اثر روش‌های پرایمینگ بر جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه گندم و جمعیت باکتری بر بذر

آسیه غیاثی[۱]، سهیل پارسا[۲]، آیدین حمیدی[۳]، کاظم خاوازی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تکنولوژی بذر دانشگاه بیرجند
۲. استادیار، عضو هیئت علمی، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی بیرجند
۳. استادیار پژوهش، عضو هیئت علمی، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج
۴. استادیار پژوهش، عضو هیئت علمی، موسسه تحقیقات خاک و آب کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۹/۲٤ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۱/۲۸

چکیده

بیواسموپرایمینگ روشی جهت بهبود تأثیرات بیولوژیکی به واسطه وارد کردن اصلاحات فیزیولوژیکی است که ضمن افزایش جوانه‌زنی بذر به جلوگیری از بیماری گیاهچه کمک می‌کند. هدف این پژوهش انتخاب باکتری‌های مناسب در جهت افزایش کارایی بذر و رشد گیاه، با بکارگیری یک روش مناسب پرایمینگ برای استقرار این عوامل بر روی بذر بود که بتواند بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و بنیه گیاهچه و حفظ جمعیت باکتری روی بذرها مؤثر باشد. در این پژوهش بذرهای گندم رقم چمران با ۱۰ سویه باکتری مطلوب از انواع باکتری‌های محرک رشد گیاه و ۱سطح پتانسیل اسمزی پلی اتیلن گلیکول (0.6 Mpa-) به طور همزمان برای تیمار بذرها استفاده شد تا بر اساس میزان تأثیر آنها بر قابلیت جوانه‌زنی بذر، شاخص‌های بنیه گیاهچه (شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه، میانگین طول ساقه‌چه) و بررسی جمعیت باکتری روی بذرها پس از تیمار و در طی انبارداری، بتوان در مورد مؤثر بودن این روش تلفیقی بحث نمود. در ارزیابی شاخص‌های بنیه گیاهچه از طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار و در ارزیابی جمعیت باکتری روی بذر از روش فاکتوریل برپایه طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار در آنالیز داده‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد که تلفیق دو روش بیوپرایم و اوسموپرایم که با عنوان تیمار "بیو- اسموپرایمینگ" معرفی شد نسبت به "بیوپرایمینگ" بر صفات مختلف مرتبط با رشد اولیه گیاهچه برتری نشان نداد، اما در حفظ جمعیت باکتری روی بذر در ۳۰ روز پس از تیمار مؤثر بود. از سوی دیگر، تیمار تلفیقی نسبت به شاهد و عدم تلقیح بذرها، در تمامی صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌دار و برتری نشان داد که بیانگر تأثیر مثبت و افزایشی این تیمار در مقایسه با بذرهای تیمارنشده بود.

واژگان کلیدی: بیو- اسموپرایمینگ، بیوپرایم، جمعیت باکتری، شاخص‌های طولی و وزنی بنیه گیاهچه

www.SID.ir

Email:ghiasi1980@gmail.com

مقدمه

روند افزایشی جمعیت دنیا و نیاز روزافزون بشر به مواد غذایی از عوامل اصلی افزایش سطح زیر کشت، تولید و فرآوری محصولات کشاورزی به ویژه گندم و همچنین سبب توجه کشاورزان به اراضی کم بازده شده است (Harris *et al*., 1999). واضح است که جوانه‌زنی مطلوب و در پی آن استقرار مناسب محصول و حصول سبز یکنواخت در مزرعه می‌تواند راه را برای تولید محصولی قابل قبول از نظر کمی و کیفی هموار سازد. در حقیقت تحقق مطلوب جوانه‌زنی و استقرار گیاه در مزرعه مزیتی اکولوژیک محسوب می‌شود (Khan, 1993). تاکنون کوشش‌های فراوانی در جهت کمک به ارتقای جوانه‌زنی بذور در شرایط مزرعه‌ای انجام شده که ماحصل آن در قالب معرفی ارقام جدید، گیاهان تراریخته و مدیریت‌های زراعی خاص و... بوده است (Basra et al., 2005).

تیمارهای پیش از کاشت بذر یا پرایمینگ[1] (Priming) یکی از مهمترین روش‌های مدیریت زراعی است که امروزه ابعاد تجاری و صنعتی به خود گرفته است (Taylor et al., 1998). پرایمینگ بذر تکنیکی است که به واسطه آن بذرها به دلیل آغشته شدن به یکسری مواد خاص، پیش از قرارگرفتن در بستر کاشت و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط، به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند، به‌طوری‌که این تأثیرات را می‌توان در چگونگی جوانه‌زنی، استقرار اولیه گیاه، بهره‌برداری از نهاده‌های محیطی، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول مشاهده کرد (Pill, and Finch-Savage, 2001).

در خصوص روش‌های مختلف پرایمینگ از جمله اسموپرایمینگ[2] و بیوپرایمینگ[3] (تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد) و تأثیرات آن بر جوانه‌زنی و استقرار بهتر بذر و ویژگی‌های مرتبط با آن تحقیقات متعددی صورت گرفته است، ولی گزارشات در خصوص بیو- اسمو پرایمینگ (تلفیق دو روش پرایمینگ) بسیار محدود می‌باشد.

متوسط زمان جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده کلزا، گندم، نخود، سویا، یونجه، ذرت، سورگوم، هندوانه، برنج، کاهو و لوبیا به‌طور معنی‌داری بهبود یافت، که این امر حکایت از تسریع جوانه‌زنی و افزایش بنیه بذر در اثر کاربرد تیمارهای پیش از کاشت بذر دارد (Duman 2006; Basra et al., 2005). پرایمینگ بذر در مورد چغندرقند نیز تأثیرات مثبت مشابهی بر جوانه‌زنی و یکنواختی سبزشدن گیاهچه داشت (Carpon et al., 2000). بنا به گزارش Afzal et al. (2004) کاربرد تیمارهای اسموپرایمینگ، مقاوم سازی[4] و ماتریکوپرایمینگ[5] در مورد بذر کلزا سبب افزایش عملکرد این گیاه شد. افزایش بیوماس در پی پرایمینگ بذر در کاهو نیز مشاهده شده است (Duman et al., 2006). نتایج مطالعات Harris et al. (2001) نشان داد هیدروپرایمینگ[6] بذر در کشورهای هند، نپال و پاکستان عملکرد گندم را بسته به شرایط ناحیه کشت به میزان ۵ تا ۳۶ درصد افزایش داد. Yari et al. (2010) نیز افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر گندم دیم را پس از انجام تیمارهای اسموپرایمینگ گزارش کردند. طی تحقیقی توسط Biswas et al. (2000) افزایش جذب نیتروژن و پتاسیم در گیاهچه برنج در اثر مایه تلقیح PGPR[7] مشاهده شد. در تحقیقی مشاهده شد که سویه‌های PGPR که قادر به تولید IAA هستند روی گیاهچه‌های تلقیح شده گندم و برنج دارای اثرات مفیدی بودند (Zahir et al., 2004). در تحقیق Khalid et al. (2004)، در

[1]. Priming
[2]. Osmopriming
[3]. Biopriming
[4]. Hardening
[5]. Matricpriming
[6]. Hydropriming
[7]. Plant Growth Promoting rhizobacteria

www.SID.ir

خصوص تأثیر PGPR بر پارامترهای رشد گیاه گندم طول ریشه، وزن خشک ریشه، طول اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی بذرهای تلقیح شده گندم به ترتیب به میزان ۱۷/۳، ۱۳/۵، ۳۷/۷ و ۳۶/۳ درصد افزایش نشان داد.

بیواسموپرایمینگ[1] گامی به سوی بهبود تأثیرات بیولوژیکی به واسطه وارد کردن اصلاحات فیزیولوژیکی است که جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد و به جلوگیری از بیماری کمک می‌کند. بیواسموپرایمینگ امکان پرایمینگ موفق بذر و تلقیح آن با باکتری‌های سودمند که دوره انبارداری بهتری در مقایسه با تیمارهای تلقیح معمولی دارد را فراهم می‌نماید (Warren and Bennett, 1999).

هدف از اجرای این پژوهش بررسی دستیابی به بنیه گیاهچه قویتر درگندم آبی رقم چمران، با تلفیق روش‌های بیوپرایمینگ (تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد گیاه) و اسموپرایمینگ (تیمار با پلی اتیلن گلیکول) و همچنین حفظ و اطلاع از میزان کاهش جمعیت باکتری‌های تلقیح شده روی بذرها در روش تلفیقی بیو- اسموپرایمینگ بود. انجام همزمان دو روش پرایمینگ و تلفیق آن ها، از پژوهش‌های نوین محسوب شده که مطالعات در این زمینه محدود و در حال گسترش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در قالب چندین آزمایش مستقل در مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال و مؤسسه تحقیقات خاک و آب در کرج، و به شرح زیر انجام گرفت. در این آزمایش که بر روی بذر گندم رقم چمران انجام شد، تأثیر ۱۰ سویه باکتری از جنس *Pseudomonas* به دو صورت کاربرد به تنهایی و به روش تلفیقی، بر شاخص‌های رشد و بنیه گیاهچه و جمعیت باکتری روی بذور مورد بررسی قرار گرفت.

- روش تهیه مایه تلقیح مایع و تلقیح بذر گندم با سویه‌های مختلف باکتری

بدین منظور ابتدا باکتری‌های مورد استفاده از بانک میکروبی مؤسسه تحقیقات خاک و آب تحویل و پس از واکشت آن‌ها بر روی محیط‌های مرتبط با هر باکتری و اطمینان از خلوص سویه ها، مایه تلقیح آن ها تهیه و برای این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. پس از آماده سازی نهایی مایه تلقیح، بذرهای گندم براساس تلقیح یک کیلوگرم بذر گندم با صد میلی لیتر مایه تلقیح مایع، تلقیح شد. بدیهی است قبل از تلقیح، بذرهای گندم مورد استفاده در این تحقیق با هیپوکلریت سدیم ضدعفونی سطحی شدند. به منظور حذف اثرات تحریک رشدی ناشی از محیط کشت و مواد افزودنی، یک "شاهد" بدون تلقیح که کلیه عملیات تهیه محیط باکتری را گذرانده ولی تلقیح نشده است مورد استفاده قرار گرفت. بذرها در ظروف جداگانه به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای اتاق داخل مایه تلقیح غوطه ور شده و بلافاصله پس از خارج کردن از داخل مایع به صورت ٤ تکرار ۱۰۰ بذری، در ظروف کشت بر روی کاغذهای جوانه‌زنی مرطوب و به دو روش بین کاغذ و لوله ای کشت شده و در ژرمیناتور ۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷ روز قرار داده شدند. شمارش‌های روزانه به منظور تعیین درصد و سرعت جوانه زنی، و ارزیابی نهایی شاخص‌های بنیه گیاهچه در روز هفتم انجام شد.

- روش تیمار بیواسموپرایمینگ (تلفیق تیمارهای بیوپرایمینگ و اسموپرایمینگ)

از ۱۰ سویه باکتری محرک رشد و یک سطح پتانسیل اسمزی ۰/٦- مگاپاسکال، به منظور تلفیق دو شیوه پرایمینگ در این مرحله آزمایشات استفاده شد. مایه تلقیح باکتری به همان شیوه ذکرشده تهیه شد و بذور گندم پس از ضدعفونی سطحی به دو صورت تیمار شدند:

[1]Bio-osmopriming

www.SID.ir

۱- **بیو- اسمو پرایمینگ (BO)**: بذور تلقیح شده با ۱۰ سویه باکتری برتر، در محلول پلی اتیلن گلیکول و در سطح پتانسیل اسمزی ۰/٦- مگاپاسکال به مدت ۱۲ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند، سپس بذرها با آب مقطر استریل شستشو داده شدند.

۲- **اسمو- بیو پرایمینگ (OB)**: بذرهای تیمار شده درمحلول پلی اتیلن گلیکول (۰/٦- مگاپاسکال) پس از ۱۲ ساعت پرایمینگ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و خشک شدن در دمای اتاق، به وسیله مایه تلقیح ۱۰ سویه باکتری مورد نظر به طور جداگانه تلقیح شدند.

۳- **شاهد (Control)**: بذور تلقیح شده با محیط کشت مایع فاقد باکتری

٤- **تیمار نشده (Untreated)**: بذور گندم بدون اعمال هیچ گونه تیمار بر روی آن

شاخص‌های مورد ارزیابی (Dehghanshoar et al., 2006):

- درصد و سرعت جوانه زنی،
- طول ریشه چه و ساقه چه،
- وزن تر و خشک ریشه چه و ساقه چه،
- شاخص‌های بنیه گیاهچه (SVI1: شاخص طولی بنیه گیاهچه، SVI2: شاخص وزنی بنیه گیاهچه)

SVI (1) = (میانگین طول ریشه چه + میانگین طول ساقه چه) × جوانه‌زنی نهایی

SVI (2) = درصد جوانه‌زنی نهایی× وزن خشک گیاهچه

تعیین و شمارش جمعیت باکتری

در این مرحله پس از آماده سازی بذور تیمارهای مورد نظر (بیوپرایمینگ، اسموبیوپرایمینگ، بیواسموپرایمینگ)، ۱۰ عدد بذر تلقیح شده گندم (از هریک از سویه‌های باکتری در تیمارهای مختلف)، انتخاب و در لوله حاوی ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. پس از هم زدن لوله با ورتکس، سری رقت‌های (10^{-1} تا 10^{-6}) تهیه شد و از هریک از رقت‌های (10^{-3}) (10^{-4}) (10^{-5}) (10^{-6})، ۰/۱ میلی لیتر به دو پلیت حاوی محیط کشت King B منتقل و با میله شیشه ای در سطح محیط پخش شد. پلیت ها به انکوباتور منتقل و پس از ٤۸ ساعت کلنی ها شمارش و جمعیت باکتری ها تعیین گردید.

شمارش جمعیت باکتری بر روی بذرهای تیمارشده (B، BO و OB) در سه مقطع زمانی T_0: بلافاصله پس از تیمار، T_{30}: سی روز پس از تیمار و T_{90}: نود روز پس از تیمار انجام شد.

روش‌های آماری مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل داده ها:

نتایج بر اساس فرضیه‌های مورد نظر توسط نرم افزارهای SAS و Excel تجزیه تحلیل شدند. در ارزیابی شاخص‌های رشد و بنیه گیاهچه از طرح پایه کاملاً تصادفی با ٤ تکرار و در آنالیز جمعیت باکتری بر روی بذر قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. مقایسات میانگین به روش LSD و در سطح احتمال ۱درصد انجام شد. همچنین با توجه به اینکه تعداد تیمار مورد مقایسه بیش از دو و سطوح تیمارها کیفی (روش‌های پرایمینگ) و قابل گروه بندی شدن با هدف مقایسه تیمارهای تلفیقی با سایر تیمارها بود، در روش تجزیه پس از ANOVA از مقایسات گروهی استفاده شده است (Soltani, 2007).

www.SID.ir

جدول اصطلاحات

تیمارها	B	BO	OB	Control	Untreated
معادل فارسی	بیوپرایم	بیو- اسموپرایم	اسمو- بیوپرایم	شاهد	تیمار نشده
				بذور تیمارشده با محیط کشت مایع فاقد باکتری	بذور گندم بدون اعمال هیچگونه تیمار بر روی آن

نتایج و بحث

- **نتایج آزمایشات توأم بیوپرایمینگ و اسموپرایمینگ (بیو- اسموپرایمینگ) بذر گندم:**

تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های بدست آمده مشخص ساخت که به جز متوسط جوانه‌زنی روزانه و قابلیت جوانه‌زنی بذرها، تیمارهای مختلف پرایمینگ در ویژگی‌های مرتبط با رشد گیاهچه دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱).

بررسی نتایج مقایسات گروهی نشان داد که تیمارهای بیوپرایم، اسمو- بیوپرایم، بیو- اسموپرایم و شاهد با بذرهای تیمارنشده در صفت قابلیت جوانه‌زنی اختلاف معنی‌دار نداشتند. همچنین بین تیمارهای بیوپرایم با تیمارهای بیو- اسموپرایم و اسمو-بیوپرایم نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). مقایسات گروهی در مورد طول ساقه اولیه و ریشه اولیه و وزن تر ساقه اولیه، اختلاف تیمارهای انجام شده را نسبت به شاهد و بذرهای تیمارنشده در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار نشان داد. همچنین بین تیمار بیوپرایم با تیمارهای بیو- اسموپرایم و اسمو- بیوپرایم نیز در سطح احتمال ۰/۰۱درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۲ و ۳). در مورد وزن خشک ساقه اولیه و وزن تر ریشه اولیه، اختلاف تیمارهای انجام شده نسبت به شاهد و بذرهای تیمارنشده معنی‌دار نبود (جدول ٤). در شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه، اختلاف تیمارهای انجام شده نسبت به بذرهای تیمارنشده در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). بر اساس نتایج حاصل از مقایسات گروهی که بین تیمارهای مختلف بیوپرایم (B)، بیو- اسموپرایم (BO) و اسمو- بیوپرایم (OB) بر روی صفات مختلف مرتبط با رشد اولیه گیاهچه بدست آمد مشخص شد که در همه موارد تیمار بیوپرایم برتری نشان داده و بنابراین تلفیق دو روش بیوپرایم و اسموپرایم که با عنوان تیمار "بیو- اسموپرایمینگ" معرفی شد نسبت به" بیوپرایمینگ" بر روی صفات مورد بررسی برتری نشان نداد. در مقایسه تیمارهای بیو- اسموپرایم و اسمو- بیوپرایم مشخص شد که این دو روش تلفیق، در اکثر موارد اختلاف معنی‌دار نداشتند و در موارد وجود اختلاف، تیمار بیو- اسموپرایمینگ برتر بود.

از سوی دیگر نتایج بدست آمده نشان داد که هر سه تیمار ذکرشده نسبت به شاهد و عدم تلقیح بذرها در تمامی صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌دار و برتری نشان دادند که بیانگر تاثیر مثبت و افزایشی این تیمارها در مقایسه با بذرهای تیمار نشده بود. موارد ذکر شده در شکل ۱ نشان داده شده است.

- **بررسی جمعیت باکتری بر روی بذور در سه مقطع زمانی در تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم:**

تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های بدست آمده مشخص ساخت که اثر زمان بر روی جمعیت باکتری روی بذرها و همچنین اثر متقابل پرایمینگ و زمان نگهداری بذور معنی‌دار بود. این در حالی است که تیمارهای مختلف پرایمینگ برجمعیت باکتری روی بذر اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ٦).

Archive of SID

www.SID.ir

- بررسی اثر متقابل پرایمینگ و زمان بر جمعیت باکتری روی بذر:

نتیجه تجزیه واریانس (جدول ٦) حاکی از معنی‌دار بودن اثر متقابل فاکتورهای پرایمینگ و زمان بود. معنی‌دار بودن اثر متقابل به این معنا است که تاثیر تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم و اسمو- بیوپرایم بر جمعیت باکتری روی بذرها به زمان نگهداری بذرها بستگی دارد. برش دهی اثرمتقابل تیمارهای پرایمینگ در سه مقطع زمانی بر جمعیت باکتری ها بر روی بذر نشان داد که تیمارهای مختلف پرایمینگ شامل بیوپرایم، بیو- اسموپرایم و اسمو- بیوپرایم در مقاطع زمانی T_0 و T_{90} بر جمعیت باکتری روی بذر اختلاف معنی‌دار نشان نداده، اما در زمان T_{30} این اختلاف معنی‌دار بود (جدول۷).

مقایسه میانگین تیمارهای پرایمینگ (B, BO, OB) در مقطع زمانی بلافاصله پس از تیمار (T_0) اختلاف معنی‌دار بر جمعیت باکتری روی بذر را نشان ندادند. این اختلاف در ۹۰ روز پس از تیمار (T_{90}) نیز معنی‌دار نبود. در مقطع زمانی ۳۰ روز پس از تیمارها (T_{30}) اختلاف تاثیر تیمارهای مختلف بر جمعیت باکتری روی بذر مشهود شد (جدول ۸)، بدین ترتیب که در این زمان تیمار اسمو- بیوپرایم و بیو- اسموپرایم در مقایسه با بیوپرایم در حفظ جمعیت باکتری روی بذرها موفق‌تر و موثرتر بوده‌اند (شکل ۲). در بخشی از تحقیقات Warren and Bennett (1999) که بر روی بررسی خصوصیات انبارداری باکتری ها بر روی بذرهای گوجه فرنگی تیمار شده بیو اسمو پرایم و بیو پرایم انجام شد، جمعیت باکتری بر روی بذر در هر دو تیمار تا ٤ ماه انبارداری زیاد و در حد جمعیت اولیه پس از تلقیح روی بذر بود، ولی در ۸ ماه انبارداری این جمعیت کاهش یافت. این افت می‌تواند به دلیل کاهش رطوبت در این بذرها پس از ٦ ماه نگهداری باشد. نکته قابل توجه این بود که بذرهای بیواسموپرایم در مقایسه با بذرهای بیوپرایم، پس از ۸ ماه انبارداری درصد بالاتری از جمعیت باکتری را نسبت به جمعیت اولیه حفظ کردند.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از مقایسات میانگین و برش دهی اثرات متقابل تیمارهای مختلف و زمان نگهداری بذرها پس از تیمار روی جمعیت باکتری روی بذر (cfu)[1] بدست آمد، مشخص شد که تیمار "بیواسموپرایمینگ" نسبت به "بیوپرایمینگ" برروی صفت مورد بررسی برتری نشان داد. بدین ترتیب که جمعیت باکتری بر روی بذر، در ۳۰ روز پس از تیمارها نسبت به روز تلقیح در بیوپرایم ٦٦ درصد، در بیو- اسموپرایم ٤٥ درصد و در اسمو- بیوپرایم ۱۷ درصد جمعیت اولیه، کاهش یافته است.

بحث

در بذرهای پرایم شده برخی تغییرات متابولیکی و بیوشیمیایی به نفع جوانه‌زنی تحقق می‌یابد. برای مثال در این بذرها بخشی از پروتئین‌ها و هیدراتهای کربن در اثر آنزیم‌ها و واکنش‌های هیدرولیزکننده شکسته شده و آماده شرکت در فرآیند جوانه‌زنی می‌شوند. این مسئله می‌تواند توجیهی برای تسریع جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی باشد (Taylor et al.,1998). Goping et al., (2000) نشان دادند بهبود ویگور بذرهای پیش تیمار شده با افزایش متابولیسم فعال اکسیژن در گیاهچه مرتبط است.

مطالعات انجام شده بیانگر این هستند که برخی باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* با تولید هورمون‌های گیاهی و افزایش جذب مواد غذایی بطور مستقیم قادرند رشد گیاهان را افزایش دهند. تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه مهمترین ساز و کار تأثیرگذاری PGPR بر رشد و ریخت شناسی ریشه محسوب می‌شود که به صورت افزایش سطح ریشه گیاه میزبان بروز

[1] Colony forming unit

www.SID.ir

می‌کند (Banerjee et al., 2006). تأثیر مواد تنظیم کننده رشد تولید شده به وسیله PGPR بر رشد ریشه از طریق پارامترهایی بروز می‌کند که مهمترین آن ها افزایش وزن ریشه، افزایش انشعابات ریشه، کاهش ضخامت ریشه و افزایش تارهای مویین سطح ریشه می‌باشند که از میان آن ها افزایش وزن ریشه در اثر کاربرد PGPR عمومی تر می‌باشد (Vessey and Buss, 2002). اسید ۳- ایندول استیک مؤثرترین ترکیب تأثیرگذار بر آغازش ریشه، تقسیم و رشد سلول است (Vivanco and Flores, 2000) که اثر آن عمدتاً به صورت افزایش طول ریشه بروز می‌کند (Patten and Glick, 2002). مطالعه و بررسی علاوه بر تأثیر غیرمستقیم PGPR از طریق تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه بر رشد ریشه، شواهدی دال بر این که این باکتری ها به طور مستقیم تنفس ریشه و در نتیجه افزایش رشد ریشه را سبب می‌گردند وجود دارند. به طوری که افزایش میزان تنفس ریشه برخی گونه‌های گیاهی در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گزارش گردیده است (Sarig et al., 1992؛ Vedderweiss et al., 1999).

در تلفیق دو روش پرایمینگ (بیو- اسموپرایمینگ) به نظر می‌رسد که تیمار بذور با پلی اتیلن گلیکول بر جمعیت باکتری هایی که در ادامه به بذر اضافه می‌شوند تأثیر منفی و کاهشی نداشته است اما از سوی دیگر ممکن است به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محیط فعالیت باکتری ها سبب کاهش فعالیت تنفسی باکتری ها و یا کاهش تولید هورمون ها و مواد محرک رشد تولید شده توسط PGPR ها شده باشد که در نتیجه آن تیمار بیو- اسموپرایمینگ افزایش پارامترهای مورد بررسی را به اندازه آنچه در تیمار بیوپرایمینگ (تلقیح با باکتری) ارزیابی شده، نشان ندادند.

نتیجه گیری نهایی

تلفیق دو روش پرایمینگ ذکر شده یعنی کاربرد همزمان باکتری‌های محرک رشد (بیوپرایمینگ) و پلی اتیلن گلیکول (اسموپرایمینگ) که تحت عنوان "بیو- اسموپرایمینگ" نامگذاری شده است، بر بذر گندم آبی رقم چمران نتایج زیر را در بر داشت:

الف) سبب افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی بذر گندم و شاخص‌های رشدی گیاهچه نسبت به تلقیح بذر با باکتری به تنهایی (بیوپرایمینگ) نشد، اما در مقایسه با بذرهای تیمار نشده این اختلافات معنی‌دار بود.

ب) بر حفظ جمعیت باکتری بر روی بذرها در طی دوره نگهداری آن‌ها خصوصاً در ۳۰ روز پس از تیمارها، بسیار مؤثر بوده و کاهش جمعیت باکتری نسبت به جمعیت اولیه در این روش تلفیقی به طور معنی‌داری کمتر بود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر تیمارهای بیوپرایمینگ، بیو- اسموپرایمینگ، اسمو- بیوپرایمینگ بر قابلیت جوانه‌زنی و ویژگی‌های مرتبط با بنیه گیاهچه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
	df	قابلیت جوانه زنی	متوسط زمان جوانه زنی	طول ساقه چه (سانتی متر)	طول ریشه چه (سانتی متر)	وزن تر ساقه چه (گرم)	وزن تر ریشه چه (گرم)	وزن خشک ساقه چه (گرم)	وزن خشک ریشه چه (گرم)	شاخص میانگین طول ساقه چه	شاخص طولی بنیه گیاهچه SVI1	شاخص وزنی بنیه گیاهچه SVI2
تیمار ها	۳۱	۱۷/۴۴۳**	۳۰۵/۴۲۷۱**	۳/۱۸۶۵**	۶/۶۹۷۳**	۰/۰۲۴۲**	۰/۰۴۰۵۸**	۰/۰۰۰۲۱۹**	۰/۰۰۰۲۷۲۴**	۲/۴۲۸۳۴**	۱۳۶۴۳/۹۱۸**	۶/۹۲۵۴**
اشتباه آزمایشی	۹۶	۲۴/۶۸۴۸	۴۵۷/۲۸۹	۰/۳۱۸۸۲	۰/۷۷۹۱	۰/۰۰۲۵۸	۰/۰۰۶۲۲۵	۰/۰۰۰۰۲۹۶	۰/۰۰۰۰۶۰۰	۱/۰۲۵۹۷	۲۷۶۱۸/۴۵۰	۱/۷۸۰۴
کل	۱۲۷											
ضریب تغییرات (درصد)		۵/۱۸	۴/۴۰	۵/۴۶	۶/۴۲	۸/۲۲	۱۵/۰۴	۷/۸۱	۹/۰۵	۱۰/۹۲	۷/۲۰	۸/۹۷

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱درصد و ns غیرمعنی‌داری را نشان می‌دهد.

www.SID.ir

جدول ۲: مقایسات گروهی تیمارهای بیوپرایم، اسمو- بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، شاهد و تیمارنشده برای صفات قابلیت جوانه‌زنی و وزن تر ساقه اولیه

مقایسه	تیمارها					قابلیت جوانه زنی		وزن تر ساقه اولیه	
	B	OB	BO	Control	Untreated	ss مقایسه	احتمال معنی‌دار بودن	ss مقایسه	احتمال معنی‌دار بودن
C1	-۱	-۱	-۱	-۱	+٤	۲/۱۱۲۵	۰/۵۱۳۵	۰/۰۱۲۲۵	۰/۰۳۳۲
C2	-۱	-۱	-۱	۰	+۳	۳/۵۲۰۸۳	۰/٤۰۱۲	۰/۰۱۰۵۰۲	۰/۰٤٦٤
C3	+۲	-۱	-۱	۰	۰	۸/۱٦٦٦	۰/۲۰۸۰	۰/۰۷۰٤۱٦	>۰/۰۰۰۱
C4	۰	-۱	+۱	۰	۰	۰/۰۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۰٤۲۰۵	۰/۰۰۰٦

جدول ۳: مقایسات گروهی تیمارهای بیوپرایم، اسمو- بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، شاهد و تیمارنشده برای صفات طول ساقه اولیه و طول ریشه اولیه

مقایسه	تیمارها					طول ساقه اولیه		طول ریشه اولیه	
	B	OB	BO	Control	Untreated	ss مقایسه	احتمال معنی‌دار بودن	ss مقایسه	احتمال معنی‌دار بودن
C1	-۱	-۱	-۱	-۱	+٤	۱/۰۱۷۰۰	۰/۰۳۹۲	۱/۵٦۸۰	۰/۰۱۹۲
C2	-۱	-۱	-۱	۰	+۳	۰/۸۹٦۵۳	۰/۰۵۰۹	۱/۱۱۹۳	۰/۰٤۲۵
C3	+۲	-۱	-۱	۰	۰	۸/۹۰٦۰۱	>۰/۰۰۰۱	۱/٦۱۲۰۱	۰/۰۱۷۸
C4	۰	-۱	+۱	۰	۰	۱۰/٤۸۸۲	>۰/۰۰۰۱	۱۲/۳۰۰۸	>۰/۰۰۰۱

جدول ٤: مقایسات گروهی تیمارهای بیوپرایم، اسمو- بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، شاهد و تیمارنشده برای صفات وزن خشک ساقه و وزن تر ریشه اولیه

مقایسه	تیمارها					وزن خشک ساقه اولیه		وزن تر ریشه اولیه	
	B	OB	BO	Control	Untreated	ssمقایسه	احتمال معنی‌دار بودن	ss مقایسه	احتمال معنی‌دار بودن
C1	-۱	-۱	-۱	-۱	+٤	۰/۰۰۰۰۰٦	۰/۳۷٤٤	۰/۰۰۱۰۵۱	۰/۵۸۸٦
C2	-۱	-۱	-۱	۰	+۳	۰/۰۰۰۰۰۰۷	۰/۷۵۱٦	۰/۰۰۰۱۳	۰/۸٤٦٦
C3	+۲	-۱	-۱	۰	۰	۰/۰۰۰۹۳	>۰/۰۰۰۱	۰/۱۷۱۷	>۰/۰۰۰۱
C4	۰	-۱	+۱	۰	۰	۰/۰۰۰۳۳	>۰/۰۰۰۱	۰/۰۷۸۰۱	۰/۰۰۰۳

جدول ۵: مقایسات گروهی تیمارهای بیوپرایم، اسمو- بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، شاهد و تیمارنشده برای صفات شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه

مقایسه	تیمارها					شاخص طولی بنیه گیاهچه		شاخص وزنی بنیه گیاهچه	
	B	OB	BO	Control	Untreated	ssمقایسه	احتمال معنی‌دار بودن	ss مقایسه	احتمال معنی‌دار بودن
C1	-۱	-۱	-۱	-۱	+٤	۲۵۵/۹۷	۰/۷٦۸۲	۰/۷۰۸۷	۰/۰۵۸۸
C2	-۱	-۱	-۱	۰	+۳	۲۵۹۷۰/۲۵	۰/۰۰۸٦	۰/۱۳۷٦۰	۰/۰۱۹۱
C3	+۲	-۱	-۱	۰	۰	۹۱۰٤٤/۸۰	>۰/۰۰۰۱	۱۹/۰۹۹۵	>۰/۰۰۰۱
C4	۰	-۱	+۱	۰	۰	۱۳۵۱٤۸/۰۰	>۰/۰۰۰۱	۲/۰۵۰۳۱	۰/۰۰۵۹

www.SID.ir

جدول ٦: خلاصه تجزیه واریانس اثر تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم و اسمو- بیوپرایم در سه مقطع زمانی بر جمعیت باکتری‌ها روی بذر ($CFU\ Seed^{-1}$)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	٨	٣٠/٦١٥١٠٢١
پرایمینگ	٢	٣/٨٤٩١٦٧^{ns}
زمان	٢	١٠٩/٧٦٦٧٣**
پرایمینگ * زمان	٤	٤/٤٢٢٢٥٥*
اشتباه آزمایش	٣٦	١/٢٦٠٠٠١٦
کل	٤٤	٢٩٠/٢٨٠٨٧٨
ضریب تغییرات (درصد)	٢٧/٩٧	

جدول ٧: نتیجه تجزیه واریانس و برش دهی اثرمتقابل تیمارهای پرایمینگ در سه مقطع زمانی بر جمعیت باکتری ها بر روی بذر

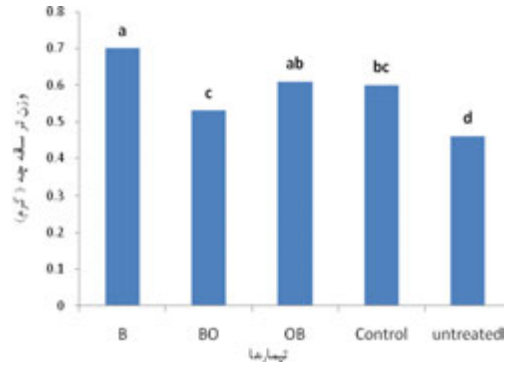
منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات
پرایمینگ (P)	٢	٣/٨٤٩١^{ns}
زمان (T)	٢	١٠٩/٧٦٦٧**
اثر متقابل P×T	٤	٤/٤٢٢٢*
خطا	٣٦	
برش دهی اثر متقابل : مجموع مربعات سطوحP (پرایمینگ) در هر سطح T (زمان)		
سطح T (زمان)	**درجه آزادی**	**مجموع مربعات**
بلافاصله پس از تیمار (T_0)	**٢**	**٠/٤٠٦٩^{ns}**
٣٠ روز پس از تیمار (T_{30})	**٢**	**١١/٧٥٧٧****
٩٠ روز پس از تیمار (T_{90})	**٢**	**٠/٥٢٨٩^{ns}**

جدول ٨: مقایسه میانگین جداگانه سطوح مختلف زمان نگهداری بذر پس از تیمار در هر سطح تیمار پرایمینگ

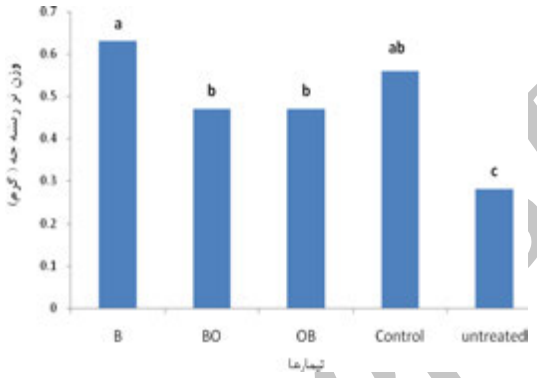
پرایمینگ (P)	زمان (T)	میانگین
بیوپرایم	بلافاصله پس از تیمار (T_0)	٦/٤٣٥٩a
	٣٠ روز پس از تیمار (T_{30})	٢/٨٥٥٣d
	٩٠ روز پس از تیمار (T_{90})	١/٤١٤٨e
بیو- اسموپرایم	بلافاصله پس از تیمار (T_0)	٦/٥٨٨٣a
	٣٠ روز پس از تیمار (T_{30})	٣/٦٣٩٤c
	٩٠ روز پس از تیمار (T_{90})	١/٤٨٤٣e
اسمو- بیوپرایم	بلافاصله پس از تیمار (T_0)	٦/٩٨٨٢a
	٣٠ روز پس از تیمار (T_{30})	٥/٨١٥٢b
	٩٠ روز پس از تیمار (T_{90})	٠/٨٨٩٤e

Archive of SID

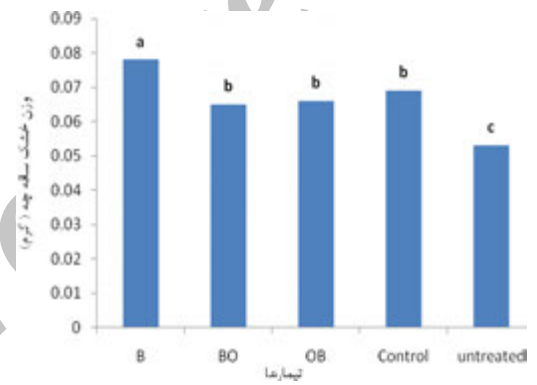
www.SID.ir



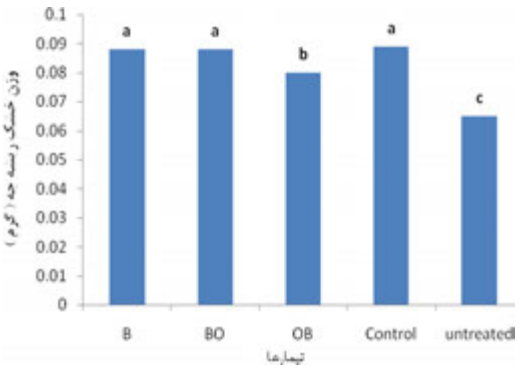
۱-۱: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در وزن تر ساقه چه



۱-۲: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در وزن تر ریشه چه

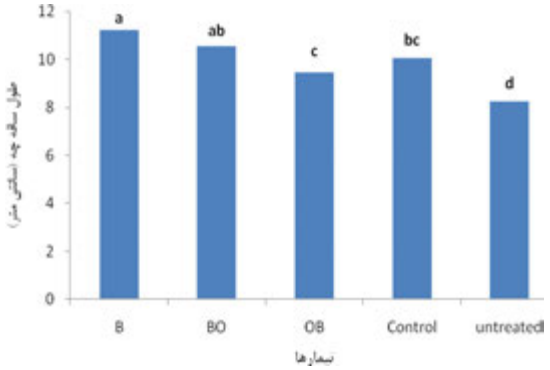


۱-۳: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در وزن خشک ساقه چه

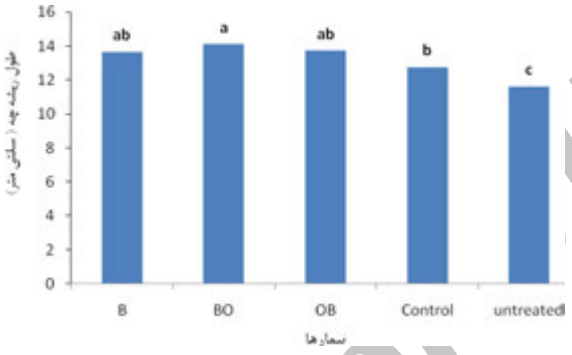


۱-٤: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در وزن خشک ریشه چه

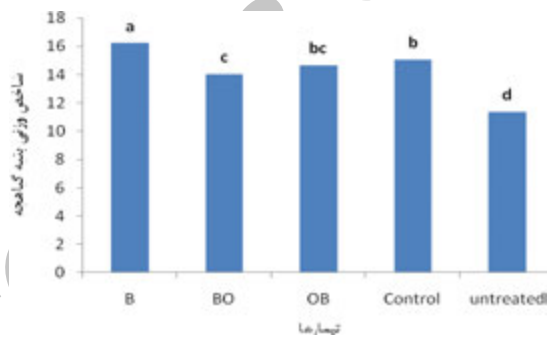
www.SID.ir



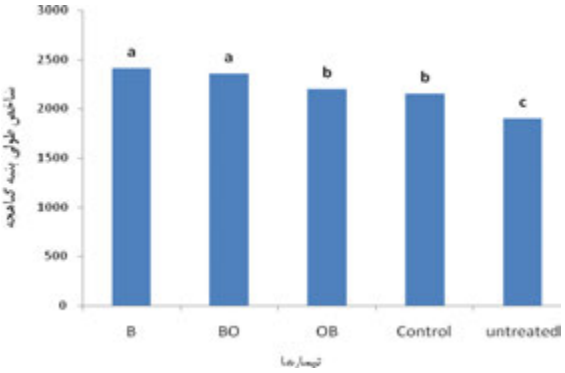
۱-۵: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در طول ساقه چه



۱-۶: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در طول ریشه چه



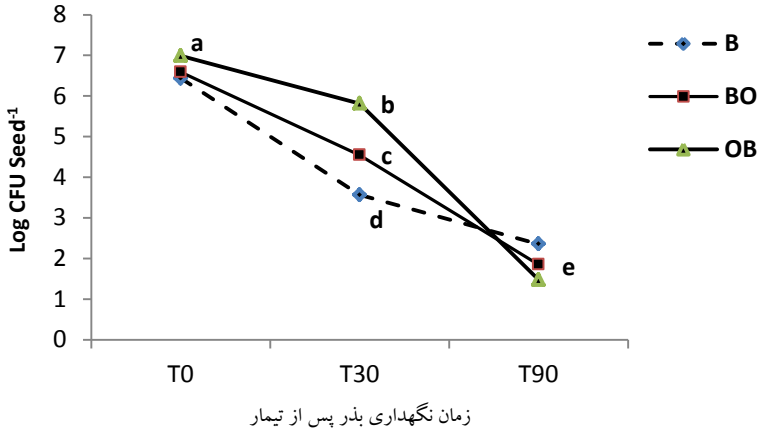
۱-۷: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در شاخص وزنی بنیه گیاهچه



۱-۸: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم در شاخص طولی بنیه گیاهچه

شکل ۱: مقایسه تیمارهای بیوپرایم، بیو- اسموپرایم، اسمو- بیوپرایم، شاهد و تلقیح نشده از نظر صفات مختلف

www.SID.ir



شکل ۲: مقایسه میانگین اثرمتقابل تیمارهای پرایمینگ در سه مقطع زمانی بر جمعیت باکتری ها بر روی بذر

Archive of SID

References

Afzal, I., S.M.A., Basra, N. Ahmad, M.A. Cheema, E.A. Warraich, and A. Khaiq. 2004. Effect of priming and growth regulator treatments on emergence and seedling growth of hybrid Maize (*Zea mays* L.). International Journal of Agriculture & Biology. 1560-8530.

Banerjee, M.R., L. Yesmin, and J.K., Vessey. 2006. Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides, pp. 137-181. in: Handbook of microbial biofertilizers. Ed., Rai, M.K., Food production press, U.S.A.

Basra, S.M.A., M.Farooq, R.Tabassum and N. Ahmad. 2005. Physiological and Biochemical aspects of seed vigor enhancement treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). Seed Sci. and Technol., 33:623-628.

Biswas, J. C., Ladha, J.K., Dazzo, F.B., Yanni, Y.G. and Rolfe, B.G. 2000. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. Agronomy Journal, 92: 880-886.

Carpon, I., Corbineau, F., Docher, F., Job, C., Come D. and Job, D. 2000. Sugar beet seed priming: Effect of priming conditions on germination. Sci. Res., 10: 243-254.

Duman, I., 2006. Effects of seed priming with PEG and K_3Po_4 on germination and seedling growth in Lettuce. Pak. J. Biol. Sci., 9(5): 923-928.

Hampton, J.G., Tekrony, D.M. 2005. Handbook of vigour test methods (3rd.ed).p193.

Harris, D.A., Joshi, P.A., Khan, P., Gothkar, P. and Sodhi, S. 1999. On farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. Experimental Agriculture 35:15-29.

Harris, D., Raghuwenshi, B.S., Gangwar, J.S., Singh, S.C., Joshi, K.B., Rashid, A. and Holington, P.A. 2001. Participatory evaluation by farmers of on-farm seed priming in wheat in India, Nepal and Pakistan. Experimental Agriculture 37:403-415.

Khalid, A. Arshad, M, Zahir, ZA. 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. J Appl Microbiol.96:473-480.

Khan, A.A. 1993. Preplant physiological seed conditioning, Hort. Rev., 13:131-181.

www.SID.ir

Michel, B.E., and M.R.Kaufmann.1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology 51:914-916.

Patten, C.L. and B.R.Glick. 2002. Role of Pseudomonas putida indolacetic acid in development of the host plant root system. Appl. Environ. Microbiol. 38:3795-3801.

Pill, W.G. and Finch-Savage.W.E. 2001. Effect of combining priming and plant growth regulator treatments on the synchronization of carrot seed germination. Annals of Applied Biology114:383-389.

Sarig, S., Y., Okon, and A.Blum. 1992. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on growth dynamics and hydraulics conductivity of *Sorghum bicolor* roots. J.Plant Nut. 15:805-819.

Soltani, A. 2008. Applicationof SAS in statistical Analysis. Jahad-e-daneshgahi Mashhad. P182.

Soltani, A. 2006. Re-consideration of Application of Statistical methods in Agricultural researches. Jahad-e-daneshgahi Mashhad. P73.

Taylor, A.G., Allen, P.S., Bennet, M.A., Bradford, K.J. 1998. Seed enhancements. Seed Science Research 8: 245-256.

Vedderweiss, D., E.,Jukervitch,S.,Burdman,D. Weiss, and Y.Okon. 1999. Root growth respiration and beta-glocosidase activity in maize (*Zea mays* L.) and common bean *(Phaseolus vulgaris*) inoculated with *Azospirillum brasilense.* Symbiosis, 26:367-377.

Vessey, J.K. and T.J.Buss.2002. *Bacillus cereus* UW85 inoculation effects on growth, nodulation, and N accumulation in grain legumes. Controled-environment studies. Can. J. Plant Sci.82:282-290.

Vivanco, J.M. and Flores, H.E. 2000. Control of root formation by plant growth regulators, pp.1-25. in: Plant growth regulators in agriculture and horticulture. Ed., Basra, A.S., Food products press, New York.

Warren, J.E., and M.A., Bennett. 1999. Bio-osmopriming tomato(*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds for improved stand establishment.seed sci. & Technol.,27,489-499.

Wiebe, H.J. and Muhyaddin.T. 1987. Improvement of emergence by osmotic seed treatments in soil of high salinity. Acta Horticulturae. 198.91-100.

Yari, L., Aghaalikani,M.,Khazaei,F.2010. Effect of seed priming duration and temperature on seed germination behavior of bread wheat. ARPN Journal of agricultural and biological science.

Zahir, A.Z., Arshad, M. and Frankenberger (Jr.), W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 81:97-168

Archive of SID

www.SID.ir