اثرات محرک باکتری‌های سودوموناس *پوتیدا* و *فلورسنس* بر مؤلفه های جوانه زنی و رشد گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)

پریسا خانی زاده، مهرناز حاتمی*، فائزه السادات ابطحی و ناصر حسینی

ایران، اراک، دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی ومنابع طبیعی، گروه گیاهان دارویی

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۵/۱

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد (بیوپرایمینگ) و هیدروپرایمینگ بر مؤلفه‌های جوانه زنی گیاه بادرنجبویه آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل هیدروپرایمینگ در زمان های مختلف (۷۲، ۴۸، ۲۴، ۱۲ ساعت) و بیوپرایمینگ با باکتری های محرک رشد سودوموناس *فلورسنس* و *پوتیدا* در زمان های مختلف (۷۲، ۴۸، ۲۴، ۱۲ ساعت) در مقایسه با شاهد (بدون تیمار) بود. نتایج نشان داد که هیدروپرایمینگ بذر در زمان های مختلف اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر شاخص جوانه زنی، بنیه بذر، میانگین طول ریشه چه و ساقه چه، درصد و سرعت جوانه زنی داشت. شاخص جوانه زنی و بنیه بذر در بیوپرایمینگ نیز تفاوت قابل ملاحظه ای را نشان داد. بطوریکه بیشترین شاخص جوانه زنی در تلقیح بذر با باکتری پوتیدا در مدت ۴۸ ساعت و کمترین میزان شاخص بنیه بذر در تلقیح با باکتری فلورسنس در مدت ۷۲ ساعت حاصل شد. بیشترین میانگین طول ریشه چه و ساقه چه به ترتیب در بیوپرایمینگ باکتری پوتیدا (۳/۳۰ و ۳/۶۷ میلی متر) و فلورسنس (۳/۰۱ و ۳/۱۷ میلی متر) مشاهده شد. همچنین، بیوپرایمینگ با باکتری پوتیدا اثر مثبت و معنی داری در جذب آب و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز نسبت به باکتری فلورسنس و هیدرورایمینگ طی زمان های مختلف داشت. بنابراین، به منظور بهبود شاخص های جوانه زنی و بنیه گیاهچه بذر بادرنجبویه، بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* توصیه می شود.

واژه های کلیدی: آنزیم آلفا آمیلاز، باکتری های محرک رشد، بادرنجبویه، جوانه زنی، شاخص بنیه بذر.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۶۳۲۷۶۰۱۰۵ ، پست الکترونیکی: m-hatami@araku.ac.ir

مقدمه

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* گیاهی دارویی متعلق به تیره نعناعیان بوده و قسمت مورد استفاده آن برگ، سرشاخه‌های جوان و اسانس گیاه می‌باشد (۵ و۱). اسانس آن در صنایع داروسازی، غذایی و صنایع آرایشی بهداشتی کاربرد زیادی دارد. از مواد مؤثره این گیاه دارویی برای درمان ناراحتی‌های عصبی و همچنین به عنوان آرامبخش استفاده می‌شود (۱). این گیاه دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد ویروسی (۱۲)، ضد التهابی (۱۳)، آنتی اکسیدانی (۲۱)، ضد حساسیت و ضد روماتیسم (۲۰) دارد. جوانه‌زنی بذر، مرحله پیچیده و پویایی از رشد گیاه است و از طریق اثراتی که روی استقرار گیاهچه می‌گذارد عملکرد را بهبود می‌بخشد (۲). جوانه‌زنی شامل انتقال مواد ذخیره-ای به محور جنین و شروع فعالیت‌های متابولیکی و رشد آن می‌باشد. این مرحله از زندگی گیاهان نقش تعیین کننده‌ای بر استقرار مناسب گیاه و عملکرد نهایی آن دارد (۱۱). بر اساس تحقیق انجام شده بذوری که جوانه‌زنی مناسب‌تری داشته‌اند، در مراحل بعدی رشد گیاهانی با بنیه و سیستم ریشه‌ای قوی‌تر تولید می‌کنند (۲۴). پرایمینگ بذر

روشی است که با جوانه زنی سریع، همزمان و یکنواخت بذر موجب بهبود استقرار گیاهچه در مزرعه می شود و هیدروپرایمینگ، هیدروترموپرایمینگ، اسموپرایمینگ، بیوپرایمینگ و انواعی دیگر را شامل می شود. با اعمال این تیمار فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی تحریک شده و در تسریع و یکنواختی در جوانه‌زنی مؤثر است (۱۸). محققین گزارش کردند که هیدروپرایمینگ اجازه رونویسی DNA، افزایش RNA، و پروتئین سنتاز را به بذرها می‌دهند و موجب افزایش رشد رویان، ترمیم بخش‌های آسیب دیده و کاهش سنتز متابولیت می‌شود (۲۳). کاربرد کودهای بیولوژیک راه حل مناسبی در راستای کشاورزی پایدار می-باشد. یکی از انواع کودهای بیولوژیکی استفاده از باکتری-های محرک رشد است که به طور مستقیم یا غیر مستقیم سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (۱۷، ۸) و از مهم‌ترین این باکتری‌ها جنس سودوموناس است که علاوه بر کنترل قارچ‌های بیماری‌زا، با تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می‌کنند، رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۹،۱۰). نتایج تحقیق راثی‌پور و اصغرزاده (۴) نشان داد که تلقیح سویا (*Glycine max*) با باکتری حل کننده فسفات موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه شد. کاربرد سویه‌های *پوتیدا* و *فلورسنس* موجب افزایش طول ریشه و اندام هوایی در کلزا (*Brassica napus*)، گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*) و همچنین افزایش عملکرد برنج (*Oryza sativa*)، گندم (*Triticum*) و چغندر (*Beta vulgaris*) شد (۲۱). همچنین در بررسی دیگری بر روی گیاه بنگ دانه (*Hyoscyamus niger*) تلقیح گیاه با باکتری‌های *پوتیدا* و *فلورسنس* موجب افزایش عملکرد و مقدار آلکالوئید اسکوپولامین و هیوسیامین نسبت به شاهد شد (۱۶). به دلیل اینکه مرحله جوانه زنی تضمین کننده دوام، استقرار و عملکرد نهائی گیاهان بوده و تراکم نهایی بوته در واحد سطح زمانی بدست می آید که بذرهای کاشته شده بطور کامل و با سرعت کافی جوانه زنند. این آزمایش به منظور بررسی هیدروپرایمینگ بذر بادرنجبویه در زمان های مختلف و تأثیر باکتری های محرک رشد گیاه از طریق تلقیح با سویه های باکتری های *پوتیدا* و *فلورسنس* در مقایسه با عدم تلقیح به عنوان شاهد بر مؤلفه های جوانه زنی و رشد گیاه بادرنجبویه به اجرا در آمد. از آنجایی که که بذرهای گیاه بادرنجبویه دارای جوانه زنی غیر یکنواخت می باشد. هدف از اجرای این پژوهش بررسی دستیابی به بنیه گیاهچه قویتر در بادرنجبویه می باشد، کاربرد روشهای بیوپرایمینگ (تلقیح با باکتری های محرک رشد) و هیدروپرایمینگ (تیمار با آب) ، از پژوهش های نوین محسوب شده که مطالعات در این زمینه محدود و در حال گسترش می باشد.

مواد و روشها

تیمارهای آزمایشی و شرایط رشد: تیمارهای آزمایشی در این پژوهش شامل هیدروپرایمینگ در زمان های مختلف (۷۲، ۴۸، ۲۴، ۱۲ ساعت) (۳۳)، بیوپرایمینگ با باکتری های محرک رشد *فلورسنس* و *پوتیدا* در زمان های مختلف (۷۲، ۴۸، ۲۴، ۱۲ ساعت) و شاهد (بدون تیمار) بود که به صورت آزمایشی جداگانه به صورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اراک در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. بذر های بادرنجبویه از شرکت اکسیر کوهسار طبیعت تهیه گردید. مایه تلقیح باکتری ها از آزمایشگاه میکروبیولوژی بخش خاکشناسی دانشگاه ولی عصر رفسنجان تهیه شد (خصوصیات باکتری های محرک رشد در جدول ۱ آورده شده است). پس از انتخاب بذرها ۲۵ بذر سالم انتخاب و درون پتری دیش تحت تیمار زمان های مختلف هیدروپرایمینگ قرار داده شد. همچنین به منظور تلقیح با باکتری های سودوموناس (پوتیدا و فلورسنس) بذرها در پتری دیش قرارگرفته و به آنها مایع تلقیح اضافه شد و از

عدم تلقیح به عنوان شاهد تلقی شد. به منظور پرایمینگ بذرها با باکتری های محرک رشد از مقدار هفت گرم مایه تلقیح که هرگرم آن دارای 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بودند، استفاده شد. قبل از تلقیح، بذرهای بادرنجبویه مورد استفاده در این تحقیق با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. شمارش روزانه بذور جوانه زنده به مدت ۱۴ روز صورت گرفت. قابل ذکر است که در هنگام شمارش، بذرهایی جوانه زده تلقی شدند که طول ریشه چه آنها حداقل دو میلی متر بود. در پایان صفاتی مانند درصد و سرعت جوانه‌زنی (طبق رابطه ۱ و ۳)، میانگین مدت جوانه‌زنی (طبق رابطه ۲)، شاخص جوانه‌زنی بذر و شاخص بنیه بذر (طبق رابطه ۴) و میانگین طول ریشه چه و ساقه چه و میزان جذب آب بذر (طبق رابطه ۵) و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز اندازه‌گیری شد.

جدول ۱-خصوصیات باکتری های محرک رشد دو سویه سودوموناس فلورسنت و پوتیدا

سویه	انحلال فسفر		سیدروفور		اکسین	ACC-deaminase
	هاله به کلونی	محیط مایع ($mg.L^{-1}$)	اسیدیته	هاله به کلونی	محیط مایع ($mg.L^{-1}$)	
P. fluoresense D9	۱/۶۱	۴۹۸	۴/۰۱	۳/۲۱	۵/۱۵	–
P. putida PA9	۲/۱۱	۴۷۴	۳/۹۰	۲/۲۱	۱۰/۱	+

اندازه گیری صفات: مقادیر درصد جوانه زنی، میانگین مدت جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه، طول ساقه چه و شاخص بنیه بذر گیاهچه ها مطابق روابط زیر اندازه گیری شد (۶).

$$(FGP) = S/T\times100$$ (رابطه ۱)

که در آن S تعداد بذرهای جوانه زده و T تعدادکل بذرها می باشد.

متوسط زمان جوانه زنی (MTG): متوسط زمان لازم برای جوانه زنی که شاخصی از سرعت و شتاب جوانه زنی محسوب می گردد از روی رابطه زیر محاسبه گردید .

$$MGT=\sum Dn / \sum n$$ (رابطه ۲)

که در این رابطه n تعداد بذرهای جوانه زده در طی d روز، d = تعداد روزهای شمارش شده از ابتدای جوانه زنی و = Σn کل تعداد بذرهای جوانه زده می باشد.

سرعت جوانه زنی بذرها (Rs) در تیمارهای مختلف از فرمول زیر استفاده گردید.

$$Rs = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$$ (رابطه ۳)

Rs: سرعت جوانه زنی (تعداد بذر جوانه زده در روز)، Si: تعداد بذر جوانه زده در هر شمارش، Di : تعداد روز تا شمارش n ام.

پس از انجام شمارش نهایی تعداد بذرهای جوانه زده در روز چهاردهم، طول ریشه چه و ساقه چه با خط کش اندازه گیری شد و از میانگین آنها در محاسبات استفاده گردید.

(رابطه ۴)

$$\text{شاخص بنیه بذر} = \frac{\text{میانگین طول ریشه چه وساقه چه} \times \text{درصد جوانه زنی}}{100}$$

در آخرین روز این آزمون، در هر واحد آزمایشی از بین گیاهچه ها تعداد ۱۰ گیاهچه عادی به طور تصادفی انتخاب شدند و صفات طول ریشه چه، طول ساقه چه اندازه گیری شدند .در انتها میانگین های این ۱۰ نمونه برای هر واحد آزمایشی در نظر گرفته شد .صفات طولی اجزای گیاهچه ها توسط خط کش با دقت در حد میلیمتر اندازه گیری شدند.

جذب آب: قبل از پرایمینگ بذرها و بعد از تلقیح با

باکتری ها از هر تیمار سه تکرار حاوی ۲۰ بذر به طور تصادفی انتخاب شدند. سطح بذرها خشک و وزن گردیدند، میزان آب جذب شده توسط بذرها بر اساس وزن بذرها قبل و بعد از تیمارها با استفاده از فرمول زیر اندازه گیری شد (۳۱).

$$WU = (SWa-SWb/SWb) \times 100$$ (رابطه ۵)

جذب آب به صورت درصد: WU

وزن بذربعد از تیمار: SWa

وزن بذر قبل از تیمار: SWb

سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز: برای اندازه گیری آلفا آمیلاز از روش (Xiao et al, 2006) استفاده شد. بدین منظور دو گرم گیاهچه در روز پنجم پس از شروع آزمایش به عنوان نمونه برداشته شد. برای تهیه عصاره نخست، پنج میلی لیتر محلول ۶۰ میلی مولار بافر فسفات (اسیدیته ۶/۸) به گیاهچه های پودر شده افزوده شد و سپس گیاهچه ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) سانترفیوژ (مدل Dynamica Velocity 14 R) شدند. جهت اندازه گیری فعالیت این آنزیم ابتدا نیم میلی لیتر محلول نشاسته ۲ درصد به درون لوله آزمایش منتقل شد سپس نیم میلی لیتر از عصاره تهیه شده در بالا به آن اضافه شده و پس از ۳۰ دقیقه انکوبا سیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به وسیله ۱ میلی لیتر اسید هیدروکلرویدریک ۰/۱ نرمال واکنش را متوقف کرده و در ادامه یک میلی لیتر از معرف ید به آن اضافه شد. پس از آن حجم محتوی لوله را با آب مقطر به حدود ۱۰ میلی لیتر رسانده و میزان جذب رنگ را با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل PG Instruments Itd T80+UV/VIS) در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد (۳۲).

تجزیه و تحلیل آماری: محاسبات آماری حاصل از آزمایش با استفاده از نرم فزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. همچنین برای رسم نمودار از نرم افزار Excel سری ۲۰۱۳ استفاده گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر زمان‌های مختلف هیدروپرایمینگ بر برخی مؤلفه های جوانه زنی نظیر درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی بذر، شاخص بنیه بذر و طول ریشه چه در سطح احتمال یک درصد و میانگین مدت جوانه‌زنی و طول ساقه چه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شده است. اثر مدت زمان پرایمینگ نیز در تمامی صفات مورد مطالعه به استثنای میانگین طول ریشه چه و ساقه چه در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی دار بوده است (جدول ۳ و ۲).

جدول ۲ -تجزیه واریانس مؤلفه های جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرنجبویه تحت تأثیر زمان های مختلف هیدرو پرایمینگ.

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)						
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین مدت جوانه‌زنی	شاخص جوانه‌زنی بذر	شاخص بنیه بذر	میانگین طول ریشه‌چه	میانگین طول ساقه‌چه
هیدروپرایمینگ	۴	۱۵۸/۱۴**	۲/۸۴**	۱/۰۰۲*	۳۴/۱۱**	۰/۰۹۲*	۰/۳۴**	۰/۰۲*
خطای آزمایش	۱۰	۴۵/۶۶	۰/۰۹۳	۰/۱۲	۴/۰۹	۰/۰۰۴	۰/۰۵۲	۰/۰۱۳
ضریب تغییرات(c.v %		۱۶/۲۱	۷/۸۴	۱۹/۳۲	۹/۴۲	۱۴/۰۲	۸/۲	۵/۶

اختصارات : ** و * ، معنی داری در سطوح یک درصد و پنج درصد، ns : عدم معنی داری از لحاظ آماری

جدول ۳ - تجزیه واریانس مؤلفه های جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرنجبویه تحت تأثیر زمان های مختلف بیوپرایمینگ (*سودوموناس فلورسنس* و *سودوموناس پوتیدا*).

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)						
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین مدت جوانه‌زنی	شاخص جوانه‌زنی بذر	شاخص بنیه بذر	میانگین طول ریشه‌چه	میانگین طول ساقه‌چه
بیوپرایمینگ	۸	۶۱۲/۷**	۲۳/۱**	۰/۸۷*	۱۶۲/۷*	۰/۰۶**	۰/۲۶۲**	۰/۰۵۲*
خطای آزمایش	۱۸	۹۰/۱۴	۰/۸۱	۰/۰۲	۱/۳۱	۰/۰۰۲	۰/۰۱۷	۰/۰۱۱
ضریب تغییرات(c.v %)		۱۴/۷	۹/۲۱	۱۲	۱۰/۷	۱۲/۳	۶/۵	۱۳/۶

اختصارات : ** و * ، معنی داری در سطوح یک درصد و پنج درصد، ns : عدم معنی داری از لحاظ آماری

با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) بذرهای بدون پرایم (شاهد) دارای ۳۰/۱۴ درصد جوانه زنی که با ۱۲ ساعت هیدروپرایمینگ اختلاف معنی داری نداشت. اما ۷۲ ساعت هیدروپرایمینگ بیشترین مقدار درصد جوانه‌زنی (۴۵/۴۱ درصد) دارا بود که از لحاظ آماری با زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت اختلاف معنی‌داری نشان نداده و کمترین مقدار درصد جوانه زنی (۳۶/۰۶ درصد) به مدت ۱۲ ساعت مشاهده شد. سرعت جوانه‌زنی نیز در مدت ۴۸ ساعت (۳/۷۱ بذر در روز) بیشترین مقدار را داشته که با زمان ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین سرعت جوانه زنی در شاهد (۲/۲۳ بذر در روز) بوده که از لحاظ آماری با هیدروپرایمینگ به مدت ۱۲و۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشته است. همچنین کمترین میانگین مدت جوانه‌زنی در هیدروپرایمینگ به مدت ۷۲ ساعت (۳/۲۰ روز) و بیشترین مقدار این صفت در شاهد (۴/۹۹ روز) بدست آمد (جدول ۴). همچنین بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* تاثیر مثبت بیشتری در کلیه صفات اندازه گیری شده نسبت به باکتری *فلورسنس* داشت. بطوریکه بیشترین مقدار درصد جوانه زنی (۵۴/۸۳) در مدت ۴۸ ساعت بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* حاصل گشت که از لحاظ آماری با زمان ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نشان نداده و کمترین مقدار به مدت ۱۲ ساعت (۳۰/۵ درصد) مشاهده شده است. علاوه براین بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* نیز شاخص های جوانه زنی را نسبت به شاهد و هیدروپرایمینگ افزایش داد اما در مقایسه با باکتری *پوتیدا* تغییرات صفات کمتر مشاهده شد. بطوریکه بیشترین و کمترین درصد جوانه زنی به ترتیب در مدت ۴۸ ساعت (۴۵/۰۳) و ۱۲ ساعت (۳۱/۱۴) مشاهده شد (جدول ۴).

بیشترین سرعت جوانه زنی در بیوپرایمینگ توسط باکتری *پوتیدا* در مدت ۴۸ ساعت (۱۵/۹۹بذر در روز) و کمترین توسط باکتری *فلورسنس* در مدت ۱۲ ساعت (۵/۹۵ بذر در روز) حاصل شد. بیشترین و کمترین میانگین مدت جوانه زنی نیز در بیوپرایمینگ توسط باکتری *پوتیدا* (۲/۱۷ روز) و باکتری *فلورسنس* (۴/۰۸ روز) مشاهده شد که میزان پایین میانگین مدت جوانه زنی نشانگر جوانه زنی یکنواخت تر و میزان روز کمتر برای جوانه زنی می باشد.

بیشترین مقدار شاخص بنیه بذر در هیدروپرایمینگ به مدت ۲۴ ساعت (۱/۵۳) و کمترین مقدار در زمان ۱۲۴ ساعت (۱/۱۳) بدست آمد. همچنین مشخص شده که شاخص جوانه‌زنی بذر در مدت ۷۲ ساعت (۱۶/۴۷) بیشترین و در شاهد (۹/۴۴) کمترین مقدار این صفت را به خود اختصاص داده است (جدول ۲). بیشترین طول ریشه چه در هیدروپرایمینگ در مدت ۲۴ ساعت (۱/۸۶ سانتی-متر) و بیشترین طول ساقه چه در مدت ۱۲ ساعت (۱/۵۸ سانتی‌متر) بدست آمد و کمترین مقدار ریشه چه (۰/۶۳ سانتی‌متر) و ساقه‌چه (۱/۲۸ سانتی‌متر) در شاهد (بدون پرایم) دیده شده است (جدول ۳).

شاخص جوانه زنی و بنیه بذر در بیوپرایمینگ نیز تفاوت قابل ملاحظه ای را نشان داد بطوریکه بیشترین شاخص

جوانه زنی توسط باکتری *پوتیدا* در مدت ۴۸ ساعت (۲۲/۱۹) و کمترین میزان شاخص بنیه بذر توسط باکتری *فلورسنس* در مدت ۷۲ ساعت (۱/۰۶) بیوپرایمینگ حاصل شد. بیشترین میانگین طول ریشه چه و ساقه چه به ترتیب در بیوپرایمینگ توسط باکتری *پوتیدا* (۳/۳۰ و ۳/۶۷ میلی متر) و باکتری *فلورسنس* (۳/۰۱ و ۳/۱۷ میلی متر) نشان داده شده است.

جدول ۴-مقایسه میانگین مؤلفه های جوانه زنی گیاه دارویی بادرنجبویه تحت تأثیر سطوح مختلف پرایمینگ

تیمار	زمان (ساعت)	درصد جوانه‌زنی(٪)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	میانگین مدت جوانه‌زنی(روز)	شاخص جوانه‌زنی بذر	شاخص بنیه بذر	میانگین طول ریشه‌چه(mm)	میانگین طول ساقه‌چه(mm)
بدون پرایم (شاهد)	-	۳۰/۱۴^{b}	۲/۲۳^{b}	۴/۹۹ ^{c}	۹/۴۴ ^{b}	۱/۴۲ ^{a}	۰/۶۳ ^{a}	۱/۲۸ ^{a}
هیدروپرایمینگ	۱۲	۳۶/۰۶^{b}	۲/۴۹^{b}	۳/۸۵^{ab}	۱۱/۵۲^{c}	۱/۱۳^{b}	۱/۶۲^{b}	۱/۵۸^{a}
	۲۴	۴۴/۶۱^{a}	۲/۵۴^{b}	۳/۶۱ ^{ab}	۱۵/۳۹^{ab}	۱/۵۳^{a}	۱/۸۶^{a}	۱/۴۴^{b}
	۴۸	۴۴/۲۶^{a}	۳/۷۱^{a}	۳/۴۴^{a}	۱۳/۹۵^{b}	۱/۳۲^{ab}	۱/۶۹^{b}	۱/۴۸^{ab}
	۷۲	۴۵/۴۱^{a}	۳/۷۰^{a}	۳/۲۰ ^{a}	۱۶/۴۷^{a}	۱/۲۵^{ab}	۱/۳۶^{c}	۱/۴۲^{b}
بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا*	۱۲	۳۰/۵۰^{b}	۶/۲۷^{c}	۳/۹۰^{b}	۱۸/۸۸ ^{ab}	۱/۲۵ ^{a}	۱/۶۶^{b}	۲/۲۸^{b}
	۲۴	۵۰/۱۴ ^{a}	۱۳/۰۲ ^{a}	۲/۶۷ ^{a}	۲۱/۴۴ ^{a}	۳/۴۱^{b}	۳/۳۰^{b}	۳/۶۳^{a}
	۴۸	۵۴/۸۳ ^{a}	۱۵/۹۹^{b}	۲/۱۷ ^{a}	۲۲/۱۹ ^{a}	۳/۵۴^{c}	۳/۱۲ ^{a}	۳/۶۷ ^{a}
	۷۲	۳۱/۴۲^{b}	۷/۲۲^{c}	۲/۲۳^{b}	۱۶/۶۶^{b}	۱/۸۳^{c}	۱/۰۶^{b}	۲/۷۴^{b}
بیوپرایمینگ با فلورسنس	۱۲	۳۱/۱۴^{b}	۵/۹۵ ^{b}	۳/۶۹ ^{b}	۱۲/۴۴ ^{b}	۱/۴۲ ^{a}	۱/۴۳ ^{a}	۲/۳۶ ^{b}
	۲۴	۳۵/۳۳ ^{ab}	۱۰/۳۳ ^{a}	۲/۸۱ ^{a}	۱۴/۳۹^{b}	۲/۲۶ ^{a}	۲/۴۲ ^{a}	۲/۹۳ ^{b}
	۴۸	۴۵/۰۳^{a}	۱۲/۷۶ ^{c}	۲/۵۸ ^{a}	۱۵/۲۵ ^{a}	۲/۴۱ ^{a}	۳/۰۱ ^{a}	۳/۱۷ ^{a}
	۷۲	۳۲/۲۷^{b}	۶/۹۰^{b}	۴/۰۸ ^{ab}	۱۳/۲۵ ^{a}	۱/۰۶^{b}	۱/۲۸^{bc}	۲/۲۳^{b}

در هر ستون حروف مشترک عدم معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد را برا اساس آزمون دانکن نشان می‌دهد

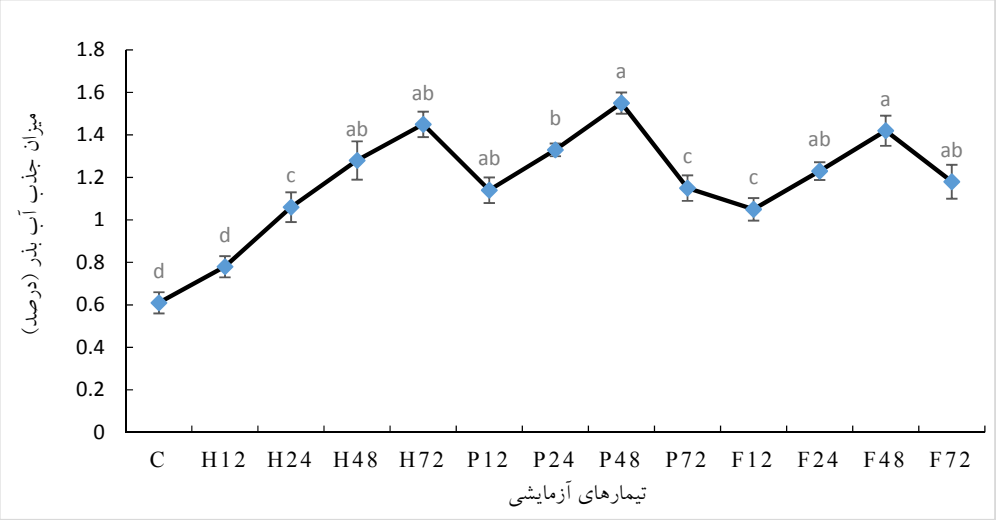
جذب آب بذرهای بادرنجبویه به طور معنی داری ($P<0.01$)تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (شکل۱). بذرهای پرایم شده با باکتری های محرک رشد بخصوص *پوتیدا* در مدت زمان ۴۸ ساعت (۰/۹۴) درصد جذب آب بیشتر در مقایسه با شاهد نشان داد. علاوه بر این، بذرهای پرایم شده توسط باکتری *فلورسنس* نیز از لحاظ آماری اختلاف معنی داری در جذب آب نسبت به پوتیدا نداشته است اما اثر معنی داری ($P<0.05$) بر روی جذب آب در مقایسه با شاهد و هیدروپرایمینگ داشته است. ارتباط مثبت و معنی داری بین جذب آب و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز $r_{0/01}$**=0/51** ، مشاهده شد (شکل ۳).

متابولیسم نشاسته در بذرهای جوانه زده تحت تیمار های آزمایشی بر اساس فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (شکل۲) اندازه گیری می شود. فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به طور معنی داری ($P<0.05$) در بذرهای تیمار نشده در مقایسه با هیدروپرایمینگ و بیوپرایمینگ در زمان های مختلف افزایش یافت. به‌طوریکه با افزایش‌زمان هیدروپرایمینگ فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به (۱۶/۴۷ نانومول بر ثانیه) افزایش یافت همچنین پرایمینگ با باکتری *پوتیدا* در مدت زمان ۴۸ ساعت از بیشترین فعالیت این آنزیم در تمام تیمارهای آزمایشی (۲۵/۰۹ نانو مول بر ثانیه) برخوردار بود.

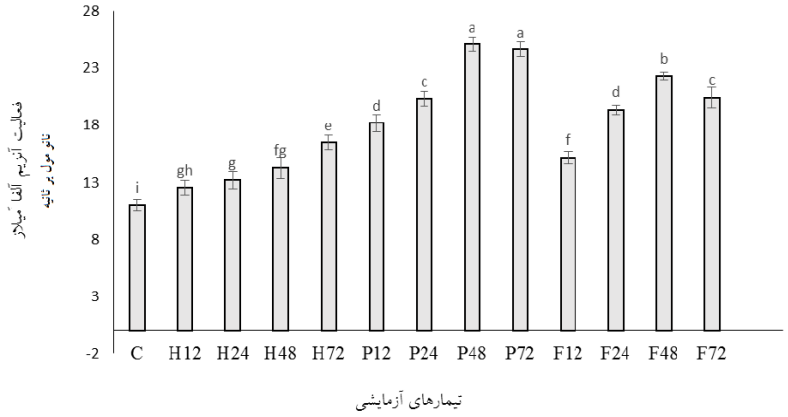
بحث

اثرات مثبت هیدروپرایمینگ در زمان های مختلف بر

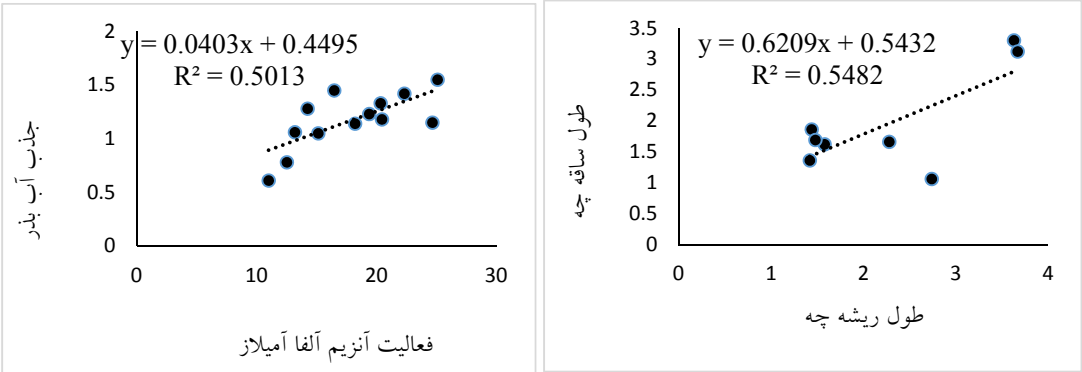
شاخص‌های جوانه‌زنی در مطالعات متعدد گزارش شده است.



شکل۱- مقدار جذب آب در سطوح مختلف پرایمینگ و در زمان های مختلف در دانهال های بادرنجبویه. میانگین‌هایی که در هر تیمار حداقل دارای یک حرف مشترک هستند درسطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند. تیمارهای آزمایشی شامل C: شاهد، H12: هدیروپرایمینگ در مدت ۱۲ ساعت، H24: هدیروپرایمینگ در مدت ۲۴ ساعت، H48: هدیروپرایمینگ در مدت ۴۸ ساعت، H72: هدیروپرایمینگ در مدت ۷۲ ساعت، P12 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۱۲ ساعت، P24 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۲۴ ساعت ، P48 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۴۸ ساعت ، P72 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۷۲ ساعت، F12 بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۱۲ ساعت، F24 بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۲۴ ساعت، F48، بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۴۸ ساعت، F72 بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۷۲ ساعت.



شکل۲- میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در سطوح مختلف پرایمینگ و در زمان های مختلف در دانهال های بادرنجبویه. میانگین‌هایی که در هر تیمار حداقل دارای یک حرف مشترک هستند درسطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند. تیمارهای آزمایشی شامل C: شاهد، H12: هدیروپرایمینگ در مدت ۱۲ ساعت، H24: هدیروپرایمینگ در مدت ۲۴ ساعت، H48: هدیروپرایمینگ در مدت ۴۸ ساعت، H72: هدیروپرایمینگ در مدت ۷۲ ساعت، P12 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۱۲ ساعت، P24 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۲۴ ساعت ، P48 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۴۸ ساعت ، P72 بیوپرایمینگ با باکتری *پوتیدا* به مدت ۷۲ ساعت، F12 بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۱۲ ساعت، F24 بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۲۴ ساعت، F48، بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۴۸ ساعت، F72 بیوپرایمینگ با باکتری *فلورسنس* به مدت ۷۲ ساعت



شکل ۳- رگرسیون بین جذب آب و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، رگرسیون بین طول ریشه چه و ساقه چه

این اثرات پرایمینگ روی جوانه زنی بذر گونه های مختلف گیاهی به القای سازوکارهای بیوشیمیایی ترمیم و بازسازی سلول نسبت داده می شود فعالیت های متابولیکی شامل سنتز اسیدهای نوکلوئیک، پروتئین ها، سنتز و فعالسازی آنزیم های کاتالیز کننده و انتقال مواد غذایی ازجمله این سازوکارها محسوب می شوند (۳۸). در بین روش های پرایمینگ، هیدروپرایمینگ به دلیل کم هزینه و ساده تر بودن در مقیاس وسیع تری قابل اجرا است. هیدروپرایمینگ بر صفات جوانه‌زنی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) موجب بهبود جوانه زنی شده است (۲۴و ۲۲). محققان گزارش کردند که هیدروپرایمینگ زیره سبز در زمان ۲۴ ساعت بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشته است (۳). همچنین کاسیرو و همکاران (۱۵) در بررسی روش-های مختلف هیدروپرایمینگ بر روی پیاز به این نتیجه رسیدند که هیدروپرایمینگ مؤثرترین و بهترین روش برای جوانه‌زنی این گیاه است. هیدروپرایمینگ بذر با کاهش مدت زمان لازم برای جذب آب موجب تسریع در جوانه-زنی واستقرار سریع گیاهچه خواهد شد (۲۵). جوانه زنی بذور نتیجه رشد جنین و تشکیل ریشه چه و ساقه چه می باشد که در این راستا باید متابولیت های اولیه لازم برای ایجاد آنها از اندوخته بذر تامین گردد. طبق قوانین بیوشیمیایی غلظت سوبسترا سرعت واکنش را افزایش می دهد که براین اساس هرچه میزان تامین سوبستراهای اولیه لازم برای تشکیل اندام های ساختاری گیاهچه بیشتر باشد ضمن افزایش سرعت جوانه زنی، میزان رشد ساقه چه، ریشه چه و وزن خشک گیاهچه افزایش می یابد. در این پژوهش پیش تیمار بذور با باکتری های محرک رشد توانست شاخص های طول ساقه چه، وزن خشک کل گیاهچه و شاخص بنیه را در مقایسه با شاهد افزایش دهد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که باکتری *پوتیدا* اثر مثبتی بر روی شاخص های جوانه زنی و جذب آب بیشتر و همچنین فعالیت آنزیم آلفا امیلاز بیشتر داشت که علت اصلی آن را می‌توان به ویژگی‌های مثبت این باکتری‌ها نظیر افزایش جذب آب و به دنبال آن افزایش طول ریشه چه نسبت داد. آنزیم آلفا آمیلاز از آنزیم های حیاتی در متابولیسم کربوهیدرات ها در فرایند جوانه زنی است که فعالیت آن سبب شکستن پلی مر نشاسته می شود. این آنزیم نقش مهمی را در جوانه زنی و تجزیه نشاسته به قندهای ساده برعهده دارد. فعالیت آنزیمی بیشتر در بذرهای درحال جوانه زنی ممکن است به عنوان محرکی برای جوانه زنی سریع و نیروی ابتدایی جوانه زنی به کار رود و سبب افزایش بهبود جوانه زنی شود. محققان گزارش کردند که گونه‌های مختلف جنس سودوموناس از طریق مکانسیم‌هایی مختلفی مانند تولید سیدروفور، سنتز آنتی‌یوتیک‌ها، افزایش جذب فسفر، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌های تنظیم کننده غلظت اتیلن در گیاه سبب تحریک رشد گیاه می‌شود (۱۰). تلقیح باکتریایی با تولید هورمونهای تحریک کننده رشد نظیر اکسین و جیبرلیک اسید باعث

افزایش در تعداد و طول سلول های گیاهی می شوند که نهاتاً منجر به افزایش طول و وزن تر ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه در تیمارهای تلقیحی می شود. باکتری های محرک رشد با تغییر در ساختار سیستم ریشه ای سبب بهبود جذب عناصر غذایی، تخصی کربوهیدراتها به ریشه، کاهش فعالیت پراکسیداز ریشه و سنتز پروتئینهای جدید شده و در نتیجه افزایش در رشد ریشه را منجر می شوند. (۳۳). نتایج نشان می‌دهد که افزایش بیشتر طول ریشه چه در مقایسه با ساقه چه تحت تلقیح *پوتیدا* می‌تواند به هورمون‌های گیاهی ترشح شده از این باکتری نسبت داده شود که منجر به ایجاد ریشه‌های منشعب و نازک شده است. بر اساس گزارش‌های بدست آمده گیاهانی که دارای ریشه‌های توسعه یافته و منشعب هستند به دلیل سطح تماس بیشتر ریشه‌ها با آب و مواد غذایی و جذب بهتر آن‌ها منجر به رشد بیشتر گیاه می‌شوند (۱۶). همچنین گزارش شده است (۱۹) که پنج سویه باکتری با توانایی حل کنندگی فسفات و دیگر عوامل تحریک کننده‌ی رشد باعث افزایش ماده خشک گیاه ذرت شد. در گزارش دیگر محققین به این نتیجه رسیدند که افزایش قابل توجهی در طول ساقه، وزن ساقه و وزن خشک ریشه مرزنجوش (*Origanum majorana*) را توسط دو باکتری *P. fluorescens* و *Bradyrhizobium sp* ایجاد شد (۱۴). اسید ۳- ایندول استیک اسید مؤثرترین ترکیب تاثیر گذار بر آغازش ریشه، تقسیم و رشد سلول است که اثر آن عمدتا به صورت افزایش طول ریشه بروز می کند (۳۰).

چاکماکسی و همکاران (۳۶) نشان دادند که تلقیح بذرهای جو با باکتری های تحریک کننده رشد گیاه، موجب افزایش طول و وزن ریشه های جو می شود. هرناندز و همکاران (۳۷) نیز افزایش وزن تر و خشک گیاهچه ذرت را در اثر تلقیح بذر با باکتری های جنس سودوموناس گزارش نمودند. نظارت و غلامی(۳۴) 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 صرفا به معنای ناکارآمدی باکتریهای محرک رشد گیاهی نمی باشد، بلکه نتایج تابع سویه های باکتریایی مورد استفاده، نوع گیاه و کاربرد این باکتری ها در شرایط مزرعه ای و آزمایشگاهی است.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این تحقیق می توان نتیجه گرفت که هیدروپرایمینگ موجب بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی در مدت ۲۴ ساعت بر گیاه دارویی بادرنجبویه شده است. به عبارتی جوانه‌زنی در این مدت موجب افزایش در سرعت و درصد جوانه‌زنی شده و به دنبال آن گیاهچه سریعتر استقرار پیدا کردند. همچنین تلقیح باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه سبب افزایش مولفه های جوانه زنی و رشد اولیه بذر نظیر درصد جوانه زنی، شاخص بینه بذر، میانگین مدت جوانه زنی، میزان جذب آب و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز شده است. بیوپرایمینگ با باکتری پوتیدا اثر مثبت و تاثیر گذار بیشتری نسبت به باکتری *فلورسنس* در اکثر صفات آزمایشی داشته است به طور کلی بیوپرایمینگ نسبت به هیدروپرایمینگ در بهبود جوانه زنی یکنواخت بذر بادرنجبویه و رشد اولیه آن مؤثر تر بوده است. بنابرین کاربرد باکتری‌های ریزوسفری بخصوص پوتیدا به صورت پرایمینگ در بهبود جوانه زنی بذر بادرنجبویه می تواند سودمند باشد و با رواج آن در کشور می‌توان به عملکرد بالا در این گیاه در عین کاهش آلودگی زیست محیطی در راستای کشاورزی پایدار رسید.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر از طرح پژوهشی در قالب پایان نامه کارشناسی

ارشد به شماره ۹۵ /۵۳۲۸ مورخ ۹۵/۶/۱۳ مصوب دانشگاه اراک می باشد. لذا از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اراک به دلیل حمایت در اجرای این تحقیق تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

۱- امیدبیگی، ۱۳۷۹. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی. طراحان نشر. ص .۲۸۴-۲۸۳

۲- بلوچی، ح. ر. نارگ موسی، م. عطارزاده، م. ۱۳۹۴. تأثیر پیش تیمار بذر بر برخی مؤلفه‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گلرنگ تحت تنش خشکی. مجله پژوهش‌های بذر ایران سال دوم، شماره اول، ۴- ۱

۳- جباری، ر. امینی دهقی، م. جنگی ارجنکی، ف. آگاهی، ک. ۱۳۹۰.تأثیر مدت و روشهای پرایمینگ بر جوانه زنی زیره سبز مجله دانش زراعت،سال چهارم، شماره۴، ص ۳۰-۲۳

۴- راثی پور، ل. و ن. اصغرزاد، ع. ۱۳۸۶. اثرات متقابل باکتری-های حل کننده فسفات (Bradyrhizobium japanicum) بر شاخص‌های رشد، غده‌بندی و جذب برخی عناصر غذایی در سویا. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی). ۱۱(۴۰): ۶۳- ۵۳

۵- عزتی، پ. ۱۳۸۱. بررسی تاثیر تراکم بر عملکرد و ماده مؤثره بادرنجبویه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین

۶- کاپلند ال .او .و مک دونالد.ام .بی .۱۳۷۵ . تکنولوژی بذر . ترجمه غلامحسین سرمدنیا .انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ص ۲۸۸.

۷- نظارت، س. غلامی، ا. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه سودوموناس و آزسپریلوم بر رشد و عملکرد ذرت. نشریه زراعت. شماره ۹۱ تابستان ۹۰. ص ۴۴-۵۱

۸- قاسمی، ح ر.، مستاجران، ا. ۱۳۹۷ . بررسی اثر همیاری باکتری آزوسپیریلوم برازیلنس (Azospirillum brasilense Sp7 and Sp245)بر شاخص‌های رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی دانه رست‌های گندم (*Triticum aestivum*)در شرایط شوری.مجله پژوهش های گیاهی. دوره ۳۱، شماره ۳، ۶۴۱-۶۲۹.

۹- شریفی، س ر. حیدری سیه خلکی. م.ر.،۱۳۹۴. تاثیر کود های بیولوژیک بر شاخص های رشدی و سهم فرایند انتقال مجدد ماده خشک در عملکرد دانه گندم. مجله پژوهش های گیاهی. دوره ۲۸، شماره ۲. ۳۴۳-۳۲۶

10- Abdul-Jaleel, C. Manivannan, P. Sankar, B. Kishorekumar, A. Gopi, R. Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2007. Pseudomonas *flurescence* enhance biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress, *Colloid. Surface B*; 60: 7 - 11.

11- Alizadeh, A. 2005. Water and soil and plant relationships. Astane Qudse Razavi Press (AS). 484.

12- Apic, G. Gough, J. and Teichmann, S .A. 2001. Domain combinations in archaeal, eubacterial and eukaryotic proteomes. Journal of Molecular Biology, 310(2): 311-325.

13- Bagdat, R. B. and Cosge, B. 2006. The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), iTS components and using fields. Journal of the Faculty of Agriculture, 21: 116-121.

14- Banchio, E. Bogino, P. C. Zygadlo, J. Giordano, W. 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in Origanum majorana L. Biochem Syst Ecol 36, 766-771.

15- Caseiro, R. Bennett, M. A. and Marcos-Filho, J. 2004. Comparison of three priming techniques for onion seed lots differing in initial seed quality. Seed Sci. Technol, 32, 365–375.

16- Ghorbanpour, M. Hatami, M. Khavazi, K. 2013. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of Hyoscyamus niger under water deficit stress. Turk J Biol 37:350–360.

17- Glick, B .R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41, 109-117.

18- Gogoi, P. Singh, R. K, 2011. Differential effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of Piper longum L. (Piperaceae). Ind J Sci Technol 4:119–125

19- Hameeda, B. Harini, G. Rupela, O. P. Wani, S. P. and Reddy, G. 2008. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria

isolated from composts and macrofauna. Microbiological. Research 163(2):234-42.

20- Lin, L. Zhao, H. Dong, Y. Yang, B. and Zhao, M. 2012. Macroporous resin purification behavior of phenolics and rosmarinic acid from *Rabdosia serra* (MAXIM.) HARA leaf. Food Chemistry, 130(2): 417-424.

21- Mencherini, T. Picerno, P. Scesa, C. and Aquino, R. 2007. Triterpene, antioxidant, and antimicrobial compounds from *Melissa officinalis*. Journal of Natural Products, 70(12): 1889-1894.

22- Neamatollahi, E. Bannayan, M. Souhani Darban A. and Ghanbari, A. 2009. Hydropriming and Osmopriming Effects on Cumin (*Cuminum Cyminum* L.) Seeds Germination. World Academy of Science, Engineering and Technology,57: 526- 529.

23- Omidi, H. Sorushzadeh, A. Salehi, A. and Ghezeli, F. 2005. Evaluation of Priming pretreatments on germination rapeseed. Agricultural Science and Technology, 19(2): 1-10.

24- Opoku, G. Davies, F. M. Zetrio, E. V. and Camble, E. E. 1996. Relationship between seed vigor and yield of white beans (*Phaseolos vulgaris* L.). Plant Variety Seed. 9: 119 – 125.

25- Rowse, H. R. Mckee J. M. and FinchSavage, W. E. 2001. Membrane priming -a method for small samples of high value seeds. Seed Sci and Technol, 29: 587-597

26- Shady, M. A. Ibrahim. I. and Afify, A. H. 1984. Mobilization of elements and their effects on certain plant growth characteristics as influenced by some silicate bacteria. Egyptian Journal of Botany 27(1-7): 17-30.

27- Karlidag, H. Yildirim, E. and Turan, M. 2009. Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. Science Agriculture; 66 (2): 180-7.

28- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16: 144 – 53.

29- 27)Banchio, E. Bogino, P. C. Santoro, M. Torres, L. Zygadlo, J. Giordano, W. 2010. Systemic induction of monoterpene biosynthesis in Origanummajoricum by soil bacteria. J Agric Food Chem 13: 650–654

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

31- McWatters, K. H. Chinnan, M. S. Phillips, R. D. Beuchat, L. R. Reid, L. B. Mensa Wilmot, R. M. 2002. Functional, nutritional, myco-logical and Akara-making properties of stored cowpea meal. J.Food Sci. 67 (6), 2229–2234.

32- Xiao, Z. Storms, R. and Tsang, A. 2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alphaamylase and glucoamylase activities. Analytical Biochemistry, 351: 146-148.

33- 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.

34- 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).

35- Nidhi Shukla, Himani Kuntal, Asheesh Shanker, SatyendraNath Sharma. Hydro-Priming Methods for Initiation of Metabolic Process and Synchronization of Germination in Mung Bean (Vigna Radiata L.) Seeds .J. Crop Sci. Biotech. 2018 (June) 21 (2) : 137 -146.

36- 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.

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

38- Giuseppe D.G and Barbanti L., Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness, Ital. Italian J Agr. 2012; 7:e25.

Stimulatory effect of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida* bacteria on germination features and growth of lemon balm (*Melissa officinalis*)

Khanizadeh P., Hatami M., Abtahi F.S. and Hosseini N.
Dept. of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, I.R. of Iran

Abstract

In order to study the effect of seeds priming with growth stimulating bacteria (biopriming) and hydroperiming on germination parameters, an experiment was carried out on a factorial experiment based on randomized complete design with three replications. Experimental treatments consisted of hydropriming at different times (72, 48, 24, 12 h) and biopriming with *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida* growth stimulating bacteria at different times (72, 48, 24, 12 h) compared to control (without inoculation). The results showed that seed hydropriming at different times had a significant effect at 1% probability level on germination indices, seed vigor, mean radicle and plumule length, percentage and germination rate. Germination and vigor index showed significant difference upon biopriming treatment. The highest germination index was obtained in inoculation with *P. putida* in 48 h and the lowest seed vigor index was obtained in seed inoculation with *P. fluorescens* within 72 h. The maximum mean radicle and plumule length were observed upon *P. putida* (3.30 and 3.67 mm) and *P. fluorescens* (3.13 and 3.17 mm) inoculation treatments, respectively. Also, biopriming with *P. putida* had a positive and significant effect on water uptake and alpha-amylase enzyme activity compared to *P. fluorescens* and hydro-priming under different times. Therefore, in order to improve germination indices and seedling vigour index, biopriming with *P. putida* bacteria can be recommended.

Key words: Alpha-amylase enzyme, Lemon balm, PGPR, Vigour index, Water uptake.