

## تأثیر پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد بر رشد رویشی، صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه بامیه (*Abelmoschus esculentus* L.) تحت تنش دمای پایین

سمیه بهادری<sup>۱</sup>، بهروز اسماعیل پور\*<sup>۲</sup>، علی اشرف سلطانی طولارود<sup>۳</sup>، مختار حیدری<sup>۴</sup>، سرور خرم دل<sup>۵</sup>، پیمان عباس زاده دهجی<sup>۶</sup>، پریسا شیخ زاده مصدق<sup>۷</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۸/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۱۲

- ۱- کارشناس ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
  - ۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
  - ۳- استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
  - ۴- استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رامین، خوزستان
  - ۵- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
  - ۶- استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان
  - ۷- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
- \*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: behsmaiel@yahoo.com

### چکیده

در این بررسی آزمایشی در دانشگاه محقق اردبیلی به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل پیش تیمار بذر با سویه‌های ۱، ۱۰، ۱۹ و ۱۵۰ باکتری *سودوموناس پوتیدا*، سویه‌های ۶۹ و ۱۵۹ باکتری *سودوموناس فلورسنس*، تیمار تلفیقی باکتری *سودوموناس پوتیدا* سویه ۱۹ و باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه ۱۵۹ و تیمار شاهد (بدون تلقیح) بود. گیاهان تا مرحله شش برگی در گلخانه نگهداری شدند، سپس روزانه به مدت ۲۷۰ دقیقه در معرض تنش دمای پایین (دمای هشت درجه سلسیوس) قرار گرفتند و سرمادهی روزانه به مدت پنج روز ادامه یافت. پس از اعمال تنش سرما، طول و وزن خشک گیاهچه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات کل، پرولین، ثبات غشا، مقدار پروتئین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پیش تیمار با باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش طول و وزن خشک گیاهچه، صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شد. سویه‌های باکتری *سودوموناس پوتیدا* و *سودوموناس فلورسنس* از طریق افزایش پرولین، میزان کربوهیدرات محلول، و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باعث حفظ یکپارچگی غشای سلول گردیده و در نتیجه خسارت به غشا کاهش یافت. بیشترین بهبود پیش تیمار جهت کاهش اثرات تنش دمای پایین از تلقیح بذور با سویه ۱۵۰ باکتری *سودوموناس پوتیدا* و سویه ۶۹ باکتری *سودوموناس فلورسنس* حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پرولین، *سودوموناس پوتیدا*، *سودوموناس فلورسنس*

## Effects of Seed Priming with Plant Growth Promoting Bacteria on Some Physiological and Biochemical Characteristics of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Seedlings under Low Temperature Stress

S Bahadoori<sup>1</sup>, B Esmailpour<sup>2\*</sup>, AA Soltani Toolarood<sup>3</sup>, M Heidari<sup>4</sup>, S Khorramdel<sup>5</sup>, P Abasszadeh Dahaji<sup>6</sup>, P Shiekhzadeh<sup>7</sup>

Received: 24 January 2015 Accepted: 21 June 2016

1-M.Sc. of Hortic. Sci., Faculty of Agri. and Natural Res., Mohaghegh Ardabili Univ., Ardabil, Iran  
 2-Assoc. Prof. of Hortic. Sci., Faculty of Agri. and Natural Res., Mohaghegh Ardabili Univ., Ardabil, Iran  
 3- Assist. Prof. of Soil Sci., Faculty of Agri. and Natural Res., Mohaghegh Ardabili Univ., Ardabil, Iran  
 4- Assist. Prof. of Hortic. Sci., Faculty of Agri. Sci., Ramin Univ., Khouzestan, Iran  
 5- Assist. Prof. of Agro., Faculty of Agri. Sci., Ferdowsi Univ. of Mashhad, Mashhad, Iran  
 6- Assist. Prof. of Soil Sci., Faculty of Agri. Sci., Vali-e-Aser Univ., Rafsanjan, Iran  
 7- Assist. Prof. of Agro., Faculty of Agri. and Natural Res., Mohaghegh Ardabili Univ., Ardabil, Iran  
 \*Corresponding Author, Email: behsmaiel@yahoo.com

### Abstract

In this study an experiment was conducted based on completely randomized design in research greenhouse of Mohaghegh Ardabili University in 2014. Treatments consisted of inoculated seeds by *Pseudomonas putida* strains 1, 10, 19 and 150, *Pseudomonas fluorescence* strains 69 and 159, combination of strain 19 from *Pseudomonas putida* and strain 69 from *Pseudomonas fluorescence* and control (without inoculation). Plants were kept in greenhouse until six-leaf stage then exposed to low temperature stress (8 °C temperature for 270 minutes during five consecutive days). After exposing plants to low temperature stress, traits such as seedling height and dry weight, photosynthetic pigments, total carbohydrates, proline, membrane integrity, protein amount, catalase, peroxidase and poly phenol oxidase enzymes were measured. Results indicated that priming of okra seeds with plant growth promoting bacteria increased seedling height and dry weight, physiological and biochemical characteristics. *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescence* increased cell membrane integrity via increase in leaf proline content, total soluble carbohydrates and antioxidant enzymes. The greatest promotion of seedling growth under low temperature was obtained by priming of seeds with *Pseudomonas putida* strain 150 and of *Pseudomonas fluorescence* strain 69.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Proline, *Pseudomonas fluorescence*, *Pseudomonas putida*

### مقدمه

از ویتامین‌های A، B و C و عناصر معدنی مانند کلسیم، پتاسیم بوده و هم‌چنین غنی از پروتئین می‌باشد (دانشور ۱۳۸۷). بامیه از سبزی‌های فصل گرم است که گیاهچه آن در دمای ۱۰ درجه سلسیوس دچار آسیب سرمازدگی می‌شود (مارش ۱۹۹۲).

گیاهان برای رشد بهینه به محدوده دمایی خاصی احتیاج دارند و دماهای خارج از این محدوده به‌عنوان یک

توسعه غذایی با پروتئین بالا با منشا گیاهی در کشورهای در حال توسعه ضروری است، زیرا قیمت بالای پروتئین حیوانی را کاهش می‌دهد. مصرف محصولاتمانند بامیه نقش مهمی را در مبارزه با سوءتغذیه، که یک مشکل جدی در این کشورها می‌باشد، ایفا می‌کند (آمینگو و آکین‌گبالا ۲۰۰۴). بامیه منبع مهمی

تنش محسوب می‌شود. گزارش شده است که وقتی گیاه در معرض دماهای بین صفر تا ۱۵ درجه سلسیوس قرار گیرد تغییرات فیزیولوژیکی در آن به وجود می‌آید (سپانن ۲۰۰۰). نتیجه این تغییرات فیزیولوژیکی ممکن است به صورت آسیب‌های قابل برگشت و یا غیرقابل برگشت بروز نماید. ضایعات اولیه اختلالاتی هستند که در واکنش‌های متابولیسمی به صورت موقتی ایجاد می‌شوند و معمولاً در صورت رفع عامل تنش‌زا قابل برگشت می‌باشند و آسیب‌های ثانویه اختلالات متابولیسمی هستند که معمولاً پس از رفع تنش به حالت اولیه بر نمی‌گردند (آلن و اورت ۲۰۰۱). تحقیقات نشان داده است که با تغییر خصوصیات غشاء در حین تنش سرما، تعادل متابولیسمی به هم خورده و با افزایش متابولیت‌های سمی، آسیب‌های ثانوی در گیاه ایجاد می‌شود (سپانن ۲۰۰۰). یکی از مهمترین تغییرات بیوشیمیایی در گیاهان که تحت تنش‌های سرما و یخبندان ایجاد می‌شود تولید گونه‌های فعال اکسیژن در کلروپلاست و میتوکندری‌ها است (باکالووا و همکاران ۲۰۰۴، رحیم‌زاده و همکاران ۲۰۰۷). گونه‌های فعال اکسیژن شکل‌های فعالی از اکسیژن هستند که در مراحل حیاتی مانند تنفس نوری، فتوسنتز و تنفس تولید می‌شوند. رادیکال سوپراکسید در طی فتوسنتز در صورت اختلال در تجزیه آب در واکنش هیل و عدم انتقال الکترون به فتوسیستم II تشکیل می‌شود (بات چارژ ۲۰۰۵). گونه‌های فعال اکسیژن شدیداً با مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش داده و پراکسیداسیون لیپید، واسرشته شدن پروتئین و جهش در DNA را سبب می‌شوند که این امر به مختل شدن متابولیسم طبیعی گیاه و در نهایت مرگ سلول‌ها منجر می‌شود (پننی کووک و همکاران ۲۰۰۴، اسفندیاری و همکاران ۲۰۰۷). گیاهان مکانیزم‌های حفاظتی مختلفی را برای دفع یا کاهش رادیکال‌های فعال اکسیژن دارند که در سطوح مختلف تنش مؤثر است. سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدان یکی از این مکانیزم‌های حفاظتی است.

گیاهانی که از سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدان‌ها برخوردار هستند، مقاومت بیشتری به آسیب‌های اکسیداتیو نشان می‌دهند. دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند که باعث شکسته شدن پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌گردند (قربانلی و همکاران ۱۳۸۲، جاندا و همکاران ۲۰۰۵، یانگ و همکاران ۲۰۰۸). گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی، از قبیل سرما و یخبندان در مرحله سازگاری، با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی، مقاومت خویش به دمای پایین را افزایش می‌دهند. مواد تنظیم‌کننده فشار اسمزی بیشتر شامل اسیدهای آمینه، کربوهیدرات، برخی یون‌های معدنی و پروتئین‌ها هستند و پرولین یکی از اسید آمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی است (جعفری و همکاران ۱۳۸۵). امروزه فناوری‌های مختلفی در جهت ارتقای کیفیت بذر با هدف افزایش جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه تحت شرایط نامساعد محیطی توسط محققین مورد ارزیابی قرار گرفته است. یکی از این فناوری‌ها، تیمار پیش از کاشت یا پرایمینگ بذر می‌باشد (اشرف و فولاد ۲۰۰۵). پیش‌تیمار سبب تغییرات بیوشیمیایی، زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذور و همچنین گیاه حاصل از آن می‌شود، به طوری که نتیجه آن جوانه‌زنی و استقرار مناسب گیاهچه است (اشرف و فولاد ۲۰۰۵). در حال حاضر، تقویت زیستی بذر با به‌کارگیری باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه<sup>۱</sup> از جمله کارآمدترین روش‌های پیش‌تیمار بذر می‌باشد (اشرف و فولاد ۲۰۰۵). این باکتری‌ها گروه نامتجانسی از باکتری‌های ریزوسفری می‌باشند که به‌طور مستقیم با سنتز یکسری از مواد (مانند هورمون‌ها، سیدروفور، آنزیم ACC-دآمیناز و...) و تسهیل جذب عناصر غذایی و غیر مستقیم از طریق خنثی یا تعدیل نمودن اثرات مضر عوامل بیماری‌زا با تولید متابولیت‌هایی از قبیل آنتی‌بیوتیک‌ها، سیانید هیدروژن یا افزایش مقاومت گیاه

<sup>1</sup> Plant growth promoting rhizobacteria

## مواد و روش‌ها

### نحوه اعمال تیمارها و کشت گیاه در گلدان‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۳ در گروه باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی (شهر اردبیل) انجام شد. بذره‌های بامیه رقم بسنتی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت، از شرکت سپاهان رویش اصفهان تهیه گردید. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تلقیح بذور گیاه بامیه با مایه تلقیح سویه‌های ۱، ۱۰، ۱۹ و ۱۵۰ باکتری *سودوموناس پوتیدا*، سویه‌های ۶۹ و ۱۵۹ باکتری‌های *سودوموناس فلورسنس*، تیمار تلقیحی باکتری *سودوموناس پوتیدا* سویه ۱۹ و باکتری *سودوموناس فلورسنس* سویه ۱۵۹ و یک تیمار بدون تلقیح بود. باکتری‌های محرک رشد از آزمایشگاه بیولوژی دانشکده کشاورزی پردیس کرج تهیه شد و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

### آماده‌سازی مایه تلقیح

برای آماده‌سازی مایه تلقیح ابتدا هشت ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط نوترینت برات<sup>۲</sup> تهیه گردید. برای تهیه مایه تلقیح، یک کلنی خالص از هر باکتری برداشته شد و تحت شرایط استریل به ارلن مایر محتوی محیط نوترینت برات اضافه گردید. ارلن مایرهای تلقیح شده با هفت سویه باکتری همراه با یک ارلن مایر تلقیح نشده به عنوان شاهد، روی شیکر با سرعت ۱۲۰rpm و دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شدند. مایه تلقیح سویه‌های مورد مطالعه پس از ۴۸ ساعت با جمعیت  $7 \times 10^7$  عدد باکتری در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون آماده مصرف بودند.

بذره‌های بامیه قبل از انجام آزمایش با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو شدند. تعداد ۵۰ عدد بذر انتخاب و به ارلن محتوی باکتری انتقال داده شدند. سپس

میزبان نسبت به عوامل بیماری‌زا موجب بهبود شاخص‌های رشد و نمو گیاه می‌گردند (کلوپر و همکاران ۱۹۸۹، گلیک ۱۹۹۵). یکی از مکانیسم‌های مهم باکتری‌های محرک رشد که در دهه‌های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است توانایی تولید آنزیم ACC – دامیناز می‌باشد. گزارشات حاکی از آن است که هر باکتری که دارای فعالیت آنزیم ACC – دامیناز بیش از ۲۰ نانومول  $\alpha$ -کتوبوتیرات بر میلی گرم در ساعت باشد، باکتری محرک رشد گیاه بوده و می‌تواند شاخص‌های رشد گیاه را افزایش دهد (کلوپر و همکاران ۱۹۸۹). مایه‌زنی گیاه با باکتری‌های PGPR دارای توانایی تولید این آنزیم می‌تواند در کاهش سطح اتیلن تنشی در گیاه و در نتیجه کاهش اثرات منفی آن مؤثر باشند. باکتری‌های محرک رشد با چنین توانایی می‌توانند گیاهان را در برابر اثرات مضر تنش‌های محیطی چون فلزات سنگین، شرایط غرقابی، پاتوژنهای گیاهی، خشکی و شوری محافظت کنند. باکتری‌های جنس *سودوموناس* یکی از انواع مهم باکتری‌های محرک رشد گیاهی تولید کننده آنزیم ACC – دامیناز بوده که با خنثی یا تعدیل نمودن عوامل ایجاد کننده تنش باعث افزایش عملکرد محصول می‌گردند (نانداکومار و همکاران ۲۰۰۱). در ایران علی رغم تحقیقات گسترده انجام شده در خصوص نقش باکتری‌های محرک رشد گیاهی در افزایش رشد و عملکرد محصولات زراعی، پژوهش‌های صورت گرفته در زمینه نقش باکتری‌های محرک رشد تولید کننده آنزیم ACC – دامیناز در کاهش اثرات مضر عوامل تنش‌زای گیاهی خیلی محدود می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر گونه‌های مختلف *سودوموناس*‌های فلورسنت دارای فعالیت آنزیم ACC دامیناز و توانایی تولید اکسین، بر شاخص‌های مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بامیه تحت تنش دمای پایین انجام شد.

<sup>2</sup> Nutrient Broth

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کارتنوئیدها) بر اساس روش پیشنهادی آرنون (۱۹۴۹) انجام شد. در این روش رنگیزه‌ها با استفاده از استون ۸۰ درصد استخراج شدند و غلظت آنها براساس روابط زیر محاسبه گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه می‌گردد.

$$\text{Chla} = (A_{663/2} - (2/798) (A_{646/8})) - (12/25) (A_{663/2})$$

$$\text{Chlb} = (A_{663/2}) (A_{646/8}) - (5/1) (A_{663/2})$$

$$\text{ChIT} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Cartenoide} = (1000 A_{670} - 1/8 \text{Chla} - 85/02 \text{Chlb}) / 198$$

A: جذب طول موج

Chla: کلروفیل a

Chlb: کلروفیل b

ChIT: کلروفیل کل

Cartenoide: کارتنوئید

#### اندازه‌گیری مقدار پرولین

اندازه‌گیری مقدار پرولین با استفاده از معرف ناین هیدرین بر اساس روش پیشنهادی بیتس (۱۹۷۳) انجام گرفت. در این روش از معرف ناین هیدرین و اسید استیک گلاسیال برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه گزارش گردید.

#### اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول با استفاده از روش ایریگوئن و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. ابتدا عصاره الکلی از برگ‌ها تهیه شد. بدین صورت که، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت نگهداری شده در یخچال ۷۰- برداشته و در هاون چینی کاملاً هموژن گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ به آن اضافه و به لوله آزمایش درب‌دار منتقل شده و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. مایع رویی جدا و به لوله دیگر منتقل شده و سپس دو بار و در هر بار ۵ میلی‌لیتر لیتر اتانول ۷۰٪ به بخش جامد باقی مانده اضافه و کاملاً شستشو گردید و بخش مایع رویی به لوله آزمایش منتقل شده و در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمد (کلیه موارد فوق در حمام یخ و نور کم انجام شد). عصاره‌ی حاصل، به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه

به هر ارلن سوسپانسیون یک نوع از باکتری‌ها اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه بذرها در محلول باکتری غوطه‌ور شدند تا عمل تلقیح به‌طور کامل انجام گیرد. بذرهای تیمار شاهد در محیط کشت مایع بدون حضور باکتری قرار داده شدند. بعد از عمل تلقیح بذور روی ورقه آلومینیمی استریل تا حدودی خشک شدند، سپس پتری دیش‌های محتوی بذور به ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و مدت روشنایی ۱۲ ساعت منتقل شدند. بذور پس از خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر به گلدان‌هایی پلاستیکی یک‌بار مصرف، حاوی پیت‌ماس و پرلیت با نسبت‌های چهار به یک منتقل شدند. و گلدان‌ها برای رشد در داخل گلخانه با دمای  $20 \pm 2$  درجه سلسیوس قرار داده شدند و آبیاری گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار بدون محلول غذایی صورت گرفت. در مرحله دو یا سه برگی، گیاهچه در گلدان‌های بزرگتر حاوی خاک، ماسه و کود دامی به نسبت ۲:۱:۱ کاشته شده و پس از اینکه گیاهان به مرحله شش‌برگی رسیدند، جهت جلوگیری از شوک سرمایی به مدت دو روز در شرایط دمایی ۱۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سرما در اتاقک رشد ۸ درجه سلسیوس، روزانه به مدت ۲۷۰ دقیقه اعمال و سرمادهی روزانه به مدت ۵ روز ادامه یافت. پس از تیمار گیاهچه‌ها، گلدان‌های حاوی گیاهچه به گلخانه با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و با دمای متوسط ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. یک روز بعد از پایان تیمار سرما، بوته‌ها از محل طوقه برداشت و برخی شاخص‌های رشد مورد بررسی قرار گرفت.

#### اندازه‌گیری طول و وزن خشک گیاهچه

طول گیاهچه با استفاده از خط‌کش در سه تکرار بر اساس سانتی‌متر اندازه‌گیری گردید. وزن خشک گیاهچه با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

#### اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

آنزیم پلی فنل اکسیداز: ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی را در ۱/۵ میلی لیتر تریس ۰/۲ مولار و ۰/۳ میلی لیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار حل نموده و میزان جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر یادداشت شد.

آنزیم پراکسیداز: ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی را در ۲/۵ میلی لیتر بافر استخراج که شامل بافر تریس ۱۰۰ میلی مولار و آب اکسیژنه پنج میلی مولار و پیروگالل ۱۰ میلی مولار بود، منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر رسم شد.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار 9.1 SAS انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت.

### نتایج و بحث

#### طول و وزن خشک گیاهچه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاهی بر طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه بامیه رقم بسنتی در شرایط تنش دمای پایین در سطح احتمال پنج درصد معنی دار شد. طبق جدول ۲، بیشترین طول گیاهچه (۳۵/۸ سانتی متر) در پیش تیمار بذر بامیه با سویه ۱۹ باکتری *سودوموناس پوتیدا* حاصل شد که نسبت به شاهد، سویه ۱۵۰ *سودوموناس پوتیدا* و سویه ۶۹ باکتری *سودوموناس فلورسنس* اختلاف معنی دار نشان داد و کمترین طول گیاهچه (۲۲/۰ سانتی متر) مربوط به شاهد بود.

آلن و اورت (۲۰۰۱) گزارش دادند که گیاه گوجه-فرنگی تحت تنش سرما با کاهش رشد همراه بود. پال و سارما (۲۰۰۶) اثر تلقیح پنج سویه *سودوموناس فلورسنس* دارای توانایی تولید هورمون‌های محرک رشد از قبیل اکسین و جیبرلین را بر فلفل سیاه مورد بررسی قرار دادند. این بررسی نشان داد که کاربرد باکتری به-طور معنی داری وزن خشک ریشه، طول ریشه، سطح ریشه و تعداد ریشه را افزایش می‌دهد. بهبود رشد گیاه در اثر آغشته کردن بذر با کودهای بیولوژیک می‌تواند

سانترفیوژ شد. بعد از جداسازی روشنار، ۰/۱ میلی لیتر از عصاره الکلی انتخاب و داخل لوله‌های آزمایشی ریخته شد. سپس سه میلی لیتر آنترون تازه (۱۵۰ میلی گرم آنترون در ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۷۲٪) تهیه شده به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

#### اندازه‌گیری ثبات غشا (نشست مواد یونی)

اندازه‌گیری ثبات غشا (نشست مواد یونی) بر اساس روش پیشنهادی ردمن و همکاران (۱۹۸۶) انجام گرفت. از برگ کاملاً توسعه یافته دیسک‌هایی به قطر یک سانتی متر تهیه شد. نمونه‌ها در ظرف سر بسته حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دی‌یونیزه قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و توسط دستگاه شیکر تکان داده شد. پس از پایان زمان مورد نظر، قرائت در طول موج ۲۸۰ نانومتر انجام شود ( $L_t$ ). نمونه به محلول برگردانیده شد، سپس نمونه و محلول در اتوکلاو قرار داده شد و سپس قرائت در طول موج ۲۸۰ نانومتر انجام شود ( $L_0$ ).

$$۱۰۰ \times (L_t / L_0) = \text{نشست مواد محلول } \%$$

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی-فنل اکسیداز و پراکسیداز از روش کارا و میشرا (۱۹۷۶) استفاده شد:

آنزیم کاتالاز: ۶۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی را در ۲/۵ میلی لیتر بافر تریس ۵۰ میلی مولار با pH=۷ و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه پنج میلی مولار در حمام یخ اضافه نموده و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر رسم شد. فعالیت آنزیم برحسب میکروگرم بر میلی گرم پروتئین بافت تازه گیاهی محاسبه گردید.

به سویه ۱۹ *سودوموناس پوتیدا* می‌باشد، که با شاهد، سویه ۱۰ *سودوموناس پوتیدا* و سویه ۶۹ *سودوموناس فلورسنس* اختلاف معنی‌دار داشت و کمترین مقدار (۴/۲۰) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد. جدول ۲ نتایج مقایسه میانگین مقدار کلروفیل نشان می‌دهد، بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل کل به ترتیب ۲۱/۱، ۹/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر از سویه ۱۵۰ *سودوموناس پوتیدا* و تیمار شاهد حاصل شد و مقدار کلروفیل در تیمار سویه ۱۵۰ *سودوموناس پوتیدا* با تیمار سویه‌های ۱ و ۱۰ *سودوموناس پوتیدا* اختلاف معنی‌دار نداشت.

درجه حرارت پایین ممکن است اندام کلیدی فتوسنتز شامل کلروپلاست و غشای تیلاکوئید را تخریب کند و باعث تورم پلاستید و تیغه تیلاکوئید، تجمع قطرات چربی و سرانجام باعث به هم ریختگی کل پلاستید شود. در این میان فتوسیستم II اولین هدف آسیب درجه حرارت پایین می‌باشد (آلن و اورت ۲۰۰۱). علاوه بر این دمای پایین، فعالیت آنزیم‌های جذب کربن مانند آنزیم چرخه کالوین، ATP سنتاز را کاهش می‌دهد و بازسازی روبیسکو و فسفریلاسیون را محدود می‌کند (آلن و اورت ۲۰۰۱) و کاهش انتقال کربن از برگ که منجر به تجمع کربوهیدرات محلول می‌شود (حسنزمان و همکاران ۲۰۱۳). علت اصلی تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن در دمای پایین، عدم تعادل بین دریافت نور و فتوسنتز می‌باشد (آلن و اورت ۲۰۰۱). در گیاهان مقاوم به تنش سرما تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن کنترل شده و تعدیل می‌گردد. همچنین کاهش دما در حضور نور خطر اکسیداسیون نوری را به علت عدم توازن استفاده از نور، افزایش می‌دهد (آلن و اورت ۲۰۰۱). تنش منجر به افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اسید آبسازیک و اتیلن می‌شود که تحریک کننده آنزیم کلروفیل‌از شده و به این ترتیب کلروفیل‌ها تحت تاثیر این آنزیم تجزیه می‌شود (اوربای و همکاران ۲۰۱۰). باکتری‌های ریزوسفری می‌توانند از افزایش غلظت اتیلن در گیاهان در هنگام بروز تنش جلوگیری نموده و سبب کاهش اثرات منفی این هورمون در رشد و توسعه اندام‌های گیاه از طریق تولید

ناشی از تأثیر این میکروارگانیسم‌ها روی فعالیت‌های فیزیولوژیک و متابولیک گیاه و نیز تثبیت نیتروژن باشد و بخشی دیگری از این اثرات افزایشی نیز می‌تواند حاصل، بهبود کارایی گیاه در اثر ترشح هورمون‌هایی نظیر سیتوکینین و اکسین باشد که جذب آب و مواد غذایی را تحریک می‌کند. از سوی دیگر باکتری با تولید جیبرلین سبب افزایش تارهای کشنده می‌شوند، لذا جذب عناصر غذایی از خاک بهتر صورت گرفته و رشد گیاه بهبود می‌یابد (زهیر و همکاران ۲۰۰۴). گراول و همکاران (۲۰۰۷) افزایش طول ریشه، وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاه گوجه فرنگی را در اثر تلقیح با باکتری‌های *سودوموناس* که دارای توانایی تولید اکسین بود را گزارش کردند. همچنین باکتری‌های دارای آنزیم ACC دی‌آمیناز می‌توانند از طریق کاهش سطح اتیلن موجب افزایش طول ریشه و رشد گیاه شوند (احمد و همکاران ۲۰۰۸). نتایج صفات محرک رشدی سویه‌های به کار رفته در تحقیق عباس‌زاده و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد *سودوموناس*‌های فلورسنت از مهمترین باکتری‌های تولید کننده اکسین و آنزیم ACC-دآمیناز می‌باشند.

### رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد تأثیر پیش تیمار بذر با ترکیبات مختلف بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است و بر مقدار کارتنوئید در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین میزان کلروفیل a نشان داد که تمام تیمارها باعث افزایش معنی‌دار صفت ذکر شده گردیدند، به طوری که بیشترین مقدار کلروفیل a (۱۴/۶) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از پیش تیمار بذر با سویه ۱۵۰ *سودوموناس پوتیدا* حاصل شد که با سویه ۱۹ *سودوموناس پوتیدا*، تیمار تلفیقی سویه ۱۹ *سودوموناس پوتیدا* + سویه ۱۵۹ *فلورسنس* و شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۲). باتوجه به جدول ۲، نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد تمام سویه‌ها (به-استثناء سویه ۶۹ *سودوموناس فلورسنس*) باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل b نسبت به شاهد شدند و بیشترین مقدار (۹/۰۶) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط

همکاران (۱۳۸۴) گزارش کردند که در شرایط تنش رطوبتی، گیاهچه ذرت تلقیح شده با باکتری *آزوسپیریوم* به طور قابل توجهی غلظت پرولین بالاتری نسبت به تیمار شاهد دارد. چنین به نظر می‌رسد که باتوجه به نقش پرولین به‌عنوان مخزن ذخیره‌ای نیتروژن و استفاده از باکتری‌ها به‌عنوان تثبیت کننده نیتروژن، احتمالاً پرولین، گیاه را در تحمل به تنش یاری می‌کند (طاهرخانچی و همکاران ۱۳۹۲).

### کربوهیدرات‌های محلول

از نظر محتوی کربوهیدرات تمام تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند و بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول (۱/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از سویه ۱ *سودوموناس پوتیدا* حاصل شد (جدول ۲). گوستا و همکاران (۲۰۰۵) در گزارشی عنوان داشته‌اند که گیاهان در مرحله سازگاری به تنش دمای پایین با تجمع اسید آبسزیک در برگ‌های خود موجب فعالیت برخی از ژن‌ها و تغییراتی در کربوهیدرات درون سلول می‌شوند که در نتیجه تنظیم فشار اسمزی و تحمل پذیری گیاهان نسبت به تنش دمای پایین افزایش می‌یابد. گزارش شده است که نقش قندها در ایجاد تحمل نسبت به دماهای پایین می‌تواند بیشتر از سایر محافظت‌کننده‌های سرمایی باشد. ساکارز یک ترکیب ضروری است که می‌تواند باعث افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش‌های محیطی نظیر تنش دمای پایین شود. گلوکز دارای کنترلی مستقیم و گسترده بر بیوسنتز هورمون اسید آبسزیک می‌باشد به طوری که غلظت بالای گلوکز در سلول منجر به سطوح بالای اسید آبسزیک درون سلولی می‌گردد، زیرا نسخه برداری ژن‌های بیوسنتز کننده اسید آبسزیک را افزایش می‌دهد. ساکارز نیز همانند گلوکز یکی از ترکیبات اساسی برای بیوسنتز اسید آبسزیک می‌باشد (یادگاری و همکاران ۲۰۰۸). عمواقایی و همکاران (۱۳۸۴) در تحقیقی اثر *آزوسپیریوم* در شرایط شور بر عملکرد گندم را بررسی و نشان دادند که کاربرد این سویه باعث تجمع بیشتر مواد تنظیم‌کننده اسمتیک و تحمل به شوری در گیاهان شد.

آنزیم ACC-دآمیناز شوند. این آنزیم به صورت غیر مستقیم و عمدتاً از طریق کاهش سطح اتیلن تنشی در گیاه باعث تداوم رشد گیاه می‌گردد (گریکو و گلیک ۲۰۰۱). یلدیریم و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد می‌تواند باعث القا سیگنال اسید سالیسیلیک و جاسمونات شوند که مهم‌ترین سیگنال‌ها برای پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی می‌باشد. اسید سالیسیلیک معمولاً با اثر بر هورمون‌های اسید آبسزیک و اتیلن بسیاری از روندهای فیزیولوژیک و رشد گیاه را تنظیم می‌کند، از جمله با اثر بر روی هورمون اسید آبسزیک و تجمع این هورمون در گیاه باعث خوگیری گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی می‌شود (زهو ۲۰۰۱).

### صفات بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمارها بر تولید پرولین، کربوهیدرت محلول، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

### پرولین

با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده ها، تمام تیمارها باعث افزایش معنی‌دار مقدار پرولین برگ بامیه نسبت به شاهد شدند و بیشترین میزان پرولین آزاد برگ از تلقیح بذر با سویه‌های ۱، ۱۰، ۱۹ *سودوموناس پوتیدا*، سویه ۶۹ *سودوموناس فلورسنس* و تیمار تلفیقی حاصل شد (جدول ۲). گیاهان در مقابل تنش‌های مختلف مکانسیم‌های دفاعی مختلفی دارند که تحت تنش سرما باعث تجمع بالای ترکیبات محلول سازگار می‌شوند که این ترکیبات بدون تغییر در pH فیزیولوژیکی و غیرسمی در غلظت بالا هستند که باعث حفظ فشار اسمزی همچنین باعث تثبیت ساختار پروتئین و غشا تحت استرس می‌شوند که نقش مهمی در سازگاری سلول به استرس‌های مختلف دارند. پرولین یکی از مهم‌ترین این نوع ترکیبات می‌باشد که از دو مسیر گلوتامات و اورنیتین سنتز می‌شود که تحت تنش سرما به مقدار زیادی سنتز آن افزایش می‌یابد و باعث کاهش رادیکال‌های آزاد تولید شده در شرایط تنش می‌شود (اشرف و فولاد ۲۰۰۷). عمواقایی و



جدول ۱- جدول تجزیه واریانس اثر پیش تیمار بر پارامترهای رویشی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، صفات بیوشیمیایی و ثبات غشا بامیه تحت تنش دمایی پایین.

میانگین مربعات											
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول گیاه	وزن خشک گیاه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتونوئید	پروئین	کربوهیدرات محلول	ثبات غشا کاتالاز	فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز
تیمار	۷	۶۲/۰*	۰/۱۰۰۷*	۲۷/۰**	۲/۳۰**	۳۶/۳**	۱/۴۸*	۰/۷۰۰۱**	۰/۲۰۰۵**	۸۶۲**	۱۲۰۰**
خطا	۱۶	۱۶/۰	۰/۰۵۰	۳/۹۰	۰/۳۳۰	۳/۳۰	۰/۵۹۰	۰/۰۲۰	۰/۰۱۰	۵۶/۵	۹۹/۰
(%) CV		۱۴/۰	۲۹/۰	۱۷/۵	۱۰/۳	۱۰/۸	۲۲/۴	۶/۰۰	۱۹/۸	۱۹/۴	۱۱/۰

ns و \*\* به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌داری است.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پیش تیمار بر پارامترهای رویشی، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، صفات بیوشیمیایی و ثبات غشای بامیه تحت تنش دمایی پایین.

تیمار	طول گیاه	وزن خشک گیاه	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتونوئید	پروئین	کربوهیدرات محلول	ثبات غشا	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز
	cm	g pot <sup>-1</sup>	(mg g <sup>-1</sup> FW)	(mg g <sup>-1</sup> FW)	(mg g <sup>-1</sup> FW)	(mg g <sup>-1</sup> FW)	(mg g <sup>-1</sup> FW)	(mg g <sup>-1</sup> FW)	(mg g <sup>-1</sup> FW)	(Unit mg <sup>-1</sup> protein)	
شاهد	۲۲/۰ <sup>c</sup>	۰/۵۱۱ <sup>b</sup>	۵/۴۳ <sup>d</sup>	۴/۲۰ <sup>d</sup>	۹/۶۴ <sup>d</sup>	۲/۱۰ <sup>b</sup>	۱/۲۵ <sup>c</sup>	۰/۳۱۰ <sup>c</sup>	۵۴/۳ <sup>ab</sup>	۱/۴۰ <sup>c</sup>	۷۶/۰ <sup>dc</sup>
سویه ۱ سودوموناس پوتیدا	۲۹/۳ <sup>abc</sup>	۰/۷۴ <sup>ab</sup>	۱۳/۵ <sup>ab</sup>	۶/۰۰ <sup>ab</sup>	۱۹/۹ <sup>ab</sup>	۴/۲۵ <sup>a</sup>	۲/۶۰ <sup>a</sup>	۱/۱۵ <sup>a</sup>	۲۱/۰ <sup>c</sup>	۳۴/۷ <sup>b</sup>	۸۹/۰ <sup>cd</sup>
سویه ۱۰ سودوموناس پوتیدا	۲۹/۰ <sup>abc</sup>	۰/۹۱ <sup>ab</sup>	۱۳/۸ <sup>ab</sup>	۵/۴۳ <sup>bc</sup>	۱۹/۱ <sup>abc</sup>	۳/۸۶ <sup>a</sup>	۲/۶۰ <sup>a</sup>	۰/۴۸ <sup>dc</sup>	۴۰/۰ <sup>b</sup>	۴۶/۰ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>b</sup>
سویه ۱۹ سودوموناس پوتیدا	۳۵/۱ <sup>a</sup>	۱/۰۵ <sup>a</sup>	۹/۰۶ <sup>c</sup>	۶/۵۷ <sup>a</sup>	۱۵/۶ <sup>c</sup>	۲/۹۷ <sup>ab</sup>	۲/۴۲ <sup>ab</sup>	۰/۶۷۰ <sup>bcd</sup>	۶۵/۰ <sup>a</sup>	۱۷/۲ <sup>d</sup>	۶۵/۰ <sup>c</sup>
سویه ۱۵۰ سودوموناس پوتیدا	۲۲/۹ <sup>c</sup>	۰/۵۶ <sup>b</sup>	۱۴/۶ <sup>a</sup>	۷/۵۳ <sup>ab</sup>	۲۱/۱ <sup>a</sup>	۳/۷۸ <sup>a</sup>	۲/۳۰ <sup>b</sup>	۰/۷۹۰ <sup>bc</sup>	۱۵/۳ <sup>c</sup>	۳۱/۷ <sup>bc</sup>	۱۰۰ <sup>bc</sup>
سویه ۶۹ سودوموناس فلورسنس	۳۶/۴ <sup>bc</sup>	۰/۸۴ <sup>ab</sup>	۱۲/۱ <sup>abc</sup>	۴/۴۹ <sup>cd</sup>	۱۶/۶ <sup>bc</sup>	۳/۵۹ <sup>a</sup>	۲/۶۰ <sup>a</sup>	۰/۹۲۰ <sup>ab</sup>	۲۵/۰ <sup>c</sup>	۳۳/۰ <sup>b</sup>	۱۲۶ <sup>a</sup>
سویه ۱۵۹ سودوموناس فلورسنس	۳۳/۰ <sup>ab</sup>	۰/۹۴ <sup>ab</sup>	۱۱/۹ <sup>abc</sup>	۵/۵۶ <sup>ab</sup>	۱۷/۴ <sup>bc</sup>	۳/۹۰ <sup>a</sup>	۲/۶۰ <sup>a</sup>	۰/۶۹۰ <sup>bcd</sup>	۴۳/۰ <sup>b</sup>	۳۴/۷ <sup>b</sup>	۷۵/۳ <sup>de</sup>
سویه ۱۹۹ پوتیدا+سویه ۱۵۹ فلورسنس	۳۰/۹ <sup>ab</sup>	۰/۶۹ <sup>ab</sup>	۱۰/۳ <sup>bc</sup>	۶/۰۳ <sup>ab</sup>	۱۶/۳ <sup>bc</sup>	۲/۹۲ <sup>ab</sup>	۲/۴۰ <sup>ab</sup>	۰/۵۷۰ <sup>cd</sup>	۴۴/۰ <sup>b</sup>	۲۸/۱ <sup>c</sup>	۷۵/۳ <sup>de</sup>

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

## ثبات غشا (نشست مواد محلول)

تلقیح بذور با سویه‌های ۱، ۱۰ و ۱۵۰ سودوموناس پوتیدا و سویه ۶۹ باکتری سودوموناس فلورسنس باعث کاهش نشست مواد محلول از غشا شدند و بیشترین ثبات غشا از سویه ۱۵۰ سودوموناس پوتیدا حاصل شد. کمترین مقدار ثبات غشا مربوط به سویه ۱۹ سودوموناس پوتیدا بود که با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت. (جدول ۲). یکی از آثار منفی تنش دمایی پایین آسیب به غشا سلول بوده که در توجیه این وضعیت می‌توان چنین گفت که رادیکال‌های آزاد در درون سلول باعث آسیب رساندن به لیپیدها و اسیدهای چرب غشایی شده و رادیکال‌های لیپید و پراکسی و هیدروپراکسی تولید می‌کنند. رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها (منجر به افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید) را تسریع کنند. تداوم این امر موجب

تخریب بیشتر غشا سلول و خروج آب از درون سلول به فضای بین سلولی شده که نتیجه این وضعیت، بروز پدیده آب‌گزیدگی و افزایش نشست یونی است که در نهایت کاهش محتوای آب برگ را به دنبال خواهد داشت (ورسلوز و همکاران ۲۰۰۶). ترشح هورمون‌های گیاهی یکی از مهم‌ترین مکانسیم‌های باکتری‌های محرک رشد گیاه است (زهیر و همکاران ۲۰۰۴). یلدریم و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد می‌توانند باعث القا تجمع هورمون اسید سالیسیلیک شوند. اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و جذب کلسیم، گیاه را از صدمات حاصل از واکنش‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند. همچنین اسید سالیسیلیک میزان پلی‌آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین را در گیاه افزایش می‌دهد که می‌تواند به یکپارچگی و حفظ غشا تحت شرایط تنش شوری کمک

بیوشیمیایی گیاه آفتابگردان بررسی کردند. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم کاتالاز قبل و بعد از گل‌دهی در فرایند فتوسنتز و تولید انرژی و در نهایت، بهبود رشد آفتابگردان در تیمار کود زیستی نسبت به کنترل افزایش داشته است. هان و لی (۲۰۰۵) گزارش کردند با افزایش شدت تنش شوری نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش)، باکتری‌های محرک رشد به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در برگ گیاه کاهش دادند. در شرایط نبود تنش گیاهچه‌های تلقیح شده کاهش باکتری *سودوموناس* میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری را نسبت به تیمار شاهد (بدون باکتری) نشان داد (کوهرل و همکاران ۲۰۰۹). باکتری‌ها با تغییر در مکانیزم دفاعی گیاه سبب پاک‌سازی یا کاهش رادیکال‌های مخرب اکسیژن شده و از میزان خسارت ناشی از اثرات مضر تنش جلوگیری می‌کنند (پان و همکاران ۲۰۰۶).

### نتیجه‌گیری کلی

تنش سرما باعث تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می‌شود. یکی از این تغییرات، تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن در سلول می‌باشد که این رادیکال‌های فعال اکسیژن در متابولیسم گیاه اختلال ایجاد می‌کند. مطالعه حاضر نشان داد که باکتری‌های محرک رشد با افزایش مقدار پرولین، کربوهیدرات محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی رشد گیاه بامیه تحت تنش دما را بهبود می‌دهند. همچنین نتایج بیانگر کارایی بالاتر سویه‌های دارای آنزیم ACC-دآمیناز در کاهش تنش سرما و افزایش پارامترهای رویشی، صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه بامیه می‌باشد. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد باکتری‌های محرک رشد به‌خصوص باکتری‌های دارای توانایی مصرف ACC به‌عنوان منبع نیتروژن می‌تواند نقش بسیار مؤثری در کاهش خسارات ناشی از تنش سرمایی در گیاهان داشته باشد.

کند (نعمت و همکاران ۲۰۰۲). بیشترین ثبات غشا در سویه‌های دارای آنزیم ACC-دآمیناز مشاهده شد که این می‌تواند ناشی از کاهش تنش توسط این آنزیم باشد. تغییرات دما باعث نامتعادل شدن هورمون‌ها در گیاهان شده و رشد گیاهان را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار می‌دهد. مانند سایر فاکتورهای زیستی و غیرزیستی، سرما و گرما باعث تولید بیش از حد اتیلن در بافت‌های گیاهی می‌شود و این تولید بیش از حد اتیلن می‌تواند توسط باکتری‌های تولیدکننده آنزیم ACC-دآمیناز تعدیل شود (سالم و همکاران ۲۰۰۷).

### آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تمامی تیمارها باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شدند و بیشترین مقدار (۶۷/۰) مربوط به سویه ۱ بود. سویه ۱۰ و ۱۵۰ *سودوموناس پوتیدا* و سویه ۶۹ *سودوموناس فلورسنس* نیز در شرایط تنش دمای پایین میزان فعالیت آنزیم پلی-فنل اکسیداز را افزایش دادند که از لحاظ آماری نسبت به شاهد معنی‌دار بود (جدول ۳). در تنش دمای پایین گیاهچه‌های بامیه فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌طور قابل توجه توسط تلقیح بذور با سویه‌ی ۱، ۱۰، ۱۵۰ *سودوموناس پوتیدا* و سویه ۶۹ *سودوموناس فلورسنس* افزایش یافت و بیشترین مقدار از پیش‌تیمار بذر بامیه با سویه ۱ باکتری *سودوموناس پوتیدا* حاصل گردید (جدول ۲).

در شرایط تنش دمای پایین به‌علت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سلول، احتمال وقوع تنش اکسیداتیو (به‌عنوان تنش ثانویه) وجود دارد که باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیک سلول می‌شود (چن و همکاران ۲۰۰۶). تاسگین و همکاران (۲۰۰۶) نیز اعلام کردند که تیمار سرما موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه می‌شود. فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی در ارقام مقاوم به سرمای ذرت، برنج، یونجه، گوجه‌فرنگی و نخود بیشتر از ارقام حساس به سرما می‌باشد (حسنوزمان و همکاران ۲۰۱۳). ماریوس و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر تلقیح باکتریایی را روی چند شاخص

## منابع مورد استفاده

- جعفری ر، منوچهری کلانتری خ و ترک‌زاده م، ۱۳۸۵. بررسی اثرات پاکلوبوترازول بر افزایش مقاومت به سرما در نهال‌های گوجه-فرنگی. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۱۹، صفحه‌های ۲۹۰ تا ۲۹۸.
- دانشور م.ح، ۱۳۸۷. پرورش سبزی. انتشارات دانشگاه شهید چمران، اهواز.
- طاهرخانچی آ، اکبری غ، مدرس ثانوی عم و قربانی جاوید م، ۱۳۹۲. ارزیابی تأثیرات کودهای زیستی بر عملکرد دانه و برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سویا تحت تنش کم آبی. مجله به‌زراعی کشاورزی، جلد ۳، صفحه‌های ۱۴۱ تا ۱۵۳.
- عموآقایی ر، مستاجران ا و امتیازی گ، ۱۳۸۴. اثر آزوسپیریوم و اسیددیده قلیایی آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم. مجله زیست‌شناسی، جلد ۱۸، صفحه‌های ۲۴۸ تا ۲۵۶.
- قربانلی خ، ساطعی م و مقیسه ا، ۱۳۸۲. اثر مقادیر متفاوت شوری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و نیترات ردوکتاز در ریشه و برگ‌های ارقام کلزا. مجله پژوهش و سازندگی، جلد ۴۳، صفحه‌های ۱۵۳ تا ۱۶۰.
- Abbaszadeh P, Saleh-Rastin N, Asadi-Rahmani H, Khavazi K, Soltani A, Shoary-Nejati AR and Miransari M, 2010. Plant growth-promoting activities of fluorescent pseudomonads, isolated from the Iranian soils. *Acta Physiologiae Plantarum* 32: 281-288
- Ahmad F, Ahmad I and Khan M, 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth-promoting activities. *Microbiology Research* 163:173-181.
- Allen DJ and Ort DR, 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science* 6(1): 36-41.
- Aminigo ER and Akingbala JO, 2004. Nutritive composition and sensory properties of ogi fortified with okra seed meal. *Journal of Applied Science and Environment* 8(2): 23-28.
- Arnone DT, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris* L. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Ashraf M and Foolad MR, 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Experimental Botany* 59: 206-216.
- Ashraf M and Foolad MR, 2005. Pre-sowing seed treatment-ashotgun approach to improve germination plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Advances in Agronomy* 88: 223-271.
- Bakalova S, Nikolova A and Nedeva D, 2004. Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. *Journal of Plant Physiology* 30: 64-77.
- Bates LS, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bhattacharjee S, 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Role in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science* 89: 1113-1121.
- Chen Y, Zhang M, Chen T, Zhang Y and An L, 2006. The relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of Sabina. *South African Journal of Botany* 72: 272-279.
- Esfandiari E, Shekari F and Esfandiari M, 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Journal of Notulae Botanica Horticulture Agrobotanica* 35: 48-56.
- Glick BR, 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 109-117
- Gravel V, Hani A and Tewdell RJ, 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry* 39: 1968-1977.
- Grichko VP and Glick BR, 2001. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry* 39: 11-17.
- Gusta LV, Trischuk R and Weiser CJ, 2005. Plant cold acclimation: the role of abscisic acid. *Journal of Plant Growth Regulation* 24: 308-318.
- Han HS and Lee KD, 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of Lettuce under soil salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Science* 1: 210-215.
- Hsanuzzaman M, Nahar K and Fujita M, 2013. Extreme temperature responses, oxidative stress and antioxidant defense in plants. Pp 169-205. In: vahdati K and Leslie C (eds). *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*. InTech. Rijeka.
- Irigoyen JJ, Emerich DW and sanchez-Diaz M, 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Plant Physiology* 84: 55-60.

- Janda T, Kosa EL, Szalai G and Paldi E, 2005. Investigatin of antioxidant activity of maize during low temperature stress. *Journal of Plant Physiology* 49: 53-54.
- Kara M and Mishra E, 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57(2): 315-319.
- Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM, 1989 Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnology* 7: 39-43.
- Kohler J, Antonio Hernandez J, Caravaca F and Roldan A, 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 65: 245-252.
- Marius S, Octavita A, Eugen U, and Vlad A, 2005. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genetics and Molecular Biology* 12(2): 11-17.
- Marsh L, 1992. Emergence and seedling growth of okra genotypes at low temperatures. *Hortscience* 27(12): 1310-1312.
- Nandakumar R, Babu S, Viswanathan R, Raguchander T and Samiyappan R, 2001. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by plant growth promoting rhizobacteria. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 603-612.
- Nemeth M, Janda T, Hovarth E, Paldi E, and Szali G, 2002. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science* 162: 569-574.
- Orabi SA, Salman SR and Shalaby, AF, 2010. Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Science* 6: 252-259.
- Pan Y, Wu LJ and Yu ZL, 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis fisch*). *Plant Growth Regulation* 49: 157-165.
- Paul D and Sarma YR, 2006. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) mediated root proliferation in black pepper (*Piper nigrum* L.) as evidenced through GS root software. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 39: 1-4.
- Pennycooke JC, Cox S and Stushnoff C, 2004. Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petinia hybrida*). *Journal of Environmental and Experimental Botany* 53: 225-232.
- Rahimizadeh M, Habibi D, Madani H, Mohammadi H, Mehraban A and Sabet AM, 2007. The effect of micronutrients on antioxidant enzymes metabolism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. *Journal Helia* 47: 167-174.
- Redmann RE, Haraldson J and Gusta LV, 1986. Leakage of UV-absorbing substances as a measure of salt injury in leaf tissue of woody species. *Physiologia Plantarum* 67: 87-91.
- Saleem M, Arshad M, Hussain S and Bhatti AS, 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 34: 635-648.
- Seppanen MM, 2000. Characterize of freezing tolerance in *Solanum commersonii*(dun.) with special reference of the relationship between and oxidative stress. University of Helsinki Department of Production Section of Crop Husbandry 56: 4-44.
- Tasgin E, Atici O, Nalbantoglu B and Petrova L, 2006. Effects of salicylic acid and cold treatment on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Journal of Phytochemistry* 67: 710-715.
- Verslues PE, Agrawal M, Katiyar-Agrwal S, Zhu J and Zhu JK, 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Journal* 45: 523-539.
- Yadeghari LZ, Heidari R and Carapetian J, 2008. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyd (MDA), Total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings *Research Journal of Biological Sciences* 3(1): 74-79.
- Yilidirim E, Turan M, Donmez MF, 2008. Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus Sativus* L.) by plant growth promoting rhizobacteria. *Romanian Biotechnological Letters* 13(5): 3933-3943.
- Yong Z, Hao-Ru T and Ya L, 2008. Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short-term low temperature stress. *Journal of Agricultural Sciences* 4: 456-462.
- Zahir ZA, Arshad M and Frankenberger WT, 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: Application and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 81: 97-167.
- Zhu JK, 2001. Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Plant Biology* 4: 401-406.