"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد ششم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۶
(ص ۱۸۳-۱۷۱)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 6, No.: 2, Autumn and Winter 2018
(pp: 171-183)
DOI: 10.22034/ijsst.2018.116594

تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)

وفا طرفی[۱]، عبدالرزاق دانش‌شهرکی[۲*]، کرامت الله سعیدی[۲]، محسن مبینی‌دهکردی[۳]، پژمان طهماسبی[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه شهرکرد
[۲] استادیار گروه مهندسی زراعت و گروه علوم باغبانی دانشگاه شهرکرد
[۳] استادیار گروه ژنتیک و گروه منابع طبیعی دانشگاه شهرکرد
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۱۷)

چکیده

به منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه دارویی بادرشبو (*Darcocephalum moldavica* L.)، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه زراعت دانشگاه شهرکرد انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل شاهد (عدم تلقیح باکتریایی)، تلقیح با باکتری‌های *Rhodococcus* sp.، *Corynebacterium* sp.، *Mycobacterium* sp.، *Bacillus* sp.، *Azotobacter* sp.، *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas fluorescens* و تلقیح با مخلوطی از باکتری‌ها می‌باشند. نتایج نشان داد تیمارهای تلقیح باکتریایی اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی، طول و وزن ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، ضریب آلومتری و شاخص ویگور در سطح احتمال یک درصد داشتند. تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. بیش‌ترین تأثیر را بر صفات متوسط زمان جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی، طول و وزن ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، ضریب آلومتری و شاخص ویگور داشت و تیمار تلقیح باکتریایی *Rhodococcus* sp. بر صفت سرعت جوانه‌زنی و تیمار تلقیح باکتریایی *Pseudomonas fluorescens* بر صفت درصد جوانه‌زنی بیش‌ترین تأثیر را داشتند. در مجموع نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای تلقیح باکتریایی به صورت بیوپرایمینگ می‌توانند شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه دارویی بادرشبو را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: بیوپرایمینگ، *Bacillus* sp.، *Rhodococcus sp.*، *Mycobactrium* sp.، جوانه‌زنی، بادرشبو

The effect of plant growth promoting rhizobacteria on germination and primary growth of Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.)

V. Torfi[1], A. Danesh-Shahraki[*2], K. Saeidi[2], M. Mobini-Dehkordi[3], P. Tahmasebi[3]

[1] Msc Student in Seed Science and Technology, Institute of Biotechnology, Shahrekord University
[2] Assistant Professor, Department of Agronomy and Department of Horticulture, Shahrekord University
[3] Assistant Professor, Department of Genetics and Department of Range and Watershed Management, Shahrekord University
(Received: Jan. 30, 2017 – Accepted: Jun. 07, 2017)

Abstract

In order to evaluation the effect of plant growth promoting rhizobacteria on germination and primary growth of *Darcocephalum moldavica* L. an experiment in completely randomized design was conducted in the laboratory of agronomy science of Shahrekord University. Treatments were included control (no bacterial inoculation), inoculated with *Rhodococcus* sp., *Corynebacterium* sp., *Mycobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* bacteria and inoculated with a mixture of all bacteria. Results showed that a significantly effect of bacterial treatments on germination percentage, germination rate, mean germination time, germination rate index, half maximal activation level (T50), length and radical weight, shoot and seedling, vigor index and Allometric coecifficient at 1% probability level. *Bacillus* sp. bacterial inoculation treatment had the most influence on mean germination time, germination rate index, half maximal activation level (T50), length and radical weight, shoot and seedling, and vigor index traits. Bacteria incubation treatment of *Rhodococcus* sp. and *Pseudomonas fluorescence* had the most effect on germination speed and germination percentage, respectively. The results showed that bacterial inoculation treatments as biopriming can improve the germination and primary growth indices of *D. moldavica* herb.

Keyword: Biopriming, *Bacillus* sp., *Rhodococcus* sp., *Mycobactrium* sp., Germination, *Dracocephalum moldavica L.*

[*] Email: danesh-a@agr.sku.ac.ir

مقدمه

در عصر حاضر با وجود توسعه چشمگیر کاربرد داروهای شیمیایی، هنوز گیاهان دارویی و مواد مؤثره حاصل از آنها در مقیاس وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند به طوری که در برخی کشورها از اجزاء جدایی ناپذیر سیستم دارو درمانی محسوب می‌شوند و بازار تجارت آنها در حال گسترش می‌باشد (Ghasemi Dehkordi *et al*., 2003). با توجه به نیاز بالای جهانی به تأمین مداوم مواد گیاهان دارویی و نیز تخریب روزافزون رویشگاه‌های طبیعی آنها به‌نظر می‌رسد که کشت این گیاهان در سیستم‌های زراعی بتواند به عنوان یک راهکار مهم در تأمین بازار رو به گسترش جهانی باشد. کشت و اهلی کردن گیاهان دارویی و معطر نه تنها وسیله‌ای برای تأمین نیازهای روزافزون ترکیبات دارویی می‌باشد بلکه وسیله‌ای جهت کاهش فشار بر جوامع گیاهی وحشی نیز محسوب می‌شود (Uniyal *et al*., 2002). غلظت پایین ترکیبات مؤثره در گیاهان دارویی، محدودیت منابع طبیعی، تخریب روزافزون جنگل‌ها، مراتع و نابودی گونه‌های متنوع گیاهی توجه محققین را به استفاده از راهکارهای فناوری زیستی جهت افزایش تولید و بهره‌وری گیاهان دارویی معطوف نموده است (Harnischfeger, 2000; Uniyal *et al*., 2002).

یکی از مشکلات اصلی تکثیر برخی از گیاهان دارویی جوانه‌زنی کم و نامنظم آنها می‌باشد و با توجه به اینکه در گیاهان دارویی مسیر سنتز متابولیت‌های ثانویه مشخصی توسط میکروارگانیسم‌ها تحریک می‌شود، لذا مطالعه اثر تحریک کنندگی قوی و مواد مترشحه میکروبی بر متابولیت‌های ثانویه و یکنواختی جوانه‌زنی و استقرار در گیاهان دارویی، در تحقیقات جایگاه ویژه‌ای دارد (Karthikeyan *et al*., 2007; Zhao *et al*., 2005). مطالعات انجام شده حاکی از آن است که تیمارهای تلقیح باکتریایی قادر به افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی در گیاهانی نظیر جو (Cakmakci *et al*., 2001; Sahin *et al*., 2004)، گندم (Cakmakci *et al*., 2007)، ذرت (Pal, 1998) و نیشکر (Sundara *et al*., 2002) می‌باشند. بیوپرایمینگ به‌طور طبیعی در میکروارگانیسم‌های خاک اتفاق افتاده و یک عمل مطمئن، بدون آلودگی و نیز یک عامل کنترل‌کننده بیماری‌های محیطی است و در عین حال یک تیمار پیش کاشت مؤثر به‌حساب می‌آید (Ashraf and Foolad, 2005). باکتری‌های محرک رشد گیاه، باکتری‌های ریزوسفری هستند که می‌توانند رشد گیاه را با ساز و کارهای مختلفی افزایش دهند (Abaszade Dahaji *et al*., 2010). این ریزجانداران به سه شیوه سنتز و فراهم آوردن ترکیبات ویژه برای گیاهان، تسهیل فرآیند جذب عناصر غذایی از محیط و حفاظت از گیاهان در مقابل بیماری‌های خاص رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Cakmakci *et al*., 2006). از طرفی، باکتری‌های محرک رشد گیاهی به دو طریق مستقیم و غیر مستقیم بر رشد و نمو گیاه اثر می‌گذارند. مکانیسم‌های مستقیم اثر بخشی انواع باکتری‌های محرک رشد گیاهی، مانند تولید هورمون‌های گیاهی، یونوفورها، افزایش دسترسی گیاه به فسفر از طریق حل آنزیمی و غیرآنزیمی فسفات‌های نامحلول آلی و معدنی، انحلال روی، تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفورهای کمپلکس کننده آهن، تولید هورمون‌های گیاهی، توسعه سیستم ریشه‌ای، فعالیت‌های آنزیمی چون ACC–دآمیناز و تولید ریزوبیوتوکسین به منظور کاهش اثرات سوء اتیلن استرسی و افزایش گره‌زایی را که نهایتاً منجر به بهبود رشد گیاه می‌شوند به اثبات رسیده است (Zaied *et al*.,2003). در روش غیر مستقیم، این باکتری‌ها با حذف و یا تعدیل برخی از اثرات مضر میکروارگانیسم‌های پاتوژنی، به سلامت گیاه کمک کرده و در نهایت منجر به افزایش رشد گیاه می‌گردند. فیتوهورمون‌ها با افزایش سطح ریشه و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز دارای اثر مثبت بر جذب مواد غذایی توسط گیاه هستند (Hoflich *et al*., 1994). کاکماکی و

همکاران (Cakmakci et al., 2007) نشان دادند که تلقیح بذرهای جو با باکتری‌های تحریک کننده رشد گیاه، موجب افزایش طول و وزن ریشه‌های جو گردید. آنها افزایش وزن ریشه جو در واکنش به تلقیح با باکتری‌ها را ۲۸/۸ تا ۵۲/۲ درصد بسته به نوع باکتری گزارش نمودند. با توجه به اینکه جیبرلین‌ها سبب افزایش رشد طولی سلول‌ها به ویژه میانگره‌های ساقه و اکسین موجب تقسیمات سلولی بیش‌تر می‌شوند به این ترتیب احتمالاً باکتری‌های محرک رشد گیاهی با افزایش ارتفاع بوته و قطر ساقه می‌توانند در تولید زیست توده گیاهی مؤثرتر باشند (Ansari Joveini *et al*., 2011).

بادرشبو (*Darcocephalum moldavica* L.) از گیاهان دارویی ارزشمند متعلق به خانواده نعناعیان است. پراکندگی این گیاه در بعضی از نواحی جنوبی اروپا، جزیره سیسیل، مولداوی و جنوب غرب آسیا مانند ایران و غیره می‌باشد (Davazdahemami and majnoonhosaini, 2008; Samsam Shariat, 2010). ساقه، برگ و گل بادرشبو معطّر و دارای اسانس هستند. سیترال و استات‌ژرانیل از مهمترین ترکیبات این گیاه هستند. مواد مؤثره این گیاه آرام‌بخش و اشتها آور هستند. اسانس آن دارای خاصیت ضد باکتریایی بوده و برای مداوای دل درد و نفخ شکم و همچنین درصنایع غذایی، نوشابه سازی و صنایع بهداشتی و آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Omidbaigi., 2011).

با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، نکته قابل توجه در تولید این گیاهان، افزایش تولید زیست توده آن‌ها بدون کاربرد نهاده‌های شیمیایی است. در همین راستا، استفاده از گونه‌های میکروبی همیار با گیاهان دارویی در بهبود عملکرد و کیفیت آنها مؤثر خواهد بود (Karthikeyan *et al*, 2008; Koochaki *et al*., 2008). بنا به اهمیت گیاهان دارویی و به‌ویژه گیاه دارویی بادرشبو و همچنین حساسیت اصلاح مدیریت‌های مصرف کودهای شیمیایی در بوم نظام‌های کشاورزی، در این پژوهش اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر جوانه‌زنی و رشد گیاه دارویی بادرشبو مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر بیوپرایمینگ بر جوانه‌زنی، رشد و استقرار گیاه بادرشبو این آزمایش در سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد اجرا شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل بیوپرایم با ۹ سطح تلقیح باکتریایی (شامل عدم تلقیح باکتریایی (شاهد)، تلقیح با هفت گونه باکتریایی *Rhodococcus* sp.، *Mycobacterrium* sp.، *Corynebacterium* sp.، *Bacillus* sp.، *Azotobacter* sp.، *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas fluorescens* و تلقیح با مخلوطی از باکتری‌ها با عنوان (All bacteria) می‌باشند. بدین منظور ریزوباکترهای *Rhodococcus* sp.، *Corynebacterium* sp.، *Mycobacterrium* sp. و *Bacillus* sp. از کلکسیون پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه شهرکرد، ریزوباکتری *Azotobacter* sp. و *Pseudomons putid* از بانک میکروب ایران و ریزم باکتری *Pseudomonas fluorescens* از مؤسسه انستیتو پاستور تهیه شدند. به منظور انجام آزمایش، بذور بادرشبو رقم اصلاح شده SZK-1 که ار مؤسسه زردبند تهیه شده بودند، ابتدا با اتانول ۷۰٪ به مدت ۱۰ ثانیه ضدعفونی و بعد از شست‌وشو با آب مقطر، با محلول هیپوکلرید ۲٪ به مدت ۱۰ دقیقه استریل و سپس چند بار با آب مقطر شستشو گردید. سپس بذور استریل شده به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق، در آب مقطر (برای تیمار شاهد) یا سوسپانسیون باکتریایی (برای تیمارهای تلقیحی) که میزان جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر برای دستیابی به تراکم مایه‌ی تلقیح $۱۰^{۸} \times ۵$ واحد تشکیل‌دهنده کلونی (CFU) بر میلی‌لیتر روی ۰/۵ تنظیم گردید بود فرو برده می‌شوند (Burd *et al*, 1998). آزمون جوانه‌زنی استاندارد به مدت ۲۱ روز در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی‌گراد به روش Top of Paper (TP) (ایستا، ۲۰۱۱)،

در ۴ تکرار ۲۵ تایی و در ظروف پتری ۹۰ میلی‌متری انجام شد. طی آزمون جوانه‌زنی استاندارد، تعداد بذور جوانه‌زده به صورت روزانه شمارش گردید و در نهایت درصد و شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند. مدت زمان تا ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی نیز با استفاده از برنامه Germin در محیط نرم افزار Excel محاسبه گردید (Joosen *et al*., 2010).

رابطه ۱: درصد جوانه‌زنی (Ikic *et al*, 2012)

$$GP = \frac{\text{Number of germination seeds}}{\text{Total number of seeds}} \times 100$$

رابطه ۲: سرعت جوانه‌زنی (Karsa and Abebie, 2012)

$$\text{Germination Rate (GR)} = (Gt / Dt)$$

که در آن، GR = سرعت جوانه‌زنی، Gt = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز t ام و Dt = تعداد روزهای پس از کاشت

رابطه ۳: متوسط زمان جوانه‌زنی (Ya-jing *et al*, 2009)

$$MGT = \sum (Gt \times Tt) / \sum Gt$$

که در آن، MGT = میانگین زمان جوانه‌زنی، Gt = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز t ام و Tt = زمان متناظر برای Gt در روزها

رابطه ۴: ضریب سرعت جوانه‌زنی (Baiyeri *et al*, 2011)

$$CVG = (\sum Gt / \sum (GT \times Tt))$$

که در آن، CVG = ضریب سرعت جوانه‌زنی (بر حسب درصد)، Gt = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز t ام و Tt = زمان متناظر برای Gt در روزها

رابطه ۵: شاخص ویگور (ISTA, 2011)

$$\text{Vigor Index} = \text{Standard Germination} \times \text{Seedling Root length (cm)}$$

که در این رابطه، SG = درصد جوانه‌زنی استاندارد، SRL = طول ریشه‌چه (cm)، SDW = وزن گیاهچه

رابطه ۶: ضریب آلومتری (Scott *et al*, 1984)

$$AC = SL / RL$$

که در آن، SL = طول ساقه‌چه و RL = طول ریشه‌چه

تجزیه آماری داده‌های آزمایش، پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها، با نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (lSD) و در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

بررسی نتایج نشان داد تیمارهای تلقیح باکتریایی در صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن تر ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، ضریب آلومتری و شاخص ویگور نسبت به تیمار شاهد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جداول ۱ و ۲).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار تلقیح باکتریایی *Pseodomonas fluorosens* دارای بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بود که با تیمارهای *Rhodococcus* sp. و *Mycobacterium* sp. فاقد اختلاف معنی‌دار بود (شکل ۱). غلامی (Gholami, 2009) و شاکوات و همکاران (Shaukat *et al*., 2006) نیز گزارش کردند که سویه‌هایی از سودوموناس و ازتوباکتر بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت تأثیر مثبت و معنی‌داری داشتند.

سودوموناس‌ها از جمله باکتری‌هایی هستند که در همه خاک‌های زراعی وجود دارند و دارای خاصیت محرک رشدی مختلفی می‌باشند و مؤثرترین دسته سودوموناس‌ها، سودوموناس‌های فلورسنت هستند (Saharan and Nehra, 2011). مطالعه ۵۳ جدایه که مربوط به جنس‌های مختلف سودوموناس بودند، نشان داد که این جدایه‌ها قادرند به میزان ۱/۳ تا ۷ میلی‌گرم در لیتر اکسین تولید کنند (Asghar *et al*. 2004). به نظر می‌رسد که افزایش درصد جوانه‌زنی به واسطه سنتز مواد

تنظیم‌کننده رشد باشد که فعالیت آنزیم‌های خاصی از جمله آلفا آمیلاز، پروتئاز و نوکلئاز را موجب می‌شوند. این امر منتج به فعالیت بهتر آنزیم‌های میتوکندریایی می‌گردد که سبب افزایش مصرف اکسیژن و بالطبع جوانه‌زنی می‌گردد (Noumavo *et al*. 2013).

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی تحت تیمارهای تلقیح باکتریایی

Table1- Analysis of variance (mean square) of germination percentage, germination rate, mean germination time, germination rate index and half maximal activation level under bacterial incubation treatments

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square (MS)				
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time	ضریب سرعت جوانه‌زنی Germination rate index	مدت زمان تا ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی Half-maximal activation level (T50)
تیمار Treatment	8	159.11**	1.840**	1.020**	0.00103**	496.388**
خطا Error	27	26.66	0.093	0.142	0.00013	111.09
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation (%)		6.65	7.84	6.66	6.42	9.42

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

ns, * and ** non signification, Significant at 5% and 1% probability level, respectively.

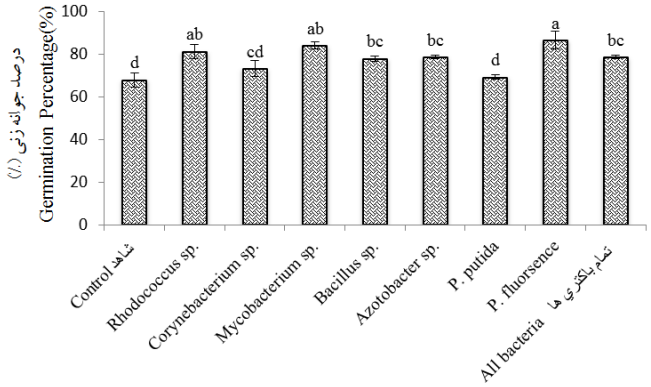
جدول ۲: تجزیه واریانس طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه و وزن ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، ضریب آلومتری و ضریب سرعت جوانه‌زنی

Table 2- Analysis of variance of radical, shoot and seedling length, radical, shoot and seedling weight, Allometric coecifficient and germination rate

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square (MS)							
		طول ریشه‌چه Radical length	طول ساقه‌چه Shoot length	وزن تر ریشه‌چه Radical fresh weight	وزن تر ساقه‌چه Shoot fresh weight	طول گیاهچه Seedling fresh length	وزن تر گیاهچه Seedling weight	ضریب آلومتری Allometric coecifficient	شاخص ویگور Vigor index
تیمار Treatment	8	1.101**	1.636**	0.622**	25.30**	5.08**	31.78**	1.381**	6898.09**
خطا Error	27	0.021	0.077	0.012	1.58	0.18	1.59	0.136	140.17
ضریب تغییرات ٪ Coefficient of variation %		8.81	9.34	8.79	7.72	10.23	7.19	13.66	12.98

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

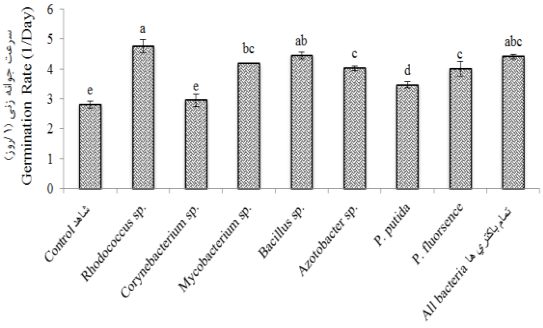
ns, * and ** non-significant, Significant at 5% and 1% probability level, respectively.



شکل ۱- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

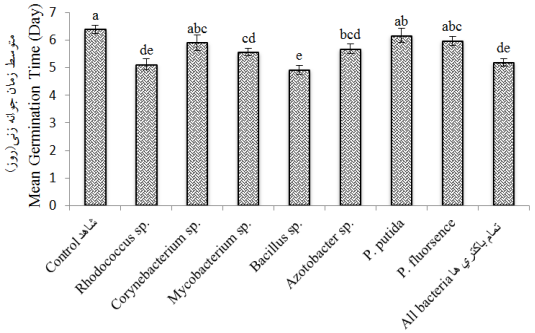
Fig 1- Mean comparison of germination percentage under bacterial inoculation treatments effect

تیمارهای تلقیح باکتریایی *Rhodococcus* sp.، *Bacillus* sp. و All bacteria نسبت به تیمار شاهد سرعت جوانه‌زنی را به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد افزایش دادند (شکل ۲). همچنین کمترین متوسط زمان جوانه‌زنی مربوط به تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. می‌باشد که اختلاف معنی‌داری بین این تیمار تلقیح باکتریایی و تیمارهای تلقیحی *Rhodococcus* sp. و All bacteria وجود نداشت ولی با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار است (شکل ۳). سیدشریفی و خاوازی (Seyed Sharifi and Khavazi, 2012) نشان دادند که سرعت جوانه‌زنی گیاهچه‌های ذرت در تلقیح با سویه‌هایی از باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم افزایش یافت.



شکل ۲- مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 2- Mean comparison of germination rate under bacterial inoculation treatments effect

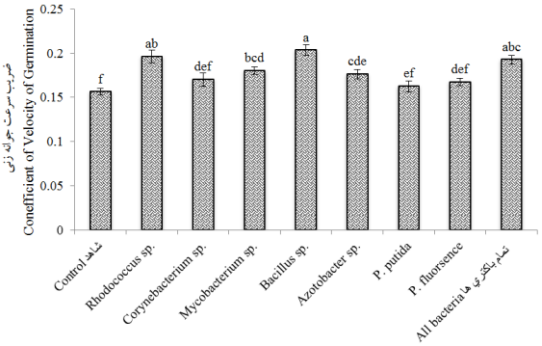


شکل ۳- مقایسه میانگین متوسط زمان جوانه‌زنی تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 3- Mean comparison of mean germination time under bacterial inoculation treatments effect

صفات متوسط زمان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی رابطه عکس با یکدیگر دارند، بنابراین در تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. بیش‌ترین ضریب سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد که با تیمارهای *Rhodococcus* sp. و All bacteria اختلاف معنی‌داری نداشت در حالی که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۴). تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. قادر بود زمان تا ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی را ۲۸/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد که از این نظر با تیمارهای تلقیح باکتریایی *Rhodococcus* sp.، *Azotobacter* sp. و All bacteria

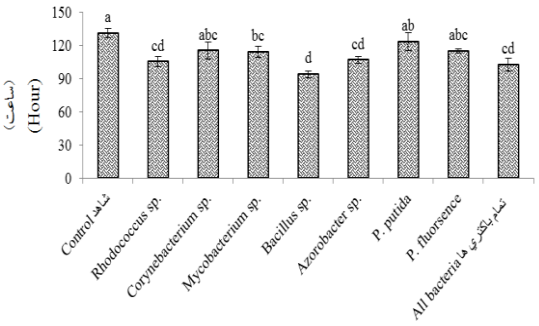
اختلاف معنی‌داری نداشت. زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی که با سرعت جوانه‌زنی نسبت عکس دارد، حاکی از افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی بذور بادرشبو در تیمارهای تلقیح باکتریایی نسبت به تیمار بدون تلقیح است. Tize and Zeiger, 2006 گزارش کردند، با وجودی که اغلب فعالیت هورمون‌ها به شکل جدا و مستقل بررسی می‌شود، رشد و نمو واقعی گیاه حاصل بسیاری فعالیت‌های تلفیقی است. به علاوه، هورمون‌ها می‌توانند بر بیوسنتز و یا واکنش‌های همدیگر تأثیر بگذارند. اکسین خارجی می‌تواند بیوسنتز GA را در نخودهایی که محل بیوسنتز اکسین بریده شده یا انتقال اکسین با بازدارنده‌های اکسین متوقف شده است، افزایش



شکل ۴- مقایسه میانگین ضریب سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 4- Mean comparison of germination rate index under bacterial inoculation treatments effect

دهد. از دیگر تأثیرات سلولی استیک اسید می‌توان به افزایش در نوکلئوتیدهای DNA و RNA و ساخت پروتئین و آنزیم (Gardner *et al*., 1999) اشاره کرد. از آنجایی که جنس‌های باکتریایی *Bacillus* sp. و *Rhodococcus* sp. قادر به ترشح ایندول استیک اسید می‌باشند (Naderi 2012; Rahimzadeh *et al*., 2010)، بنابراین می‌توان احتمال داد که این تیمارهای تلقیح باکتریایی با تولید ایندول استیک اسید و در نتیجه افزایش ساخت DNA، RNA و پروتئین و همچنین تحریک تولید هورمون GA، باعث افزایش سرعت رشد ریشه‌چه و در نتیجه افزایش سرعت خروج ریشه‌چه می‌گردند.



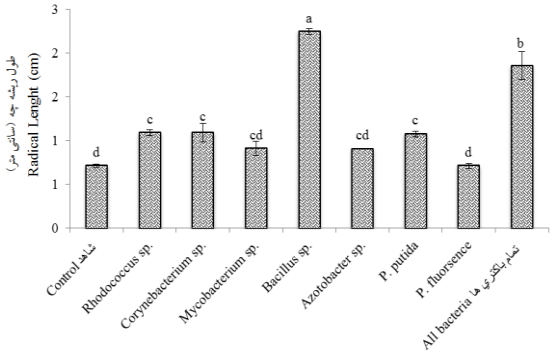
شکل ۵- مقایسه میانگین مدت زمان تا ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 5- Mean comparison of half maximal activation level under bacterial inoculation treatments effect

نتایج بدست آمده نشان داد بیش‌ترین طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول گیاهچه مربوط به تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. می‌باشد و در سطح احتمال یک درصد نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری است (شکل ۶، ۷ و ۸). افزایش رشد ریشه یکی از مهم‌ترین معیارهای اندازه‌گیری اثرات مفید باکتری‌های محرک رشد گیاه است، استقرار سریع ریشه‌ها چه از طریق افزایش طول ریشه‌های ابتدایی و چه با تکثیر ریشه‌های جانبی و نابجا یک راه مناسب برای گیاهچه‌های جوان است که توانایی خود را برای استقرار در خاک و جذب مواد غذایی افزایش دهند. تولید IAA توسط باکتری‌های محرک رشد گیاهی باعث طویل شدن و تکثیر سلول‌های گیاهی می‌شود (Patten *et al*., 2002; Klopper *et al*., 2003). در این زمینه انصاری‌جوینی و همکاران (Ansari Joveini *et al*., 2011) گزارش کردند جیبرلین‌ها سبب افزایش رشد طولی سلول‌ها به ویژه میانگره‌های ساقه و اکسین موجب تقسیمات سلولی بیش‌تر می‌شوند به این ترتیب احتمالاً باکتری‌های محرک رشد گیاهی با افزایش ارتفاع بوته و قطر ساقه می‌توانند در تولید زیست‌توده گیاهی مؤثرتر باشند. بندوزی و همکاران

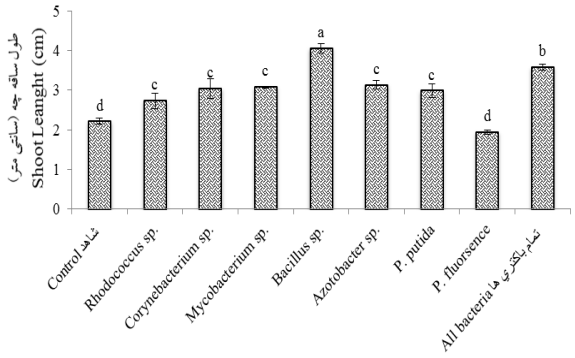
(Beneduzi *et al*,. 2008) افزایش معنی‌دار رشد ریشه و ساقه برنج در واکنش تلقیح با جنس *Bacillus* sp. و *Peanibacillus* sp. را گزارش کردند. طبق تحقیقات کاکماکی و همکاران (Cakmakci *et al*., 2007) تلقیح بذرهای جو با باکتری‌های تحریک کننده رشد گیاه، موجب افزایش طول و وزن در ریشه‌های جو گردید. آنها افزایش وزن ریشه جو در واکنش به تلقیح با برخی باکتری‌ها را ۲۸/۸ تا ۴۵/۲ درصد بسته به نوع باکتری گزارش نمودند.

مقایسه میانگین وزن تر ریشه‌چه نشان داد که تیمارهای تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp.، *Bacillus* sp.، *Azotobacter* sp.، *P. putida* و All bacteria نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهای تلقیح باکتریایی دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و نسبت به یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (شکل ۹). همچنین طبق مقایسه میانگین‌ها، تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. بیش‌ترین وزن تر ساقه‌چه را به خود اختصاص داده بود که نسبت به تیمارهای تلقیح باکتریایی *Mycobacterium* sp. و All bacteria اختلاف معنی‌دار نداشت اما نسبت به تیمار شاهد در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود. تیمارهای تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp.، *Mycobacterium* sp. و All bacteria به ترتیب توانستند وزن تر ساقه‌چه را ۶۴/۷، ۵۷/۷ و ۵۵/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش دهند (شکل ۱۰). با توجه به معنی‌دار شدن تیمارهای تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp.، *Mycobacterium* sp. و All bacteria در صفات وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه، و همانگونه که انتظار می‌رفت، وزن گیاهچه نیز در این سه تیمار تلقیح باکتریایی نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود (شکل ۱۱). تیمارهای تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. و *Mycobacterium* sp. و All bacteria قادر بودند وزن تر گیاهچه را به ترتیب تا ۶۵/۶ ، ۵۸/۷ و ۵۶/۲ درصد نسبت به تیمار بدون تلقیح افزایش دهند. این افزایش معنی‌دار حاکی از آن است که احتمالاً تیمارهای تلقیح باکتریایی با تولید هورمون‌های تحریک‌کننده رشد نظیر اکسین و جیبرلیک اسید باعث افزایش در تعداد و طول سلول‌های گیاهی می‌شوند که نهاتاً منجر به افزایش طول و وزن تر ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه در این تیمارهای تلقیحی گردید. باکتری‌های محرک رشد با تغییر در ساختار سیستم ریشه‌ای سبب بهبود جذب عناصر غذایی، تخصیص کربوهیدرات‌ها به ریشه، کاهش فعالیت پراکسیداز ریشه و سنتز پروتئین‌های جدید شده و در نتیجه افزایش در رشد ریشه را منجر می‌شوند (Saghfi *et al*, 2013). مطالعات نشان داده است که تلقیح ذرت با *Bacillus* sp. می‌توان عملکرد را به ترتیب ۳۳/۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهد (Nezarat and Gholami, 2011). مطالعات زیادی تولید ACC- دآمیناز را در *Bacillus* sp. گزارش کردند (Yasmin *et al*., 2004; Tsavkelova *et al*., 2005; Joseph *et al*., 2007; Saghir khan *et al*., 2009). شاهارونا و همکاران (Shaharoona *et al*., 2007) گزارش کردند باکتری‌های مولد ACC- دآمیناز از طریق توسعه و گسترش هر چه بهتر ریشه، رشد ساقه و عملکرد را به‌طور مثبت تحت تأثیر قرار می‌دهند. نظارت و غلامی (Nezarat and Gholami, 2011) بیان نمودند که درجه تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر رشد و عملکرد تابع عوامل مختلفی چون نوع گیاه، سویه باکتری، نوع خاک و شرایط محیطی است. به این ترتیب استفاده از این باکتری‌ها به عنوان کودهای زیستی دارای اثرات ثابتی نبوده و به منظور تولید این محصولات، در ابتدا باید ارتباط گیاه، خاک و ریزموجودات خاک مورد ارزیابی قرار گرفته تا بتوان ترکیباتی مؤثر و کارآمد از آنها را در جهت بهبود عملکرد گیاهان تولید نمود. بنابراین مطابقت نداشتن نتایج تحقیقات مختلف با یکدیگر صرفاً به معنای ناکارآمدی باکتری‌های محرک رشد گیاهی نمی‌باشد، بلکه نتایج تابع سویه‌های باکتریایی مورد استفاده، نوع گیاه و کاربرد این باکتری‌ها در شرایط مزرعه‌ای و یا آزمایشگاهی است.



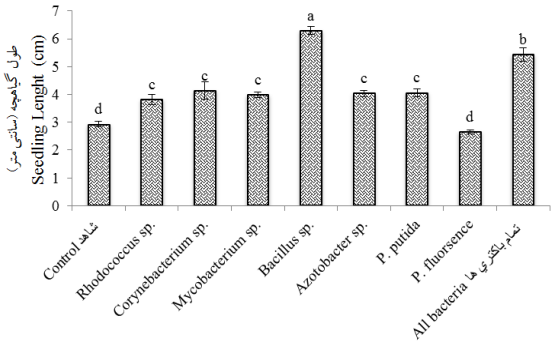
شکل ۶- مقایسه میانگین طول ریشه‌چه تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 6- Mean comparison of radical length under bacterial inoculation treatments effect



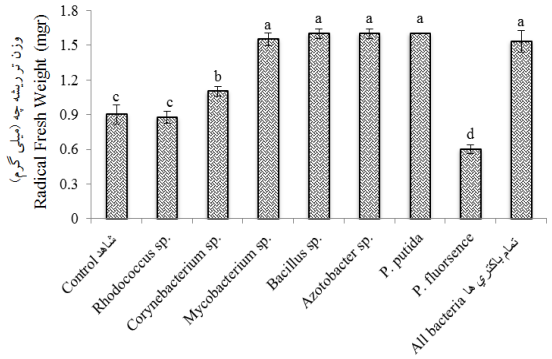
شکل ۷- مقایسه میانگین طول ساقه‌چه تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 7- Mean comparison of shoot length under bacterial inoculation treatments effect



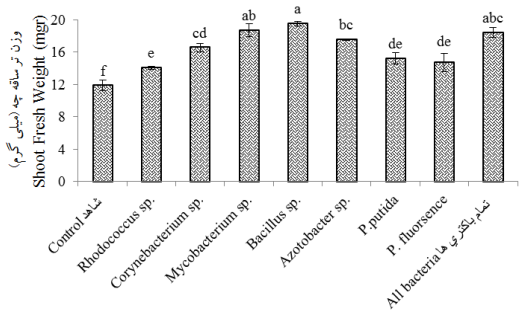
شکل ۸- مقایسه میانگین طول گیاهچه‌چه تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 8- Mean comparison of seedling length under bacterial inoculation treatments effect



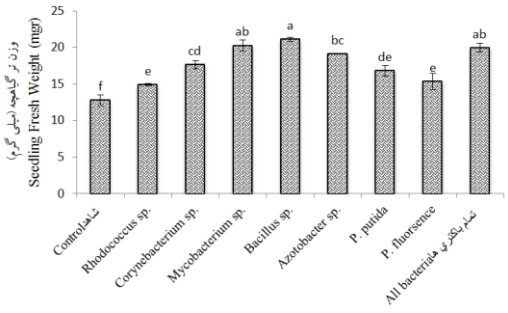
شکل ۹- مقایسه میانگین وزن تر ریشه‌چه تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 9- Mean comparison of radical fresh weight under bacterial inoculation treatments effect



شکل ۱۰- مقایسه میانگین وزن تر ساقه‌چه تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

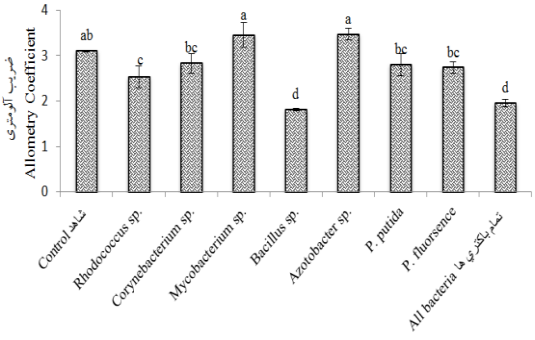
Fig 10- Mean comparison of shoot fresh weight under bacterial inoculation treatments effect



شکل ۱۱- مقایسه میانگین وزن تر گیاهچه تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 11- Mean comparison of seedling fresh weight under bacterial inoculation treatments effect

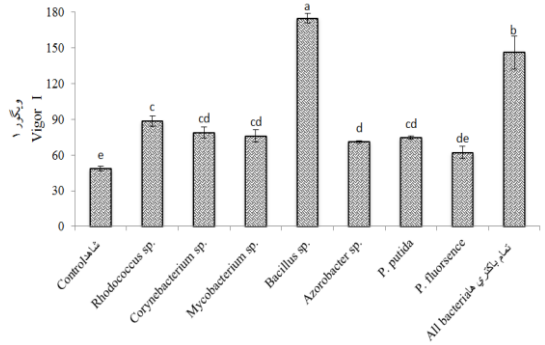
شاخص آلومتری که عبارت است از نسبت طول ساقه‌چه به طول ریشه‌چه (Scott *et al*, 1984) نشان دهنده تأثیر بیش‌تر تیمار *Bacillus* sp. و تیمار All bacteria نسبت به سایر تیمارهای تلقیح باکتریایی بر طول ریشه‌چه می‌باشد که این تأثیر را می‌توان به اثر مضاعف IAA و ACC- دآمیناز و احتمالاً جیبرلیک اسید تولیدی توسط این باکتری‌ها نسبت داد (شکل ۱۲). تیمارهای تلقیح باکتریایی *Azotobacter* sp. و *Mycobacterium* sp. دارای بیش‌ترین ضریب آلومتری هستند که نشان از تأثیر بیش‌تر این باکتری‌ها بر ساقه‌چه نسبت به ریشه‌چه می‌باشد که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارهای تلقیح باکتریایی دارند اما نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نیست که این عدم معنی‌داری به دلیل اختلاف در نسبت رشد ساقه‌چه به ریشه‌چه در تیمار شاهد و بنابراین بالارفتن این نسبت در تیمار شاهد دانست.



شکل ۱۲- مقایسه میانگین ضریب آلومتری تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 12- Mean comparison of Allometric coecifficient under effect of inoculation bacterial treatments

بررسی نتایج حاکی از آن است که بالاترین مقدار در شاخص ویگور مربوط به تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. بود. طبق رابطه ۵، شاخص ویگور از حاصلضرب درصد جوانه‌زنی در طول ریشه‌چه حاصل می‌گردد؛ بنابراین بالاتر بودن شاخص ویگور تیمار تلقیح باکتریایی *Bacillus* sp. تأثیر بیش‌تر این تیمار در افزایش طول ریشه‌چه و در نتیجه افزایش شاخص ویگور نسبت به تیمار تلقیح باکتریایی *Rhodococcus* sp. در افزایش درصد جوانه‌زنی را نشان می‌دهد و قادر بود شاخص ویگور را ۲۶۱/۷ درصد افزایش داد (شکل ۱۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد همه تیمارهای تلقیح باکتریایی به جز تیمار تلقیح باکتریایی *P.fluorescens* نسبت به تیمار شاهد در سطح احتمال یک درصد از شاخص ویگور بالاتری برخوردار بودند.



شکل ۱۳- مقایسه میانگین شاخص ویگور تحت تأثیر تیمارهای تلقیح باکتریایی

Fig 13- Mean comparison of vigor index under effect of inoculation bacterial treatments

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد تیمارهای تلقیح باکتریایی *P.fluorescens* و *Rhodococcus*. sp. به‌ترتیب بیش‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی را به خود اختصاص دادند، در حالی که تیمار تلقیحی *Bacillus* sp. بیش‌ترین تأثیر را بر طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه و وزن تر ساقه‌چه و گیاهچه، نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه و شاخص ویگور بادرشبو داشت. به نظر می‌رسد تولید هورمون‌های محرک رشد گیاهی دلیل افزایش معنی‌دار در شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بادرشبو در شرایط آزمایشگاهی باشد. احتمالاً نسبت و نوع هورمون‌های تولیدی در هر

یک از تیمارهای تلقیح باکتریایی یکسان نبوده و بنابراین این تیمارها اثرات متفاوتی را از خود نشان دادند. چنانچه نتایج این پژوهش نشان داد، تیمار تلقیحی All bacteria با وجود غیر معنی‌دار شدن نسبت به بهترین تیمار تلقیحی در برخی صفات، بالاترین اثرات را به خود اختصاص نداده بود که دلیل آن را می‌توان به وجود خاصیت آنتاگونیستی بین دو و یا حتی چند تیمار باکتریایی نسبت داد که باعث کاهش اثر این تیمار در مقایسه با تیمارهای خالص باکتریایی گردید در نهایت با توجه به نتایج این پژوهش تلقیح باکتریایی (بیوپرایم) بذر بادرشبو با باکتری‌های *P. fluorescens*، *Rhodococcus*. sp. و *Bacillus* sp. و همچنین در صورت کسب نتایج مشابه در دیگر مطالعات، استفاده از این تیمارهای باکتریایی جهت افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و بهبود رشد گیاهچه بادرشبو پیشنهاد می‌گردد.

References

منابع

Abaszade-Dahaji, P., Gh.R. Savaghebi, H. Asadi-Rahmani, F. Rajali, M. Farahbakhsh, B. Moteshrezade, and M. Omidvari. 2012. Effect of Pseudomonas fluorescens on increasing the solubility and improve its absorption by bean (Phaseolus vulgaris L.). Iranian J. Soil Water Sci. 26: 195-206. (In Persian)

Ansari-Joveini, M., M.R. Chaichi, R. Keshavarz, and M.R. Ehteshamzade. 2011. Effect of different methods of application of PGPR on yield of sorghum bicolor var. Speed feed. Iranian J. Field Crop Sci. 2: 329-337. (In Persian)

Asghar, H.N., Z.A. Zaeir, and M. Arshad. 2004. Screening rhizobacteria for improving the gtowth, yield and oil cotent of canola (*Brassica napus* L.). Aust. J. Agric. Res. 55:187-194.

Ashraf, M., M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and nonsaline conditions. Adv. Agron. 88:223-271.

Baiyeri, K.P., F.D. Ugese, and T.O. Uchendu. 2011. The effect of pervious treatments on passion fruit seed quality, and seedling emergence and growth qualities in soilless media. J. Agric. Technol. 5: 1397–1407.

Beneduzi, A., D. Peres, L.K. Vargas, M.H. Bodanese-Zanettini, and L.M.P. Passaglia. 2008. Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen-fixing Bacilli isolated from rice fields in South Brazilin. Appli. Soil Ecol. 39: 311-320.

Burd, G.I., D.G. Dixon, and B.R. Glick. 1998. A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. J. Appli. Environ. Microbiol. 64: 3663–3668.

Cakmakci, R., F. Donmez, A. Aydm, and F. Shain. 2006. Growth promoting of plants by plant growth promoting rhizobacteria undr greenhouse and two different field soil conditions. Soil. Biol. Biochem. 38: 1482-1487.

Cakmakci, R., F. Kantar, and F. Fiahin. 2001. Effect of N_2-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. J. Plant Nutr. Soil Sci. 164: 527-31.

Cakmakci, R., M. Erat, U.G. Erdoman and M.F. Donmez. 2007. The influence of PGPR on growth parameters. Antioxidant and pentose phosphate oxidative cycle enzymes in wheat and spinach plants. J. Plant Nutr Soil Sci. 170: 288-295.

Davazdahemami, S., and N. Majnoonhoseini. 2008. Agriculture and manufacturing of herbs and spices. Second edition. Institute of Tehran Univ. Public. Print. (In Persian).

Gardner, F.P., R. Brent-Pearce, and R.L. Mitchel. 1999. Physiol. Crop Plants. Translated by Koochki, E., and Sarmadnia, GH. R.

Ghasemi-Dehkordi, N., A. Sajadi, A.R. Ghanadi, E. Amnzade, M. Azadbakht, Gh.R. Asghari, Gh.R. Amin, A. Haji-Akhondi, A.M. Taleb. 2003. Iranian Herbal Pharmacopoeia. Hakim Res. J. 3: No. 3. 63-69. (In Persian).

Gholami, A., S. Shahsavani, and S. Nazatat. 2009. The Effect of plant growth rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. Proc. Word Academy Sci. Eng. Technol. 37: 2070-3740.

Harnischfeger, G. 2000. Proposed guidelines for commercial collection of medicinal plant material. J. Herbs Spices Med. Plants. 7(1): 43-50.

Hernandez, A. N., A. Hernandez, and M. Heydrich. 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. J. Trop. Sci. 6: 247-255.

Hoflich, G., W. Wichc, and G. Kuhn. 1994. Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. Exp. 50: 897-905.

Ikic, I., M. Maric evic, S. Tomasovic, J. Gunjaca, Z. S. Atovic, and H.S. Arcevic. 2012. The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. Euphytica 188:25-34.

ISTA (International Seed Testing Association). 2011. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

Joosen, R.V.L., J. Kodde, L.A.J. Willems, W. Ligterink, L.H.W. van der Plas and H.W.M. Hilgorst. 2010. GERMINATOR: a software package for high-throuphput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. Plant J. 1-12.

Joseph, B., R.R. Patra., R. Laerence, 2007. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated whith chickpea (*Cicer arietinum* L.). Int. J. Plant Prob. 2: 141-152.

Karsa, K.K., and B. Abebie. 2012. Influence of seed priming on seed germination and vigor traits of Vicia villosa ssp. dasycarpa (Ten.). Afr. J. Agric. Res .21:3202-3208.

Karthikeyan, B., C. Abdul Jaleel, G.M.A. Lakshmanan, and M. Deiveekasundaram. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 62: 143-145.

Klopper, J.W. 2003. A review of mechanisms for plant growth promoting by PGPR. Aurburn Univ. Auburn, Alabama 36849, USA.

Naderi, M.R. 2012. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on phytoremediation of lead by sunflower in a pb-bearing soil for long term. M. Sc. Thesis in Agroecol. Univ. of Shahrekord. (In Persian).

Nezarat, S., and A. Gholami. 2011. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (Azospirillum, Pseudomonas) on growth and yield on corn (*Zea myze* L.). Agron. J. (Pajuhesh and sazandegi). 91: 44-51. (In Persian)

Noumavo, P.A., E. Kochoni, Y.O. Didagbe, A. Adjanohom, M. Allagbe, R. Sikirou. E.W. Gachomo, S.O. Kotchoni and L. Baba-Moussa., E. Kochoni, Y.O. Didagbe, A. Adjanohom, M. Allagbe, R. Sikirou. E.W. Gachomo, S.O. Kotchoni and L. Baba-Moussa. 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. Am. J. Plant Sci. 4: 1013-1021.

Omidbaigi., R. 2011. Production and processing of medicinal vol. 2 Public. Institute of Astan Quds Razavi Mashhad. Mashhad, Iran. (In Persian).

Pal, S.S. 1998. Interaction of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. Plant Soil 198: 169- 177.

Patten, C.L., and B.R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of host plant root system. Appl. Enveron. Microbiol. 68: 3795-3801.

Rahimzade, S., Y. Sohrabi, GH.R. Geidari, A.R. Eivazi, and T. Hoseini. 2010. The effect of applied chemical and biological fertilizers on yield and essential oil percentage of Moldavian dragonhead (Dracocephalum moldavica L.) .Iranian J. Med. Aroma. Plants,. 2(1): 81-96. (In Persian).

Rho, B. J., and Kil, B.S. 1986. Influence of phytotoxin from *Pinus rigida* on the selected plants. J. Nat. Sci. 5:19-27.

Saghfi, D., H.A. Alikhani, and B. Moteshraezade. 2013. Effect of plant growth promoting Rhizobium bacteria on nutritional improvement of canola under salinity. J. Soil Water Sci. 4: 159-176.

Saghir Khan, M., A. Zaidi, P. Ahmad Wani, and A. Oves. 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. Environ. Chem. lett. 7: 1-19.

Saharan, B. S., and V. Nehra. 2011. Plant Growth Promoting Rhzobacteria: A Critical. Life Sci. Med. Res. 21:1-30.

Sahin, F., R. Cakmakci, and F. Kanter. 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inocubation with N_2fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant Soil 265: 123-129.

Salehrastin N. 1998. Bio fertilizer and their roles in sustainable agriculture. J. Soil Water 3: 128-137.

Samsam Shariat, H. 2010. Propagation and cultivation of medicinal plant. Third edition. Manny public. (In Persian).

Scott S.J. R.A. Jones, and W.A. Williams. 1984. Review of data analysis method for seed germination. Crop Sci. 24:1192-1199.

Seyed Sharifi, R., and K. Khavazi. 2012. Effect of plant growth promoting bacteria on componets of seed germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.). J. Ecol. Vol. 3, 4: 506 t-513. (In Persian).

Shaharoona, B., G.M. Jamro, Z.A. Zahir, M. Arshad, and K.S. Memon. 2007. Effectiveness of various *Pseudomonas* spp. And *Burkhaldaria caryophylli* containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Microbiol. Biotechnol. 17: 1300-1307.

Shaukat, K., S. Affrasyab, and S. Hasnain. 2006. Growth responses of *Helianthus annus* to plant growth promoting rgizobacteria used as biofertilizer. J. Agric. Res. 6: 673-581.

Sundara, B., V. Natarajan, and K. Hari. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yield. Field Crop Res. 77: 43-49.

Taiz, L., E. Zieger. 2009. Plant Physiology 2. Translated by: Kafi, M., Zand, E., Kamkar, B., Mahdavi-Damdhani, A., Abbasi, F. Public. Jahad Daneshgahi Mashhad. (In Persian).

Tsavkelova, E.A., T.A. Cherdyntseva, A. I. Netrusoe. 2005. Auxin production by bacteria associated with orchod roots. Microbiol. 74: 233-273.

Uniyal, R.C., M.R. Uniyal and P. Jain. 2002. Cultivation of medicinal plants in India. A reference book. New Delhi, India, TRAFFIC India & WWF India.

Ya-jing, G., H. Jin, W. Xian-ju, and S. Chen-xia. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. J. Zhejiang Univ. Sci. B. 10:427-433.

Yasmin, S., M. Rahman, F.Y. Haffez. 2004. Isolation, characterization and beneficial effect of rice associated plant groeth promoting bacteria from Zanzibar soils. J. Basic Microbiol. 44: 241-252.

Zaied, K.A., A.H. Abd El-Hady, H. Afify Aida, and M.A. Nassef. 2003. Yield and nitrogen of Winter Wheat Inoculation with New Recombinant Inoculation of Rhizobacteria. Pak. J. Biol. Sci. 4: 344-358.

Zhao, J., T. Lawrence, C. Davis and R. Verpoorte. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnol. Adv. 23: 283–333.