اثر پرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد بر خصوصیات کیفی گیاه دارویی گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

فاطمه شیخی[1]، عبدالرزاق دانش‌شهرکی[2]، محمد رفیعی‌الحسینی[2] و بهناز صفار[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، fatemehsheikhi10@yahoo.com

۲- استادیار گروه مهندسی زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۳- استادیار گروه ژنتیک دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

پژوهشکده بیوتکنولوژی دانشگاه شهرکرد

به منظور بررسی اثر پرایمینگ بذر گیاه دارویی گل همیشه بهار با باکتری‌های محرک رشد بر خصوصیات کیفی آن، این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل پرایمینگ بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاه شامل ردوکوکوس (*Rhodococus* sp.)، کورینه باکتریوم (*Corynebacterium* sp.)، مایکوباکتریوم (*Mycobacterium* sp.)، باسیلوس (*Bacillus* sp.)، ازتوباکتر (*Azotobacter* sp.)، سودموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*)، سودموناس فلورسنس (*Pseudomonas florescence*)، مخلوطی از همه باکتری‌ها و عدم تلقیح با باکتری به عنوان شاهد بودند. تلقیح بذور با باکتری‌ها سبب افزایش معنی‌دار خصوصیات کیفی گردید. به طوری که تلقیح بذور با باکتری سودموناس پوتیدا سبب افزایش معنی‌دار عملکرد بیولوژیک شده و استعمال باکتری باسیلوس سبب افزایش معنی‌دار عملکرد گل گردیده و باکتری مایکوباکتریوم نیز سبب افزایش شاخص برداشت گل شد. تلقیح بذور با مخلوطی از همه باکتری‌ها نیز سبب افزایش معنی‌دار میزان اسانس گل گردید.

واژه‌های کلیدی : باکتری‌های محرک رشد (PGPR)، گل همیشه بهار، پرایمینگ بذر، عملکرد بیولوژیک، درصد اسانس

مقدمه

همیشه بهار (*Calendula officinalis*) گیاهی یک ساله با گل‌های زرد یا نارنجی است و دارای عطر یا مزه مشخصی می‌باشد که به وسیله منوسزکوئی ترپن‌ها و روغن‌های فرار ایجاد می‌شود و در بسیاری از موارد دلیل کاربرد آنها در طب می‌باشد (خلید وتکزیرا، ۲۰۱۲). گل و برگ گل همیشه بهار در باغبانی، داروسازی، محصولات آرایشی، محصولات مراقبت از پوست، صنایع غذایی و سایر صنایع استفاده می‌شود (بریماوندی و همکاران، ۲۰۱۱). پرایمینگ بذر یک روش ساده است که باعث افزایش قدرت و استقرار گیاهچه و به دنبال آن افزایش عملکرد گیاه در مزرعه می‌گردد (انتصاری و همکاران، ۲۰۱۳). باکتری‌های محرک رشد از راه‌های مختلفی از جمله تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفورهای آزاد کننده آهن، تولید هورمون‌های گیاهی، سنتز آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات قارچ کش رشد گیاهان را بهبود می‌بخشند (زاید و همکاران، ۲۰۰۳). این آزمایش جهت ارزیابی و تخمین اثر تلقیح بذر گیاه دارویی گل همیشه بهار با تعدادی از باکتری‌های محرک رشد بر خصوصیات کیفی این گیاه اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد در تیر ماه ۱۳۹۲ آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در گلخانه‌های پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام شد. تیمارها شامل تلقیح بذور گیاه دارویی همیشه بهار با باکتری‌های محرک رشد شامل ردوکوکوس(*Rhodococus* sp.)، کورینه باکتریوم (*Corynebacterium* sp.)، مایکوباکتریوم (*Mycobacterium* sp.)، باسیلوس (*Bacillus* sp.)، ازتوباکتر (*Azotobacter* sp.)، سودموناس پوتیدا (*Pseudomonas putida*)، سودموناس فلورسنس (*Pseudomonas florescence*)، مخلوطی از همه باکتری‌ها و عدم تلقیح با باکتری به عنوان شاهد بود. به منظور ضد عفونی بذور آنها را به مدت ۱۰ ثانیه در الکل اتانول ۷۰٪ و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۲ درصد هیپو کلرید کلسیم قرار داده، سپس با

توجه به نیازهای جوانه‌زنی گیاه (ایستا، ۲۰۱۱) بذرهای ضد عفونی شده را به مدت ۴۸ ساعت در محلول KNO_3 ۲٪ در انکوباتور با دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از آن بذور به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه خشک شدند.

ابتدا از هر باکتری سوسپانسیونی با میزان جذب ۰/۵ درطول موج ۶۰۰ نانومتر تهیه شده سپس بذور مربوط به هر تیمار به مدت یک ساعت در سوسپانسیون قرار داده شدند. گلدان‌ها با ۵ کیلوگرم خاک مزرعه پر شده و کشت بذور با عمق کاشت ۲ سانتی‌متر و با تراکم ۳ بوته در هر گلدان انجام شد. آبیاری به صورت منظم و بدون تنش خشکی انجام گرفت. کود دهی با توجه به نیاز کودی گیاه و خاک، که طی آنالیز نمونه خاک مورد استفاده تخمین زده شد، انجام گرفت. طی دوران رشد گل‌های کاملا" رشد کرده مربوط به هر گلدان چیده شده و در تاریکی خشک گردید. پس از اتمام دوره رشدی گیاه، برداشت انجام شده و خصوصیات کیفی شامل عملکرد بیولوژیک، عملکرد گل، شاخص برداشت گل و میزان اسانس گل اندازه گیری شد. اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های مربوطه پس از خشک کردن آنها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتیگراد و سپس توزین با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ انجام شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در جدول شماره ۱ و مقایسات میانگین نتایج تلقیح باکتری‌ها بر صفات مورد نظر در جدول شماره ۲ آورده شده است.نشان داده شده است. به طوری که بر اساس جدول ۲ بیشترین عملکرد بیولوژیک مربوط به تیمار باکتریایی سودموناس پوتیدا و پس از آن ازتوباکتر، باسیلوس و ردوکوکوس بود (جدول ۲). بیشترین عملکرد گل مربوط به تیمار باکتریایی باسیلوس و پس از آن ازتوباکتر، سودموناس پوتیدا و سودموناس فلورسنس می‌باشد (جدول ۲). بیشترین شاخص برداشت گل مربوط به تیمار مایکوباکتریوم و پس از آن ردوکوکوس، باسیلوس و سودموناس فلورسنس است (جدول ۲). بیشترین میزان اسانس مربوط به تیمار همه باکتری‌ها و پس از آن کورینه باکتریوم، سودموناس پوتیدا و ازتوباکتر می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۱: تجزیه واریانس تعدادی از صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمارهای باکتریایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد بیولوژیک	عملکرد گل	شاخص برداشت گل	میزان اسانس
تکرار	۳	۴/۰۶۳ n.s	۰/۰۰۱ n.s	۰/۱۸۸ n.s	۰/۰۰۰ n.s
تیمار	۸	۴۶/۹۰۷ **	۰/۲۰۶ **	۲/۸۳۹ **	۰/۰۱۶ **
خطا	۲۴	۲/۳۱۴	۰/۰۱۱	۰/۲۱۳	۰/۰۰۰

جدول ۲: مقایسه میانگین تعدادی از صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمارهای باکتریایی

میانگین	عملکرد بیولوژیک (میلی‌گرم)	عملکرد گل (میلی‌گرم)	شاخص برداشت گل	میزان اسانس (٪)
control	۲۲/۸۲d	۱/۰۸۳c	۴/۸۲e	۰/۱۵۲d
Rhodococus sp.	۲۵/۴۳bc	۱/۶۲۸c	۶/۴۰b	۰/۱۱۵e
Corynebacterium sp.	۲۲/۴۲d	۱/۰۹۷c	۴/۸۹de	۰/۲۱۲b
Mycobacterium sp.	۱۹/۷۲e	۱/۴۲۸c	۷/۲۵a	۰/۰۷۷f
Bacillus sp.	۲۵/۴۰bc	۱/۴۲۶a	۵/۶۱c	۰/۱۱۷e
Azotobacter sp.	۲۷/۵۵ab	۱/۳۹۶b	۵/۰۷cde	۰/۱۷۷c
Pseudomonas putida	۲۷/۷۲a	۱/۳۱۲b	۴/۷۳e	۰/۲۰۵b
Pseudomonas florecence	۲۴/۶۴cd	۱/۳۶۹b	۵/۵۶cd	۰/۱۵۲d
All bacteria	۱۷/۵۵f	۰/۸۸۷ c	۵/۰۹cde	۰/۲۹۲a

در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌توان بیان نمود که باکتری‌های محرک رشد به خصوص سودموناس پوتیدا و پس از سودموناس فلورسنس، ازتوباکتر و باسیلوس با استفاده از مکانیزم‌های خاص و تولید هورمون‌ها و آنزیم‌ها سبب بهبود رشد گیاه و خصوصیات کیفی آن می‌گردد و می‌توان از آنها جهت بهبود تولید این گیاه استفاده نمود.

منابع

1. **Berimavandi A.R**. **Hashemabadi D**. **Facouri Ghaziani M.V** and **Kaviani B**. **2011**. Effects of plant density and sowing date on the growth, flowering and quantity of essential oil of *Calendula officinalis* L. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(20), pp. 5110-5115.

2. **Entesari M**. **Sharifzadeh F**. **Ahmadzadeh M** and **Farhangfar M**. **2013**. Seed Biopriming with *Trichoderma* Species and *Pseudomonas fluorescent* on Growth Parameters, Enzymes Activity and Nutritional Status of Soybean. International Journal of Agronomy and Plant Production. Vol., 4 (4), 610-619

3. **Khalid A** and **Teixeira da Silva J**. **2012**. Biology of *calendula officinalis* Linn.:Focus on Pharmacology,Biological Activities and Agronomic Practices. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotecnology 6(1) 12-27.

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

5. **Zaied K.A**. **Abd El- Hady A.H**. **Afify Aida.H** and **Nassef M.A**. **2003**. Yield and Nitrogen Assimilation of Winter Wheat Inoculated with New Recombinant Inoculants of Rhizobacteria. Pakistan Journal of Biological Sciences, 6: 344-358.

Effect of seed priming with growth-promoting bacteria on quality characteristics of Marigold (*Calendula officinalis*)

F. Sheikhi[1], A. Danesh-Shahraki[2], M. Rafieiolhossaini[2] and B. saffar[3]
[1]Graduate Student, Faculty of Agricultural, Shahrecord University.
[2]Assistant Professor of Department of Agronomy, Faculty of Agricultural, Shahrekord University.
[3]Assistant Professor of Genetic Department of Shahrekord University.
Biotechnology Research Institute, University of Shahrekord

Abstract
To study the Effect of seed priming of Marigold seeds with growth-promoting bacteria on quality of *Calendula officinalis*, this research was conducted using a randomized complete block design with four replication and 9 treatments in the research greenhouse of Shahrekord University. Treatments were include: *Rhodococus* sp., *Corynebacterium* sp., *Mycobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas florescence*,a mixture of all of bacteria and without bacteria as control. Results of this study showed that seed inoculation with bacteria significantly increased quality characteristics so that inoculation with *Pseudomonas putida* significantly increased biological yield and application of *Bacillus* sp. significantly increased flower yield. Inoculation with *Mycobacterium* sp. significantly increased harvest index flower and application of a mixture of all bacteria significantly increased flower essence level.

Key Words: plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), *Calendula officinalis*, biopriming, biological yield, essence percent.