Archive of SID

پژوهش‌های بذر ایران/ سال ششم/ شماره دوم/ ۱۳۹۸/ صفحات: ۱۴-۱

مقاله پژوهشی

اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه یونجه (*Medicago sativa*) تحت شرایط تنش شوری

مرضیه سلطانی آلکویی[۱]، علی عباسی سورکی[۲،*]، شهرام کیانی[۳]، محسن مبینی دهکردی[۴]

چکیده مبسوط

مقدمه: شوری از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که به دلیل ایجاد پتانسیل پایین اسمزی، اختلال در جذب آب و سمیت یونی سبب عدم یکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن بذر می‌شود. توسعه روش‌های زیستی ساده و کم هزینه برای مدیریت تنش شوری در کوتاه مدت راهکاری مفید است. استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهی، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد. این پژوهش با هدف بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد گیاهی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد بذر یونجه همدانی در سطوح مختلف شوری اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. فاکتور اول شامل ۶ سطح شوری صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰ و ۱۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر از نمک کلرید سدیم و فاکتور دوم شامل ۴ سطح پیش‌تیمار باکتریایی شامل عدم تلقیح بذر با باکتری و بیوپرایمینگ با آسیتنروباکتر (*Acinetrobacter calcoaceticus* PTCC 1318)، باسیلوس (*Bacillus megaterium* PTCC 1250) و انتروباکتر (*Enterobacter aerogenes* PTCC 1221) روی بذرهای یونجه همدانی بود. بذرها پس از تیمار با باکتری در اتاقک رشد با درجه حرارت ۲۰ درجه‌سلسیوس قرار گرفتند. بسته به تیمار شوری با محلول‌های مورد نظر آبیاری شدند. پس از گذشت ۱۰ روز شاخص‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه I، II و ضریب آلومتریک محاسبه شدند.

یافته‌ها: با افزایش سطح شوری از ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهش یافت. بیشترین میزان کاهش نسبت به شاهد در سطح شوری ۱۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر برای درصد جوانه‌زنی ۱۰/۸۱ درصد، سرعت جوانه‌زنی ۴۹/۴۸ درصد، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه به ترتیب ۱۳/۳۰ و ۲۸/۸۸ درصد و شاخص بنیه I و II به ترتیب ۳۰/۲۷ و ۶/۲۸ درصد به‌دست آمد. بذرهای تیمار شده با *A. calcoaceticus* توانستند شرایط تنش شوری را بهتر تحمل کنند. از نظر درصد جوانه‌زنی این بذرها در شوری ۱۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر تنها کاهش ۴ درصدی نسبت به شاهد بدون تنش داشتند. در شرایط شوری ۲/۵ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر، بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی با کاربرد باکتری *A. calcoaceticus* به‌دست آمد و بذرهای تیمار شده با باکتری *E. aerogenes* ثبات بالایی در سطوح مختلف شوری برای صفت طول گیاهچه از خود نشان دادند. بالاترین شاخص بنیه مربوط به استفاده از باکتری *A. calcoaceticus* در شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود.

نتیجه‌گیری: باکتری *A. calcoaceticus* نقش موثری در تعدیل اثرات منفی شوری بر صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه I و II و ضریب آلومتریک داشت و باکتری *E. aerogenes* به صورت کارآمدتر سبب تعدیل اثرات منفی شوری بر صفات طول و وزن خشک گیاهچه شد.

واژه‌های کلیدی: آسینتروباکتر، انتروباکتر، باسیلوس، درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه، وزن خشک گیاهچه.

جنبه‌های نوآوری:

۱- باکتری *A. calcoaceticus* سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای یونجه همدانی تحت تنش شوری شد.

۲- باکتری *E. aerogenes* به صورت کارآمدی سبب تعدیل اثرات منفی شوری بر طول و وزن خشک گیاهچه یونجه گردید.

DOR: 98.1000/2383-1251.1398.6.1.12.2. 1575.1610

DOI: 10.29252/yujs.6.2.1

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

[۲] استادیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

[۳] دانشیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

[۴] دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه شهرکرد

[*] رایانامه نویسنده مسئول: abbasi@sku.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۸)

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شوری از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که سطح وسیعی از مزارع را در مناطق خشک و نیمه خشک به خود اختصاص داده است (مانچاندا و گارگ[1]، ۲۰۰۸). شوری در ابتدا باعث کاهش جذب آب توسط بذرها به دلیل پتانسیل پایین اسمزی محیط شده و در مرحله بعد سبب سمیت و ایجاد تغییر در فعالیت‌های آنزیمی می‌شود (ماسای[2]و همکاران، ۲۰۰۴) جوانه‌زنی بذر و استقرار دو عامل مهم برای تولید محصول می باشند (اشرف و فولاد[3]، ۲۰۰۵)، اما عدم یکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن بذر از اولین اثرات شوری است (گریو[4]و همکاران، ۱۹۹۲).

برای داشتن یک نظام کشاورزی پایدار، بهره‌گیری از نهاده‌های تجدیدپذیر که بتوانند سودمندی‌های اکولوژیک را به حداکثر برسانند و آسیب‌های زیست محیطی را تا پایین‌ترین سطح ممکن کاهش دهند امری ضروری بشمار می‌رود (کیزیلکایا[5]، ۲۰۰۸). توسعه روش‌های زیستی ساده و کم هزینه برای مدیریت تنش شوری در کوتاه مدت یک راهبرد مطلوب می‌باشد (شریواستاوا و کومار[6]، ۲۰۱۵). به عنوان مثال تکنیک‌های مختلفی همچون پرایمینگ بذر (خان[7]و همکاران، ۲۰۱۷) و استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاهی[8] (فاروق[9]و همکاران، ۲۰۱۷) تولید را در شرایط تنش بهبود می‌دهند. پرایمینگ بذر سبب بهره‌وری بالای استفاده از آب در هنگام ظهور گیاهچه، سبز شدن یکنواخت، ایجاد ریشه‌های عمیق در گستره وسیعی از درجه حرارت‌ها، مقاومت در برابر بیماری و تنش‌های محیطی می‌شود (مصطفی[10]و همکاران، ۲۰۱۷).

بیوپرایمینگ یکی از روش‌های پرایمینگ است که در آن میکروب‌های سودمند از طریق بافت گیاهی، خاک یا تلقیح با بذر اعمال می‌گردند. استفاده از ریزوباکترهای محرک رشد گیاهی همراه بذر، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی را افزایش داده و سبب بالا بردن میزان محصول و افزایش کیفیت و عملکرد می‌شود. باکتری‌ها به دو صورت مستقیم و غیرمستقیم باعث تحریک رشد گیاه می‌شوند. سازوکار مستقیم شامل تولید موادی مثل هورمون‌های گیاهی، آزاد کردن عناصر غذایی و تحریک ناشی از مقاومت سیستمیک است و سازوکار غیرمستقیم شامل تحریک روابط همزیستی، رشد ریشه و کنترل زیستی می‌باشد (چودهاری[11]و همکاران، ۲۰۱۶).

کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات، ازتوباکتر و آزوسپریلیوم و ترکیب آن‌ها باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی مانند درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه و نیز طول ساقه‌چه و ریشه‌چه شدند (کریشنا[12]و همکاران، ۲۰۰۸). استفاده از سویه *Bacillus subtilis* 10-4 در تلقیح با بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) سبب کاهش تنش اسمزی در شرایط تنش شوری طی رشد در مقایسه با شاهد شد. همچنین سبب افزایش محتوای اسید سالیسیلیک گردید (لاستوچکینا[13]و همکاران، ۲۰۱۷). تلقیح بذر کلزا (*Brassica napus* L.) با باکتری *Enterobacter cloacae* HSNJ4 طول ریشه، طول ساقه، مقدار ریشه‌های جانبی و محتوای کلروفیل را در شرایط شوری افزایش داد (لی[14]و همکاران، ۲۰۱۷). استفاده از باکتری *Pseudomonas* sp. ISE-12 و *Xanthomonadales* sp. CSE-34 در بذر چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) تحت تنش شوری باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهی و طول ریشه شد (پی‌یرنیک[15]و همکاران، ۲۰۱۷). استفاده از باکتری

[1] Manchanda and Garg
[2] Massai
[3] Ashraf and foolad
[4] Grieve
[5] Kizilkaya
[6] Shrivastava and Kumar
[7] Khan
[8] Plant Growth-promoting Rhizobacteria
[9] Farooq
[10] Mustafa
[11] Choudhary
[12] Krishna
[13] Lastochkina
[14] Li
[15] Piernik

www.SID.ir

Archive of SID

Enterobacter نیز به دلیل تولید IAA و فعالیت ACC دآمینازی سبب افزایش تحمل گیاه گندم به تنش شوری شد و آستانه تحمل گیاه نسبت به تنش شوری را بالا برد (بارا[1] و همکاران، ۲۰۱۶).

از آنجایی که استفاده از باکتری‌های محرک رشد می‌تواند سبب بهبود صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در شرایط تنش‌های محیطی در گیاهان زراعی شود، در پژوهش حاضر سه باکتری *A. calcoaceticus*، *B. megaterium* و *E. aerogenes* برای تلقیح یونجه همدانی در شرایط شور استفاده شدند تا کارایی آن‌ها در تعدیل اثرات شوری، صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای یونجه در شرایط شور مورد بررسی قرار گیرد. از سوی دیگر این تکنیک زیستی گامی در جهت پایداری و بهره‌گیری از نهاده‌های تجدیدپذیر است و ممکن است آسیب‌های زیست محیطی را تا پایین‌ترین سطح ممکن کاهش دهد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل شش سطح شوری (صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰ و ۱۲/۵ دسی زیمنس بر متر) از نمک کلرید سدیم و فاکتور دوم سطوح تیمار تلقیح باکتریایی شامل چهار سطح عدم تلقیح بذر با باکتری به عنوان شاهد و پرایمینگ بذر با باکتری آسینتروباکتر (*Acinetrobacter calcoaceticus* PTCC 1318)، باسیلوس (*Bacillus megaterium* PTCC 1250) و انتروباکتر (*Enterobacter aerogenes* PTCC 1221) بود که روی بذرهای یونجه همدانی اعمال شد. باکتری‌های به کار رفته در این پژوهش از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی، مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران در سال ۱۳۹۶ خریداری شدند.

به منظور کشت باکتری‌ها از دو محیط TSA[2] و TSB[3] استفاده شد که طبق دستورالعمل آماده و جهت استریل به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس قرار داده شدند (صادیق[4] و همکاران، ۲۰۱۳).

به منظور فعال‌سازی باکتری‌ها و اطمینان از خلوص آن‌ها از محیط TSA استفاده شد. باکتری‌ها در زیر هود توسط سمپلر به محیط TSA داخل پتری انتقال یافتند. پتری‌ها به درون انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سلسیوس منتقل شدند. کلونی‌های تشکیل شده روزانه مورد بررسی قرار گرفتند. تولید کلونی‌های هم‌شکل و هم‌رنگ و اندازه نشان دهنده خلوص باکتری است. پس از حصول اطمینان از خلوص باکتری‌ها با بررسی میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی گرم، کلونی‌های خالص جدا شده و سپس به محیط TSB منتقل و در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۴ درجه سلسیوس و دور ۱۵۰rpm[5] ۱۵۰rpm[5] قرار گرفتند تا تراکم مورد نظر (۵×۱۰^{۸} CFU/ml) بدست آمد (بورد[6] و همکاران، ۱۹۹۸).

به منظور تلقیح به ازای هر ۲۰۰ عدد بذر یونجه میزان ۷ میلی‌لیتر مایه تلقیح باکتریایی استفاده و جهت تماس باکتری به بذر از صمغ عربی ۱۰ درصد استفاده شد (وانی[7] و همکاران، ۲۰۰۷). مدت زمان تلقیح ۳۰ دقیقه بود. ۴ تکرار ۲۵ تایی بذر داخل پتری‌هایی با قطر ۸ سانتی‌متر و در ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۰ درجه‌سلسیوس قرار داده شدند (ایستا[8]، ۲۰۱۱) و در صورت کمبود آب در بستر کشت، بسته به تیمار شوری با محلول‌های ذکر شده آبیاری شدند. شمارش بذرها به صورت روزانه انجام شد و پس از گذشت ۱۰ روز پارامترهای درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه (میانگین ۱۰

[1] Barra

[2] Tryptic Soy Agar
[3] Tryptic Soy Broth
[4] Sadiq
[5] Revolutions per minute
[6] Burd
[7] Wani
[8] ISTA

www.SID.ir

Archive of SID

بوته)، شاخص بنیه I، II و ضریب آلومتریک بر اساس روابط زیر محاسبه شدند.

رابطه (۱) درصد جوانه‌زنی (افراخته[1] و همکاران، ۲۰۱۳):

GP[2] = (تعداد بذر جوانه زده / تعداد کل بذرها) × ۱۰۰

رابطه (۲) سرعت جوانه‌زنی (کالسا و آببی[3]، ۲۰۱۲):

$GR^{4} = \sum (Gt/Dt)$

G_t: تعداد بذور جوانه‌زده در روز tام و D_t: تعداد روزها پس از کاشت.

رابطه (۳) شاخص بنیه I (عبدالباکی و اندرسون[5]، ۱۹۷۳):

VI I[6] = GP × (cm) میانگین طول گیاهچه

رابطه (۴) شاخص بنیه II (عبدالباکی و اندرسون، ۱۹۷۳):

VI II[7] = GP × (mg) میانگین وزن گیاهچه

رابطه (۵) ضریب آلومتریک (اسکات[8] و همکاران، ۱۹۸۴):

$AC^{9} = Ls/Lr$

Ls: طول ساقه‌چه و Lr: طول ریشه‌چه.

آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌های اثر متقابل با MSTAT-C و آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذر یونجه در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر شوری، تیمار باکتریایی و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش میزان شوری از جوانه‌زنی بذرهای یونجه کاسته شد (جدول ۲). ایزدی[10] و همکاران (۲۰۱۲) اظهار داشتند نمک موجب اختلال جذب آب توسط گیاه شده و با حضور بیش از حد کاتیون‌ها و آنیون‌ها سبب تسهیل جذب یون‌ها تا سر حد مسمومیت می‌شود که این عمل کاهش جوانه‌زنی را در پی دارد. در شرایط کاربرد باکتری‌های محرک رشد نیز همانند عدم کاربرد باکتری، با افزایش سطوح شوری میزان جوانه‌زنی کاهش یافت؛ اما تیمار بذرها با *A. calcoaceticus* نسبت به دو باکتری دیگر بهتر توانست شرایط تنش شوری را تعدیل کند به گونه‌ای که در شوری ۱۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر تیمار با *A. calcoaceticus* تنها کاهش ۴ درصدی نسبت به شاهد بدون تنش داشت. این در حالیست که با عدم کاربرد باکتری کاهش ۱۰/۸۱ درصدی بدست آمد (جدول ۲). شوری به واسطه تاخیر و کاهش جوانه‌زنی عامل محدود کننده رشد اولیه گیاه محسوب می‌شود و بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از پیش‌تیمارهای باکتریایی راهکاری مناسب در جهت مقابله با اثرات مخرب شوری است. احتمالا باکتری *Acinetrobacter calcoaceticus* SE370 با ترشح هورمون جیبرلین (کانگ[11] و همکاران، ۲۰۰۹)، افزایش محتوای اسید سالیسیلیک (لاستوچکینا و همکاران، ۲۰۱۷) یا افزایش دامنه تحمل تنش‌های محیطی (مصطفی و همکاران، ۲۰۱۷) سبب افزایش رشد گیاه می‌شود. نتایج دیگری مبنی بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد بواسطه تلقیح با باکتری محرک رشد *Pseudomonas Putida* روی گیاهچه ذرت (غلامی[12] و همکاران، ۲۰۰۹) و گندم (یزدانی و پیردشتی[13]، ۲۰۱۱) تحت تنش شوری بدست آمد. احتمالاً این باکتری‌ها از طریق سازوکارهایی چون تولید ایندول استیک اسید، تولید سیدروفور و سیانید هیدروژن باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه و ارتقا رشد تحت تنش شوری

[1] Afrakhteh
[2] Germination percentage
[3] Kalsa and Abebie
[4] Germination rate
[5] Abdul-baki and Anderson
[6] Vigour index I
[7] Vigour index II
[8] Scott
[9] Alometric coefficient

[10] Ezadi
[11] Kang
[12] Gholami
[13] Yazdani and Pirdashti

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. جدول تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر شوری و پیش تیمار باکتریایی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر یونجه

Table 1. Analysis of variance (mean square) of salinity and bacterial pre-treatment effect on alfalfa seed germination indices

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص بنیه I Vigour index I	شاخص بنیهII Vigour index II	ضریب آلومتریک Allometric coefficient
شوری (Salinity)	5	248.71**	231.16**	5.65**	0.038**	7.104**	0.084**	0.039**
باکتری (Bacteria)	3	41.38**	26.2**	5.222**	0.047**	4.146**	0.058**	0.065**
باکتری× شوری (Salinity×Bacteria)	15	20.99**	5.52**	0.651**	0.037**	0.397**	0.032**	0.008*
خطا (Error)	72	8.88	1.29	0.07	0.002	0.152	0.004	0.004
درصد ضریب تغییرات (Coefficient of Variation) (%)		3.15	6.55	4.46	2.36	6.93	3.88	10.42

ns ،* و ** به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** Insignificance, significant at 5% and 1%, respectively

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و باکتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر یونجه

Table 2. Comparison of the interactions between salinity and bacteria on alfalfa germination indices

شوری Salinity(dS/m)	باکتری Bacteria	درصد جوانه‌زنی Germination percentage (%)	سرعت جوانه‌زنی Germination rate (1/day)	طول گیاهچه Seedling length (cm)	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight (mg)	شاخص بنیه I Vigour index I	شاخص بنیه II Vigour index II	ضریب آلومتریک Allometric coefficient
0	Control	98.67 ^{ab}	20.51 ^{bc}	5.785 $^{h-k}$	1.615 ^{j}	5.78 ^{de}	1.59 ^{ij}	0.60^{b-g}
2.5		97.33 $^{a-c}$	17.83 ^{d}	5.483^{j-l}	1.764 $^{e-g}$	5.28 $^{e-h}$	1.71^{c-f}	0.69^{ab}
5		94.67 $^{b-d}$	17.51 ^{de}	5.503^{j-l}	1.677^{ij}	5.13 ^{gh}	1.58 ^{ij}	0.68 ^{ab}
7.5		96 $^{a-d}$	15.39 ^{fg}	5.397 ^{lm}	1.743 $^{f-h}$	5.19 $^{f-h}$	1.67^{e-i}	0.61 $^{b-f}$
10		93.33 ^{cd}	14.03 ^{gh}	5.033 ^{m}	1.718 $^{g-i}$	4.74 ^{hi}	1.6^{h-j}	0.61^{b-f}
12.5		88 ^{ef}	10.36 ^{j}	4.454 ^{n}	1.698 ^{hi}	4.03 ^{j}	1.49 ^{kl}	0.72 ^{a}
0	*Acinetrobacter calcoaceticus*	97.33^{a-c}	19.91 ^{c}	7.141 ^{ab}	1.747^{e-h}	6.47^{a-c}	1.7^{d-g}	0.54^{e-i}
2.5		98.67 ^{ab}	21.11 $^{a-c}$	5.831^{g-j}	1.827 ^{cd}	5.74^{d-f}	1.8^{bc}	0.60^{b-g}
5		97.33^{a-c}	21.14 $^{a-c}$	6.163 $^{d-g}$	1.689^{hi}	5.95^{cd}	1.6^{f-j}	0.54^{e-i}
7.5		94.67 $^{b-d}$	18.17 ^{d}	7.502 ^{a}	1.914^{b}	6.93 ^{a}	1.8^{b}	0.43^{j}
10		96 $^{a-d}$	12.86 ^{hi}	5.904 $^{f-i}$	1.791 $^{d-f}$	5.62^{d-g}	1.72^{c-f}	0.49^{ij}
12.5		93.33 ^{cd}	11.31 ^{ij}	5.433 ^{kl}	1.803 $^{c-f}$	5.07^{g-i}	1.68^{e-h}	0.58 $^{c-i}$
0	*Bacillus megaterium*	97.33^{a-c}	22.22 ^{a}	6.808 ^{b}	1.787^{d-f}	6.64^{ab}	1.73^{b-e}	0.62^{b-e}
2.5		96 $^{a-d}$	20.42 ^{bc}	6.342^{de}	1.71^{g-i}	6.05^{cd}	1.64^{f-j}	0.66^{a-c}
5		97.33^{a-c}	19.95 ^{bc}	6.209 $^{d-f}$	1.807^{c-e}	6.14^{b-d}	1.76^{b-e}	0.56^{e-i}
7.5		94.67^{b-d}	17.5 ^{de}	6.15^{e-h}	1.697^{hi}	5.82^{de}	1.6^{h-j}	0.53^{f-i}
10		96 $^{a-d}$	17.5 ^{de}	6.147 $^{e-h}$	1.86^{bc}	5.96^{cd}	1.78^{b-d}	0.43^{j}
12.5		82 ^{g}	10.8 ^{j}	4.247 ^{n}	1.913 ^{b}	4.04^{j}	1.58^{jk}	0.66^{a-d}
0	*Enterobacter aerogenes*	100^{a}	21.52^{ab}	6.484^{c-e}	1.696^{hi}	6.48^{a-c}	1.69^{e-g}	0.62^{b-e}
2.5		93.33 ^{cd}	20.19 ^{bc}	6.515^{c-e}	2.06^{a}	6.02^{cd}	1.92^{a}	0.59^{c-h}
5		96 $^{a-d}$	20.58^{bc}	6.529^{cd}	1.68^{i}	6.16^{b-d}	1.61^{g-j}	0.57^{d-i}
7.5		93.33 ^{c}	19.83 ^{c}	6.416^{de}	1.803^{c-f}	6.10^{b-d}	1.68^{e-h}	0.50^{h-j}
10		92 ^{de}	15.94^{ef}	5.747^{i-l}	1.7^{hi}	5.39^{e-g}	1.56 ^{jk}	0.54^{e-i}
12.5		84 ^{fg}	11.33 ^{ij}	5.4^{lm}	1.704^{g-i}	4.55^{ij}	1.43 ^{l}	0.52^{g-j}

در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشابه، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال خطای آماری ۵٪ ندارند.

Means with the same letter in each column are not significantly different at the 5% probability level according to LSD.

می‌شوند. باکتری *Enterobacter* نیز دارای فعالیت ACC دآمینازی بوده که می‌تواند از ۱- آمینوسیکلو پروپان-۱-کربوکسیلیک اسید بعنوان یک منبع نیتروژن استفاده کرده و مانع از شرکت ACC در تولید اتیلن

www.SID.ir

Archive of SID

تحت تنش شوری شود (سرکار[1] و همکاران، ۲۰۱۷).

سرعت جوانه‌زنی

اثر شوری، تیمار باکتریایی و برهمکنش آن‌ها بر سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش شوری سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت (جدول ۲). یزدانی بیوکی[2] و همکاران (۲۰۱۰) مختل شدن آنزیم‌های موثر در متابولیسم به دلیل اتصال یون‌ها به ساختمان مولکولی آن‌ها را علت اصلی کاهش سرعت جوانه‌زنی بذر دانستند. تلقیح بذر با باکتری روند کاهش سرعت جوانه‌زنی را به‌ویژه در شوری ۲/۵، ۵ دسی‌زیمنس بر متر تعدیل کرد. برای مثال در شرایط شوری ۲/۵ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی با کاربرد باکتری *A. calcoaceticus* به‌دست آمد.

تیمار بذرها با باکتری *A. calcoaceticus*، *B. megaterium* و *E. aerogenes* در شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر، به ترتیب سرعت جوانه‌زنی را ۱۸/۰۶، ۱۳/۷۱ و ۲۸/۸۴ درصد نسبت به شاهد همان سطح افزایش دادند. در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نیز افزایش ۲۴/۷۳ و ۱۳/۶۱ درصدی در تیمار با *B. megaterium* و *E. aerogenes* نسبت به شاهد همان سطح مشاهده شد. کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی در شاهد (عدم تلقیح بذر با باکتری) و سطح شوری ۱۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود که خود نشان دهنده تاثیر مثبت باکتری‌ها در افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر در شرایط شور بود (جدول ۲). لوسی[3] و همکاران (۲۰۰۴) اظهار داشتند قرارگیری بذرها در معرض تنش منجر به افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی و کاهش میانگین جوانه‌زنی در روز می‌شود. آشکارترین اثر شوری تأخیر در رشد است که بواسطه ایجاد خشکی فیزیولوژیکی موجب کاهش آب قابل دسترس و تأخیر و عدم یکنواختی جوانه‌زنی می‌گردد.

طول گیاهچه

اثر شوری، تیمار باکتریایی و برهمکنش این دو بر طول گیاهچه یونجه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در صورت عدم کاربرد باکتری محرک رشد با افزایش سطح شوری به تدریج از طول گیاهچه کاسته شد (جدول ۲). بهشتی[4] و همکاران (۲۰۰۰) نیز بیان داشتند افزایش تنش شوری صفت طول گیاهچه را در همه ارقام یونجه کاهش داد.

در این پژوهش در تمامی سطوح شوری حضور باکتری توانست روند کاهشی طول گیاهچه را در مقایسه با شاهد تعدیل کند. برای مثال در سطح شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر کاربرد *A. calcoaceticus*، *B. megaterium* و *E. aerogenes* به ترتیب افزایش ۱۸/۳۹، ۱۴/۵۲ و ۱۳/۲۳ درصدی و در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر نیز به ترتیب افزایش ۱۱/۹۹، ۱۲/۸۲ و ۱۸/۶۴ درصدی طول گیاهچه نسبت به شاهد داشتند. البته قابل ذکر است که با کاربرد باکتری *E. aerogenes* تغییر معنی‌داری در طول گیاهچه‌های یونجه در سطوح مختلف شوری ۲/۵، ۵ و ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر با شاهد همان تیمار مشاهده نشد. در سطوح شوری ۱۰ و ۱۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر نیز تنها کاهش ۱۲ و ۱۸ درصدی نسبت به شاهد بدست آمد. این در حالیست که در همین دو سطح شوری، *A. calcoaceticus* کاهش ۲۰ و ۳۱ درصدی، *B. megaterium* کاهش ۴ و ۶۱ درصدی و در شاهد بدون باکتری نیز کاهش ۱۴ و ۲۹ درصدی طول گیاهچه مشاهده شد. این نتیجه نشان داد باکتری *E. aerogenes* ثبات بالایی در سطوح مختلف شوری از خود نشان داد. باکتری *Bacillus* می‌تواند با تولید هورمون ایندول استیک اسید در محیط اطراف خود باعث افزایش رشد ساقه و ریشه شده که این امر به طور

[1] Sarkar
[2] Yazdani bouki
[3] Lucy
[4] Beheshti

www.SID.ir

Archive of SID

مستقیم از طریق تحریک طویل شدن سلول‌های گیاهی و تقسیم سلولی و یا به طور غیر مستقیم از طریق تاثیر بر فعالیت ACC دآمینازی سبب رشد گیاه می‌شود (وحیودی[1] و همکاران، ۲۰۱۱). باکتری‌های مولد ACC دآمیناز با توسعه و گسترش ریشه، رشد ساقه و عملکرد را به طور مثبت تحت تاثیر قرار می‌دهند. باکتری‌های *Pseudomonas putida* R4 و *Pseudomonas chlororaphis* R5 در شرایط تنش شوری سبب افزایش رشد ریشه، ساقه و میزان ماده خشک در پنبه (*Gossypium hirsutum*) شدند (اگامبردیوا[2] و همکاران، ۲۰۱۵). باکتری‌های *Pseudomonas* sp. استخراج شده از بذرهای یک گونه وحشی برنج (*Leersia oryzoides* L.) توانایی تولید IAA و فعالیت ضدقارچی از خود نشان دادند و سبب افزایش رشد ساقه، ریشه و تشکیل ریشه‌های مویین شدند (ورما[3] و همکاران، ۲۰۱۸). سزن[4] و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند کاربرد باکتری‌های *Bacillus cereus*، *Enterobacter cloacae* و *Bacillus megaterium* سبب افزایش ارتفاع بوته، ماده خشک و میزان پروتئین در گندم بهاره شدند. *Enterobacter cloacae* CAL2 سبب تحریک رشد گیاه از طریق فعالیت آنزیم ۱-آمینوسیکلو پروپان-۱-کربوکسیلات (ACC) دآمیناز می‌شود که باعث کاهش سطوح اتیلن و تولید ریشه‌های بلند می‌گردد (شاه[5] و همکاران، ۱۹۹۸). کاربرد باکتری محرک رشد *Bacillus megaterium* سبب افزایش رشد ساقه و ریشه گیاه می‌شود (هان و لی[6]، ۲۰۰۶). باکتری‌های محرک رشد در شرایط کمبود مواد غذایی با تولید اتیلن از طریق آنزیم ۱-آمینو سیکلو پروپان-۱-کربوکسیلیک اسید باعث افزایش انحلال مواد غذایی و تقویت سیستم ریشه‌ای می‌شوند (گلیک[7]، ۲۰۱۲).

وزن خشک گیاهچه

اثر باکتری و برهمکنش آن با سطوح شوری بر وزن خشک گیاهچه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تنش شوری، وزن خشک گیاهچه را افزایش داد و استفاده از باکتری باعث تشدید این افزایش تحت شرایط تنش شد. این امر از طریق افزایش قطر ریشه در طی این آزمایش مشهود بود. وگان[8] و همکاران (۲۰۰۲) (۲۰۰۲) گزارش دادند در یونجه دارای ریشه با فیبر بالا، با افزایش شوری، افزایش قطر ریشه و عملکرد علوفه حاصل شد. بالاترین میزان وزن خشک مربوط به استفاده از باکتری *E. aerogenes* در سطح شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود که نسبت به شاهد همان سطح شوری، ۱۶/۷۸ درصد افزایش وزن داشت (جدول ۲). احتمالا وجود باکتری مکانیسم دفاعی علیه تنش در گیاه را فعال کرده (ابراهیم[9]، ۲۰۱۵)، سبب رشد تارهای کشنده و جذب بهتر مواد غذایی می‌شود (وان لون[10]، ۲۰۰۷). باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 توانایی تولید اسید جیبرلیک را داشته و تلقیح آن با نشاء گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) پارامترهای رشدی را افزایش داد (شهزاد[11] و همکاران، ۲۰۱۶). در آزمایشی تلقیح برنج با باکتری *Bacillus subtilis* باعث افزایش وزن خشک گیاه و عملکرد دانه برنج شد (واسادوان[12] و همکاران، ۲۰۰۱). استفاده از باکتری‌های *Burkholderia anthina* و *Pantoea agglomerans* باعث افزایش طول ریشه و ساقه و وزن خشک آن‌ها در گیاه ماش (*Vigna radiata* [L.] R. Wilczek) شد (والپولا و یون[13]، ۲۰۱۳).

[1] Wahyudi
[2] Egamberdieva
[3] Verma
[4] Sezen
[5] Shah
[6] Han and Lee
[7] Glick
[8] Vaughan
[9] Ibrahim
[10] Van Loon
[11] Shahzad
[12] Vasudevan
[13] Walpola and Yoon

www.SID.ir

Archive of SID

شاخص بنیه I

اثر شوری، باکتری و برهمکنش آن‌ها بر شاخص بنیه I گیاهچه‌های یونجه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد استفاده از باکتری‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای سبب افزایش این شاخص در شرایط تنش و بدون تنش شد. کاربرد باکتری باعث شد که گیاهچه شرایط تنش را بهتر تحمل کند و بنیه آن افزایش یابد. با افزایش تنش در شرایط بدون باکتری سیر نزولی در شاخص بنیه دیده شد، ولی کاربرد باکتری‌ها سبب تعدیل این کاهش شد. در سطوح صفر، ۵، ۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر شوری، اختلاف معنی‌داری بین سه باکتری با شاهد آن سطح دیده شد و حضور باکتری سبب افزایش بنیه گردید. بالاترین شاخص بنیه مربوط به استفاده از باکتری *A. calcoaceticus* در شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود که نسبت به شاهد همان سطح ۳۳/۵۲ درصد افزایش نشان داد (جدول ۲). کریشنا[1] و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند استفاده از کودهای زیستی باعث بهبود شاخص بنیه بذر می‌شوند.

شاخص بنیه II

نتایج تجزیه واریانس حاکی از تاثیر معنی‌دار تنش شوری و باکتری و برهمکنش آن‌ها بر شاخص بنیه II بذر یونجه در سطح احتمال یک درصد می‌باشد. مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که بالاترین میزان شاخص بنیه II مربوط به تیمار بذرها با *E. aerogenes* تحت تنش شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود که افزایش ۱۲/۲۸ درصدی نسبت به شاهد همان سطح داشت. در سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر نیز افزایش ۷/۷۸ درصدی با کاربرد *A. calcoaceticus* نسبت به شاهد همان سطح بدست آمد (جدول ۲). بررسی تیمار بذرها با باکتری محرک رشد بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه ریحان تحت تنش شوری توسط عقیقی شاهوردی[2] و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد تلقیح بذر با باکتری‌های ازتوباکتر، کود زیستی فسفات بارور ۲ و سودوموناس فلورسنس بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه بذر تاثیر مثبت داشتند. از آنجا که باکتری *Enterobacter* sp. NBRI K28 قادر به تولید سیدروفور و اسید ایندول استیک بوده همچنین فعالیت ACC دآمینازی داشته و سبب افزایش رشد گیاه *Brassica juncea* می‌گردد (کومار[3] و همکاران، ۲۰۰۸). باکتری *Enterobacter asburiae* PS2 از ریزوسفر گیاه خردل (*Brassica compestris* L.) جداسازی شد و توانایی تولید سیدروفور، انحلال فسفات، تولید اسید ایندول استیک، سیانید هیدروژن، آمونیاک و اگزو پلی‌ساکارید را نشان داد. این باکتری باعث افزایش فعالیت‌های رشدی گیاه حتی در حضور خاک‌های آلوده به قارچ‌کش می‌شود (احمد و خان[4]، ۲۰۱۰).

ضریب آلومتریک

اثر باکتری و شوری در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد ضریب آلومتریک گیاهچه یونجه را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۱). در شرایط عدم کاربرد باکتری با افزایش شوری میزان ضریب آلومتریک افزایش یافت، درحالی که کاربرد باکتری‌ها در شرایط شوری سبب کاهش ضریب آلومتریک گردید که به معنی افزایش طول ریشه‌چه در مقابل ساقه‌چه است (جدول ۲). این صفت ممکن است در القای مقاومت به شوری و یا خشکی متعاقب آن مهم باشد. استفاده از باکتری *Acinetobacter rhizosphaerae* BIHB 723 در تلقیح با بذرهای سنجد تلخ (*Hippophae rhamnoides*) باعث افزایش طول ریشه، طول ساقه و ماده خشک شد و ویژگی‌هایی چون معدنی کردن فسفر آلی، تولید اکسین، فعالیت ACC دآمینازی، تولید آمونیاک و تولید سیدروفور از خود نشان داد (گولاتی[5] و همکاران،

[1] Krishna
[2] Aghighi shahverdi
[3] Kumar
[4] Ahemad and Khan
[5] Gulati

www.SID.ir

Archive of SID

۲۰۰۹).

نتیجه‌گیری

اعمال تیمارهای شوری باعث کاهش معنی‌دار صفات جوانه‌زنی یونجه همدانی گردید و صفات گیاهچه‌ای نیز تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفتند. این اثرات با افزایش سطح شوری شدیدتر شد. باکتری‌های ریزوسفری مورد استفاده در این آزمایش شامل *A. calcoaceticus*، *B. megaterium* و *E. aerogenes* نه تنها در شرایط بدون تنش شوری بلکه در شرایط شوری صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای را افزایش دادند. بطوری که باکتری *A. calcoaceticus* نقش موثری در تعدیل اثرات منفی شوری بر صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه I و II و ضریب آلومتریک داشت و باکتری *E. aerogenes* به صورت کارآمدتر سبب تعدیل اثرات منفی شوری بر صفات طول و وزن خشک گیاهچه شد.

منابع

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. Crop Science, 13(6): 630-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x

Afrakhteh, S., Frahmandfar, E., Hamidi, A. and Ramandi, H.D. 2013. Evaluation of growth characteristics and seedling vigor in two cultivars of soybean dried under different temperature and fluidized bed dryer. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5: 2537-2544. [In Persian with English Summary].

Aghighi Shahverdi, M., Mamivand, B. and Atayi Samagh, H., 2014. Effect of seed pre-treatment with growth promoting bacteria on germination indices medicinal herb of basil under salt stress. Journal of Seed Research, 4(4): 38-50. [In Persian with English Summary].

Ahemad, M. and Khan, M.S. 2010. Plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Enterobacter asburiae* as influenced by fungicides. Journal of Biosciences, 4: 88-95. https://doi.org/10.5053/ejobios.2010.4.0.11

Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment-ashotgun approach to improve germination plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions. Advances in Agronomy, 88: 223-271. https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)88006-X

Barra, P.J., Inostroza, N.G., Acuna, J.J., Mora, M.L., Crowley, D.E. and Jorquera, M.A. 2016. Formulation of bacterial consortia from avocado (*Persea americana* Mill.) and their effect on growth, biomass and superoxide dismutase activity of wheat seedlings under salt stress. Applied Soil Ecology, 102: 80-91. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.02.014

Beheshti, A., Tavakkoli, H.R. and Koocheki, A. 2000. The effect of salt stress and temperature on germination of different alfalfa cultivars. Journal of Agricultural Science and Technology, 14(1): 71-79. [In Persian with English Summary.[

Burd, G.I., Dixon, D.G. and Glick, B.R. 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. Applied and Environmental Microbiology, 64: 3663-3668. https://doi.org/10.1128/AEM.64.10.3663-3668.1998

Choudhary, S.K., Gupta, S.K., Singh, M.K. and Sheraz Mahdi, S. 2016. Role and its utilization of beneficial micro-organisms for sustainable crop production. International Journal of Agricultural Sciences, 12(2): 370-378. https://doi.org/10.15740/HAS/IJAS/12.2/370-378

Egamberdieva, D., Jabborova, D. and Hashem, A. 2015. Pseudomonas induces salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) and resistance to Fusarium root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. Saudi Journal of Biological Sciences, 22: 773-779. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.019

www.SID.ir

Ezadi Darband, A., Mohammadian, M., Yangh, A. and Zarghani, H. 2012. The effect of temperature and salinity on germination and growth characteristics of sesame varieties (*Sesamum indicum* L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 10(2): 335-345. [In Persian with English Summary].

Farooq, M., Gogoi, N., Hussain, M., Barthakur, SH., Paul, S., Bharadwaj, N., Migdadi, H.M., Alghamdi, S.S. and Siddique, K.H.M. 2017. Effects, tolerance mechanisms and management of salt stress in grain legumes. Plant Physiology and Biochemistry, 118: 199-217. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.020

Gholami, A., Shahsavani, S. and Nezarat, S. 2009. The Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. Proceedings of Word Academy of Science. Engineering and Technology, 37: 2070-3740. [In Persian with English Summary].

Glick, B.R. 2012. Plant Growth Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. Hindawi Publishing Corporation Scientifica, pp.15. https://doi.org/10.6064/2012/963401

Grieve, C.M., Lesch, S., Francois, L. and Mass, E.W. 1992. Analysis of main spike yield components in salt stressed wheat. Crop Science, 32: 697-703. https://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200030025x

Gulati, A., Vyas, P., Rahi, P. and Kasana, R.C. 2009. Plant growth-promoting and rhizosphere-competent acinetrobacter rhizosphaerae strain BIHB 723 from the cold deserts of the himalayas. Current Microbiology, 58: 371-377. https://doi.org/10.1007/s00284-008-9339-x

Han, H.S. and Lee, K.D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant Soil Invironment, 52(3): 130-136. https://doi.org/10.17221/3356-PSE

Ibrahim, E.A. 2015. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. Journal of Plant Physiology, 192: 38-46. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011

ISTA (International Seed Testing Association). 2011. International rule for seed testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Kalsa, K.K. and 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. https://doi.org/10.5897/AJAR11.1489

Kang, S.M., Joo, G.J., Hamayun, M., Na, C.I., Shin, D.H., Kim, H.Y., Hong, J.K. and Lee, I.J. 2009. Gibberellin production and phosphate solubilization by newly isolated strain of *Acinetobacter calcoaceticus* and its effect on plant growth. Biotechnology Letters, 31(2): 277-281. https://doi.org/10.1007/s10529-008-9867-2

Khan, F.A, Bhat, S.A, Narayan, S., Maqbool, R., Murtuza, I. and Khan, F.U. 2017. Seed deterioration and priming. SKUAST Journal of Research, 19(1): 12-21.

Kizilkaya, R. 2008. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. Ecological Engineering, 33: 150-156. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.02.011

Krishna, A., Patil, C.R., Raghavendra, S.M. and Jakati, M.D. 2008. Effect of bio-fertilizers on seed germination and seedling quality of medicinal plant. Karnataka Journal of Agriculture and Science, 21(4): 588-590.

Kumar, K.V., Sing, N., Behl, H.M. and Srivastava, SH. 2008. Influence of plant growth promoting bacteria and its mutant on heavy metal toxicity in *Brassica juncea* grown in fly

www.SID.ir

Archive of SID

ash amended soil. Chemosphere, 72: 678-683. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.025

Lastochkina, O., Pusenkova, L., Yuldashev, R., Babaev, M., Garipova, S., Blagova, D., Khairullin, R. and Aliniaeifard, S. 2017. Effects of Bacillus subtilis on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity. Plant Physiology and Biochemistry, 121: 80-88. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.020

Li, H., Lei, P., Pang, X., Li, H., Xu, Z. and Feng, X. 2017. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant Enterobacter cloacae HSNJ4. Applied Soil Ecology, 119: 26-34. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.05.033

Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. Soil Science, 86(1): 1-25. https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e

Manchanda, G. and Garg, N. 2008. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. Acta Physiologiae Plantarum, 30(5): 595-618. https://doi.org/10.1007/s11738-008-0173-3

Massai, R., Remorini, D. and Tattini, M. 2004. Gas exchange, water relations and osmotic adjustment in two scion/root stock combinations of Prunus under various salinity concentrations. Plant and Soil, 259(1-2): 153-162. https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000020954.71828.13

Mustafa, H.S.B., Mahmood, T., Ullah, A., Sharif, A., Bhatti, A.N., Nadeem, M. and Ali, R. 2017. Role of seed priming to enhance growth and development of crop plants against biotic and abiotic stresses. Section Plant Sciences, 2(2): 1-11.

Piernik, A., Hrynkiewicz, K., Wojciechowska, A., Szymanska, S., Lis, M.I. and Muscolo, A. 2017. Effect of halotolerant endophytic bacteria isolated from *Salicornia europaea* L. on the growth of fodder beet (*Beta vulgaris* L.) under salt stress. Archives of Agronomy and Soil Science, 63(10): 1404-1418. https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1286329

Sadiq, H.M., Jahangir, G.Z., Nasir, I.A., Iqtidar, M. and Iqbal, M. 2013. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soil. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 27(6): 4248-4255. https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0091

Sarkar, A., Ghosh, P.K., Pramanik, K., Mitra, S., Soren, T., Pandey, S., Mondal, M.H. and Maiti, T.K. 2017. For publication a halotolerant Enterobacter sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. Research in Microbiology, 169(1): 20-32. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.08.005

Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science, 24(6): 1192-1199. https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400060043x

Sezen, A., Ozdal, M., Koc, K. and Algur, O.F. 2016. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their effects on improving growth of wheat. Journal of Applied Biological Sciences, 10(1): 41-46.

Shah, S. Li, J., Moffatt, B.A. and Glick, B.R. 1998. Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth-promoting rhizobacteria. Canadian Journal of Microbiology, 44(9): 833-843. https://doi.org/10.1139/w98-074

Shahzad, R., Waqas, M., Khan, A.L., Asaf, S., Khan, M.A., Kang, S., Yun, B. and Lee, I. 2016. Seed-borne endophytic Bacillus amyloliquefaciens RWL-1 produces gibberellins and

www.SID.ir

regulates endogenous phytohormones of Oryza sativa. Plant Physiology and Biochemistry, 106: 236-243. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.006

Shrivastava, P. and Kumar, R. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. Saudi Journal of Biological Sciences, 22: 123-131. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001

Van Loon, L.C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. European Journal of Plant Pathology, 119: 243-254. https://doi.org/10.1007/s10658-007-9165-1

Vasudevan, P., Reddy, M.S., Kavitha, S., Velusamy, P., Paulraj, R.S.D., Purushothaman, S.M., Priyadarisini, V.B., Bharathkumar, S., Kloepper, J.W. and Gnanamanickam, S.S. 2001. Role of biological preparations in enhancement of rice seedling growth and grain yield. Current Science, 83(9): 1140-1144.

Vaughan, L.V., Macadam, J.W., Smith, S.E. and Dudley, L.M. 2002. Root growth and yield of differing alfalfa rooting populations under increasing salinity and zero leaching. Crop Science Journal, 42(6): 2064-2071. https://doi.org/10.2135/cropsci2002.2064

Verma, S.K., Kingsley, K., Bergen, M., English, C., Elmore, M., Kharwar, R.N. and White, J.F. 2018. Bacterial endophytes from rice cut grass (*Leersia oryzoides* L.) increase growth, promote root gravitropic response, stimulate root hair formation, and protect rice seedlings from disease. Plant and Soil, 422(1-2): 223-238. https://doi.org/10.1007/s11104-017-3339-1

Wahyudi, A.T., Astuti, R.P., Widyawati, A., Meryandini, A. and Nawangsih, A.A. 2011. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting Rhizobacteria. Journal of Microbiology and Antimicrobials, 3(2): 34-40.

Walpola, B.C. and Yoon, M. 2013. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake. African Journal of Microbiology Research, 7(3): 266-275.

Wani, P.A., Khan, M.S. and Zaidi, A. 2007. Co-inoculation of nitrogen-fixing and phosphate solubilizing bacteria to promote growth yield and nutrient uptake in chickpea. Acta Agronomica Hungarica, 55(3): 315-323. https://doi.org/10.1556/AAgr.55.2007.3.7

Yazdani bouki, R., Rezvani moghadam, P., Khazaei, H., Ghorbani, R. and Astarayi, A. 2010. Effects of salinity and drought stress on germination characteristics of *Silybum marianum* seed. Iranian Journal of Field Crops Research, 8(1): 12-19. [In Persian with English Summary].

Yazdani, M., and Pridashti, H. 2011. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGRP) on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. Applied Field Crops Research (Pajouhesh & Sazandegi), 24(3): 24-30. [In Persian with English Summary].

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Seed Research, 2020, 6(2): 1-14

Yasouj University

Research article

Effects of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Germination and Early Growth of Alfalfa (*Medicago sativa*) under Salt Stress Conditions

Marzie Soltani Alikooyi [1], Ali Abbasi Sourki [2, *], Shahram Kiyani [3], Mohsen Mobini Dehkordi [4]

Extended Abstract

Introduction: Salinity is one of the most serious abiotic stresses, causing instability in germination and seed emergence due to low osmotic potential and ionic toxicity. Development of simple and low-cost biologic methods is essential for short-term management of salt stress. The use of plant growth-promoting rhizobacteria increases the rate and uniformity of germination. This research aimed to investigate the effect of bacterial growth-promoting bacteria on the germination and seedling growth indices of alfalfa c.v. Hamedani in different salinity levels.

Materials and Methods: A CRD factorial experiment with four replications was conducted in Seed Science and Technology Laboratory of Shahrekord University in 2016. The first factor consisted of 6 salinity levels 0, 2.5, 5, 7.5, 10 and 12.5 dS/m created with sodium chloride, and the second was four levels of bacterial pre-treatment: no inoculation with bacteria and biopriming, inoculation of alfalfa seeds with *Acinetrobacter calcoaceticus* PTCC 1318, *Bacillus megaterium* PTCC 1250 and *Enterobacter aerogenes* PTCC 1221. The seeds were treated with bacteria and placed at a 20 °C growth chamber. They were then irrigated with desired solutions depending on the salinity treatment. Germinated seeds were counted daily and the parameters of germination percentage and rate, seedling length, seedling dry weight, vigour index I, II and allometric coefficient were calculated after 10 days.

Results: Salinity levels higher than 10 dS/m reduced germination indices and seedling growth of alfalfa. The highest reductions were obtained for 12.5 ds/m salinity level versus control for germination percentage (10.81%), germination rate (49.48%), plumule and radicle length (13.30% and 28.88% respectively) and vigor index I and II, which were 30.27% and 6.28%, respectively. The seed treated with A. calcoaceticus was able to tolerate salinity stresses more than others. For example, the reduction for the seed treated with A. calcoaceticus was only 4%, compared with non-stressed control. In salinity conditions 2.5 and 5 dS/m, the highest rate of germination was obtained, using *A. calcoaceticus* bacteria. In addition, the seeds treated with *E. aerogenes* showed higher stability at different levels of salinity for seedling length traits. The highest vigour index related to the use of *A. calcoaceticus* in salinity was 7.5 ds/m.

Conclusions: *A. calcoaceticus* had a significant role in reducing the negative effects of salinity on germination percentage and rate, vigour index I and II and allometric coefficient while *E. aerogenes* bacteria were more effective in reducing negative effects of salinity on seedling length and dry weight.

Keywords: Acinetrobacter, Enterobacter, Bacillus, Germination percentage, Vigor index, seedling dry weight

Highlights:

1- *Acinetrobacter calcoaceticus* bacterium increased the percentage and rate of germination of alfalfa seeds under salt stress.
2- *Enterobacter aerogenes* bacteria efficiently adjusted the negative effects of salinity on alfalfa seedlings length and dry weight.

[1] M.Sc. Student of Seed Science and Technology, the University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[3] Associated Professor of Soil Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[4] Associated Professor of Microbiology Department, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

[*]Corresponding author, E-mail: abbasi@sku.ac.ir

DOR: 98.1000/2383-1251.1398.6.1.12.2. 1575.1610

DOI: 10.29252/yujs.6.2.1

(Received: 10.05.2018; Accepted: 30.10.2018)

CrossMark

www.SID.ir