایط تنش خشکی کاهش یافته است، از این رو شاخص بنیه بذر که نشان‌دهنده قدرت رشد گیاهچه (وزن و طول گیاهچه) می‌باشد، تحت تأثیر قرار داده است. همچنین با بهره‌گیری از باکتری‌های محرک رشد شاخص میانگین مدت جوانه‌زنی کاهش یافته است در حقیقت این باکتری‌ها موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی شده‌اند که نشان‌دهنده ارتباط مستقیم درصد و سرعت جوانه‌زنی با کارایی گیاهچه برای استقرار و ظهور یکنواخت گیاهچه بود. به عبارت دیگر باکتری‌های محرک رشد در مناطق خشک می‌تواند تأثیر مثبت داشته باشند که نتایج پژوهش حاضر با نتایج یافته‌های تحقیق دیگری (۳۷) مطابقت دارد.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که بهره‌گیری از باکتری‌های محرک رشد، کل ویژگی‌های رشد (وزن تر و خشک، طول، رنگدانه‌های فتوسنتز) و جوانه‌زنی (درصد، سرعت، میانگین مدت جوانه‌زنی و بنیه بذر) گونه *A.*

### References

1. Agrawal, R. (2003). Seed technology. Pub. Co. PVT. LTD. New Delhi. India.
2. Ahmad, I., Pichtel, J., & Hayat, S. (2008). Plant-bacteria interactions: strategies and techniques to promote plant growth. Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
3. Ahmadi, A., & Sio-Se Mardeh, A. (2004). Effects of water stress on soluble carbohydrates chlorophyll and proline contents of four Iranian wheat cultivars under different moisture regimes. *Iranian Journal Agriculture Science*, 35(3), 753-763 (in Farsi).
4. Ansari Jovini, M., Chaichi, M., Keshavarz Afshar, R., & Ehteshami, S. M. (2011). Effects of different plant growth promoting rizobacteria (PGPR) application methods on forage production in

- sorghum (*Sorghum bicolor* var. Speed feed). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 42(2), 329-337 (in Farsi).
5. Ansori, A., Shahgholi, H., Makarian, H., & Fallah Nosratabad, A. R. (2015). Evaluation of the effects of plant growth promoting rhizobacteria and salinity on germination and growth of corn plants (*Zea mays* L.). *Soil Managment and Sustainable Production*, 4(4), 235-253 (in Farsi).
  6. Arzansh, M. H., Benny, N., Ghorbanly, M. L., & Shahbazi, M. (2012). Efect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters and levels of micronutrient on rapessed cultivar under salinity stress. *Journal of Soil Managment and Sustainable Production*, 2(2), 153-163 (in Farsi).
  7. Bahmani, M., Jalali, Gh. A., Asgharzadeh, A., & Tabari Kouchaksaraei, M. (2016). Effect of inoculation growth promotion bacterium *Pseudomonas putida* on tolerance to salinity of *Carotropis procera* Ait. Seedlings. *Arid Biom Scientific and Research Journal*, 6(1), 81-94 (in Farsi).
  8. Bakhshi, B. (2009). Application of SPSS in statistical analysis of agriculture. Sepehr Publication Center. Tehran (in Farsi).
  9. Beneduzi, A., Peres, D., Vargas, L. K., Bodanese-Zanettini, M. H., & Passaglia, L. M. P. (2008). Evaluation of genetic diversity and Plant growth promoting activities of nitrogen-fixing *Bacilli* isolated from rice fields in south Brazilin. *Applied Soil Ecology*, 39(3), 311-320.
  10. Danesh shahraki, A. A. (2011). Dormancy breaking methods of three forage species *Astragalus curvistris*, *A. ovinus* and *A. effuses*. Research plan.
  11. Delshadi, S., Ebrahimi, M., & Shirmohammadi, E. (2017a). Influen of plant-growht-promoting bacteria on germination, growth and nutrients uptake of *Onobryhis sativa* L. under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 200-208.
  12. Delshadi, S., Ebrahimi, M., & Shirmohammadi, E. (2017b). Plant growth promoting bacteria effects on growth, photosynthetic pigments and root nutriants uptake of *Avena sativa* L. under drought stress. *Desert*, 22(1), 107-116.
  13. Demir Kaya, M., Okzu, G., Atak, M., 3ıkılı, Y., & Kolsarıcı, O. (2006). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, 24(4), 291-295.
  14. Dimkpa, C., Weinand, T., & Asch, F. (2009). Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell and Environment*, 32(12), 1682-1694.
  15. Faghihi, A. R., Ebadi, R., Nazarian, H., & Noroozi. (2005). Determination of attractiveness of different plants for honey bees in Khansar and Faridan regions of Isfahan province. *Agriculture sciences*, 36(3), 521-536.
  16. Gholami, A., Shahsavani, S., & Nezarat, S. (2009). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth, and yield of maize. *Proceeding of word Academy of Science, Engineering and Thechnology, Agricultural and Biosystems Engineering*, 37(1), 2070-3740.
  17. Glick, B. R., Penrose, D. M., Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentration by PGPR. *Theoretical and Biology*, 190(1), 63-68.
  18. Hernandez, A. N., Hernandez, A., & Heydrich, M. (1995). Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. *Tropicale Science*, 6, 247-255.
  19. Ikic, I., Maricevic, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Sarcevic, Z., & Arcevic, H. (2012). The effect of germination temperature on seed dormancy in creation-grown winter wheats. *Euphytica*, 188(1), 25-34.

20. ISTA (International Seed Testing Association). (2011). International Rules for Seed testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
21. Jahanian, A., Chaichi, M. R., Rezaei, K., Rezayazdi, K., & Khavazi, K. (2012). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination and primary growth of artichoke (*Cynara scolymus*). *Agriculture and Crop Sciences*, 4(14), 923-929.
22. Karsa, K. K., & Abebie, B. (2012). Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of *Vicia villosa* ssp. *Dasycarpa* (Ten). *African Journal of Agricultural Research*, 7(21), 3202-3208.
23. Maassoumi, A. A. (1998). Astragalus in the old world check-list. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran.
24. Mc Donald, M. B. (2000). Seed priming. In: Black, M., & Bewley, J. D., (Eds.). *Seed Technology and Its Biological Basis*. Sheffield Academic Press, Sheffield, England.
25. Michel, B. E., & Kaufman, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51(5), 914-916.
26. Monemizadeh, Z., Ghasemi, M., & Sadrabadi, R. (2016). Review of organic fertilizers impacts on agriculture of saffron (*Crocus sativus* L.). *Land Management*, 4.1(1), 55-77 (in Farsi).
27. Pal, S. S. (1998). Interaction of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. *Plant Soil*, 198(2), 169-177.
28. Radnejad, H., Beharri, B., Naghipour Borj, A. A., & Haj Agha Memar, S. (2017). Effects of seed biopriming with *Azospirillum* and *Azotobacter* on performance and drought resistance in *Festuca arundinaceae* schreb. *Range and Desert Research*, 23(4), 760-771 (in Farsi).
29. Radosevich, S., Holt, J., & Ghera, C. (1997). *Weed Ecology Implications for Management*. Wiley and Sons, New York.
30. Sahin, F., Zekmakçi, R., & Kantar, F. (2004). Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N<sub>2</sub>-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant Soil*, 265(1-2), 123-129.
31. Sandra, B., Natarajan, V., & Hari, K. (2002). Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yield. *Field Crop Research*, 77(1), 43-49.
32. Saravanan, V. S., Subramoniam, S. R., & Raj, S. A. (2003). Assessing in vitro solubilization potential of different zinc solubilizing bacterial (ZSB) isolates. *Microbiology*, 34, 121-125.
33. Shaharoon, B., Jamro, G. M., Zahir, Z. A., Arshad, M., & Memon, K.S. (2007). Effectiveness of various *Pseudomonas* spp. and *Burkholderia caryophylli* containing ACC-deaminase for improving growth and yield (*Triticum aestivum* L.). *Microbiology Biotechnology*, 17(8), 1300-1307.
34. Sharma, A., Johria, B. N., Sharma, A. K., & Glick, B. R. (2003). Plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. strain GRP3 influences iron acquisition in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). *Soil Biology Biochemistry*, 35(7), 887-894.
35. Singh, D., & Singh, R. (2012). Path coefficient analysis for seedling vigour in radish (*Raphanus sativus* L.) genotypes. *HortiFlora Research Spectrum*, 1(4), 339-343.
36. Ya-jing, G., Jin, H., Xian-Ju, W., & Chen-xia, S. (2009). Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Zhejiang University Science B*, 10(6), 427-433.

37. Yazdani, M., & Pirdashti, H. (2011). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGRP) on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Agronomy (Pajouhesh & Sazandegi)*, 24.3(92), 24-30 (in Farsi).
38. Younesi, O., Poustini, K., Chaichi, M. R., & Pourbabaie, A. A. (2012). Effect of growth promoting rhizobacteria on germination and early growth of two alfalfa cultivars under salinity stress condition. *Crops Improvement*, 14(2), 83-97 (in Farsi).
39. Zaied, K. A., Abd El-Hady, A. H., & Aida Afify, H. (2003). Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. *Biological Sciences*, 6(4), 344-358.
40. Zandi Esfahan, E., & Azarnivand, H. (2013). Effect of water stress on seed germination of *Agropyron elongatum*, *Agropyron desertourm* & *Seale montanum*. *Desert*, 17, 249-253.
41. Zheng xing shen, D. J., Parrish, D., Wolf, D., & Welbaum, G. E. (2001). Stratification in switchgrass seeds is reversed and hastened by drying. *Seed. Physiology and Technology*, 41, 1546-1551.

## Effects of Seed Biopriming on Some Characteristics of the Germination and Growth of *Astragalus Ovinus* Boiss under Drought Stress

M. Sabeti<sup>1</sup>, E. Ghehsareh Ardestani<sup>2</sup>, P. Tahmasebi<sup>3\*</sup>, F. Nikookhah<sup>2</sup>

1. M.Sc. of Range Management, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2. Assistant Professor, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran; Central Laboratory, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3. Associate Professor, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

\* Corresponding Author: peyman.tahmasebi@nres.sku.ac.ir

Received date: 17/10/2018

Accepted date: 25/01/2019

### Abstract

This study was aimed to investigate the effects of seed biopriming with plant-growth-promoting bacteria (PGPB) on some characteristics of germination and growth of *Astragalus ovinus* Boiss under drought stress. This study was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design, with three replications. Percentage, rate of germination, mean germination time, vigor, chlorophyll a, b, carotenoids, fresh and dry weight of radicle, shoot, embryonic leave, seedling and radicle length, shoot and seedling were determined. Plant-growth-promoting rizobacteria at five levels including *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula, *Azospirillum lipoferm* (Beijerinck) Tarrand, *Bacillus cereus* Frankland, *Azotobacter chroococcum* Beijerinck and the control treatment were considered as the first factor. The second factor was applying drought stress at four levels of 0.0, -0.2, -0.4 and -0.8 MPa. Among the four biopriming treatments tested, *A. lipoferm* and *A. chroococcum* were eliminated, because the seeds were failed to germinate and identified as agent pathogenic. Results indicate that the use of these two PGPB increase the characteristics of germination (percentage, rate of germination, mean germination time and vigor) and growth (fresh and dry weight, length and photosynthetic pigments) of *A. ovinus*. It can be concluded that these two bacteria increase effectively the growth of *A. ovinus* under different levels of drought stress. In general, these two bacteria play a role in reduction of the negative effects of drought stress on *A. ovinus*.

**Keywords:** Bacterial inoculation; Osmotic stress; Seed germination; Photosynthetic pigments