Original Article, Vol. 9, No. 1, Spring, 2021, pp 35-50

Desert Management
www.isadmc.ir

Iranian Scientific Association of Desert Management and Control

Effects of Seed Biopriming with Rhizospheric Bacterium *Pseudomonas putida* (Trevisan) on Growth Trend of Milkweed Seedling *(Calotropis procera* Ait)

F. Sohrabi[1], M. Bahmani Jafarlou[2*]

1. MSC of Soil Biotechnology, Payame Nor University, Alborz, Karaj, Iran
2. Phd of Ecology, Agriculture and Natural Resources Faculty, Lorestan University, Khorram Abad, Iran.

* Corresponding Author: bahmani.mo@fa.lu.ac.ir

Received date: 12/12/2020 **Accepted date: 22/04/2021**

doi 10.22034/JDMAL.2021.244525

Abstract

The present study was conducted to improve root, shoots growth, and seedling quality index of milkweed (*Calotropis procera*) using biopriming bacteria *Pseudomonas putida* (Trevisan) strain 169. An experiment was performed with two levels of inoculum including control and rhizospheric bacteria and three growth periods of one, two, and three months, using a factorial experiment in a completely randomized design with five replications. Biopriming results showed that seedlings obtained from bacterial priming in one-month, two-month, and three-month periods compared to the control, increased 707.5, 1823.1 and 47.6% in root volume; 654.6, 1798.6 and 40.3% in root area; 270.6, 38.5, and 6.6% in fresh weight of stem and 58.5, 19.3 and 2.5% in seedling height, respectively. The highest value of the quality index was observed in seedlings inoculated with the bacterium in the third month. The results of Pearson correlation showed that the parameters of aerial parts such as height, collar diameter, and stem weight were significantly correlated with each other, except root length and root dry weight. Results revealed that the priming of rhizosphere bacteria used in this study had a positive effect on improving the growth parameters of milkweed seedlings. Therefore, it is suggested that more research be done on the coexistence of rhizosphere bacteria in different plants and the interaction of their effects so that this technique can be used more for plant production and desertification.

Keywords: Plant Growth Promotion Bacteria; Seedling Establishment; Biomass Allocation; Plant Production; Coastal Deserts

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

مقاله پژوهشی، سال نهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۳۵ تا ۵۰

نشریه مدیریت بیابان

www.isadmc.ir

انجمن علمی مدیریت و کنترل مناطق بیابانی ایران

اثر بیوپرایمینگ بذر با باکتری ریزوسفری (Trevisan) *Pseudomonas putida* بر روند رشد نهال گیاه دارویی استبرق (*Calotropis procera* Ait)

فاطمه سهرابی[۱]، محمد بهمنی جعفرلو[۲*]

۱. دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی خاک، دانشگاه پیام نور، البرز، کرج، ایران.

۲. دانش آموخته دکتری تخصصی اکولوژی، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

* نویسندهٔ مسئول: Bahmani.mo@fa.lu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۸

10.22034/JDMAL.2021.244525

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بهبود رشد اندام هوایی، ریشه‌زایی و شاخص کیفی نهال‌های استبرق (*Calotropis procera* Ait) با استفاده از بیوپرایمینگ بذر با ریزوباکتری *Pseudomonas putida* (Trevisan) سویه ۱۶۹ انجام شده است. این آزمایش در دو سطح مایه تلقیح شامل شاهد و باکتری ریزوسفری و سه دورهٔ زمانی رشد شامل نهال‌های یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماهه، با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با پنج تکرار انجام شد. نتایج بیوپرایمینگ نشان داد که نهال‌های حاصل از پرایمینگ باکتریایی در دوره‌های زمانی یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماهه در مقایسه با شاهد به‌ترتیب در شاخص حجم ریشه ۷۰۷/۵، ۱۸۲۳/۱ و ۴۷/۶٪، سطح ریشه ۶۵۴/۶، ۱۷۹۸/۶ و ۴۰/۳٪، وزن تر ساقه ۲۷۰/۶، ۳۸/۵ و ۶/۶٪ و ارتفاع نهال ۵۸/۵، ۱۹/۳ و ۲/۵٪ افزایش داشته است. بالاترین مقدار شاخص کیفی در نهال‌های سه‌ماههٔ تلقیح‌شده با ریزوباکتری مشاهده شد. نتایج همبستگی پیرسون نشان داد که شاخص اندام‌های هوایی ازجمله ارتفاع، قطر یقه و وزن ساقه نسبت به هم به‌جز طول ریشه و وزن خشک‌ریشه همبستگی معنی‌داری داشته است. نتایج نشان داد که پرایمینگ باکتری‌های ریزوسفریِ مورداستفاده در این پژوهش، عملکرد مثبتی بر ارتقای شاخص‌های رشد نهال استبرق داشته است. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که پژوهش‌های بیشتری بر روی همزیستی باکتری‌های ریزوسفری با گیاهان مختلف و تعامل اثر آن‌ها صورت گیرد تا بتوان از این فن در راستای تولید گیاهی و احیای اراضی بیابانی بهرهٔ بیشتری جست.

واژگان کلیدی: باکتری‌های محرک رشد؛ استقرار نهال؛ بیومس؛ تولید گیاهی؛ بیابان‌های ساحلی

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

■ مقدمه

استبرق گیاهی چندساله با نام علمی *Calotropis procera* Ait متعلق به خانوادهٔ Asclepiadaceae از گیاهان کائوچوئی است که ارتفاع آن به m ۴ می‌رسد. برگ‌های آن ساده، پهن و متقابل و بدون استیپول به قطر mm ۲، تخم‌مرغی، سبز متمایل به آبی، ضخیم و سفید آردی، بدون دم‌برگ با قاعدهٔ قلبی‌شکل و گوشتی به ابعاد cm ۱۵×۱۱ که پشت و روی آن را کرک‌های سفیدرنگ و بسیار ظریف پوشانده است. گل‌های آن منظم، نر_ماده به‌رنگ سفید ارغوانی و قرمز یا صورتی یا صورتی متمایل به بنفش به طول cm ۲/۵-۲ و جام گل زنگوله‌ای‌شکل است و گل‌آذین و موسم گلدهی آن اسفند و فروردین است. میوهٔ آن فولیکول فشرده و تخم‌مرغی یا شبه‌بیضی به طول cm ۵-۷/۱۰ و دانه‌های آن دارای تارهای ابریشمی است. این درختچه جزو متابولیسم اسید کراسولوسه‌ای است که مقدار تبخیر بسیار کمی دارد (۷، ۸، ۱۵، ۱۹، ۲۳).

استبرق یکی از معدود درختان کائوچویی ایران است که در ناحیهٔ رویشی خلیج_عمانی و سواحل نیمه‌گرمسیری جنوب کشور از خوزستان تا مکران و بلوچستان گسترش داشته و تا ارتفاع m ۱۱۰۰ از سطح دریا حضور دارد (۲۰، ۱۹، ۹، ۱۰). استبرق دارای ارزش‌های اقتصادی و دارویی منحصربه‌فردی است که در سال‌های اخیر، در احیای اراضی تخریب‌یافتهٔ مناطق خشک و بیابانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۸، ۱۰، ۲۸، ۲۹). از خواص دارویی فراوان این گونه می‌توان به درمان ورم، سوختگی، زخم‌ها، التهاب‌های پوستی، جذام، اگزما، بیماری‌های پوستی شامل سودا و سفلیس، درمان نیش مار و عقرب، لک‌های صورت، سرفه‌های سخت، آسم، گوش‌درد و غیره اشاره کرد. ازجمله مصارف صنعتی‌اش استفاده از شیرابه در تهیهٔ صنایع چسب و تهیهٔ الیاف بسیار لطیف آن در صنایع تولید دستمال‌کاغذی، فرش، البسهٔ باکیفیت، بالش‌های ضدحساسیت، نانو الیاف و غیره است (۱، ۸، ۱۷، ۲۱).

هرچند استبرق به‌لحاظ اکوفیزیولوژیک مقاوم به شرایط خشک با مقدار بارندگی mm ۳۰-۲۰۰ بوده، قابلیت زیستن روی شن‌های روان را دارد و شوری خاک را حتی در سطح بالا به‌خوبی تحمل می‌کند، اما پراکنش آن در مناطق خشک و نیمه‌خشک با مشکلات بسیاری روبه‌روست که توسعهٔ جوامع طبیعی آن را با مخاطرات جدی مواجه ساخته است (۸، ۱۵، ۱۸، ۲۹). گونهٔ استبرق باوجود تولید بذر انبوه در رویشگاه طبیعی خود و حتی قوهٔ نامیهٔ زیاد بذر، با مشکل‌های شدید استقرار روبه‌روست (۷، ۸، ۱۹).

امروزه یکی از رهیافت‌های بیولوژیک در تولید، توسعه و استقرار گونه‌های مهم گیاهی در عرصه‌های طبیعی، استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاهی[1] است. این باکتری‌ها شامل مجموعهٔ متنوع و نامتجانسی از باکتری‌های گوناگون، شامل باکتری‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن آزادزی و همیار محیط ریشه، محلول‌کننده‌های فسفر، پتاسیم، گوگرد و سیلیکات و توان تولید هورمون‌های محرک رشد، مشارکت در تثبیت زیستی نیتروژن، مبارزه با پاتوژن‌های گیاهی از طریق تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید آنزیم‌ها و قارچ‌کش‌ها، افزایش حلالیت فسفر و سایر مواد معدنی و تولید مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای از هورمون‌های تحریک‌کنندهٔ رشد، به‌ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین در افزایش رشد و نمو گیاهان مختلف را دارند (۶). برخی از مهم‌ترین باکتری‌های ریزوسفری را می‌توان به *Pseudomonas* sp، *Azospirilium* sp، *Azotobacter* sp و غیره نام برد (۱۴).

خانواده Pseudomonadaceae گروه بزرگی از باکتری‌های گرم منفی است که به فراوانی در محیط‌های آبی و خاکی یافت می‌شوند (۳۲). از نظر مورفولوژیک، این میکروارگانیسم‌ها، بدون اسپور، میله‌ای خمیده و یا صاف، متحرک با یک یا چند فلاژل قطبی‌اند (۱۴). باکتری‌های جنس سودوموناس، کاتالاز مثبت و بدون نیاز به فاکتورهای رشد آلی، شیموارگانوتروف، هوازی و فاقد توانایی فتوسنتزند. تحقیقات بسیاری در ارتباط با کارآیی باکتری‌های محرک رشد بر پاسخ و عملکرد گیاهان توسط محققان مختلف صورت گرفته که به چند مورد آن پرداخته می‌شود.

1 Plant Growth Promotion Bacteria

تحقیقی روی تأثیر تلقیح باکتری *P. fluorescens* (Trevisan) بر رشد نهال کاج حلب (*Pinus halepensis* Mill) نشان داده که تلقیح باکتری سبب افزایش رویش ارتفاع نهال، قطر یقه و وزن خشک اندام هوایی می‌شود (۱۲). به‌طوری‌که پژوهشی دیگر با بررسی تأثیر *P. fluorescens* (Trevisan) بر عملکرد پسته (*Pistacia vera* L) به افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ و سطح و وزن تر و خشک برگ را اشاره داشته‌اند (۵).

در گزارش دیگر تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاهی *P. putida* و *P. fluorescens* بر نهال پسته حاکی از این بود که استفاده از باکتری‌ها باعث افزایش مقدار شاخص‌های رشدی ازجمله وزن تر و خشک ساقه و ریشه، سطح و تعداد برگ و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ازجمله محتوای نسبی آب برگ، مقدار پرولین، کلروفیل کل، a و b و کاروتنوئید شده است. (۳۳).

در آزمایشی دیگر، بررسی تأثیر باکتری‌های *Pseudomonas putida*، *Bacillus subtilis* و *Enterobacter cloacae* روی پاسخ نونهال‌های فندق (*Corylus avellana* L) نشان داد که باکتری‌های *P. putida*، *B. subtilis* و *E. cloacae* به‌ترتیب بالاترین تأثیر مثبت در جذب عناصر غذایی، افزایش رشد قطری، ارتفاعی و دیگر شاخص‌های ریخت‌شناسی نونهال‌های فندق داشته‌اند (۲۵). مطالعهٔ دیگر، با هدف بررسی تحمل به شوری نهال‌های استبرق با استفاده از تلقیح باکتری *Pseudomonas putida*، نشان داد که تلقیح با باکتری موجب افزایش زنده‌مانی، ارتفاع، سطح ریشه، وزن تر و خشک، نرخ فتوسنتز و کلروفیل نهال‌ها شده است (۸).

پژوهشی دیگر با هدف بررسی مایهٔ تلقیح قارچ میکوریز و باکتری محرک رشد بر غلظت عناصر غذایی نهال‌های استبرق نشان داد که غلظت عناصر غذایی، ازجمله نیتروژن کل و پتاسیم برگ و ریشه، غلظت آهن و منگنز و روی موجود در برگ و ریشه در نهال‌های تلقیح شده با مایهٔ تلقیح قارچ و باکتری در مقایسه با شاهد افزایش داشته است (۹).

بنابراین با توجه به حساسیت فیزیولوژیک جوانه‌زنی بذر و رشد اولیهٔ استبرق در شرایط سخت اکولوژیک و پدولوژیک رویشگاهی، این پژوهش با هدف ارتقای شاخص رشد کمی و کیفی نونهال استبرق و بهبود استقرار آن در شرایط نهالستانی با استفاده از بیوپرایمینگ بذر با باکتری ریزوسفری *P. putida* (Trevisan) صورت گرفته است. ازاین‌رو امید است که یافته‌ها و دانش فنی حاصل از این پژوهش در پروژه‌های اجرایی توسعهٔ کشت گیاه دارویی استبرق در مناطق بیابانی ساحلی حوزهٔ خلیج فارس مورد توجه قرار گیرد.

■ مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونهٔ بذری

در پژوهش حاضر فولیکول‌های حاوی بذر گونهٔ استبرق (*C. procera* Ait)، از رویشگاه‌های طبیعی آن، واقع در روستای آباد، شهرستان تنگستان از توابع استان بوشهر، با عرض جغرافیایی ۳۲۱۳۲۰۶ m شمالی و طول ۵۲۳۷۰۳m شرقی و ارتفاع از سطح دریای معادل ۵۸ m و همچنین با میانگین بارندگی سالانهٔ ۷۱/۵۸ mm و میانگین درجه حرارت ۲۶/۷۰°C به‌صورت پیمایش میدانی در مرداد سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شد.

آماده‌سازی و ضدعفونی بذر

فولیکول‌های استبرق پس از جمع‌آوری، به‌مدت ۷۲ ساعت در شرایط سایه با دمای ۲۵°C خشک و سپس بذور از درون فولیکول‌ها خارج و پاک‌سازی شدند. بذرهای پاک‌سازی‌شده به آزمایشگاه منتقل و برخی ویژگی‌های ظاهری و فیزیولوژیک بذر شامل رطوبت بذر، وزن هزاردانه، قوهٔ نامیه و تعداد در کیلوگرم اندازه‌گیری شد (جدول ۱). درصد خلوص و وزن هزار دانه بذر با استفاده از ترازوی دقیق توزین و محاسبه شد. همچنین درصد رطوبت بذر نیز با استفاده از آون در دمای ۷۰°C و زمان ۴۸ ساعت محاسبه شدند. بررسی مقدار قوهٔ نامیهٔ بذر با استفاده از تکنیک رنگ‌آمیزی تترازولیوم صورت گرفت (۱۲).

جدول ۱. ویژگی‌های ظاهری و فیزیولوژیک بذر استبرق

گونه	مبدأ	تاریخ جمع‌آوری	تاریخ آزمایش	خلوص (٪)	وزن هزار دانه (gr)	تعداد در کیلوگرم (number/kgr)	رطوبت (٪)	قوۀ نامیه (٪)
استبرق	بوشهر	مرداد ۱۳۹۸	مهر ۱۳۹۸	۱۰۰	۸/۴۴	۱۱۸۰۰۰	۵۲/۲	۹۵

آماده‌سازی پرایمینگ باکتریایی

مایۀ تلقیح باکتری محرک رشد *Pseudomonas putida* (Trevisan) سویه ۱۶۹ مورد استفاده در پژوهش حاضر، از بخش بیولوژی خاک موسسۀ تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شد. به‌طوری‌که این مایۀ تلقیح بومی خاک‌های کشور بوده و جمعیت آن برابر با cfu/ml $۳/۶\times۱۰^{۹}$ و قطر هاله به قطر کلنی ۳/۶ mm و مقدار تولید ایندول استیک اسید برابر با ۵/۷۷ mg/l است.

جهت پرایمینگ بذرها، ابتدا اقدام به ضدعفونی بذور استبرق شد. ازاین‌رو بذور همسان و یکنواخت استبرق انتخاب شدند و به‌مدت دو دقیقه در محلول قارچ‌کش Carboxin Tiram به مقدار ۲gr/l قرار داده شد و سپس طی چند مرحله با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. در مرحلۀ بعد، مقدار هفت میلی‌لیتر مایۀ تلقیح باکتریایی به‌همراه محلول صمغ عربی ۲۰٪ جهت افزایش چسبندگی آماده‌سازی شد. تودۀ بذری سترون‌شده به‌مدت سه ساعت در سوسپانسیون باکتریایی در شرایط محیط تاریک در ظرف درب‌بسته غوطه‌ور شد. همچنین یک تودۀ بذری نیز به‌عنوان شاهد در محلول آب مقطر بدون مایۀ تلقیح باکتریایی به مدت سه ساعت قرار گرفتند (۲۷، ۳۰).

کشت نهالستانی بذرها

تعداد مورد نیاز بذور پرایم‌شده در عمق ۰/۱-۵ cm بستر کاشت گلدان‌های ۴ کیلویی به ابعاد cm ۲۰×۱۵×۱۵ قرار گرفت. خاک گلدان با بافت سبک و مخلوط با کوکوپیت به نسبت ۲:۱ در دمای ۱۲۱/۵°C و فشار ۱/۵Mpa اتوکلاو شد (جدول ۲). بافت خاک شامل درصد شن، رس و سیلت به روش هیدرومتری قرائت‌شده و با استفاده از مثلث بافت خاک تعیین شد. اسیدیتۀ خاک به‌وسیلۀ دستگاه pH متر و مخلوط ۲/۵:۱ خاک و آب مقطر اندازه‌گیری شد. هدایت الکتریکی گل اشباع با استفاده از دستگاه EC متر و مخلوط ۵:۱ خاک و آب مقطر به دست آمد. جهت سنجش ماکروالمانت‌ها از طریق عصاره‌گیری از مخلوط ۱۰۰:۱ خاک و آب مقطر به روش جذب اتمی Atomic Absorbtion براساس میلی‌گرم در کیلوگرم اندازه‌گیری شد. به‌طوری‌که نیتروژن کل و کربن آلی به‌ترتیب به روش Kjeldahl و Walklry-Black و براساس درصد تعیین شد (۱۳).

رشد نهال‌ها به مدت سه ماه در شرایط نهالستان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی بوشهر با ارتفاع از سطح دریای ۱۱ m، میانگین دما ۵/۲۴C ^{o} و رطوبت نسبی ۶۵٪ صورت گرفت. آبیاری نهال‌ها براساس نقاط پتانسیلی ازجمله ظرفیت زراعی[1] و نقطۀ پژمردگی[2] انجام گرفت. به‌طوری‌که آبیاری گلدان‌ها به‌صورت هفته‌ای دو بار به ظرفیت زراعی مرجع به‌عبارتی به وزن gr ۴۲۴۲ رسانده می‌شدند (۲۶).

زیست‌سنجی (بیومتری) نهال‌ها

در پایان دورۀ رشد از آبان تا دی سال ۱۳۹۸ به‌صورت ماهیانه اقدام به اندازه‌گیری و سنجش پارامترهای رویشی نهال‌های استبرق شد. اندازه‌گیری پارامترهای مربوط به رشد ریشه و ساقه، در زمان‌هایی صورت گرفت که نهال‌ها یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماهه بودند. تعداد کل نهال‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر با توجه به تیمارهای آزمایشی شامل شاهد و باکتری و تکرارها ۳۰ اصله نهال بودند. گفتنی است که در هر بازه زمانی ۱۰ اصله نهال قرارگرفته بودند. بنابراین به دلیل نیاز به قطع ریشه از محل یقه نهال برای اندازه‌گیری حجم و طول ریشۀ نهال‌های مورد اندازه‌گیری، از بین رفته و در دورۀ بعدی از نهال‌های جایگزین یا تکرار استفاده می‌شد.

1 Field Capacity
2 Plant Wilting Point

جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

پارامترها	مقادیر	پارامترها	مقادیر	پارامترها	مقادیر	پارامترها	مقادیر
شن (٪)	۵۰	رس (٪)	۲۰	فسفر (mg/kg)	۰/۲۴	آهن (mg/kg)	۰/۱۵
pH (گل اشباع)	۷/۸	سیلت (٪)	۳۰	پتاسیم (mg/kg)	۷	روی (mg/kg)	۰/۰۵
هدایت الکتریکی (µs/m)	۰/۳۵	کربن آلی (٪)	۱/۳۵	نیتروژن (mg/kg)	۱/۲	منگنز (mg/kg)	۰/۰۳

برای اندازه‌گیری ارتفاع نهال و قطر یقهٔ نهال به‌ترتیب با استفاده از خط‌کش مدرج با دقت mm و کولیس با دقت mm ۰/۰۱ سنجش شد. ریشه‌ها و ساقه‌ها به‌طور جداگانه با ترازوی دیجیتال دقت gr ۰/۰۰۱ توزین و سپس وزن خشک آن‌ها با استفاده از آون با دمای $70^{o}C$ به مدت زمان ۴۸ ساعت و قراردادن درون دسیکاتور اندازه‌گیری شد. برای تعیین حجم ریشه، ابتدا گلدان‌ها برای شل‌شدن خاک و جداشدن بهتر خاک از ریشه به‌مدت یک ساعت در ظرف حاوی آب قرار داده شد. پس از شستشوی کامل ریشه‌ها، در استوانهٔ مدرج قرار گرفتند، از اختلاف جابجایی آب، حجم ریشهٔ هر نهال جداگانه محاسبه شد (۴). سطح ریشه نیز به روش اتکنسیون برآورد شد (۴). برای اندازه‌گیری طول ریشه، ابتدا ریشه تمیز شد و بر روی یک صفحهٔ مقوا قرار گرفت و با استفاده از نخ یا ریسمان طول ریشه تعیین و درنهایت با خط‌کش طول نخ سنجش شد. در پایان شاخص کیفی نهال‌ها با استفاده از رابطهٔ ۱، به‌صورت زیر محاسبه شد (۱۱).

$$QI = \frac{TDW\ (gr)}{\frac{H\ (cm)}{RCD\ (mm)} + \frac{SDW\ (gr)}{RDW\ (gr)}} \qquad (۱)$$

در رابطهٔ ۱،QI[1]: شاخص کیفی نهال، TDW[2]: وزن خشک کل نهال (gr)، H[3]: ارتفاع نهال (cm)، RCD[4]: قطر یقهٔ ریشه (mm)، SDW[5]: وزن خشک اندام هوایی (gr) و RDW[6]: وزن خشک ریشه (gr) است.

1 Quality Index
2 Total Dry Weight
3 Height
4 Root Collar Diameter
5 Shoot Dry Weight
6 Root Dry Weight

روش تجزیه و تحلیل آماری

روش طرح آزمایش گلدان‌ها، فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور (دوره زمانی در سه سطح یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماهه) و مایهٔ تلقیح باکتریایی (دو سطح تلقیح با باکتری و شاهد بدون تلقیح با باکتری) در پنج تکرار انجام شد. برای تجزیهٔ آماری، ابتدا پس از اطمینان از نرمال‌بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها، از تجزیه واریانس دوطرفه[7] استفاده شد. به‌منظور مقایسهٔ چندگانهٔ میانگین هر صفت نیز از آزمون توکی[8] استفاده شد. همچنین برای بررسی همبستگی بین صفات نیز از همبستگی پیرسون استفاده شد. گفتنی است که نرم‌افزار آماری مورد استفاده در پژوهش حاضر SPSS[9] نسخهٔ ۲۱ بود.

■ نتایج

ارتفاع و قطر یقهٔ نهال

نتایج تجزیهٔ واریانس دوطرفه داده‌ها نشان داد که اثر باکتری، دورهٔ زمانی و اثر متقابل آن‌ها بر ارتفاع نهال و قطر یقهٔ نهال در سطح آماری ۱٪ معنی‌دار است (جدول ۳). نتایج مقایسهٔ میانگین نشان داد که شاخص ارتفاع و قطر یقهٔ نهال استبرق با افزایش دوره زمانی، رشد صعودی داشته‌اند. به‌طوری‌که در هر دو شاخص بیشترین مقدار در دورهٔ زمانی سه‌ماهه مشاهده شد. ازاین‌رو در نهال‌های یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماهه حاصل از پرایمینگ باکتریایی در مقایسه با شاهد در هر مقطع زمانی، ارتفاع نهال به‌ترتیب افزایش ۵۸/۴۹، ۱۹/۲۶ و ۲/۵٪ و قطر یقه با افزایش ۱۹/۱۱، کاهش ۱۵/۶۳ و افزایش ۲۷/۱۰٪ همراه

7 Two Way ANOVA
8 Tukey HSD
9 Statistical Package for Social Science

بوده است (شکل ۱، الف و ب). نتایج همبستگی پیرسون نشان داد که ارتفاع نهال با تمام صفات مورد بررسی به‌جز طول ریشه در سطح آماری ۱٪ همبستگی معنی‌دار داشت. قطر یقه نیز در تمام شاخص‌ها به‌جز وزن خشک ساقه و طول ریشه همبستگی معنی‌داری را داشته است (جدول ۴).

وزن تر و خشک ساقهٔ نهال

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر بیوپرایمینگ باکتری و دورهٔ زمانی بر وزن تر و خشک ساقه در سطح آماری ۵ و ۱٪ معنی‌دار و اثر متقابل آن بر وزن خشک ساقه در سطح ۱٪ معنی‌دار و بر وزن تر ساقه معنی‌دار نیست (جدول ۳).

مقایسهٔ میانگین نشان داد که شاخص وزن تر ساقه با افزایش دورهٔ زمانی سه‌ماهه به‌صورت تصاعدی روند افزایشی داشته است؛ درحالی‌که شاخص وزن خشک ساقه تا دورهٔ زمانی دوماهه افزایش نشان داده و سپس در دورهٔ سه‌ماهه روند نزولی داشته است. به‌طوری‌که در نهال‌های یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماههٔ تیمارشدهٔ باکتریایی در مقایسه با شاهد در هر مقطع زمانی وزن تر ساقه ۲۷۰/۵۸، ۳۸/۴۶ و ۶/۶۱٪ افزایش و وزن خشک ساقه افزایش ۹۳۷/۰۳، کاهش ۳/۹۱ و افزایش ۱۶/۵۲٪ دیده شد (شکل ۱، پ و ت). وزن تر ساقه همبستگی معنی‌داری در تمام صفات موردبررسی به‌جز طول ریشه داشته است. شاخص وزن خشک ساقه نیز در شاخص‌های ارتفاع نهال، وزن تر و خشک ریشه در سطح آماری ۵ و ۱٪ همبستگی معنی‌داری دارد ولی در سایر شاخص‌های ریشه همبستگی معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴).

وزن تر و خشک ریشهٔ نهال

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که اثر بیوپرایمینگ باکتری و دورهٔ زمانی در سطح آماری ۵ و ۱٪ بر وزن تر ریشه معنی‌دار است درحالی‌که اثرات متقابل پرایمینگ و زمان بر این شاخص غیرمعنی‌دار بوده است. به‌طوری‌که تجزیهٔ واریانس وزن خشک ریشه در تمام فاکتورها در سطح آماری ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳).

مقایسهٔ میانگین نشان داد که شاخص وزن تر ریشه با افزایش دورهٔ زمانی روند صعودی داشته است. مقدار وزن خشک ریشه در نهال تلقیح‌شدهٔ باکتریایی با افزایش دورهٔ زمانی تا سه‌ماهه، روند صعودی داشته درحالی‌که نهال‌های شاهد تا دورهٔ زمانی دوماهه روند افزایشی و سپس در زمان سه‌ماهه روند ثابتی را نشان داد.

در نهال‌های یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماههٔ تلقیح‌شدهٔ باکتریایی در مقایسه با شاهد در هر مقطع زمانی وزن تر ریشه به‌ترتیب افزایش ۱۱۸/۸۱، کاهش ۲۵/۷۲ و افزایش ۸٪/۲۷ و وزن خشک ریشه به‌ترتیب افزایش ۵۶/۸۴، کاهش ۳۰/۶۴ و افزایش ۵۹/۵۸٪ داشته است (شکل ۱، ث و ج). نتایج همبستگی پیرسون نشان داد که وزن تر ریشه با تمام شاخص‌ها به‌جز طول ریشه در سطح آماری ۵ و ۱٪ همبستگی معنی‌دار دارد. همچنین شاخص وزن خشک ریشه با تمام شاخص‌ها به‌جز طول و حجم ریشه در سطح آماری ۵٪ همبستگی معنی‌دار نشان داد (جدول ۴).

حجم، طول و سطح ریشه

نتایج تجزیهٔ واریانس دوطرفه نشان داد که اثر بیوپرایمینگ بر طول، حجم و سطح ریشه، اثر دورهٔ زمانی بر حجم و سطح ریشه و اثر متقابل آن بر حجم ریشه در سطح آماری ۵ و ۱٪ معنی‌دار بوده است (جدول ۳). مقایسهٔ میانگین توکی نشان داد که شاخص طول ریشه با افزایش دورهٔ زمانی روند ثابتی دارد و هیچ‌گونه تغییرات معنی‌داری نداشته است؛ به‌طوری‌که مقادیر نهال‌های تیمارشده در مقایسه با شاهد در تمام طول دورهٔ رشد تفاوت معنی‌داری نشان نداده است. مقادیر حجم و سطح ریشه در نهال تلقیح‌شدهٔ باکتریایی با افزایش دورهٔ زمانی تا دوماهه، روند صعودی داشته و سپس در دورهٔ سه‌ماهه روند ثابت شده و تغییری در آن دیده نشد؛ درحالی‌که نهال‌های شاهد تا دورهٔ زمانی دوماهه روند ثابت و سپس در زمان سه‌ماهه روند صعودی نشان دادند.

در نهال‌های یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماههٔ پرایمینگ شده در مقایسه با شاهد طول ریشه کاهش ۶/۶۸، ۸/۱۴ و ۴٪ و حجم ریشه افزایش ۷۰۷/۵، ۱۸۲۳/۰۷ و ۴۷/۶۴٪ و سطح ریشه افزایش ۶۵۴/۶۴، ۱۷۹۸/۶ و ۴۰/۳۵٪ مشاهده شد (شکل ۱، چ، ح و خ).

همبستگی پیرسون نشان داد که شاخص طول ریشه با هیچ یک از شاخص‌های مورد بررسی همبستگی معنی‌دار ندارد. حجم ریشه در تمام شاخص‌ها به‌جز وزن خشک ساقه و ریشه و طول ریشه در سطح آماری ۵ و ۱٪ همبستگی معنی‌داری داشته است. سطح ریشه در همهٔ شاخص‌ها به‌جز وزن خشک ساقه و طول ریشه در سطح آماری ۵ و ۱٪ همبستگی معنی‌داری نشان داد (جدول ۴).

شاخص کیفی نهال

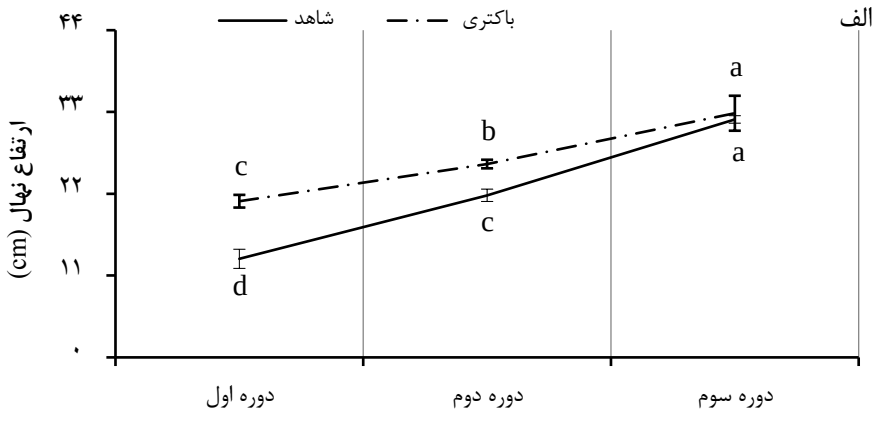
تجزیه واریانس نشان داد که اثر بیوپرایمینگ باکتری و دورهٔ زمانی و اثر متقابل آن بر شاخص کیفی نهال در سطح آماری ۱٪ معنی‌داری است (جدول ۳). مقایسهٔ میانگین توکی نشان داد که نهال‌های حاصل از پرایمینگ بذر با باکتری، با افزایش دورهٔ زمانی با افزایش شاخص کیفی روبرو بوده؛ درحالی‌که شاخص کیفی در نهال‌های شاهد با افزایش دورهٔ زمانی تا ماه دوم افزایش و در ماه سوم کاهش داشته است (شکل ۱، د). گفتنی است که مقدار شاخص کیفی در نهال‌های یک‌ماهه، دوماهه و سه‌ماههٔ تلقیح‌شدهٔ باکتریایی در مقایسه با شاهد در هر مقطع زمانی به‌ترتیب افزایش ۸/۳۷، کاهش ۴۸/۴۴ و افزایش ۸۴/۷۸٪ را نشان داد.

جدول ۳. میانگین مربعات بیوپرایمینگ باکتری بر روند رشد اندام هوایی و ریشه‌زایی نهال استبرق

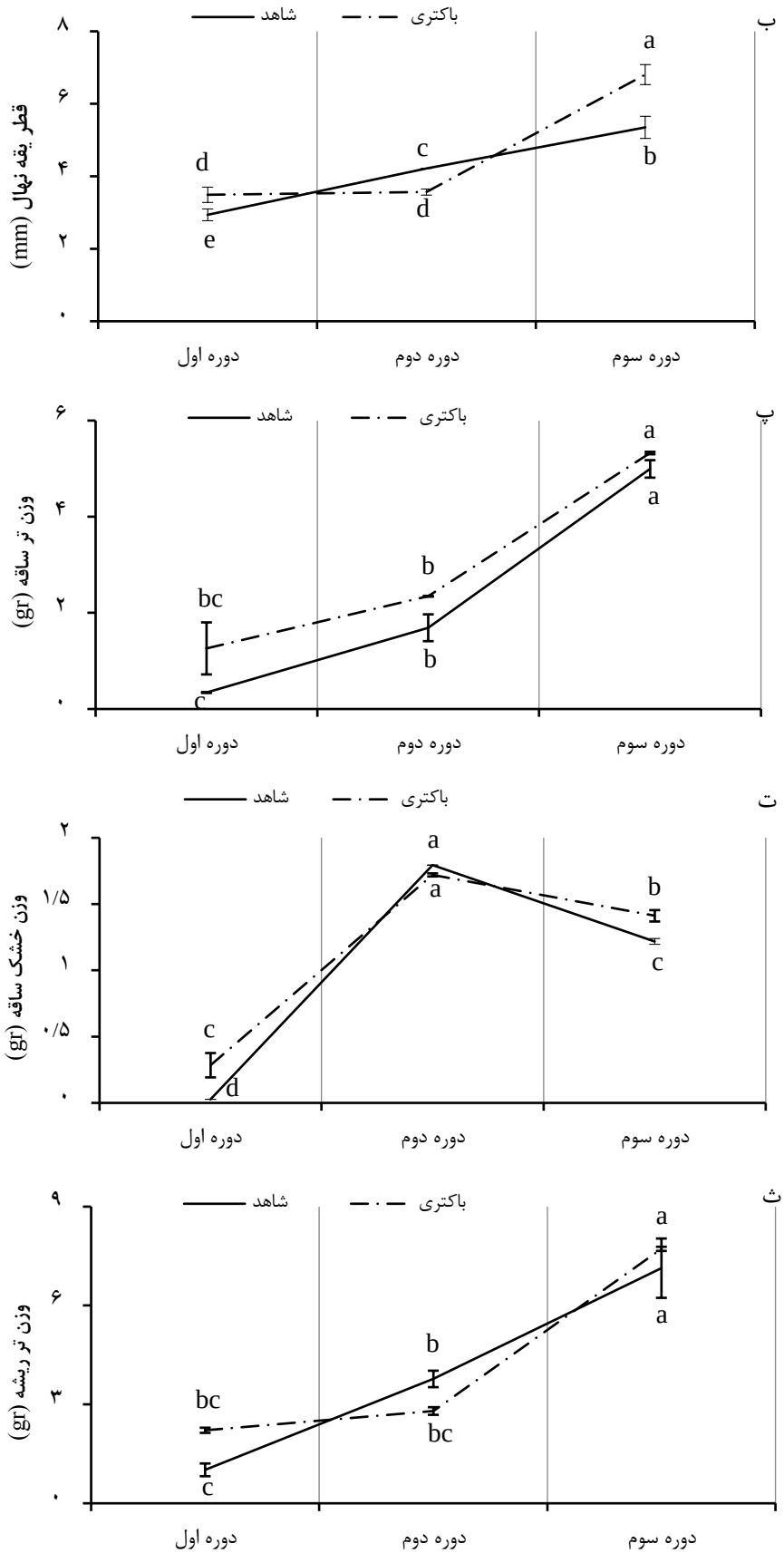
منابع تغییر	درجهٔ آزادی	ارتفاع نهال	قطر یقه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه
بیوپرایمینگ	۱	۱۱۷/۶۵**	۳/۷۶**	۱/۸۵*	۰/۰۱۷**	۳/۸۰ *
دورهٔ زمانی	۲	۳۱۰/۶۹**	۱۳/۱۹**	۳۰/۵۵**	۳/۴۱**	۵۳/۷۵**
بیوپرایمینگ × دورهٔ زمانی	۲	۹/۹۶**	۰/۳۲۳**	۰/۱۱۹ns	۰/۰۲۳**	۰/۱۴۲ns
اشتباه آزمایشی	۲۴	۱/۱۰	۰/۰۱۵	۰/۲۲۲	۰/۰۰۱	۰/۷۱۵
کل	۲۹					

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	وزن خشک ریشه	طول ریشه	حجم ریشه	سطح ریشه	شاخص کیفی نهال
بیوپرایمینگ	۱	۲/۳۱**	۷۳/۸۹ *	۲۳۵/۱۵**	۳۸۹۸۰۳۲/۱۹**	۰/۱۲**
دورهٔ زمانی	۲	۶/۹۲**	۱۰/۰۸ ns	۷۳/۲۳**	۲۱۴۹۸۱۰/۰۱**	۰/۵۷**
بیوپرایمینگ × دورهٔ زمانی	۲	۰/۳۸۵**	۰/۸۲۸ns	۲۴/۸۰*	۲۶۲۷۴۰/۲۵ns	۰/۰۳۷**
اشتباه آزمایشی	۲۴	۰/۰۴۵	۸/۹۸	۵/۶۷	۱۴۳۸۸۸/۹۶	۰/۰۰۲
کل	۲۹					

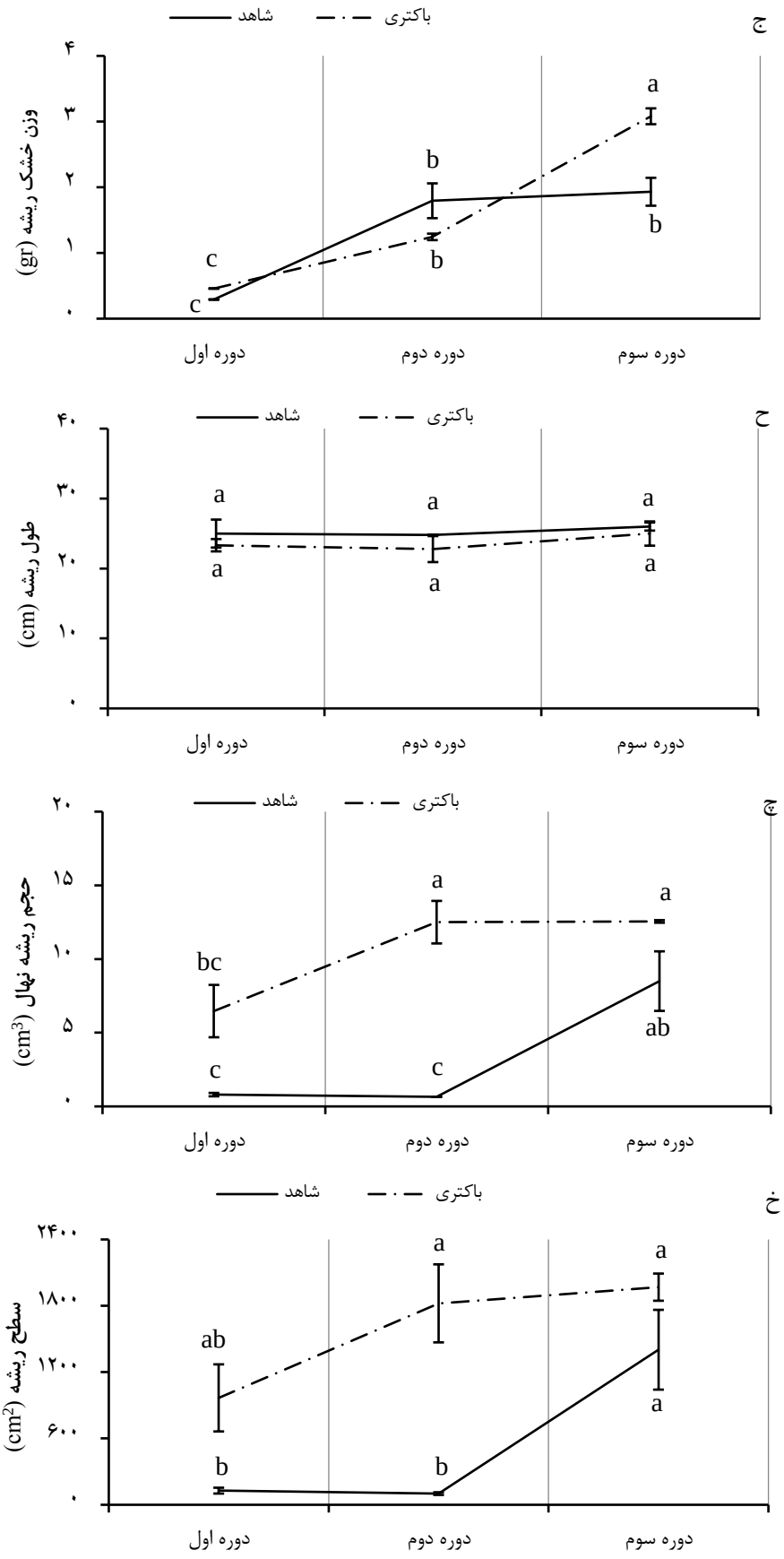
*، ** و ns به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ معنی‌داری در سطح آماری ۵، ۱٪ و عدم معنی‌داری.



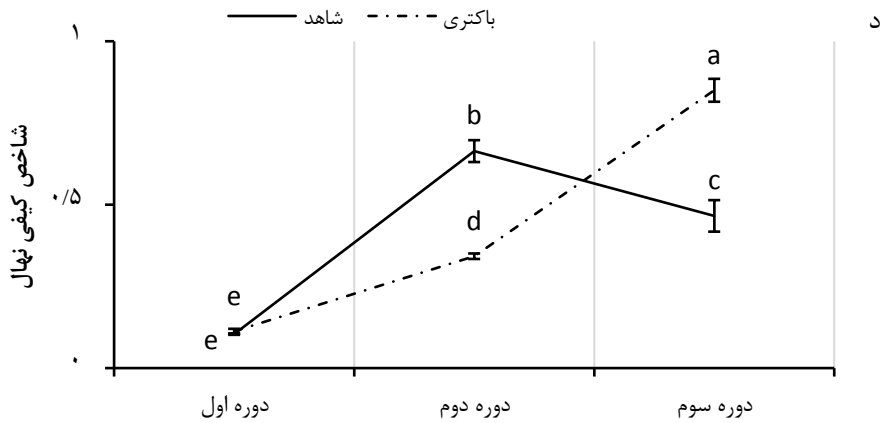
شکل ۱. مقایسهٔ میانگین توکی صفات رویشی اندام‌های هوایی و ریشه‌زایی نهال‌های تلقیح‌شده با باکتری ریزوسفری (میانگین ±اشتباه معیار، دوره‌های مختلف رشد بیانگر دورهٔ اول: نهال‌های یک‌ماهه، دورهٔ دوم: نهال‌های دوماهه و دورهٔ سوم: نهال‌های سه‌ماهه است)



ادامهٔ شکل ۱. مقایسهٔ میانگین توکی صفات رویشی اندام‌های هوایی و ریشه‌زایی نهال‌های تلقیح‌شده با باکتری ریزوسفری (میانگین ± اشتباه معیار، دوره‌های مختلف رشد بیانگر دورهٔ اول: نهال‌های یک‌ماهه، دورهٔ دوم: نهال‌های دوماهه و دورهٔ سوم: نهال‌های سه‌ماهه است)



ادامهٔ شکل ۱. مقایسهٔ میانگین توکی صفات رویشی اندام‌های هوایی و ریشه‌زایی نهال‌های تلقیح‌شده با باکتری ریزوسفری (میانگین ± اشتباه معیار، دوره‌های مختلف رشد بیانگر دورهٔ اول: نهال‌های یک‌ماهه، دورهٔ دوم: نهال‌های دوماهه و دورهٔ سوم: نهال‌های سه‌ماهه است)



ادامهٔ شکل ۱. مقایسهٔ میانگین توکی صفات رویشی اندام‌های هوایی و ریشه‌زایی نهال‌های تلقیح‌شده با باکتری ریزوسفری (میانگین ± اشتباه معیار، دوره‌های مختلف رشد بیانگر دورهٔ اول: نهال‌های یک‌ماهه، دورهٔ دوم: نهال‌های دوماهه و دورهٔ سوم: نهال‌های سه‌ماهه است)

جدول ۴. همبستگی پیرسون بین صفات رویشی اندام‌های هوایی و ریشه‌زایی نهال‌های بیوپرایمینگ‌شده با باکتری.

همبستگی پیرسون	ارتفاع	قطر یقه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک‌ریشه	طول ریشه	حجم ریشه	سطح ریشه
ارتفاع	۱								
قطر یقه	۰/۸۵**	۱							
وزن تر ساقه	۰/۹۴**	۰/۹۱**	۱						
وزن خشک ساقه	۰/۵۹**	۰/۴۶ ns	۰/۵۰ *	۱					
وزن تر ریشه	۰/۸۹**	۰/۹۴**	۰/۹۳ **	۰/۵۰ *	۱				
وزن خشک ریشه	۰/۷۶**	۰/۹۰**	۰/۸۰ **	۰/۷۳ **	۰/۸۸ **	۱			
طول ریشه	۰/۱۳ns	۰/۲۹ns	۰/۳۰ ns	۰/۰۳ ns	۰/۳۶ ns	۰/۲۶ ns	۱		
حجم ریشه	۰/۷۳**	۰/۵۳*	۰/۶۸ **	۰/۳۸ ns	۰/۵۴ *	۰/۴۳ ns	۰/۱۵ ns	۱	
سطح ریشه	۰/۷۹**	۰/۶۴**	۰/۷۷ **	۰/۳۲ ns	۰/۶۷ **	۰/۵۰ *	۰/۱۶ ns	۰/۹۵ **	۱

■ بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش پیش رو، پرایمینگ ریزوباکتریایی با P.putida به‌منظور بهبود پارامترهای رشد اندام هوایی و ریشهٔ نهال استبرق در شرایط نهالستانی بررسی شده است. نتایج آزمایش نشان داد که باکتری P.putida موجب افزایش رشد استبرق در دوره‌های زمانی مختلف شده است (جدول ۳). کاربرد پرایمینگ باکتریایی منجر به افزایش معنی‌دار در ارتفاع (۲۶٪/۷۵)، قطر

یقه (۲۳٪/۱) و بیومس نهال (۱۰۵٪/۲) شده است. Karličid و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که تلقیح باکتری محرک موجب افزایش ویژگی‌های رویشی نهال‌های *Pinus sylvestris* L و *Robinia pseudoacacia* L شده است.

در توافق با تحقیقات Hasani و همکاران (۲۰۱۲) بر روی پسته، نتایج پژوهش حاضر سبب افزایش معنی‌دار اندام هوایی، وزن ریشه و حجم ریشه شده است. این اثرات مثبت ممکن است با ظرفیت باکتری در سنتز ایندول استیک اسید که خود سبب توسعهٔ ریشه، جذب عناصر معدنی و تحریک غیرمستقیم رشد گیاه می‌شود ارتباط داده شود.

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که باکتری محرک رشد سبب افزایش بیومس ریشه (۶۳٪/۵۴)، حجم ریشه (۸۵۹٪/۳) و سطح ریشه (۸۳۰٪/۸) شده است. در راستای پژوهش حاضر، نتایج مشابهی توسط Rincon و همکاران (۲۰۱۹) بر روی نهال‌های کاج و بلوط تلقیح‌شده با باکتری‌های محرک رشد گزارش شده است.

پژوهش حاضر تنها بر رشد این نهال‌ها طی بازهٔ زمانی سه‌ماهه انجام‌شده است و بسیاری از این متغیرها ممکن است در زمان طولانی‌تر حتی تأثیر معنی‌دار باکتری را بهتر نشان دهند. طول ریشه با افزایش دورهٔ زمانی روند ثابتی داشته است و هیچ‌گونه تغییرات معنی‌داری نداشته است. به‌طوری‌که میانگین طول ریشهٔ نهال‌های تیمارشده در مقایسه با شاهد در تمام طول دورهٔ رشد تفاوت معنی‌داری نشان نداده است. این در حالی است که حجم و سطح ریشه در نهال تلقیح‌شدهٔ باکتریایی با افزایش دورهٔ زمانی دوماهه، روند صعودی دارد و سپس در دورهٔ سه‌ماهه روند ثابت شده است. دلیل این امر را می‌توان به در دسترس قرارگرفتن عناصر غذایی ضروری گیاه و تولید هورمون‌های رشد گیاهی، تحت تأثیر این باکتری‌ها نسبت داد (۳ و ۳۲). گیاه زمانی طول ریشه را افزایش می‌دهد که نیازمند دسترسی به مواد غذایی و یا آب باشد و یا تحت تنش محیطی قرار گرفته باشد (۳۱). به‌عبارتی همزیستی گیاه با باکتری سبب افزایش دسترسی ریشهٔ گیاه به عناصر غذایی و جذب بهتر آن در اطراف ریزوسفر نهال استبرق‌شده و ریشهٔ گیاه در سطح خاک بیشتر توسعه پیدا کرده است. اما حجم و سطح ریشه در تلقیح باکتری افزایش یافته تا با جذب بیشتر مواد غذایی، گیاه را قادر به توسعهٔ بیشتر اندام‌های هوایی کند.

یافته‌های این بخش از تحقیق حاضر، با نتایج پژوهش‌هایی بر بهبود رشد نهال کاج حلب (*Pinus halepensis* Mill) (۱۲)، پسته (*Pistacia vera* L) (۲۲) و نهال‌های فندق (*Corylus avellana* L) (۲۵)، هم‌خوانی و مطابقت داشت. در بسیاری از تحقیقات اشاره شده که باکتری‌های سودوموناس از طریق تولید فیتوهورمون‌ها، ازجمله اکسین، جیبرلین و سیتوکنین و همچنین اسیدهای آمینهٔ خاص باعث بهبود رشد گیاه می‌شود. به‌طوری‌که این باکتری‌ها ظرفیت بالایی در حلالیت فسفر و تولید آهن بَرها[1] دارند (۳۲). بنابراین افزایش رشد ناشی از باکتری‌ها را می‌توان به تولید ایندول استیک اسید و افزایش فسفر قابل حل نسبت داد (۳). روند عملکردها در بسیاری از شاخص‌های اندام هوایی و ریشه با گذر زمان در ماه‌های دوم و حتی سوم با توجه به فیزیولوژی و سرشت گیاه در راستای تخصیص بیومس و رشد در نوسان بوده است (۳۱).

نتایج تحقیق انجام‌شده روی گیاه فندق نشان داده است که باکتری‌های جنس باسیلوس، سودوموناس و اینتروباکتر علاوه‌بر تثبیت زیستی نیتروژن، محلول‌کردن فسفر خاک و تولید مقادیر فراوانی از تنظیم‌کننده‌های رشد به‌ویژه اکسین‌ها و جیبرلین‌ها، بر تخصیص مادهٔ خشک گیاه در بخش هوایی و ریشه اثرگذارند. به‌طوری‌که گزارش شده بذرهای فندق تلقیح‌شده با سویه‌های مختلف این باکتری‌ها به‌طور منفرد و در ترکیب با یکدیگر باعث افزایش وزن خشک و تر گیاه می‌گردد (۲۵).

در پژوهش حاضر مشاهده شد که نهال‌های حاصل از پرایمینگ باکتریایی، بیشتر به توسعهٔ حجم و سطح

1 Siderophores

ریشهٔ خود در قیاس با طول ریشه، مبادرت ورزیده که درنهایت منجر به افزایش رشد اندام‌های هوایی ازجمله ارتفاع، قطر یقه و وزن تر و خشک شده است.

یکی از دلایلی که موجب افزایش شاخص‌های رشد در تیمارهای باکتریایی گردیده است، می‌توان به توان تولید ترکیبات و مواد سوخت‌وسازی (متابولیتی)، ازجمله هورمون ایندول استیک اسید۱، آهن برها، آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دآمیناز۲، حل-کنندگی فسفات و غیره اشاره کرد که باکتری‌های ریزوسفری در اختیار گیاه قرار می‌دهند و با افزایش این مواد و ترکیب‌ها در منطقه مؤثر ریشه یا ریزوسفر منجر به افزایش صفت‌های رشدی گیاه می‌شوند (۶).

این در حالی است که افزایش رشد ارتفاعی و قطری یقهٔ نونهال‌ها می‌تواند به تولید هورمون‌ها در جدایه‌های باکتری‌های محرک رشد در ریزوسفر نهال‌ها نسبت داده شود (۱۴). در بین تنظیم‌کننده‌های رشد که توسط باکتری تولید و ترشح می‌شوند، اکسین‌ها، به‌ویژه ایندول استیک اسید، نقش بسیار مؤثری در افزایش طول سلول‌های گیاهی، تحریک تقسیم سلولی و تمایز در گیاه دارند (۳۲).

همچنین می‌توان اظهار داشت که افزایش اندام هوایی نشان‌دهندهٔ افزایش آماس سلولی، سرعت تقسیم و گسترش سلول‌هاست که با افزایش سطح جذب ریشه و جمع‌آوری آب توسط ریشه انجام می‌شود (۳۱). این باکتری به‌واسطهٔ تولید هورمون ایندول استیک اسید و مصرف آنزیم آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلات دآمیناز نیز سبب تشکیل ریشه‌های طویل‌تر و بهبود جذب آب از اعماق خاک می‌شوند و کارایی استفاده از آب را برای توسعهٔ اندام هوایی و بیومس گیاه از طریق افزایش دسترسی گیاه به عناصر غذایی به‌ویژه فسفر بیشتر می‌کنند (۶).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که باکتری مورد آزمایش سبب افزایش بیومس ریشه و اندام هوایی نهال استبرق‌شده است. به‌طوری‌که باکتری سودوموناس بیومس ریشه و حجم ریشه را به‌ترتیب ۶۳/۵۴٪ و ۸۵۹٪/۳ در مقایسه با شاهد افزایش داد. دراین‌باره می‌توان گفت که اکسین تولیدشده به‌وسیلهٔ باکتری در محیط ریشه می‌تواند با سنتز آنزیم ACC دآمیناز باعث کاهش تولید اتیلن شود و از این طریق رشد ریشه را تحریک کند (۱۴).

به‌طورکلی، سودوموناس‌ها متابولیت‌های متعددی از قبیل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و ویتامین‌ها تولید می‌کنند که بر رشد گیاه و میکروارگانیسم‌های موجود در خاک اثر می‌گذارد (۶، ۱۴).

به‌طورکلی باکتری *P.putida* از طریق سنتز فیتوکروم‌ها، افزایش فراهمی مواد غذایی در ریزوسفر، آسان‌کردن جذب مواد غذایی، کاهش سمیت فلزات سنگین و جلوگیری از عامل بیماری‌زا و القای مقاومت سیستماتیک، رشد ریشه و ساقهٔ گیاه را افزایش می‌دهند (۳۲).

از آنجا که یکی از موارد مهم برای موفقیت احیای اراضی بیابانی، تولید نهال‌های قوی و سالم در نهالستان است، برخی ویژگی‌های نهال‌ها در ارزیابی بنیه و شانس موفقیت استقرار آن‌ها در عرصه اهمیت دارد. شاخص کیفی نهال به‌عنوان معیاری در ارزیابی کیفیت نونهال و نیز استقرار آن در عرصه محسوب می‌شود. در نتایج ما شاخص کیفی نهال در تیمار باکتریایی در مقایسه با شاهد افزایش چشمگیری داشته است و بیشترین مقدار آن (۰/۸۵) در تلقیح با باکتری به دست آمد. به‌طورکلی، تجهیز ریشهٔ نونهال‌های استبرق با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند به‌عنوان راهکاری بیولوژیک و پایدار برای تولید نهال سالم و قوی در نهالستان گرمسیری و همچنین استقرار و موفقیت نهال‌کاری در رویشگاه تخریب‌یافتهٔ این گونه باشد.

■ سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از همکاری موسسهٔ تحقیقات خاک و آب کشور، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر و دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان و همچنین از حمایت علمی و پژوهشی سرکار خانم دکتر راضیه صالح‌پور نهایت سپاسگزاری و قدردانی را به عمل آورند.

1 Indole-3-acetic acid
2 Aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase

■ References

1. Ahmad, N., Anwar, F., Hameed, S., & Boyce, M.C. (2011). Antioxidant and antimicrobial attributes of different solvent extracts from leaves and flowers of *Calotropis procera* (Ait.). *Journal of Medicinal Plants Research*, *5* (19), 4879-4887.
2. AOSA (Association of Official Seed Analysts). (1981). Rules for testing seeds. *Seed Technology*, *6* (2), 1–126.
3. Ashrafuzzaman, M., Hossein, F.A., Razi Ismail, M., Anamul Hoque, M.D., Zahurul Islam, M., Shahidullah, S.M., & Meon, S. (2009). Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology*, *8* (7), 1247-1252.
4. Atkinson, D. (2000). Root characteristics: why and what to measure. In: Root Methods, Springer, 32 pages.
5. Azarmi, F., Mozaffari, V., Abbaszadeh Dehaji, P., & Hamidipour, M. (2015). Isolation and evaluation of plant growth promoting indices of *Pseudomonas fluorescens* isolated from Pistachio rhizosphere. *Journal of Soil Biology*, *2* (2), 173-186. (in Farsi)
6. Banerjee, M.R., Yesmin, L., & Vessey, J. K. (2006). Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. In Rai, M. K. (Ed.), Handbook of microbial biofertilizers. Food Production Press, U.S.A., pp.137-181.
7. Bahmani Jafarlou, M., Pilehvar, B., Modaressi, M., & Mohammadi, M. (2020). The Effect of Different Seawater Ratios on Germination Indices and Morpho-Physiological Traits of Milkweed in Vitro and Nursery Conditions. *Journal of Desert Management*, *7* (14), 133-148(In Farsi).
8. Bahmani, M., Jalali, GH., & Tabari Kouchaksaraie, M. (2016). Effect of Inoculation Growth Promotion Bacterium *Pseudomonas putida* on Tolerance to Salinity of Calotropis procera Ait. Seedlings. *Arid Biome Scientific and Research Journal*. *6* (1), 81-94. (in Farsi)
9. Bahmani Jafarlou, M., Pilehvar, B., Modarresi, M., & Mohammadi, M. (2018). Comparison on Efficiency of Arbuscolar Mycorrhizal Fungus and Plant Growth Promotion Rhizobacterium Inoculum on Nutrition Elements Concentration and Seedling Quality Indices of *Calotropis Procera*. *Journal of Desert Management*. *6* (11), 51-64. (in Farsi)
10. Boutraa, T. (2010). Growth performance and biomass partitioning of the desert shrub *Calotropis procera* under water stress conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *6* (1), 20-26.
11. Dickson, A., Leaf, A.L., & Hosner, J.F. (1960). Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in Nurseries. *The Forestry Chronicle*, *36* (1), 10–13.
12. Dominguez-Nuñez, J.A., Delgado-Alvez, D., Berrocal-Lobo, M., Anriquez, A., & Albanesi, A. (2014). Controlled-release fertilizers combined with Pseudomonas fluorescens rhizobacteria inoculum improve growth in Pinus halepensis seedlings. *IForest-Biogeosciences and Forestry*, *8* (1), 367-379.
13. Du Preez, D. R., & Bate, G. C. (1989). A simple method for the quantitative recovery of nitrate-N during Kjeldahl analysis of dry soil and plant samples. *Communications in soil science and plant analysis*, *20* (3), 345-357.
14. Glick, B.R., Jacobson, C.B., Schwarze, M.M.K., & Pasternak, J.J. (1994). 1aminocycloprpane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Canadian Journal of Microbiology*, *40* (11), 911-915.

15. Golestaneh, S. R., Askari, H., Goldasteh, S.H., Dousti Mozaffari, A., & Farrar, N. (2009). A study on the life cycle of *Danaus chrysippus* L. (lep): Nymphalidae) in Bushehr, Iran. *Journal of Entomological Research*, *1* (1), 1-11. (in Farsi)

16. Hasani, G., Akhgar, A.A.R., & Tajabadpour, A. (2012). Effectiveness of IAA and ACC - Deaminaze producing *Pseudomonas fluorescent* on Growth of Pistachio seedling. *Iranian Journal of Soil Research*, *26* (1), 89 – 97 (In Persian).

17. Jain, D., Rathore, K.S., Jain, R., Singh, H., Kachhwaha, S., & Kothari, S. L. (2013). Phytofabrication of Iron Oxide Nanoparticles Using *Calotropis Gigantea* L. *Advanced Science Focus*, *1* (4), 318-321.

18. Karličid, V., Radid, D., JovičidPetrovid J., Golubovid-Durguz, V., Kikovid, D. and Raičevid, V. (2015). Inoculation of *Robinia pseudoacacia* L. and *Pinus sylvestris* L. seedlings with plant growth promoting bacteria. International Conference Reforestation Challenges, Belgrade, Serbia, 3-6 June 42-49.

19. Khaef, N., Enjavie Mosavie, F., & Alsadat Badihie, R. (2013). The effects of salt stress on germination of *Calotropis procera* L. seeds. *Journal of environmental stresses in crop sciences*, *6* (1), 91-95. (in Farsi)

20. Khaef, N., Taghvaei, M., Sadeghei, H., & Niazi, A. (2011). Effect of light and temperature on seed germination of *Calotropis procera* L. *Journal of Rangeland*, *5* (1), 19-26. (in Farsi)

21. Kumar, P.S., Suresh, E., & Kalavathy, S. (2013). Review on a Potential Herb *Calotropis gigantea* (L.) R. Br. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, *2* (2), 135-143.

22. Najafi A., Ardakani, M.R., Rejali, F., & Sajedi, N.A. (2012). Response of Winter Barely to Co-Inoculation with Azotobacter and Mycorrhiza Fungi Influenced by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Annals of Biological Research*, *3* (8), 4002-4006.

23. Rahman, M.A., & Wilcock, C. C. (1991). A taxonomic revision of Calotropis (Asclepiadaceae). *Nordic Journal of Botany*, *11* (3), 301-308.

24. Rincon, A., Valladares, F, Teresa, E. Gimeno, T.E., Pueyo, J.J. (2008). Water stress responses of two Mediterranean tree species influenced by native soil microorganisms and inoculation with a plant growth promoting rhizobacterium. *Tree Physiology*, *28*, 1693–1701.

25. Rostamikia, Y., Tabari Kouchaksaraei M., Asgharzadeh, A., Rahmani, A. (2017). Effect of Growth Promoting Rhizobacteria on Growth and Nutrient Elements of Common Hazelnut (*Corylus Avellana* L.) Seedlings in Ardabil Fandoqlou Nursery. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, *25*(1), 116-126. (in Farsi)

26. Saxton, K.E., Rawls, W.J., Romberger, J.S., & papendick, R.I. (1986). Estimating generalized soil water characteristics from texture. *Soil Scientific of Social American Journal*, *50* (4), 1031-1036.

27. Seyed sharifi, R., & Nazarli, H. (2013). Effects of Nitrogen and Seed Biopriming with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on yield, Rate and Effective Grain Filling Period of Sunflower (*Helianthus annus* L.). *Agriculture and sustainable production*, *23* (2), 20-36.

28. Sharma, R., Thakur, G.S., Sanodiya, B.S., Savita, A., Pandey, M., Sharma, A., & Bisen, P. S. (2012). Therapeutic Potential of *Calotropis procera*: A giant milkweed. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, *4* (2), 42-57.

29. Sherif, S., & Hindi, Z. (2013). *Calotropis Procera*: The Miracle Shrub in the Arabian Peninsula. *International Journal of Science and Engineering Investigations*, *2* (16), 48-57.

30. Taghvaei M., Khaef, N., & Sadeghi, H. (2012). The effects of salt stress and prime on germination improvement and seedling growth of *Calotropis procera* L. seeds. *Journal of Ecology and field biology*, *35* (2), 73-78.

31. Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). Plant physiology, Sinauer Associates, Inc.; Fifth edition, 782 pages.

32. Toro, M., Azcon, R., & Barea, J. M. (1997). Improvement of arbuscular mycorrhizal development by inoculation with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (32P) and nutrient cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, *63* (11), 4408-4412.

33. Zeinali bafghi, M., Gholamnezhad, J., Esmaeilzadeh-Hosseini, SA., Shirmardi, M., & Jafari, A. (2019). Influence of gowth promoting bacteria on gowth and physiological characters of pistachio in saline soils. *Horticulture Nutrition*, *2*(2), 107-129. (in Farsi)