**بررسی اثر باکتری ­های محرک رشد بر مولفه­های جوانه­زنی بذر *Astragalus* *cyclophyllon* درشرایط تنش خشکی**

**ریحانه حاج­هاشمی1، عطاءالله ابراهیمی،\*،2، الهام قهساره3**

  **دانشجوی کارشناسی ارشد مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد([www.reihan7117@gmail.com](http://www.reihan7117@gmail.com))**

2 دانشیار، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه شهرکرد

3 استادیار، دانشکده منابع طبیعی وعلوم زمین، دانشگاه شهرکرد

*چكيده*

شناسايي پارامترهاي تاثيرگذار بر جوانه­زني گونه­هاي با ارزش مرتعي از ضرورت­هاي برنامه­هاي اصلاح و احياي مراتع مي­باشد. دراین راستا به منظور بررسی تاثیر باکتری محرک رشد گیاه، بر جوانه­زنی و رشد گونه­ی گون (*Astragalus cyclophyllon*) درشرایط تنش خشکی آزمایشی در آزمایشگاه کشت و تکثیر بذر دانشگاه شهرکرد در قالب طرح کاملا فاکتوریل در3 تکرار اجرا گردید. تیمارهای مورد آزمایش تلقیح باکتری محرک رشد شامل( آزوسپیرلوم ، ازتوباکتر، سودموناس، باسیلوس وشاهد) و چهار سطح خشکی (2/0-، 4/0-، 8/0- مگاپاسکال و شاهد) بود. نتایج نشان داد اثر تلقیح باکتری سودموناس(*Pseudomonas sp.*) به­طور معنی­داری( 5**(**P**≤ %** باعث افزایش طول­ ریشه­چه، طول ساقه­چه و شاخص ویگور در مقایسه با شاهد شد. همچنین مقایسه میانگین داده­ها نشان داد در سطح بالای تنش خشکی، طول ریشه­چه، طول ساقه­چه و شاخص ویگور کاهش یافت.

**واژه های کلیدی**

**باکتری­های محرک رشد، سودموناس، تنش خشکی، طول ریشه­چه ، طول ساقه­چه، شاخص ویگور**

**1-مقدمه**

بشر از دیر هنگام به فکر جبران کمبود موادغذایی خاک­ها با استفاده از کودهای آلی(بقایای گیاهی و فضولات حیوانی) بوده است. اما چون مقادیر زیاد این کودها به آسانی ممکن نبود، به نسل دوم کودها یعنی کودهای شیمیایی روی آورد. در سی سال اخیر به دلیل آشکار شدن اثرات سوء ناشی از مصرف بی رویه کودهای شیمیایی و قیمت رو به افزایش آن، به استفاده ازکودهای زیستی درکشاورزی مطرح شده است[1]. در نظام­های کشاورزی پایدار کاربرد کودهای زیستی اهمیت ویژه­­­ای در افزایش باروری و حفظ حاصلخیزی خاک برخوردار است[2]. کودهای زیستی منحصرا به موادآلی حاصل از کودهای دامی، بقایای گیاهی،کودسبز و غیره اطلاق نمی­گردد؛ بلکه ریز جانداران باکتریایی و قارچی مفید و مواد حاصل از فعالیت آن*­*ها رانیز شامل می­شود[3]. بدون تردید کاربرد کودهای زیستی علاوه براثرات مثبتی که برکلیه خصوصیات خاک دارد، از جنبه اقتصادی، زیست محیطی اجتماعی مثمرثمر واقع شده و می­تواند جایگزین مناسب و مطلوب برای کودهای شیمیایی باشد[4]. کودهای زیستی با استفاده از ظرفیت­های طبیعی موجودات مفید خاکزی تهیه می­شوند و تولید آن­ها علاوه بر صرفه اقتصادی به لحاظ رعایت جنبه­های زیست محیطی نیز بسیار با ارزش است[2]. باکتری­های جنس ازتوباکتر، آزوسپیرلوم و سودموناس

از مهم­ترین باکتری های محرک رشد گیاه هستند[1]. از آنجا که این باکتری­ها ازخاک گرفته شده اند مزایای فراوانی دارند. این باکتری ها قادرند با افزایش درسرعت جوانه­زنی، افزایش طول و وزن ریشه­چه تسریع در طویل شدن ریشه­چه و استقرارگیاه، افزایش تعداد ریشه جنینی و جانبی منجر به افزایش کمی وکیفی گیاهان مختلف شوند[ 5-7]. تعداد زیادی از باکتری PGPR باتولید آنزیم ACC دآمیناز، پیش ماده تولید اتیلن درگیاه یعنی ACC را به آمونیوم و آلفاکتوبوتیرات هیدرولیز کرده و مانع از تولید بیش از حد اتیلن تنشی درگیاه و کاهش رشد ریشه می شوند. چندین سازگاری و استراتژی در جهت کاهش فشار تنش خشکی وجود دارد. باکتری­های افزاینده رشد گیاه می تواند نقش مهمی درکاهش در تنش خشکی درگیاهان ایفا کند. این میگروارگانسیم­های مفید در اطراف ریشه گیاهان ساکن­اند و باعث افزایش رشد گیاهان از طریق مکانیسم های مختلف (مستقیم و غیرمستقیم) می شوند[8].

گونه *Astragalus cyclophyllon* یکی از گونه های ارزشمند مرتعی از خانواده پروانه آسا است که نقش مهمی در تولید علوفه، حفاظت خاک و ترسیب کربن دارد و می تواند به عنوان یکی از گونه های دارای اولویت اصلاح و احیایی مد نظر قرار گیرد. متاسفانه اين گونه‌ در حال حاضر در شرايط آسيب‌پذير و حتي در معرض خطر نابودي قرار دارد و همچنين وجود پوسته سخت و خواب موجود در بذر گون‌ها هر چند در حفظ قوه نامیه آنها نقش مهمی ایفا می کند ولی به عنوان مشکل عمده‌اي نیز براي جوانه زنی و استقرار گونه محسوب مي­گردد.

 بنابراین ضروري است که روشهای بیوپرایمنگ موجود بر روی این گونه مورد آزمایش قرار گیرد تا بتوان به بهبود جوانه­زنی و استقرار این گونه کمک نمائیم. در پژوهش حاضر، با توجه به وجود خواب در بذور گونه‌ گون و به ویژه گونه­ی *Astragalus**cyclophyllon* ، نسبت به انجام تحقیقاتی در خصوص فراهم آوری شرایط بهتر جوانه زنی، رشد و در نهایت استقرار این گونه های گیاهی اقدام نمود تا زمینه احیائ و کشت این گونه ارزشمند درسطح انبوه فراهم گردد وکیفیت مراتع ارتقاء یابد.

**2-مواد و روش اجرا**

 به منظور مطالعه تاثیر سطوح مختلف خشکی و اثر باکتری­های محرک رشد برشاخص جوانه­زنی بذور *Astragalus**cyclophyllon* آزمایشی در سال 1395 درقالب طرح فاکتوریل در 3 تکرار برای هر تیمار در آزمایشگاه کشت و تکثیر بذر دانشکده منابع طبیعی دانشگاه شهرکرد انجام شد. فاکتورهای آزمایش، شامل تأثیر باکتری محرک رشد شامل ( آزوسپیرلوم، ازتوباکتر، باسیلوس، سودوموناس و شاهد) و سطوح مختلف تنش خشکی (2/0-، 4/0-، 8/0- مگاپاسکال و شاهد) بود. برای اعمال تیمار باکتری محرک رشد، ابتدا بذور آزمایشی با استفاده از محلول وایتکس 5 درصد به مدت 5 دقیقه ضدعفونی شد و چند بار با استفاده از آب مقطر شستشو شد. سپس با استفاده از سمباده جهت شکست خواب بذور گون خراش داده شد و به مدت یک ساعت در مایه­ی تلقیح باکتری خیسانده شد. برای تیمار شاهد ازآب تقطیر استفاده گردید. جهت اعمال تنش خشکی از پلی اتیلن گلایکول طبق

دستور میچل وکافمن (1973) تهیه گردید. درنهایت شاخص­های طول ریشه­چه، طول ساقه­چه، طول گیاهچه، و شاخص ویگور اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون مدل خطی عمومی (GLM) و در قالب طرح

فاکتوریل انجام شد که در آن فاکتور سطوح باکتری به عنوان فاکتور اصلی، سطوح تنش به عنوان فاکتور فرعی و صفات مورفولوژیکی به عنوان مقدار در نظر گرفته شد. تجزیه وتحلیل داده­ها با استفاده از نرم افزار SPSS وکشیدن نمودارها با نرم افزار Exel انجام گرفت.

**3-نتایج و بحث**

بررسی جدول واریانس(1) نشان داد طول ریشه­چه و شاخص ویگور به طور معنی­داری (5./0P≤)تحت تاثیر تیمارنوع باکتری قرارگرفت. ولی تیمارنوع باکتری بر طول ساقه­چه معنی­دار(5./0P≤) نبود. همچنین نتایج نشان داد اثر سطوح تنش خشکی بر هر سه صفات طول ریشه­چه، طول ساقه­چه و شاخص ویگور معنی دار­(5./0P≤) بوده است. اثر تیمارنوع باکتری و سطوح تنش خشکی نیز برطول ریشه­چه و شاخص ویگور معنی­دار(5./0P≤) نبود ولی بر طول ساقه­چه معنی دار شد.

جدول(1) تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف برصفات جوانه­زنی بذر گون(*Cyclophyllon)*تحت شرایط تنش خشکی

|  |
| --- |
| **میانگین مربعات** |
| **منبع تغییرات درجه آزادی طول ریشه­چه طول ساقه­چه شاخص ویگور** |
| **تیمارنوع باکتری 4 \*\*0/670 ns198/0 \*\* 10193/263** |
| **سطوح تنش خشکی 3 \*\*654/1 \*\*952/0 \*\*54850/660** |
| **تیمارباکتری\*سطوح تنش 12 ns161/0 \*\*267/0 ns 5768/917** |
| **خطا 40 133/0 130/0 3375/340** |

\*\* اختلاف معنی دار در سطح 5 درصد ns اختلاف معنی دار نیست

بررسی مقایسه میانگین طول ریشه­چه گویای آن بود باکتری سودموناس(*Pseudomonas sp.)*با میانگین(57/1) طول ریشه­چه را درمقایسه با شاهد با میانگین (27/1) افزایش داد. از بین تیمارهای تلقیحی باکتری آزوسپیرلوم با میانگین (9/0) کمترین طول ریشه­چه را به خود اختصاص داد. همچنین نتایج نشان داد باکتری سودوموناس(*Pseudomonas sp.)* و باسیلوس(*Bacillus sp*.) بیشترین تاثیر را بر طول ساقه چه داشت( شکل1و2). تیمارتلقیحی سودموناس(*Pseudomonas sp.*) علاوه بر اینکه بیشترین تاثیر را در طول ریشه­چه داشت، بر طول ساقه­چه نیز بیش از سایر تیمارها موثر بوده است.این موضوع در تحقیقات دیگر نیز بیان شده است. افزایش بذرهای جو با باکتری­های محرک رشد گیاه موجب افزایش طول و وزن ریشه­های جو گردید [6].

مطابق نتایج مقایسه میانگین تیمار باکتری سودموناس(*Pseudomonas sp.*) با میانگین(8/227) شاخص ویگور را نسبت به شاهد(5/221) دیگر تیمارهای تلقیحی افزایش داد که با شاهد معنی­دار نبود ولی با دیگر تیمارها اختلاف معنی­دار داشت(شکل3). شاخص ویگور ازحاصل­ضرب درصد جوانه­زنی در طول گیاهچه حاصل می­گردد. بنابراین بالاتر بودن شاخص ویگور، تاثیر تیمار تلقیحی سودموناس(*Pseudomonas sp.)*را در افزایش طول گیاهچه نشان می­دهد. تیمار تلقیحی آزوسپیرلوم(*Azospirillom sp*.) با میانگین (5/163) کمترین شاخص ویگور را داشت که نیز پایین­ترین بودن شاخص ویگور، تاثیر تیمارتلقیحی آزوسپیرلوم را درکاهش طول ساقه­چه نشان می­دهد. گزارش شده که بذور بادرشبو تلقیح شده با باسیلوس دارای بالاترین شاخص ویگور بود[9].

همان گونه که در شکل2،1و3 مشاهده می­شود اثر سطوح تنش خشکی تاثیری معنی­داری بر طول ریشه­چه، طول ساقه­چه وشاخص ویگور داشت. با افزایش سطح تنش خشکی طول ریشه­چه، طول ساقه­چه­ و شاخص ویگور در همه تیمارها نوع باکتری و شاهد کاهش یافت، به­طوریکه در تنش(4/0- و8/0- مگاپاسکال) پلی­اتیلن گلایکول بذور تلقیح

شده با باکتری و بدون تلقیح، اثر منفی بر طول ریشه­چه طول ساقه­چه وشاخص ویگور نسبت به تنش صفر(شاهد) داشت. همچنین اثر متقابل تیمارنوع باکتری وتنش خشکی معنی دارنبود، بنابراین می­توان گفت باکتری­های محرک رشد تاثیری درکاهش اثرات منفی سطوح تنش نداشت.

شکل(1) اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر طول ریشه­چه تحت تنش خشکی



شکل (2) اثر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر طول ساقه­چه تحت تنش خشکی

شکل(3) اثرتیمارهای تلقیح باکتریایی بر شاخص ویگور تحت تنش خشکی

بطورکلی نتایج نشان داد، باکتری محرک رشد سودموناس(. *(Pseudomonas sp* و باسیلوس(*Bacillus sp*.) بیشترین تاثیر را برصفات مورفولوژیکی داشتند و توانستند به جهت دارا بودن صفات محرک رشد، طول ریشه­چه و طول ساقه­چه و شاخص ویگور را نسبت به شاهد بهبود بخشند. همچنین نتایج گویای آن بود، باکاهش پتانسیل آب و افزایش سطح تنش، طول ریشه­چه و طول ساقه­چه و شاخص ویگور سیر نزولی داشت، ولی بین سطح تنش (2/0- و4/0-) تفاوت چندانی وجود نداشت که ناشی از تحمل نسبی گونه مرتعی *Astragalus cyclophyllon* در تحمل شرایط تنش خشکی است.

**منابع**

 [1] خاوازی، ک. اسدی­رحمانی، ه. ملکوتی، م.، 1384. "ضرورت تولید کودهای بیولوژیک درکشور. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی". *موسسه تحقیقات آب و خاک*. 604 صفحه.

[2] Sharma ,A. K. ,2003. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios India.

 [3] Manaffee, W.F., and Klopper, J.W., 1994. Applications of plant growth promoting rhizobacteria in sustainableagriculture. In: soil biota management in sustainable farming systems, Pankburst, C.E., Double, B. M., Gupta, V.V.S.R., and Grace, P.R., eds. Pp: 23-31 CSIRO, Pub. East Melbourne, Australia

 [4] حمیدی، آ. اصغرزاده، ا. چوکان، ر. دهقان شعار، م. قلاوند، ا. و ملکوتی، م. 1385." بررسی کاربرد کودهای ریزو باکتریایی افزاینده رشد گیاه (PGPR) در زراعت ذرت با نهاده کافی". *نشریه علوم محیط*، **سال چهارم**(4): ص. 1-19.

Khan, M.R., Talukdar, N.C., and Thakuria, D.( 2003). Detection of *Azospirillum* and PSB in rice [5]

Indian Journal of Biotechnology2: 246-250.

[6] Cakmakci, R., Erat, M., Erdoman, U.G., and Donmez, M.F. (2007b). The influence of PGPR on growth parameters, antioxidant and pentose phosphate oxidative cycle enzymes in wheat and spinach plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 170: 288-295.

[7] Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., and yacovokon, Y., 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Review Plant Science 22: 107-149.

 [8]Vurukonda, S. S. K. P.; Vardharajula, S.; Shrivastava, M.; SkZ, A., 2016,Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological research 184:13-24*

 [9]طرفی، و. 1393. "اثر تیمارهای بیوپرایمنگ بر بهبود جوانه­زنی رشد و عملکرد گیاه دارویی بادرشبویه .پایان نامه کارشناسی ارشد". رشته تکنولوژی علوم بذر. *دانشگاه شهرکرد*.