پژوهش‌های بذر ایران/ سال نهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۱/ صفحات: ۴۹-۳۵

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد در دماهای مختلف بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*)

امین صالحی [1*]، یعقوب بهزادی [2]، رهام محتشمی [2]، نسرین نیکنام [2]

چکیده مبسوط

مقدمه: گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی زراعی یکساله و با کاربرد روغنی است که به مناطق خشک و نیمه خشک سازگار می‌باشد و به عنوان گیاه بومی ایران محسوب می‌شود. مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در خاک از مهم‌ترین مراحل رشد و نمو در چرخه زندگی گیاهان می‌باشد. داشتن سرعت و درصد جوانه‌زنی بالا سبب افزایش تعداد گیاهچه‌ها گردیده و استقرار سریع و موفق گیاهچه‌ها در خاک نیز به رشد رویشی مناسب گیاهچه‌ها در مراحل بعدی زندگی کمک می‌کند. از این رو بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در محیط و یافتن شرایط مناسب‌تر برای بهبود این شاخص‌ها می‌تواند تأثیر مستقیم در کشت موفق‌تر گیاهان داشته باشد. یکی از روش‌های مورد استفاده در این زمینه استفاده از پیش تیمار زیستی است.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد و تیمارهای دمایی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گلرنگ، این پژوهش در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در بهار سال ۱۳۹۵ به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجراء گردید. عامل دما در هفت سطح (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ درجه سلسیوس) و عامل باکتریایی (پیش تیمار بذر با سویه‌های مختلف باکتری) در پنج سطح (باسیلوس سابتلایت، سودوموناس فلورسنس سویه ۲۵، سودوموناس فلورسنس سویه CHA0، سودوموناس فلورسنس سویه ۲، و بدون تلقیح (شاهد)) عامل‌های آزمایشی بودند.

یافته‌ها: نتایج یافته‌های حاضر حاکی از آنست که دمای ۲۰ درجه سلسیوس سبب بیشترین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و بنیه طولی شد. همچنین بذرهای تلقیح یافته با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس سویه CHA0 دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۸)، سرعت جوانه‌زنی (۴۹/ ۳ بذر در روز) و بنیه طولی (۶/۲۲) بودند. طول گیاهچه، وزن خشک و بنیه وزنی از دیگر مؤلفه‌هایی بودند که در دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس سویه ۲۵ نتایج بهتری را نشان داد. همچنین با افزایش یا کاهش دما از دمای مطلوب شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهش یافت. کاربرد باکتری‌های محرک رشد سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز شده که منجر به کاهش صدمات ناشی از دماهای نامطلوب و بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش به منظور تسریع در میزان و سرعت جوانه‌زنی و دیگر مؤلفه‌های جوانه‌زنی بهتر است تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس سویه CHA0 و سودوموناس فلورسنس سویه ۲۵ و در دامنه دمایی ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، بنیه بذر، پرایمینگ، تلقیح، سودوموناس

جنبه‌های نوآوری:

۱-جوانه‌زنی بذرهای گلرنگ تیمار شده با باکتری تحت دماهای مختلف دارای خصوصیات رفتاری متفاوتی است.

۲- بذرهای تلقیح یافته با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس سویه CHA0 دارای شرایط مناسب‌تر جوانه‌زنی بودند.

۳- استفاده از دمای ۲۰-۲۵ سلسیوس برای مولفه‌های جوانه‌زنی بهتر است.

[1] دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

[2] دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

[*] رایانانه نویسنده مسئول: aminsalehi@yu.ac.ir

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.2.12.5

DOI: 10.61186/yujs.9.2.35

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۲۶)

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی زراعی روغنی است که به مناطق خشک و نیمه خشک سازگار می‌باشد و در مناطق آفتابی و دمای بالا، وجود شرایط خشک در طول دوره گلدهی و پرشدن دانه به خوبی به‌عمل می‌آید. گلرنگ زراعی به عنوان گیاه بومی ایران است (نولز[1]، ۱۹۶۹) و تقریباً در ۶۰ کشور جهان کشت می‌شود سطح زیر کشت فعلی گلرنگ در ایران حدود ۴۳۷۵ هکتار است که باعث تولید ۵۶۲۳ تن محصول شده است (آمارنامه کشاورزی[2]، ۲۰۲۲).

گلرنگ یکی از گیاهان روغنی دارویی است که تمامی اندام‌های آن مفید می‌باشد. این گیاه در تهیه دارو و رنگ نیز استفاده می‌شود و از گلچه، بذر، ساقه و برگ‌های آن نیز می‌توان بهره برداری کرد (ویس[3]، ۲۰۰۰). این گیاه به دلیل سازگاری وسیعی که به شرایط محیطی دارد می‌تواند یکی از محصولات جایگزین برای تولید روغن به خصوص در شرایط نامساعد محیطی ازجمله سرما، خشکی و شوری باشد. کشت پاییزه آن در بسیاری از مناطق کشور رایج است (زینالی[4]، ۲۰۰۰) میزان روغن دانه گلرنگ بین ۴۵ -۲۰ درصد است. روغن این گیاه برای تهیه کره‌های گیاهی، روغن سالاد و مصارف صنعتی و خوراکی استفاده می‌شود. روغن گلرنگ برای درمان گرفتگی رگ‌ها و جلوگیری از لخته شدن خون، کاهش کلسترول بدن، درمان روماتیسم و تسکین دهنده استفاده می‌شود (فرناندز مارتینز[5] و همکاران، ۱۹۹۳)

مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در خاک از مهم‌ترین مراحل رشد و نمو در چرخه زندگی گیاهان می‌باشد. داشتن سرعت و درصد جوانه‌زنی بالا سبب افزایش تعداد گیاهچه‌ها گردیده و استقرار سریع و موفق گیاهچه‌ها در خاک نیز به رشد رویشی مناسب گیاهچه‌ها در مراحل بعدی زندگی کمک می‌کند (دوبلر[6] و همکاران، ۲۰۰۳). از این رو بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در محیط و یافتن شرایط مناسب‌تر برای بهبود این شاخص‌ها می‌تواند تأثیر مستقیم در کشت موفق‌تر گیاهان داشته باشد. یکی از روش‌های مورد استفاده در این زمینه استفاده از پرایمینگ است. پیش تیمار زیستی بذر روشی است که به واسطه آن بذرها پیش از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط، به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند. این امر می‌تواند سبب بروز تظاهرات زیستی و فیزیولوژیکی متعددی در بذر پرایم شده و گیاه حاصل از آن گردد، به طوری‌که این موارد را می‌توان در چگونگی جوانه‌زنی، استقرار اولیه گیاه، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول مشاهده کرد (فینچ- ساوج[7] و همکاران، ۲۰۰۴).

استفاده از روش‌های زیستی و طبیعی برای پیش تیمار زیستی بذرها در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به پیش تیمار زیستی بذرها با انواعی از میکروارگانیزم‌های مفید خاکزی شامل باکتری‌ها اشاره کرد که از طرق متفاوتی همچون تولید هورمون‌های گیاهی، تثبیت نیتروژن، تسهیل جذب عناصر غذایی از خاک و تولید کنترل کننده‌های زیستی سبب بهبود رشد و نمو گیاهان می‌گردند (قریب[8]و همکاران، ۲۰۰۸). این کودهای زیستی می‌توانند با حفظ و توسعه باروری خاک، سبب حاصلخیزی بیشتر خاک شده و همچنین کاهش میکروارگانیزم‌های مفید خاکزی را به علت استفاده بی‌رویه از سموم شیمیایی و تأثیر تنش‌های محیطی جبران نمایند (ناگانادا[9] و همکاران، ۲۰۱۰).

در روش پیش تیمار زیستی به جای تیمار شیمیایی بذر، از عوامل زیستی مانند باکتری‌های محرک رشد گیاهی[10] استفاده می‌گردد که می‌توانند سازگاری و پایداری گیاهان را افزایش دهند (بنت و ویپس[11]، ۲۰۰۸). در چند سال گذشته تقویت زیستی بذر با بکارگیری باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، از جمله ارآمدترین روش‌های پرایمینگ بذر بوده و در حال جایگزینی تدریجی با تیمارهای شیمیایی می‌باشد

[1] Knowles
[2] Agricultural statistics
[3] Weiss
[4] Zainali
[5] Fernandez-Martinez
[6] Dobbelaere
[7] Finch-savage
[8] Gharib
[9] Nagananda
[10] PGPR
[11] Bennett and Whipps

(باشان[1] و همکاران، ۲۰۰۴). در آزمایشی تأثیر مثبت استفاده از کودهای زیستی حاوی آزوسپریلیوم، فسفوباکتریا و قارچ مایکورایزا بر بهبود درصد جوانه‌زنی، قوه نامیه بذر و طول اولیه گیاهچه در گیاه کنجد مشخص گردید (سوما[2] و همکاران، ۲۰۱۴). در تحقیق دیگری روی گیاه یونجه اثر بهبود بخش کودهای زیستی حاوی ازتوباکتر و ریزوبیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه این گیاه ثابت گردید (ناگاندا و همکاران، ۲۰۱۴). تأثیر مثبت کودهای زیستی حاوی ریزوباکتریا بر افزایش جوانه‌زنی گیاه ذرت گزارش شده است (نوماوو[3] و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین اثر تحریکی کودهای زیستی حاوی ریزوباکتریوم بر افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در لوبیا چشم بلبلی در تحقیقی نشان داده شده است (یداو[4] و همکاران، ۲۰۱۰). راج[5] و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که پیش‌تیمار زیستی بذر ارزن با سویه‌های سودوموناس به افزایش رشد و مقاومت گیاه در برابر بیماری کمک نمود. در تحقیقی دیگر گزارش گردید که کود زیستی ازتوباکتر ۲۰ درصد جوانه‌زنی گیاه ذرت را افزایش داد و سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک و وزن‌تر ساقه‌چه و ریشه‌چه به میزان ۷ درصد شد (باکونی[6] و همکاران، ۲۰۱۳). تلقیح بذرهای جو با باکتری‌های تحریک کننده رشد گیاه، موجب افزایش طول و وزن ریشه‌های جو و اندام هوایی شد. وزن ریشه و اندام هوایی جو تلقیح شده با باکتری در مقایسه با شاهد به ترتیب ۳۲ و ۲۸/۸ درصد افزایش داشت (کاکمکی[7] و همکاران، ۲۰۰۷). هرناندز[8] و همکاران همکاران (۱۹۹۵)، افزایش وزن‌تر و خشک گیاهچه ذرت را در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های جنس سودوموناس گزارش نمودند. در بین باکتری‌های محرک رشد، جنس سودوموناس به دلیل توزیع گسترده در خاک، توانایی کلونیزه کردن ریزوسفر بسیاری از گیاهان و تولید طیف متنوعی ازمتابولیت‌ها دارای اهمیت ویژه‌ای است. این باکتری دارای طیف وسیعی از عوامل محرک رشد گیاهی مانند تولید اسیدها، هورمون‌ها و آنزیم‌ها می‌باشد (آجیت[9] و همکاران، ۲۰۰۶).

دما یکی از عوامل اصلی تأثیرگذار بر درصد و سرعت جوانه‌زنی است که مستقیماً از طریق آبنوشی بذر و واکنش‌های بیوشیمیایی تنظیم کننده متابولیسم درگیر در روند جوانه‌زنی، تأثیر می‌گذارد (مارکوس فیلو[10]، ۲۰۱۵). بعلاوه، بیشتر گونه‌ها برای رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی به محدوده دمایی مناسب یا حالت دمای متناوب نیاز دارند (کاتارا[11] و همکاران، ۲۰۱۶). درصد جوانه‌زنی معمولاً به طور خطی با درجه حرارت تا دمای مطلوب افزایش می‌یابد و پس از آن درصد جوانه‌زنی به شدت کاهش می‌یابد (لاقموچی[12] و همکاران، ۲۰۱۷).

تغییرات دمایی یکی از علل کاهش توزیع گیاهان در مناطق مختلف می‌باشد و جوانه‌زنی نیز یکی از مراحل حساس به تنش دما شناخته شده است. همچنین گلرنگ گیاهی مناسب در مناطق گرم تا معتدل سرد می‌باشد. صفر فیزیولوژیک گلرنگ ۱۲ درجه سلسیوس و دمای مطلوب رشد آن ۲۰ درجه می‌باشد. هدف اصلی از این تحقیق، تعیین اثر تلقیح بذرهای گلرنگ با باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات رشدی گیاهچه تحت شرایط دماهای مختلف بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در بهار سال ۱۳۹۵ به صورت فاکتوریل بر اساس طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. عامل‌های آزمایشی شامل عامل دما در ۷ سطح (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس) و عامل باکتریایی (پیش تیمار بذر با سویه‌های مختلف باکتری) در ۵ سطح (سویه باسیلوس سابتلایت، سودوموناس فلورسنس سویه ۲۵، سودوموناس فلورسنس سویه CHA0، سودوموناس فلورسنس سویه ۲ و بدون تلقیح به عنوان شاهد) بودند. به منظور انجام آزمایش، بذرهای گلرنگ سترون شده (ضدعفونی در

[1] Bashan
[2] Suma
[3] Noumavo
[4] Yadav
[5] Raj
[6] Bakonyi
[7] Cakmakci
[8] Hernandez
[9] Ajit
[10] Marcos Filho
[11] catar
[12] Laghmouchi

محلول هیپوکلریت ۳ درصد بمدت ۲ دقیقه) به مدت یک ساعت در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سلسیوس) در آب مقطر (برای تیمار شاهد) یا سوسپانسیون باکتریایی (برای تیمارهای تلقیحی) تلقیح داده شدند. برای دستیابی به تراکم مایه تلقیح 10^8 واحد تشکیل دهنده کلونی ۲۰ میلی‌لیتر که میزان جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی ۰/۵ تنظیم گردید، فرو برده شدند. به منظور انجام تلقیح، بیست میلی‌لیتر از سوسپانسیون جدایه‌های مختلف باکتری به بذور اضافه شدند. پس از تلقیح با سوسپانسیون باکتریایی آزمون جوانه‌زنی استاندارد انجام شد و نمونه‌های ۳۰ تایی بذر گلرنگ درون هر پتری روی کاغذ صافی (TP) و مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در دماهای (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ درجه سلسیوس) در چهار تکرار درون ژرمیناتور به‌مدت ۱۴ روز قرار گرفتند. شمارش بذرهای جوانه زده بعد از ۲۴ ساعت انجام گرفت. لازم به ذکر می‌باشد که در هنگام شمارش، بذرهایی که طول ریشه‌چه آنها حداقل ۲ میلی‌متر بود، جوانه زده تلقی می‌شدند. در روز آخر آزمایش (روز چهاردهم) برخی مؤلفه‌ها از جمله طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه اندازه گیری شد. برای بدست آوردن وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در آون قرار داده شد و سپس توسط ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ توزین شدند. درصد و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شدند.

درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱ (چو[1] و همکاران، ۲۰۲۰) ۲۰۲۰) و سرعت جوانه زنی از رابطه ۲ (چو و همکاران، ۲۰۲۰) محاسبه شد

رابطه (۱):

۱۰۰× (تعداد کل بذر/ تعداد بذر جوانه‌زده) = درصد جوانه‌زنی

رابطه (۲):

$$GR=\sum ni/ti$$

که ni تعداد بذرهای تازه جوانه‌زده در روز iام است. جهت محاسبه شاخص‌های بنیه بذر، ابتدا تعداد ۱۰ گیاهچه از هر توده به طور تصادفی انتخاب و سپس طول گیاهچه و ریشه‌های اولیه و وزن‌تر و خشک گیاهچه اندازه‌گیری شد. سپس شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه با استفاده از روابط ۳ و ۴ محاسبه گردید (کالسا و آبی[2]، ۲۰۱۲).

رابطه (۳):

۱۰۰/(درصد جوانه‌زنی × طول گیاهچه) = شاخص طولی بنیه

رابطه (۴):

۱۰۰/(درصد جوانه‌زنی × وزن خشک گیاهچه) = شاخص وزنی بنیه

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز به روش ناکانو و آسادا[3] (۱۹۸۱) و کاتالاز به روش ابی[4] (۱۹۸۴) اندازه گیری شدند.

داده‌های بدست آمده با نرم افزار SAS نسخه ۴,۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. درصورت معنی‌دار شدن برهمکنش‌ها برش دهی در هر سطح دما صورت گرفت.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز

اثر سطوح دمایی و پیش تیمار زیستی بذر و همچنین برهمکنش دما و باکتری بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، پیش تیمار زیستی با هر سه نوع باکتری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نسبت به شاهد، افزایش داد. همچنین سه سویه باکتری CHAO، سویه ۲ و سویه ۲۵ فعالیت آنزیم کاتالاز را در مقایسه با شاهد افزایش دادند. در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نیز پیش تیمار زیستی با هر سه نوع باکتری نسبت به شاهد، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد، همچنین سویه باکتری CHAO فعالیت آنزیم کاتالاز را

[1] Guo

[2] Kalsa and Abebie
[3] Nakano and Asada
[4] Aebi

نسبت به شاهد افزایش داد. در دمای ۱۵ درجه سلسیوس نیز شاهد دارای کمترین فعالیت آنزیم و پیش تیمار زیستی با باکتری سویه ۲ دارای بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود، همچنین سویه CHAO و سویه ۲۵ فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داد.

اسید آسکوربات یکی از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی است که در کلروپلاست، سیتوزول، واکوئل و همچنین فضای آپوپلاستی سلول‌های برگ در غلظت‌های بالا یافت می‌شود (چو و سی[1]، ۲۰۰۵) که این آنزیم بعنوان مهم‌ترین آنتی اکسیدان در گیاهان می‌باشد و دارای نقش‌های کلیدی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند رشد، نمو و متابولیسم است. این آنزیم بعنوان یک احیاکننده برای خیلی از دایکال‌های آزاد و به خصوص پراکسید هیدروژن عمل می‌کند که می‌تواند خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را به کمترین مقدار برساند (آرورا[2] و همکاران، ۲۰۰۲).

به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌ها در خارج از محدوده مطلوب دمایی، به واسطه افزایش گونه‌های اکسیژن فعال و ممانعت از تخریب پروتئین‌ها باشد و با نتایج بیلی[3] (۲۰۰۴) که بیان کرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز باعث حذف و غیرفعال شدن گونه‌های اکسیژن فعال می‌شوند، مطابقت دارد. گزارش شده است که در بذر کدو تخم کاغذی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش دما و رطوبت کاهش یافت به طوری‌که در تیمار ۵ درصد رطوبت و دمای ۳۵ درجه سلسیوس میزان فعالیت این آنزیم ۵۲۴/۲۵ نانومول بر دقیقه بر گرم بذر بود که با افزایش دما به ۵۰ درجه سلسیوس و رطوبت به ۱۴ درصد، مقدار آن به ۳۶۵/۲۵ نانومول بر دقیقه بر گرم بذر کاهش یافت (قادری‌فر[4] و همکاران، ۲۰۱۴).

با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت، میزان رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد. تولید و انباشتگی رادیکال‌های آزاد به خسارت به اسیدهای چرب غیراشباع غشاهای سلولی منجر شده، در ادامه رادیکال‌های آزاد دیگری تولید می‌شوند که این رادیکال‌ها با یکدیگر ترکیب می‌شوند و در نهایت کلیه این تغییرات به اختلال در عملکرد غشا، افزایش ویسکوزیته غشا، افزایش نفوذپذیری و نشت مواد از بذر منجر می‌شوند (روبرتس[5]، ۱۹۸۶).

ونگ[6] و همکاران (۲۰۰۹) نیز در بررسی اثر تنش سرما روی یونجه اعلام کردند که رقم مقاوم فعالیت آنزیمی بیشتری را در ساقه و ریشه نسبت به رقم حساس نشان داد.

درصد جوانه‌زنی

نتایج نشان داد که اثر اصلی دما و باکتری بر درصد جوانه‌زنی بذر گلرنگ معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش دما درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین درصد جوانه‌زنی، در سطح دمایی ۲۰ درجه سلسیوس و کمترین آنها در دمای ۵ درجه سلسیوس بود (جدول ۲). با کاهش و یا افزایش سطح دمایی از دمای مطلوب (۲۰ درجه سلسیوس) درصد جوانه‌زنی کاهش یافت (جدول ۲). بعبارت دیگر با افزایش درجه حرارت تا ۲۰ درجه سلسیوس درصد جوانه‌زنی افزایش یافت و در دماهای بالاتر از این مقدار، سیر نزولی را نشان داد. چنین واکنشی به دماهای بالاتر از دمای بیشترین درصد جوانه‌زنی، می‌تواند ناشی از بروز خواب ثانویه در بذر باشد که با یافته‌های لطفی و رحیمی‌زاده[7] (۲۰۱۴) مطابقت دارد. از آنجایی‌که جوانه‌زنی بذر یک فعالیت آنزیمی (آزاد شدن آنزیم‌هایی مانند آلفاآمیلاز، پروتئاز و نوکلئاز در پی افزایش تولید جیبرلین منتج به فعالیت بهتر آنزیم‌های میتوکندریایی و افزایش تنفس و در نتیجه جوانه‌زنی می‌شود) است کاهش درصد جوانه‌زنی در دماهای پایین ممکن است به دلیل کاهش در فعالیت‌های آنزیمی دخیل در مسیر جوانه‌زنی باشد. کاهش بیوسنتز پروتئین در دماهای پایین از جمله دلایل احتمالی کاهش جوانه‌زنی کلزا در شرایط تنش

[1] Cho and Seo
[2] Arora
[3] Bailly
[4] Ghaderi-Far
[5] Roberts
[6] Wang
[7] Lotfi and Rahimzadeh

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر تیمارهای دمایی و سویه‌های باکتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گلرنگ

Table 1. Analysis of variance for temperature treatments and bacteria effect on germination indices and seedling growth of safflower

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	آسکوربات پراکسیداز APX	کاتالاز CAT	درصد جوانه زنی Germination percentage	سرعت جوانه زنی Germination rate	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص طولی بنیه Vigor length index	شاخص وزنی بنیه Vigor weight index
دما Temperature	6	0.016**	351.2**	1741.06**	3.15**	1.47**	0.06**	19.19**	1.71**
باکتری Bacteria	4	0.004**	3030.1**	874.44**	3.70**	0.79ns	0.22**	9.54**	0.81**
باکتری× دما B×T	24	0.0024**	390.2**	21.9ns	0.11ns	1.42**	0.69**	0.54ns	0.25**
خطا Error	70	0.0001	23.1	18.7	0.06	0.41	0.04	0.35	0.02
ضریب تغییرات (٪) C.V. (%)		6.72	10.7	7.2	8.46	7.25	10.81	10.91	13.63

ns، *، **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنیدار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns,*, ** = non-significant, significant at p<0.05 and p<0.01, respectively

دمای پایین گزارش شده است (پاتان و ترینگالی[1]، ۲۰۱۱).

دیگر نتایج نشان داد که پیش تیمار زیستی بذر با باکتری‌ها، درصد جوانه‌زنی را به طور بسیار معنی‌داری در مقایسه با عدم تلقیح افزایش داد (جدول ۲) به طوری که کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به سطح شاهد و بیشترین آن مربوط به پیش تیمار زیستی بذر با سویه CHA0 بود (جدول ۲). یداو و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که نژادهایی از باکتری‌های محرک رشد مانند ازتوباکتریوم اثر مثبت و معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه لوبیا چشم بلبلی دارند. تولید فیتوهورمون‌هایی از قبیل اکسین و جیبرلین و جلوگیری از تولید هورمون اتیلن، بهبود جذب آب و عناصر غذایی از سازوکارهای تأثیر گذار باکتری‌های محرک رشد در افزایش درصد جوانه‌زنی می‌باشد (چینوسامی[2] و همکاران، ۲۰۰۴).

احتشامی و پورابراهیمی[3] (۲۰۱۴) گزارش دادند که استفاده ترکیبی از سه سویه باکتری سودوموناس فلورسنس (۳۶+۹۳+۱۰۳) سبب بیشترین درصد جوانه‌زنی در گیاهچه جو می‌شود. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین طول درصد جوانه‌زنی با آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (R^2=۰/۶۷**) و کاتالاز (r^2=۰/۵۵**) وجود دارد (جدول ۴). افزایش سطح آسکوربات پراکسیداز برای فعالیت مریستمی جنین در جوانه‌زنی ضروری می‌باشد. افزایش جوانه‌زنی ممکن است منجر به تشدید تنفس شود و در طی این فرایند میزان تولید پراکسید هیدروژن بیشتر می‌گردد (میل‌تر[4]، ۲۰۰۲) که باعث افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز شده که این آنزیم منجر به سم‌زدایی پراکسید هیدروژن تولید شده در فرایندهای اکسایشی می‌شود (ستاسولا و ینگ[5]، ۲۰۰۱).

سرعت جوانه‌زنی

نتایج اثر اصلی دما و سویه‌های مختلف باکتری بر این صفت معنی‌دار بود اما برهمکنش سطوح متفاوت دمایی و سویه‌های مختلف باکتری بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار (P<۰/۰۱) نبود (جدول ۱).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که سرعت جوانه‌زنی در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد به طور معنی‌داری

[1] Patane and Tringali
[2] Chinnusamy
[3] Ehteshami and pour ebrahimi
[4] Mittler
[5] Stasolla and Yeung

افزایش یافت. کمترین (۲/۶۲ بذر در روز) سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار شاهد و بیشترین (۳/۴۹ بذر در روز) مربوط به تلقیح با سویه CHA0 بود (جدول ۲). می‌توان گفت که باکتری محرک رشد گیاه وقتی به سطح بذرها می‌چسبند در پاسخ به ترشح اسیدهای آمینه ترشح شده در بذر، اسید ایندول استیک سنتز می‌کنند که باعث تحریک سلول‌های گیاه و طویل شدن آن‌ها می‌شود که این امر می‌تواند بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها مؤثر باشد (احتشامی و پور ابراهیمی، ۲۰۱۴). نتایج مشابهی نیز توسط سوما و همکاران (۲۰۱۴) مبنی بر بهبود سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه بواسطه تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در گیاه کنجد گزارش شده است. افزایش سرعت جوانه‌زنی با تلقیح این باکتری‌ها، در گیاهانی همچون گندم توسط کاکمکی و همکاران (۲۰۰۷) و ذرت توسط بکونیا و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش شده است.

بیشترین و کمترین سرعت جوانه‌زنی به میزان ۳/۷۰ و ۲/۲۶ بذر در روز به ترتیب در سطوح دمایی ۲۰ و ۵ درجه سلسیوس حاصل شد (جدول ۲). گلرنگ گیاهی مناسب در مناطق گرم تا معتدل سرد می‌باشد. صفر فیزیولوژیک گلرنگ ۱۲ درجه سلسیوس و دمای مطلوب رشد آن ۲۰ درجه سلسیوس می‌باشد. گزارش شده است که مراحل انتقال چرخه گیاه که نسل به نسل را پیوند می‌دهند، مانند جوانه زنی و ظهور گیاهچه بشدت به تغییرات زیست محیطی (مانند تغییرات دمای) تأثیر پذیرند (کوچران[1] و همکاران، ۲۰۱۱). افزایش سرعت جوانه‌زنی در گیاهان در دامنه خاصی از دماها رخ می‌دهد و در پایین‌تر و بالاتر از این دامنه دمایی سرعت جوانه‌زنی به طور محسوسی کاهش می‌یابد. همچنین، سرعت جوانه‌زنی با افزایش دما تا دمای مطلوب جوانه‌زنی افزایش و بعد از آن کاهش نشان می‌دهد که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. بنابر اظهارات مایر[2] و همکاران (۲۰۰۰) با افزایش دما به بیش از دمای بهینه پتانسیل آب پایه افزایش یافته که به تبع آن سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی نهایی نیز کاهش می‌یابد. در راستای نتایج مشاهده شده در این آزمایش سلطانا[3] و همکاران (۲۰۰۰) کاهش ۸۰ درصدی در سرعت جوانه‌زنی گندم در دماهای کمتر از ۵ درجه سلسیوس را گزارش دادند. ایشان چنین بیان کردند که کاهش دما به کمتر از دمای بهینه جوانه‌زنی (۲۴ درجه سلسیوس) در این گیاه فعالیت آلفا آمیلاز را کاهش داده که منجر به کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی مانند درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی می‌شود.

طول گیاهچه

جدول تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش سطوح دمایی و پیش تیمار زیستی بذر روی طول گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۱). تأثیر مثبت پیش تیمار زیستی بذر با باکتری در تمام دماهای آزمایشی مشاهده شد، بطوریکه شاهد دارای کمترین طول گیاهچه و پیش تیمار زیستی بذر با باکتری‌ها موجب افزایش طول گیاهچه گردید (جدول ۳). همبستگی مثبت و معنی‌دار بین طول گیاهچه با آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (r^2=۰/۲۶**) و کاتالاز (r^2=۰/۲۹**) وجود دارد (جدول ۴). به نظر می‌رسد در دماهای مختلف، باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز شده که منجر به کاهش صدمات ناشی از دماهای نامطلوب و بهبود شاخص طول گیاهچه گردید. آزمایش‌های مختلف نشان‌دهنده افزایش درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه در اثر ورود آسکوربات پراکسیداز و کاهش رادیکال‌های آزاد بوده است (عالیوند[4] و همکاران، ۲۰۱۲). حمزی[5] و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند که طول ساقچه در تیمارهای شاهد در هر ۳ دمای مطالعه‌ای (۵، ۱۰ و ۲۰ درجه سلسیوس) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت اما در دمای ۵ درجه سلسیوس تلقیح با باکتری سودوموناس سویه ۱۱ سبب افزایش معنی‌دار طول ساقچه بذور نسبت به تلقیح با این باکتری در دو دمای ۱۰ و ۲۰ درجه سلسیوس شد.

[1] Cochrane
[2] Meyer
[3] Sultana
[4] Alivand
[5] Hamzi

وزن خشک گیاهچه

اثر سطوح دمایی و پیش تیمار زیستی بذر همچنین اثر متقابل آنها روی وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تیمارهای مختلف دمایی، تیمار شاهد دارای کمترین وزن خشک گیاهچه می‌باشد و استفاده از باکتری‌های محرک رشد در تمام سطوح دمایی سبب افزایش وزن خشک گیاهچه شده است و تیمار با باکتری سویه ۲۵ سودوموناس فلورسنس دارای برتری نسبی در وزن خشک گیاهچه می‌باشد. این نتایج با نتایج هرناندز و همکاران (۱۹۹۵) مطابقت دارد. آنان گزارش کردند که وزن خشک گیاهچه ذرت در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های جنس سودوموناس افزایش می‌یابد. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین سرعت جوانه‌زنی با وزن خشک گیاهچه (r^2=۰/۷۷**) نشان دهنده ارتباط مستقیم سرعت جوانه‌زنی با کارایی گیاهچه برای استقرار و ظهور سریع و یکنواخت گیاهچه در مزرعه می‌باشد. بدین معنی که با تغییرات سرعت جوانه‌زنی (افزایش به واسطه حضور باکتری‌های محرک رشد) وزن خشک گیاهچه که نشان دهنده استقرار سریع گیاهچه می‌باشد، تحت تأثیر قرار گرفته است. حمزی و همکاران (۲۰۱۲) در گیاه اسفرزه گزارش دادند که وزن‌تر کل گیاهچه‌ها در دمای ۵ درجه بیشتر از دو دمای دیگر بود و تلقیح با باکتری مزوریزوبیوم IC59 سبب افزایش معنی‌دار در وزن‌تر کل نسبت به تلقیح با این باکتری در دمای ۱۰ و ۲۰ درجه شد و بیشترین وزن‌تر کل گیاهچه در این شرایط به دست آمد. گزارش شده که تلقیح گیاهچه با باکتری سودوموناس رشد گیاه و فعالیت فیزیولوژیکی آن را در دمای پایین به علت فعالیت آنزیم ACC دی‌آمیناز افزایش داده است (کمپانت[1] و همکاران، ۲۰۰۵).

سازوکارهایی که این باکتری‌ها باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند به درستی درک نشده ولی یکی از کارهای اصلی این باکتری‌ها سنتز ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه (آرژنین، لیزین و تریپتوفان) می‌باشد که اسیدآمینه تریپتوفان پیش ماده تولید هورمون اکسین بوده و این هورمون با تحریک تقسیم سلولی، تمایز سلولی و رشد طولی سلول به طور مستقیم در افزایش رشد ریشه و گیاه مؤثر می‌باشد (گوتیرز[2] و همکاران، ۲۰۰۳). طبق برخی از گزارش‌ها تولید هورمون اکسین توسط باکتری‌های محرک رشد به ویژه سودوموناس و آزوسپریلیوم می‌تواند عامل اصلی افزایش ریشه، تعداد و طول تارهای کشنده و سطح ریشه می‌باشد (زاهور[3] و همکاران، ۲۰۰۴). از عوامل کاهش یا افزایش طول گیاهچه در شرایط تنش، کاهش یا افزایش انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین گزارش شده است، علاوه بر آن، کاهش جذب آب توسط بذر در شرایط تنشی باعث کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه شامل ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود (کافی[4] و همکاران، ۲۰۰۵) کاهش رشد در نهایت منجر به کاهش وزن خشک می‌گردد.

شاخص طولی بنیه گیاهچه

شاخص بنیه به عنوان تابعی از طول گیاهچه و درصد جوانه‌زنی بیان می‌شود. اثر اصلی دما و باکتری بر این صفت معنی دار بود (جدول ۱) ولی نتایج برهمکنش سطوح متفاوت دمایی و سویه‌های مختلف باکتری بر شاخص طولی بنیه گیاهچه معنی‌دار نبود. با افزایش دما (تا ۲۰ درجه سلسیوس) شاخص طولی بنیه گیاهچه به طور معنی‌داری افزایش یافت و با افزایش بیشتر دما کاهش یافت. این امر نشان می‌دهدکه بهترین دما برای شاخص طولی بنیه گیاهچه این گیاه ۲۰ درجه سلسیوس می‌باشد. در این آزمایش بین درصد جوانه‌زنی و شاخص طولی بنیه همبستگی معنی داری وجود دارد (r^2=۰/۹۴**). از سوی دیگر با افزایش دما (تا ۲۰ درجه سلسیوس) درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی به طور معنی‌داری افزایش یافت. بنابراین افزایش دما با افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه گیاهچه را افزایش می‌دهد. پیش تیمار زیستی بذر با باکتری‌ها موجب افزایش توان شاخص طولی بنیه گیاهچه گردید، بطوری که تیمار شاهد کمترین و تلقیح با باکتری سودوموناس فلورسنس سویه CHA0 بیشترین مقدار را داشت (جدول ۲).

[1] Compant
[2] Gutierrez
[3] Zahoor
[4] Kaffi

جدول ۲. اثر دما و باکتری بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و بنیه طولی گیاهچه گلرنگ

Table 2. Effect of bacteria and temperature on germination percent, germination rate and vigor length seedling of safflower

دما Temperature (°C)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (Seed/day)	بنیه طولی (سانتی‌متر) Vigor length (Cm)
5	43.62e	2.26e	3.69e
10	50.66d	2.63d	4.42d
15	56.49c	2.96c	4.88c
20	76.81a	3.70a	7.17a
25	65.32b	3.28b	5.79b
30	64.19b	3.10c	5.90b
35	58.86c	3.00c	5.12c
Bacteria	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (Seed/day)	بنیه طولی (سانتی‌متر) Vigor length (Cm)
Control	51.21d	2.62b	4.43d
Bacillus subtilit	56.72c	2.76b	4.93c
CHA 0	68.74a	3.49a	6.22a
Pf 2	58.91c	2.68b	5.23bc
pf 25	61.77b	3.40a	5.58b

حروف غیرمشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Non-similar letters in each column denote significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test

همسو با یافته‌های تحقیق حاضر احتشامی و پور ابراهیمی (۲۰۱۴) گزارش دادند که استفاده ترکیبی از سه سویه باکتری سودوموناس فلورسنس (۱۰۳+۹۳+۳۶) سبب بیشترین شاخص بنیه در گیاهچه جو شد.

شاخص وزنی بنیه گیاهچه

شاخص بنیه بذری از جمله صفاتی است که با توجه به نحوه محاسبه آن دارای ارزش بیشتری در جوانه‌زنی هستند و بیش از دیگر صفات بیانگر شرایط توده بذری می‌باشند. شاخص وزنی بنیه گیاهچه تحت تأثیر نوع باکتری مورد استفاده در پیش تیمار زیستی، سطوح دمایی و اثر متقابل این دو مؤلفه قرار گرفت (جدول ۱). نتایج نشان داد که در دمای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۵ درجه سلسیوس بیشترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه مربوط به باکتری سویه CHA0 بود.

در دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس نیز سویه CHA0 و سویه ۲۵ دارای بیشترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه بود. سویه ۲۵ نیز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس دارای بیشترین بنیه وزنی بود. همبستگی مثبت و بسیار معنی دار بین سرعت جوانه‌زنی و شاخص وزنی بنیه گیاهچه (r^2=۰/۷**) نیز بر این موضوع تأکید می‌کند (جدول ۴). بدین معنی که با تغییرات سرعت جوانه‌زنی (افزایش به واسطه حضور باکتری‌های محرک رشد) شاخص بنیه گیاهچه که نشان دهنده قدرت رشد گیاهچه می‌باشد تحت تأثیر قرار گرفته است. درصد جوانه‌زنی نیز همبستگی بالایی با شاخص بنیه گیاهچه داشته است (r^2=۰/۷۷**). شانموگایا[1] و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که تلقیح بذر پنبه با باکتری سودوموناس فلورسنس سبب افزایش ۲۰ درصدی شاخص بنیه نسبت به تیمار شاهد شد که علت این امر را تولید هورمون‌های گیاهی و متابولیت‌های ثانویه دانستند.

[1] Shanmugaiah

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر برهمکنش دما و باکتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گلرنگ

Table 3. Means comparison for the interaction effect of temperature and bacteria on germination indices and seedling growth of safflower

دما Temperature (°C)	باکتری Bacteria	آنزیم آسکوربات پراکسیداز (واحد میلی گرم پروتئین بر دقیقه) APX (U mg^{-1} Protein)	آنزیم کاتالاز (واحد میلی گرم پروتئین بر دقیقه) CAT (U mg^{-1} Protein)	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Seedling length (cm)	وزن خشک (گرم) Dry weight (g)	بنیه وزنی Vigor weight
5	Control	0.14b	27.69d	7.43c	1.16b	3.25b
	Bacillus subtilit	0.16ab	31.53cd	8.76ab	1.78a	3.69b
	CHA 0	0.18a	46.14ab	8.90ab	2.10a	4.66a
	Pf 2	0.16ab	38.96bc	9.23a	2.06a	3.18b
	Pf 25	0.15b	48.17a	8.08bc	1.67a	3.68b
10	Control	0.14c	23.84d	7.46c	1.26b	0.80bc
	Bacillus subtilit	0.16bc	54.09a	8.96ab	1.86a	0.98ab
	CHA 0	0.16bc	42.55b	9.33a	1.80a	1.08a
	Pf 2	0.19a	38.45c	9.54a	1.78a	0.88b
	Pf 25	0.17ab	38.45c	8.03bc	2.02a	0.67c
15	Control	0.11bc	22.82c	7.92b	1.41c	0.89cd
	Bacillus subtilit	0.18b	29.74c	8.77ab	2.07ab	1.08bc
	strain CHA0	0.18b	56.66a	8.98ab	1.86b	1.33a
	Pf 2	0.22a	41.02b	9.43a	2.34a	1.22ab
	Pf 25	0.18b	60.76a	8.02b	1.84b	0.82d
20	Control	0.20c	31.27d	8.97a	1.66d	1.18c
	Bacillus subtilit	0.27b	45.12c	9.51a	2.56ab	1.95b
	CHA 0	0.32a	51.02bc	9.08a	1.83cd	1.57bc
	Pf 2	0.22c	58.19b	9.27a	2.34bc	1.69b
	Pf 25	0.28b	73.83a	9.93a	3.04a	2.46a
25	Control	0.15b	29.99d	8.37a	1.78b	1.01b
	Bacillus subtilit	0.22a	44.68bc	8.58a	1.99b	1.26b
	CHA 0	0.22a	81.52a	9.29a	2.38a	1.75a
	Pf 2	0.20a	45.63b	8.79a	1.93b	1.24b
	Pf 25	0.21a	36.40cd	9.05a	2.43a	1.67a
30	Control	0.17c	28.20c	8.66b	1.58c	1.07c
	Bacillus subtilit	0.17c	29.73bc	8.78ab	2.22ab	1.31c
	CHA 0	0.18bc	72.81a	9.83a	2.16ab	1.58ab
	Pf 2	0.20ab	39.22b	8.73ab	1.90bc	1.03c
	Pf 25	0.21a	68.45a	8.81ab	2.55a	1.70a
35	Control	0.16c	27.94b	7.75c	0.77c	0.34c
	Bacillus subtilit	0.18b	31.79b	8.13bc	2.05b	1.11b
	CHA 0	0.20a	52.30a	9.09ab	2.64a	1.70a
	Pf 2	0.19ab	53.32a	8.74b	1.90b	1.14b
	Pf 25	0.18b	61.27a	9.85a	2.62a	1.55a

حروف غیرمشابه در هر ستون و هر سطح دمایی به مفهوم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Non-similar letters in each column denote significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test

جدول ۴. ضرایب همبستگی بین شاخص‌های جوانه‌زنی، آنزیم‌ها و رشد گیاهچه گلرنگ

Table 4. Correlation between germination indices, enzymes and seedling growth of safflower

	درصد جوانه‌زنی (1) Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی (2) Germination rate	طول گیاهچه (3) Seedling length	وزن خشک (4) Dry weight	بنیه طولی (5) Vigor length	بنیه وزنی (6) Vigor weight	آسکوربات پراکسیداز (7) APX	کاتالاز (8) CAT
1	1							
2	0.83**	1						
3	0.36*	0.35*	1					
4	0.35*	0.37*	0.37*	1				
5	0.94**	0.81**	0.65**	0.44*	1			
6	0.77**	0.70**	0.46*	0.85**	0.81**	1		
7	0.67**	0.55**	0.26*	0.34*	0.64**	0.59**	1	
8	0.55**	0.61**	0.29*	0.28*	0.57**	0.51**	0.64**	1

*، **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

*, ** = non-significant, significant at p<0.05 and p<0.01, respectively

نتیجه‌گیری

نتایج یافته‌های حاضر حاکی از آنست که دمای ۲۰ درجه سلسیوس سبب بیشترین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص طولی بنیه شد. همچنین بذرهای تلقیح یافته با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس سویه CHA0 دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۸/۷۴)، سرعت جوانه‌زنی (۴۹/ ۳ بذر در روز) و شاخص طولی بنیه (۶/۲۲) بودند. طول گیاهچه، وزن خشک و شاخص وزنی بنیه از دیگر مؤلفه‌هایی بودند که در دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس سویه ۲۵ نتایج بهتری را نشان داد. در این بررسی بهترین دامنه دمایی برای اثر بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس بودند. بنابراین به نظر می‌رسد که به منظور تسریع در درصد و سرعت جوانه‌زنی و دیگر مؤلفه‌های جوانه‌زنی بهتر است تلقیح بذر در دامنه دمایی ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس و با باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس سویه CHA0 و ۲۵ صورت گیرد.

منابع

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3

Agricultural statistics. 2022. Vice President of Statistics, Information and Communication Technology Center. First volume: Crops.1-93.

Ajit, N. S., Verma, R., and Shanmugam, V. 2006. Extracellular chitinases of fluorescent pseudomonads antifungal to Fusarium oxysporum f. sp. dianthi causing carnation wilt. Current Microbiology, 52: 310-316. https://doi.org/10.1007/s00284-005-4589-3

Alivand, R., Tavakol Afshari, R. and Sharif Zadeh, F. 2012. Effect of gibberellin, salicylic acid and ascorbic acid for improvement of germination qualification in deteriorated seed of oil-seed rape. Journal of Iranian Crop Plant Science, 43(4): 561-571. [In Persian with English Summary].

Arora, A., Sairam, R. and Srivastava, G. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science, 82: 1227-1238

Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research, 14: 93-107. https://doi.org/10.1079/SSR2004159

Bakonyi, N., Bott, S., Gajdos, A., Szabo, A., Jakab, A., Toth, B., Makleit, B. and Veres, Sz. 2013. Using biofertilizer to improve seed germination and early development of maize. Polish Journal of Environmental Studies, 22(6): 1595-1599.

Bashan, Y., Holguin, G. and De-Bashan, L. 2004. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances. Canadian Journal of Microbiology, 50: 521-577. https://doi.org/10.1139/w04-035

Bennett, A.J. and Whipps, J.M. 2008. Dual application of beneficial micro-organisms to seed during drum priming. Applied Soil Ecology, 38: 83-89. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.08.001

Cakmakci, R., Erat, M., Erdoman, U.G. and Donmez, M.F. 2007. 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. https://doi.org/10.1002/jpln.200625105

Catara, S., Cristaudo, A., Gualtieri, A., Galesi, R., Impelluso, C., and Onofri, A. 2016. Threshold temperatures for seed germination in nine species of Verbascum (Scrophulariaceae). Seed Science Research, 26(1): 30-46. https://doi.org/10.1017/S0960258515000343

Chinnusamy, V., Schumaker, K. and Zhu, J.K. 2004. Molecular genetics perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. Journal of Experimental Botany, 55: 225-36. https://doi.org/10.1093/jxb/erh005

Cho, U.H. and Seo, N.H. 2005. Oxidative stress in (*Arabidopsis thaliana*) exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Science, 168: 113-120. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.021

Cochrane, A., Daws, M.I. and Hay, F.R. 2011. Seed-based approach for identifying flora at risk from climate warming. Austral Ecology, 36: 923e935. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2010.02211.x

Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Cle'ment, C. and Ait Barka, E. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. Applied and Environmental Microbiology, 71(4): 1685-1693. https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1685-1693.2005

Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. and Yacovokon, Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Science, 22(2): 107-149. https://doi.org/10.1080/713610853

Ehteshami, S.M.R. and Pour Ebrahimi, M. 2014. Effect of Pseudomonas fluorescens different strains on germination and seedling growth of two barley cultivars. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 2(2): 197-206. [In Persian with English Summary].

Fernandez-Martinez, J., del Rio, M. and De Haro, A. 1993. Survey of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm for variants in fatty acid composition and other seed characters. Euphytica, 69: 115-122. https://doi.org/10.1007/BF00021734

Finch-Savage, W.E., Dent, K.C. and Clark, L.J. 2004. Soak conditions and temperature following sowing influence the response of maize (*Zea mays* L.) seeds to on-farm priming (pre sowing seed soak). Field Crops Research, 90: 361-374. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.04.006

Ghaderi-Far, F., Soltani, A. and Sadeghipour, H.R. 2014. Biochemical changes during ageing in medicinal pumpkin: lipid peroxidation and membrane damage. Iranian Journal of Plant Biology, 6: 96-112. [In Persian with English Summary].

Gharib, F.A., Moussa, L.A. and Massoud, O.N. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. International Journal of Agriculture and Biology, 10(4): 381-387.

Guo, J., Dong, X., Li, Y. and Wang, B. 2020. NaCl treatment markedly enhanced pollen viability and pollen preservation time of euhalophyte *Suaeda salsa* via upregulation of pollen

development-related genes. Journal of Plant Research, 133: 57-71 https://doi.org/10.1007/s10265-019-01148-0

Gutierrez Mañero, F.J., Probanza, A., Ramos, B., Colón Flores, J.J. and Garc'ıa, J.A. 2003. Effects of culture filtrates of rhizobacteria isolated from wild lupine on germination, growth and biological nitrogen fixation of *Lupinus albus* L. cv. Multolupa seedlings. Journal of Plant Nutrition, 26: 145-58. https://doi.org/10.1081/PLN-120020078

Hamzi, S., Sorooshzadeh, A., Asgharzadeh, A. and Naghdi Badi, H. 2012. Effect of low temperature and rhizobacteria on seed germination and seedling growth of isabgol (*Plantago ovate* forsk). Journal of Medicinal Plants, 2: 104-115. [In Persian with English Summary].

Hernandez, A.N., Hernandez, A. and Heydrich, M. 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. Journal of Tropical Science, 6: 5-8.

Kaffi, M., A. Nezami, H., Hosseini, and Masoumi, A. 2005. Physiological effect of drought stress due Polyetilenglycol on the lentil genotypes germination. Iranian Journal of Crop Research, 81: 3-69. [In Persian with English Summary].

Kalsa, K.K. and Abebie, B. 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of *Viciavillosa* ssp. dasycarpa (Ten.). African Journal of Agricultural Research, 7(21): 3202-3208. https://doi.org/10.5897/AJAR11.1489

Knowles, P. F. 1969. Centers of plant diversity and conservation of crop germplasm: Safflower. Economic Botany, 23: 324-329. https://doi.org/10.1007/BF02860678

Laghmouchi, Y., Belmehdi, O., Bouyahya, A., Senhaji, N. S. and Abrini, J. 2017. Effect of temperature, salt stress and pH on seed germination of medicinal plant *Origanum compactum*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 10: 156-160. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.03.002

Lotfi, S. and Rahimizadeh, M.2014. Evaluation of the effects of temperature on germination of Russian knapweed (*Acroptilon repens*) seeds collected from irrigated and rainfed wheat fields. Journal of Plant Protection, 27(4): 520-522. [In Persian with English Summary].

Marcos Filho, J. 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. Scientia Agricola, 72: 363-374. https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007

Meyer, S.E., Debaene-Gill, S.G. and Allen, P.S. 2000. Using hydrothermal time concepts to model seed germination response to temperature, dormancy loss, and priming effects in *Elymus elymoides*. Seed Science Research, 10(3): 213-223. https://doi.org/10.1017/S0960258500000246

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7: 405-410. https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9

Nagananda, G.S., Das, A., Bhattacharya, S. and Kalpana, T. 2010. In vitro studies on the effects of biofertilizers (Azotobacter and Rhizobium) on seed germination and development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. International Journal of Botany, 6: 394-403. https://doi.org/10.3923/ijb.2010.394.403

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22: 867-880.

Noumavo, P., Kochoni, A., Didagbé, E., Adjanohoun, A., Allagbé, A., Sikirou, R., Gachomo, E.W., Kotchoni, S.O. and Baba-Moussa, L. 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. American Journal of Plant Science, 4: 1013-1021. https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45125

Patane, C. and Tringali, S. 2010. Hydrotime analysis of ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) seed germination under different temperatures. Journal of Agronomy and Crop Science, 197(2): 94-102. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2010.00448.x

Raj, N., Shetty, N. and Shetty, H. 2004. Seed biopriming with Pseudomonas fluorescens strains enhances growth of pearl millet plants and induces resistance against downy mildew. Integrated Journal of Pest Management, 50(1): 41-48. https://doi.org/10.1080/09670870310001626365

Roberts, E.H. 1986. Quantifying seed deterioration. In: Physiology of Seed Deterioration (eds. McDonald, M.B. and Nelson, C.J.) Cambridge University Press, Cambridge. Pp.101-123. https://doi.org/10.2135/cssaspecpub11.c6

Shanmugaiah, V., Balasubramanian, N., Gomathinayagam, S., Manoharan, P.T. and Rajendran, A. 2009. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. African Journal of Agricultural Research, 4: 1220-1225.

Stasolla, C. and Yeung, E.C. 2001. Ascorbic acid metabolism during white spruce somatic embryo maturation and germination. Physiologia Plantarum, 111(2): 196-205. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110210.x

Sultana, N., Ikeda, T. and Mitusi, T. 2000. GA3 and proline promote germination of wheat seed by stimulating α-amylase at unfavorable temperatures. Plant Production Science, 3(3): 232-237. https://doi.org/10.1626/pps.3.232

Suma, N., Srimathi. P. and Roopa, V.M. 2014. Influence of Biofertilizer pelleting on seed and seedling quality characteristics of *Sesamum indicum*. International Journal of Current Microbiology Applied Science, 3(6): 591-594.

Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Yong Kim, K., Deng, X. and Kwak, S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 47: 570-577. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.02.009

Weiss, E.A. 2000. Oil Seed Crops. Black Well Science Oxford. 364p.

Yadav, J., Verma. J.P. and Tiwari, K.N.2010. Effect of plant growth promoting Rhizobacteria on seed germination and plant growth Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under in Vitro conditions. Biological Forum International Journal, 2: 15-18.

Zahoor, A., Ghafor, A. and Muhammad, A. 2004. Plantago ovate-A crop of arid and dry climates with immense herbal and pharmaceutical importance. Introduction of Medicinal Herbs and Spices as Crops Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Pakistan 5: 1101-1115.

Zainali, A. 2000. Safflower. Reorganization, production, and consumption. Published in Agricultural Science University and Natural Source of Gorgan.144p. [In Persian].

Iranian Journal of Seed Research, 2023, 9(2): 35-49

Research Article

Effect of plant growth promoting bacteria and temperature treatments on germination indices and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius*)

Amin Salehi[1*], Yaghoub Behzadi[2], Raham Mohtashami[2], Nasrin Niknam[2]

Extended abstract

Introduction: Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is an annual oilseed crop that is adapted to arid and semi-arid regions and is considered an indigenous plant of Iran. Germination and seedling stage in the soil is one of the most important stages in the life cycle of plants. High germination rate and percentage increase the number of seedlings and the rapid successful establishment of seedlings in the soil also contributes to the suitable vegetative growth of the seedlings in later stages of life. Therefore, evaluation of germination indices and seedling establishment in the soil and finding more suitable conditions to improve these indices can have a direct impact on more successful plant cultivation. One of the methods used in this regard is priming.

Materials and Methods: In order to study the effect of plant growth-promoting bacteria and temperature treatments on germination indices and seedling growth of the safflower, this investigation was conducted based on a completely randomized block design with three replications at the Agricultural Research Laboratory of Yasouj University in 2016. Experimental factors were seven levels of temperature treatments (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C) and seed priming with three strains of *Pseudomonas fluorescens* such as Pf 2, Pf 25 and CHA 0 and one strain of *Bacillus subtilis* and control (without inoculation).

Results: The results showed that 20°C temperature caused the highest germination percentage, germination rate and vigor length. Also, seeds inoculated with *Pseudomonas fluorescens* growth-promoting bacteria strain CHA0 had the highest germination percentage (68.74), germination rate (3.49 seeds per day) and vigor length vigor (6.22). Seedling length, dry weight and vigor weight were the other parameters that showed the best results at 20 and 25°C. Also, germination and seedling growth indices decreased by an increase or decrease in the optimum temperature. The use of plant growth-promoting bacteria causes increased activity of ascorbate and catalase enzymes, which leads to a decrease in injuries related to non-optimum temperature and improved germination indices.

Conclusion: According to our results, to accelerate the germination rate and other parameters, it is better to inoculate seeds with bacteria strains CHA0 and 25 in the temperature range of 20-25°C.

Keywords: Enzymes, Inoculation, Priming, Pseudomonas, Seed Vigor

***Highlights*:**

1- The germination behaviour of safflower primed with bacteria varies at different temperatures.
2- Seeds inoculated with *Pseudomonas fluorescens* growth-promoting bacteria of CHA0 strain had better germination conditions.
3- Using the 20-25°C temperature improves germination indices.

[1] Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agricultural, Yasouj University, Yasouj, Iran
[2] Ph.D Student, Department of Agronomy, Faculty of Agricultural, Yasouj University, Yasouj, Iran

*Corresponding author, E-mail: aminsalehi@yu.ac.ir

(Received: 07.15.2022; Accepted: 01.16.2023)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.2.12.5

DOI: 10.61186/yujs.9.2.35