**علوم و تحقیقات بذر ایران**
سال ششم/ شماره چهارم/ ۱۳۹۸ (۴۹۹ - ۴۸۵)

DOI: 10.22124/jms.2020.3927

# بررسی برخی خصوصیات مرتبط با قابلیت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه بادام‌زمینی رقم $NC_2$ در بذرهای حاصل از بوته‌های محلول‌پاشی‌شده با متانول و متیلوباکتریوم

**علیرضا حسین‌زاده گشتی[۱]، ورهام رشیدی[۲*]، محمدنقی صفرزاد ویشکایی[۳]، مسعود اصفهانی[۴]، فرهاد فرحوش[۲]**

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۵

**چکیده**

به‌منظور بررسی خصوصیات مرتبط با قابلیت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه بادام‌زمینی در بذرهای حاصل از بوته‌های محلول پاشی‌شده با متانول و متیلوباکتریوم تحقیقی آزمایشگاهی در ۲ سال در دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت به اجرا درآمد. این تحقیق با استفاده از آزمون‌های جوانه‌زنی استاندارد، سرما و پیری تسریع‌شده اجرا شد. هر یک از آزمون‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۶ تیمار (جمعیت باکتری متیلوباکتریوم بر حسب CFU در ۴ سطح صفر، $۱۰^{۶}$، $۱۰^{۸}$ و $۱۰^{۱۲}$ و ۴ سطح مقدار متانول صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی) در ۳ تکرار اجرا شد. خصوصیات مورد بررسی عبارت بودند از درصد جوانه‌زنی نهایی، بنیه گیاهچه، وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک هیپوکوتیل، وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه. نتایج نشان داد که اثر سال بر تمام خصوصیات مورد بررسی در کلیه آزمون‌ها معنی‌دار بود. جمعیت باکتری فقط اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نهایی در کلیه آزمون‌ها داشت. اما مقدار متانول اثر معنی‌داری بر تمام خصوصیات مورد بررسی در هر سه آزمون داشت. اثر متقابل جمعیت باکتری در مقدار متانول نیز فقط بر درصد جوانه‌زنی نهایی در آزمون‌های جوانه‌زنی استاندارد و سرما اثر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی نیز نشان داد که بیش‌ترین مقدار درصد جوانه‌زنی نهایی در کلیه آزمون‌ها در جمعیت باکتری CFU $۱۰^{۱۲}$ مشاهده شد. بیش‌ترین مقدار تمام خصوصیات بررسی‌شده در کلیه آزمون‌ها از مقدار ۲۰ درصد حجمی متانول به‌دست آمد.

**واژه‌های کلیدی: آزمون‌های بذر، بادام‌زمینی، جمعیت متیلوباکتریوم، مقدار متانول**

۱- دانش‌آموخته دکترای زراعت، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
۴- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
*نویسنده مسئول: rash270@yahoo.com

**مقدمه**

بادام‌زمینی یکی از مهم‌ترین گیاهان دانه روغنی است که معمولا در خاک‌های سبک کاشته می‌شود زیرا بذرها و غلاف‌های این گیاه در زیر سطح خاک تشکیل می‌شوند. پس از انجام عمل لقاح در گل‌های بادام‌زمینی، پگ‌های تولیدشده در اثر زمین‌گرایی مثبت به سمت خاک رشد کرده و غلاف‌های این گیاه در زیر سطح خاک تشکیل و رشد می‌کنند. از مهم‌ترین دلایل کاهش تولید این گیاه در مناطق زیر کاشت آن برخورد مراحلی از دوره رشد این گیاه به‌ویژه دوره رشد غلاف‌ها با تنش خشکی می‌باشد که این امر علاوه بر کاهش تولید بوته‌های بادام‌زمینی، بر بنیه بذر و قابلیت جوانه‌زنی بذرهای تولیدشده نیز اثر منفی دارد (Golombek and Johansen. 1997). مقدار جذب کلسیم توسط غلاف‌های در حال رشد از منطقه تشکیل غلاف در خاک، دمای خاک و تامین مناسب مواد پرورده فتوسنتزی برای دانه‌های در حال رشد در زیر خاک از مهم‌ترین عواملی هستند که بر بنیه بذرهای بادام‌زمینی تاثیر می‌گذارند (Smartt, 1994). اولین بار اثر مثبت متانول بر رشد گیاهان در گیاهچه‌های ماش گزارش شد (Bhattacharya *et al*., 1985). متانول به‌عنوان ساده-ترین الکل موجود در طبیعت توسط تمام قسمت‌های گیاهان و حتی بذرهای در حال رشد نیز تولید می‌شود (Madhaiyan *et al.;* 2006 Galbally and Kirstine, 2002; Fall and Benson. 1996; Gout *et al*., 2000 ; Nemecek-Marshall and *et al*., 1995; ). متانول ماده‌ای است که بر متابولیسم گیاهان به‌ویژه متابولیسم گیاهان سه کربنه تاثیر قابل توجهی دارد و حتی کاربرد محلول‌های متانول روی قسمت‌های هوایی گیاهان زراعی می‌تواند در جلوگیری از کاهش عملکرد گیاهان، تسریع رسیدگی آن‌ها، کاهش اثرات تنش خشکی و نیز کاهش نیاز آبی آن‌ها موثر واقع شود (Fall and Benson. 1996; Ramirez *et al,* Ramberg *et al*., 2002; 2006). مصرف این ماده در مراحلی از رشد گیاهان در افزایش ظرفیت تولید مواد پرورده فتوسنتزی به‌ویژه در شرایط تنش‌های محیطی نقش به‌سزایی دارد (Ramberg Downie ; Theodoridou *et al,* 2002 *et al*., 2002 *et al,*2004). متانول در مقایسه با دی‌اکسیدکربن، مولکول کوچک‌تری است که می‌تواند به‌راحتی توسط گیاهان سه کربنه برای افزایش تولید مواد پرورده فتوسنتزی مورد استفاده قرار گیرد (Kotzabasis *et al,* 1999). اثر غیر مستقیم تولید متانول در گیاهان و نیز محلول¬پاشی متانول بر قسمت‌های هوایی گیاهان، تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های متیلوتروف است (Fall and Benson. 1996). باکتری‌های متیلوتروف صورتی رنگ[1] که از جنس متیلو باکتریوم هستند، معمولا همراه با گیاهان یافت می‌شوند و جمعیت آن‌ها نیز جمعیت غالب باکتریایی در فیلوسفر است (Holland and Polacco, 1994; Corpe and Rheem,1989; Trotsenko *et al., 2001;*). باکتری‌های هوازی متیلوتروف می‌توانند در فضای موجود روی سطح برگ‌ها، ریشه‌ها، بافت‌های مریستمی و حتی روی بذرهای گیاهان کلونی تشکیل داده و تجمع نمایند (Corpe and Rheem,1989؛ Holland ; Holland, 1997 ; and Polacco, 1994 Shepelyakovskaya *et al*., 1999). دراکثر مواقع اثر متقابل بین این میکروارگانیزم‌ها و گیاهان عالی بر فعالیت-های فیزیولوژیک گیاهان اثر مثبت می‌گذارد (Omer *et al.,* 2004 ; Abanda-Nkpwatt *et al .,* 2006). این باکتری‌ها می‌توانند متانول را به‌عنوان یک منبع خالص کربن متابولیزه کنند (Jourand *et al.,* 2004). توانایی متیلوباکترها برای تحریک رشد گیاهان در شرایط مختلف می‌تواند بیانگر کاربرد این میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان یکی از انواع کودهای بیولوژیک باشد تا در کنار مصرف بهینه کودهای شیمیایی نویدبخش افزایش عملکرد گیاهان زراعی باشد (Trotsenko *et al,* 2001). متیلوباکترها زمانی که روی سطح بذرها کلونی تشکیل دهند نقش مهمی در فرآیندهایی نظیر جوانه‌زنی و حفظ قابلیت حیات بذر دارند. متیلوتروف‌ها جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاهچه-های حاصل از آن‌ها را از طریق تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به‌ویژه سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهند (Koenig *et* ; Ivanova *et al.,* 2000 ; Omer *et al.,* 2004 *al.,* 2002). برخی بررسی‌ها نشان داده‌اند که استفاده از باکتری‌های متیلوتروف می‌تواند جایگزینی برای کاربرد تیمارهای سیتوکینین در جوانه‌زنی بذرها باشد. علاوه بر این کاهش جمعیت باکتری‌های متیلوتروف روی بذرهای گیاهان زراعی ممکن است یکی از عواملی باشد که توانایی جوانه‌زنی بذرهای مسن را از بین می‌برد( Ivanova *et* ; Holland and Polacco, 1994 *al.,* 2000). بررسی‌های مختلف نشان دادند نگهداری

[1]Pink-Pigmented Facultative Methylotrophs

بذرهای سویا به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی و افت ۹۵ تا ۹۷ درصدی جمعیت باکتری‌های متیلوتروف همزیست روی سطح بذرها شد. از طرف دیگر سرعت جوانه‌زنی این بذرها نیز به دلیل کاهش جمعیت متیلوباکترها روی سطح آن‌ها کاهش پیدا کرد. اما تلقیح مجدد این بذرها با باکتری‌های متیلوتروف، سرعت جوانه‌زنی آن‌ها را حتی بیش‌تر از حالت اولیه افزایش داد به‌طوری‌که گیاهچه‌های حاصله دارای رشد عادی بودند و ریشه‌های آن‌ها نیز رشد طبیعی داشتند (Trotsenko ; Holland and Polacco, 1994 *et al.,* 2001). نتایج بررسی Ryu و همکاران (2006) روی گوجه‌فرنگی و فلفل قرمز نیز نشان داد تلقیح بذرهای این گیاهان با دو سویه متیلوباکتریوم *CBMB20* و *CBMB110* باعث افزایش طول ریشه‌چه در گیاهچه‌های حاصله گردید. بعد از گذشت ۱۰ روز طول ریشه‌چه گیاهچه‌های حاصل از بذرهای گوجه‌فرنگی تیمارشده با دو سویه فوق نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳۹ و ۶۱ درصد و در گیاهچه‌های فلفل ۴۹ و ۶۶ درصد افزایش یافت. در بررسی‌های انجام گرفته روی نیشکر (Madhaiyan *et al., 2005*)، برنج (Madhaiyan *et al., 2004*) و بادام‌زمینی (Madhaiyan *et al.,* 2006) نیز گزارش گردید که متیلوتروف‌ها اثرات تحریک‌کنندگی معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذرهای نیشکر، برنج و بادام‌زمینی داشتند. نتایج این بررسی‌ها نشان داد استفاده از این باکتری‌ها سبب افزایش جوانه‌زنی بذرها گردید. علاوه بر آن سرعت جوانه‌زنی بذرها نسبت به شاهد نیز افزایش یافت. تلقیح بذرهای بادام‌زمینی با متیلوباکتریوم باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذر تا ۹۸ درصد و نیز افزایش توان گیاهچه‌های حاصل گردید که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند (Madhaiyan *et al., 2006*). هدف از این مطالعه، بررسی برخی خصوصیات مرتبط با قابلیت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه‌های بادام‌زمینی‌رقم $NC_2$ در بذرهای حاصل از بوته‌های محلول‌پاشی‌شده با متانول و متیلوباکتریوم بود.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی برخی خصوصیات مرتبط با قابلیت جوانه‌زنی‌و بنیه گیاهچه‌های بادام‌زمینی رقم $NC_2$ در بذرهای حاصل از بوته‌های محلول‌پاشی‌شده با متانول و متیلوباکتریوم این تحقیق در دو بخش مزرعه‌ای و آزمایشگاهی طی دو سال زراعی ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ به مرحله اجرا در آمد. رقم مورد استفاده برای کاشت رقم $NC_2$ بود که رقم غالب کشت‌شده در منطقه است. این رقم از ارقام ایستاده ویرجینیایی و دانه درشت می‌باشد و به‌دلیل راحت تربودن عمل برداشت و نیز داشتن دانه‌های بزرگ بیش‌ترین سطح زیر کاشت بادام‌زمینی در منطقه را به خود اختصاص داده است. غلاف‌های رسیده بادام‌زمینی در آبان ماه سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ از یکی از کشاورزان منطقه تهیه گردید و پس از خشک‌کردن غلاف‌ها در هوای آزاد تا زمان کاشت داخل کیسه‌های پلاستیکی ضخیم و تیره در آزمایشگاه زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت نگهداری شدند. بذرها یک هفته قبل از کاشت از غلاف‌ها خارج شدند و پس از آن عملیات کاشت انجام گرفت.

**بخش مزرعه‌ای**

این بررسی در شهرستان بندرکیاشهر واقع در استان گیلان با طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۶ دقیقه شمالی به مرحله اجرا در آمد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول جمعیت باکتری متیلوباکتریوم CFU[1]در ۴ سطح صفر ($mb_0$)، $۱۰^{۶}$ ($mb_1$)، $۱۰^{۸}$ ($mb_2$) و $۱۰^{۱۲}$ ($mb_3$) و فاکتور دوم مقدار متانول در ۴ سطح صفر ($m_0$)، ۱۰ ($m_1$)، ۲۰ ($m_2$) و ۳۰ ($m_3$) درصد حجمی بوده که در هر تکرار ۱۶ ترکیب تیماری مورد ارزیابی قرار گرفت. شناسایی، جداسازی، کشت و تکثیر باکتری‌های متیلوباکتریوم بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی، تغذیه‌ای و خصوصیات مورفولوژیک آن‌ها در دانشکده‌های کشاورزی دانشگاه گیلان و دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت انجام گرفت. برای این منظور نمونه‌های برگی بادام‌زمینی از منطقه جمع‌آوری و در آب مقطر قرار داده شدند تا باکتری‌های متیلوتروف موجود در سطح برگ‌ها شسته شده و وارد محلول آب مقطر گردند. با استفاده از لوپ میکروبیولوژی، مقادیری از محلول‌های فوق در محیط کشت انتخابی حاوی آگار و نمک‌های معدنی که با متانول غنی شده بود، کشت داده شدند (Green, 2006). حدود ۷ تا ۱۰ روز پس از کشت، کلونی‌های صورتی رنگ متیلوتروف جداسازی و به محیط‌های کشت جدید جهت تک کلونی و

[1]Colony-Forming Unit

تکثیر منتقل گردید. در مرحله بعد چندین سوسپانسیون از باکتری‌های تکثیریافته که غلظت باکتری‌های موجود در آن‌ها با استفاده از روش سری‌های رقت (Reynolds and Farinha, 2005) و برحسب CFU مشخص شده بود، تهیه گردید. مقدار جذب نور توسط سوسپانسیون‌های باکتریایی فوق با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (JENWAY، مدل 6405 UV/VIS ساخت کشور انگلستان) در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید. سپس اعداد قرائت‌شده و غلظت سوسپانسیون‌ها روی نمودار قرار داده شدند تا معادله خط برازش‌یافته از این اعداد به‌دست آید. از معادله فوق برای تعیین غلظت‌های باکتریایی مورد نیاز در این پژوهش استفاده گردید (Reynolds and Okon *et al.*, 1977; Farinha, 2005). جهت تعیین ویژگی‌های خاک مزرعه محل تولید بذرها ۱۰ نمونه خاک مختلف از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری و به‌طور تصادفی برداشت شد و از ترکیب آن‌ها نمونه مرکبی تهیه گردید. سپس در این نمونه مرکب برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اندازه‌گیری شدند (جدول ۱).

**جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه**

**Table 1. Some physical and chemical properties of field soil**

| بافت خاک Soil texture | اسیدیته خاک soil pH | نیتروژن کل Total N | فسفر قابل جذب Available P | پتاسیم قابل جذب Available K | آهن قابل جذب Available Fe | روی قابل جذب Available Zn | سولفات محلول خاک Soil solution $So_4^{2-}$ | کلسیم محلول خاک Soil solution Ca | کلسیم تبادلی خاک Soil exchangeable Ca |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| لوم Loam | 7.5 | 0.06 % | 5 mg/Kg | 140 mg/kg | 3.1 mg/kg | 2.6 mg/kg | 0.04 meq/lit | 3.2 meq/lit | 30.3 meq/100g |

جهت تهیه بستر کاشت در هر دو سال آزمایش، خاک مزرعه محل اجرای آزمایش که در سال‌های قبل نیز در آن کشت بادام‌زمینی انجام می‌گرفت، شخم نسبتا عمیقی در اوایل بهار زده شد و پس از آن با استفاده از روتیواتور کلوخه‌های به‌وجودآمده در اثر شخم کاملا خرد شدند. سپس واحدهای آزمایشی در ابعاد ۳×۴ متر و به فاصله ۸۰ سانتی‌متر از واحد آزمایشی مجاور ایجاد شدند. بین تکرارها نیز فاصله ای حدود ۱ متر در نظر گرفته شد. بذرها قبل از کاشت به‌وسیله قارچ کش تیرام به نسبت یک در هزار ضدعفونی شدند. کاشت بادام‌زمینی به‌صورت مسطح و در شرایط دیم انجام گرفت. آرایش کاشت به‌کاربردهشده آرایش مربع با فاصله کاشت ۴۵ × ۴۵ سانتی‌متر بود. در هر کرت ۷ خط کاشت و روی هر خط کاشت نیز ۱۲ بوته وجود داشت. رقم مورد استفاده برای کاشت رقم $NC_2$ بود که رقم غالب کشت‌شده در منطقه است. بذر بادام‌زمینی از کشاورزان منطقه تهیه گردید. تاریخ کاشت بذرها در سال زراعی ۱۳۸۹، ۲۷ و ۲۸ اردیبهشت و در سال زراعی ۱۳۹۰، ۳۰ و۳۱ اردیبهشت بود. بذرها در عمق ۴ سانتی‌متری خاک و با دست کاشته شدند. در هر دو سال زراعی قبل از کاشت بر اساس نتایج تجزیه خاک حدود ۶۰ کیلوگرم در هکتار اوره (به‌عنوان کود پایه)، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل، ۳۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم و ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار گچ به خاک هر واحد آزمایشی اضافه گردید. برای تامین آهن مورد نیاز بادام‌زمینی نیز از محلول‌پاشی سکوسترین روی قسمت‌های هوایی بوته‌های بادام‌زمینی در دو مرحله ۵ برگی و گلدهی کامل بوته‌ها به نسبت ۳ در هزار استفاده شد. محلول‌های آماده‌شده متانول و متیلوباکتریوم به‌صورت مجزا، بدون افزودن هیچگونه ماده افزودنی دیگر و با فاصله زمانی حدود یک ساعت از همدیگر روی بوته‌های بادام‌زمینی محلول‌پاشی شدند. محلول‌پاشی بوته‌های بادام زمینی با تیمارهای مختلف، ۲ بار طی فصل رشد در زمان شروع رشد غلاف‌های بادام‌زمینی در زیر خاک و نیز در زمان شروع رشد دانه‌های بادام‌زمینی در داخل غلاف‌ها انجام گرفت. محلول‌پاشی کلیه تیمارها تا زمان جاری‌شدن قطرات محلول‌ها از روی بوته‌های بادام‌زمینی ادامه یافت. محلول‌های تهیه‌شده در کلیه کرت‌ها توسط سمپاش پشتی (مدل دستی- تلمبه‌ای، ساخت کشور ایران) و با فشار یکسان روی بوته‌های بادام زمینی اسپری شدند. فاصله نازل سمپاش تا بالای بوته‌ها نیز ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. زمان محلول‌پاشی بوته‌ها نیز ساعت ۱۶ تا ۱۹ روزهای تعیین‌شده جهت محلول‌پاشی بود. کلیه کرت ها درسال ۱۳۸۹، در۱۰ و ۱۱ مهر (۱۳۸ و ۱۳۹ روز پس از کاشت) و در سال ۱۳۹۰، در ۱۴ و ۱۵ مهر (۱۳۹ و ۱۴۰ روز پس از کاشت) برداشت شدند. سپس غلاف‌های کاملا رسیده از ۱۰ بوته واقع در منطقه برداشت هر تیمار

جدا شدند. بنابراین در هر تکرار ۱۶ توده غلاف از تیمارهای مختلف به‌دست آمد. برای جداسازی غلاف‌های کاملا رسیده از غلاف‌های نارس، از قهوه ای‌شدن قسمت داخلی غلاف و رنگ قسمت بیرونی غلاف که معیاری برای جداسازی غلاف‌های رسیده از غلاف‌های نارس است، استفاده گردید (Smartt, 1994). غلاف‌های کاملا رسیده به‌مدت یک هفته در هوای آزاد جهت کاهش رطوبت قرار گرفتند. از بذرهای این غلاف‌ها برای آزمایشات بنیه بذر و جوانه‌زنی استفاده شد.

**بخش آزمایشگاهی**

برای انجام آزمون‌های بنیه بذر از بذرهای با وزن بیش‌تر از ۱ گرم استفاده شد. برای این منظور از ترازویی با دقت یک هزارم گرم استفاده گردید و برای جلوگیری از اثرگذاری رطوبت بر وزن بذرها، مقدار رطوبت نمونه‌های بذری انتخاب‌شده برای آزمون‌های بنیه بذر اندازه‌گیری شدند. آزمون‌های بذر در هر دو سال زراعی نیز به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد و فاکتورهای این آزمون‌ها همان فاکتورهای آزمایش مزرعه ای بود. از آزمون سرما و پیری تسریع‌شده جهت ارزیابی بنیه بذرهای بادام‌زمینی در هر دو سال استفاده شد. همچنین جهت مقایسه این آزمون‌ها با یکدیگر از بنیه بذر برآورد شده توسط آزمون جوانه‌زنی استاندارد استفاده گردید. در آزمون جوانه‌زنی استاندارد از روش جوانه‌زنی بین کاغذ مرطوب استفاده گردید. برای هر تیمار ۳ تکرار ۵۰ تایی در نظر گرفته شد. این بذرها به‌مدت ۱۰ روز در دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس و داخل دستگاه ژرمیناتور در شرایط جوانه‌زنی نگه داشته شدند. ظرف‌هایی که بذرها در داخل آن قرار گرفته بودند با هیپوکلریت سدیم ۱۵ درصد ضدعفونی شدند (Hampton and TeKrony, 1995) ضدعفونی بذرهای بادام‌زمینی با استفاده از کلرید جیوه ۱ درصد انجام گرفت (Nautiyal, 2009). شناسایی و شمارش گیاهچه‌های عادی و غیر عادی بر اساس دستورالعمل انجمن بین المللی آزمون بذر (ISTA) از روز ۵ تا روز ۱۰ پس از شروع آزمون صورت گرفت (Anonymous, 2011; Don, 2009). در آزمون سرما بذرها به‌مدت یک هفته داخل ژرمیناتور در دمای ۸ درجه سلسیوس نگه داشته شدند (Maiti and Ebeling, 2002) و در آزمون پیری تسریع‌شده نیز بذرهای هر تیمار به‌مدت ۳ روز در شرایط رطوبتی ۹۵ درصد و دمای ۴۳ درجه سلسیوس در داخل انکوباتور باقی ماندند. این بذرها بلافاصله در داخل ژرمیناتور در شرایط جوانه‌زنی استاندارد قرار گرفتند (Hampton and TeKrony, 1995). در آخرین روز آزمون‌های جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت داخل آون تهویه‌دار و در دمای ۶۰ درجه سلسیوس نگه داشته شدند. سپس لپه‌ها و قسمت‌های مختلف گیاهچه از هم جدا شدند. با استفاده از ترازوی با دقت یک هزارم گرم وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک هیپوکوتیل، وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه در ۱۰ گیاهچه عادی در هر واحد آزمایشی اندازه‌گیری شدند. از میانگین این ۱۰ گیاهچه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در هر سال استفاده شد. درصد جوانه‌زنی نهایی بذرها از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$GP=\sum \frac{n_i}{N} *100 \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در آن GP، درصد جوانه¬زنی نهایی n، تعداد بذرهای جوانه‌زده عادی و N، تعداد کل بذرها بود. سپس شاخص بنیه وزنی گیاهچه از حاصلضرب درصد جوانه‌زنی نهایی در وزن خشک گیاهچه محاسبه گردید (Maiti and Ebeling, 2002). محاسبات آماری شامل تجزیه واریانس مرکب داده‌های حاصل از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار فوق و به‌روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید. ترسیم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excell نسخه ۲۰۱۰ انجام شد.

## نتایج و بحث

### درصد جوانه‌زنی نهایی

نتایج تجزیه مرکب نشان داد اثر سال بر درصد جوانه زنی نهایی بذرها در کلیه آزمون‌ها بسیار معنی‌دار بود (جدول ۲) و در سال ۱۳۸۹ درصد جوانه‌زنی نهایی بذرهای بادام‌زمینی در هر ۳ آزمون بیش‌تر از سال ۱۳۹۰ بود (جدول ۳). در سال زراعی ۱۳۸۹ نوسانات عوامل محیطی به‌ویژه دما و بارندگی در محل انجام آزمایش‌های مزرعه ای کم‌تر بود. در سال ۱۳۹۰، تا ۵ هفته پس از کاشت حداکثر دمای هوا در مقایسه با سال ۱۳۸۹ پایین‌تر بود، اما بعد از گذشت ۶ هفته از زمان کاشت بادام‌زمینی، دمای هوا به‌تدریج افزایش یافت و این روند تا ۱۳ هفته پس از کاشت ادامه پیدا کرد. در واقع طی ۷ تا ۱۳ هفته

پس از کاشت دمای هوا در مقایسه با سال ۱۳۸۹ افزایش بیش‌تری پیدا کرد و ازآن‌جایی که محلول‌پاشی متیلوباکتریوم و متانول با توجه به رشد غلاف بادام‌زمینی در این محدوده انجام گرفت، در نتیجه این بالابودن دما بر نتایج به‌دست آمده در سال ۱۳۹۰ اثر سوء قابل توجهی گذاشت. علاوه بر این در فاصله زمانی ۸ تا ۱۳ هفته پس از کاشت در سال زراعی ۱۳۹۰، مقدار بارندگی انجام گرفته در منطقه در مقایسه با سال ۱۳۸۹ بسیار کم‌تر بود که این موضوع نیز بر نتایج به‌دست آمده تاثیرگذار بوده است. مقدار ساعات آفتابی در سال زراعی ۱۳۸۹ در فاصله زمانی ۷ تا ۱۳ هفته پس از کاشت در مقایسه با ساعات آفتابی در همین محدوده زمانی در سال ۱۳۹۰ خیلی بیش‌تر بود. بررسی نتایج تجزیه مرکب اثر سال بر کلیه صفات مورد بررسی در آزمون‌های مختلف بذر نشان داد که شرایط محیطی هر سال در قابلیت جوانه‌زنی و بنیه بذرهای بادام زمینی اثر قابل توجهی دارند زیرا تولید بادام‌زمینی در استان گیلان به‌صورت دیم می‌باشد. اثر سال در زمانی که دمای محیط، مقدار بارندگی و ساعات آفتابی طی رشد بادام‌زمینی بیش‌تر باشند، بهتر نمایان می‌شود. نتایج تجزیه مرکب نشان داد اثر جمعیت باکتری نیز بر درصد جوانه‌زنی نهایی در هر ۳ آزمون معنی‌دار بود (جدول ۲) و با افزایش جمعیت باکتری درصد جوانه‌زنی نهایی در آزمون استاندارد افزایش پیدا کرد به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار درصد جوانه‌زنی از جمعیت $10^{12}$ CFU/ml (۹۶/۷۴) به‌دست آمد. در آزمون‌های سرما و پیری تسریع-شده نیز بذرهایی که از بوته‌های تیمارشده با جمعیت‌های $10^{12}$ CFU/ml حاصل شده بودند، بالاترین درصد جوانه-زنی را داشتند (جدول ۳). به نظر می‌رسد همزیستی باکتری‌های متیلوباکتریوم به‌خصوص در جمعیت‌های بالاتر سبب افزایش و تولید تنظیم‌کننده‌های رشد مانند سایتوکینین و اکسین در بوته‌های بادام‌زمینی شده است زیرا گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهند تولید ترکیبات هورمونی توسط میکروارگانیسم‌های متیلوتروف همزیست با گیاهان می‌تواند رشد گیاهان را به‌دلیل تنظیم و تغییر در بیوسنتز آنزیم‌های گیاهان میزبان تحت تاثیر قرار داده و در نهایت منجر به تغییر فرآیندهای رشد در مراحل مختلف رشد و تغییر تخصیص مواد پرورده فتوسنتزی به قسمتهای رویشی و زایشی در آن‌ها گردند (Ryu 2006 ; Maliti *et al*., 2005 ; Gaspar *et al.,* 1996). اثر مقدار متانول بر درصد جوانه‌زنی نهایی نیز در هر سه آزمون معنی‌دار گردید (جدول ۲). در آزمون استاندارد بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در بذرهای جداشده از بوته‌های تیمارشده با متانول ۳۰ درصد حجمی به‌دست آمد، درحالی‌که در آزمون‌های سرما و پیری تسریع‌شده اثر مقدار ۲۰ درصد حجمی متانول بر درصد جوانه‌زنی نهایی بذرها بیش‌تر از سایر مقادیر مصرف متانول بود (جدول ۴). مصرف متانول می‌تواند روند افزایش وزن تر و وزن خشک گیاهان را تحریک کند و ارتباط نزدیکی بین مقدار افزایش وزن خشک گیاهان با مقدار متانول مصرف‌شده بر روی آن‌ها وجود دارد (Ramberg *et al*.; 2002 Theodoridou *et al.,* 2002). بررسی انجام‌گرفته بر روی بادام‌زمینی نیز نشان داده است که سرعت جذب خالص برگ‌های بادام‌زمینی با افزایش سن آن‌ها از ۷ تا ۲۸ روز پس از بازشدن، به‌تدریج کاهش می‌یابد. کاهش سرعت جذب خالص برگ‌های بادام‌زمینی در ۹۰ روز پس از کاشت یعنی دوره حداکثر پرشدن غلاف بیش‌تر می‌باشد (Malik *et al*., 1999). هر گونه افزایش دمای محیط در زمان پرشدن غلاف‌های بادام‌زمینی می‌تواند اثر منفی بر عملکرد غلاف‌ها بگذارد (Golombek and Johansen. 1997). محلول‌پاشی متانول و نیز مخلوطی از الکل‌های آلیفاتیک سرعت فتوسنتز و فعالیت PEP کربوکسیلاز را طی این دوره در گیاه بادام‌زمینی افزایش داده و باعث افزایش تولید ماده خشک در این گیاه می شود (*et al*, Malik 1999). بررسی انجام‌گرفته توسط Theodoridou و همکاران (2002) نیز نشان داد که اثر متانول بر روی سیستم فتوسنتزی گیاه همانند اثر افزایش غلظت $CO_2$ در اطراف گیاه می‌باشد اثر متقابل جمعیت باکتری × مقدار متانول بر درصد جوانه‌زنی نهایی نیز در آزمون‌های استاندارد و سرما بسیار معنی‌دار شد (جدول ۲). مقدار مصرف ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول به‌همراه محلول-پاشی متیلوباکتریوم در جمعیت $10^{12}$ CFU/ml روی بوته‌های مادری باعث تقویت بنیه بذرهای تولیدشده گردید (شکل‌های ۱ و ۲). به نظر می‌رسد جمعیت باکتری یکی از عوامل بسیار تاثیرگذار در بروز بیش‌تر اثرات متانول در رشد گیاهان باشد (Omer *et al,* 2004). با توجه به تغییرات زیاد دمایی و رطوبتی در سال زراعی ۱۳۹۰ به نظر می‌رسد پس از هر محلول‌پاشی جمعیت باکتری‌ها به شدت در معرض نوسانات دمایی و رطوبتی قرار گرفته

باشد و علاوه بر این کم‌بودن بارندگی‌های اتفاق افتاده نیز می‌تواند در کم‌شدن جمعیت باکتری‌ها تاثیر به‌سزایی داشته باشد (Madhaiyan *et al,* 2006).

**وزن خشک گیاهچه**

نتیجه تجزیه مرکب اثر سال، متانول و جمعیت متیلوباکتریوم بر وزن خشک گیاهچه نشان داد، اثر سال بر وزن خشک گیاهچه در هر سه آزمون معنی‌دار بود (جدول ۲) و بیش‌ترین مقدار وزن خشک گیاهچه نیز در هر سه آزمون از بذرهای تولیدشده در سال ۱۳۸۹ به‌دست آمد (جدول ۳). علاوه بر این مقدار مصرف متانول نیز بر وزن خشک گیاهچه‌های تولیدشده اثر مثبت داشت و با افزایش مقدار محلول‌پاشی متانول روی بوته‌های مادری، وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرهای آنان نیز افزایش پیدا کرد. این روند افزایشی تا مصرف ۲۰ درصد حجمی ادامه یافت، اما با مصرف متانول ۳۰ درصد حجمی کمی مقدار وزن خشک گیاهچه‌ها کاهش پیدا کرد (جدول ۳). مطالعات (Karczmarczyk *et al*, 1995) نشان داد غلظت‌های زیاد متانول از اکسیداسیون فرمالدئید و تبدیل آن به اسید فورمیک جلوگیری می‌کند. به عبارت دیگر در سیستم فنتون سرعت اکسیداسیون فرمالدئید و متانول تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر مقدار pH سلول، غلظت پراکسید هیدروژن، غلظت یون‌های آهن دو ظرفیتی و نیز غلظت متانول قرار دارد. بنابراین به نظر می‌رسد در غلظت ۳۰ درصد حجمی متانول غلظت زیاد متانول مصرفی اثر بازدارنده بر آسیمیلاسیون این ماده در گیاه بادام‌زمینی داشته است و این امر نیز می‌تواند بر روند پرشدن دانه‌های بادام‌زمینی اثر سوء داشته باشد (Ramberg *et al*., 2002; Theodoridou *et al.,* 2002). این موضوع در هر سه آزمون استاندارد، سرما و پیری تسریع‌شده مشاهده شد (جدول ۳).

**شاخص بنیه وزنی گیاهچه**

نتیجه تجزیه مرکب اثر سال، متانول و جمعیت متیلوباکتریوم بر شاخص بنیه وزنی گیاهچه نشان داد فقط اثر سال و مقدار مصرف متانول بر این صفت در آزمون‌های مختلف بسیار معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین این صفت در دو سال زراعی نیز نشان داد شاخص وزنی بنیه گیاهچه در سال ۱۳۸۹ بیش‌تر از سال ۱۳۹۰ بود (جدول ۴) که این موضوع نیز ناشی از بهتر بودن شرایط رشد و تولید بوته‌های بادام‌زمینی در سال ۱۳۸۹ بود. بررسی شاخص وزنی بنیه گیاهچه در مقادیر مختلف مصرف متانول در هر سه آزمون نشان داد اثر محلول‌پاشی متانول روی بوته‌های مادری با مقادیر ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی بر این صفت بیش‌تر از دو مقدار مصرف دیگر بود اما تفاوت بین این دو مقدار مصرف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. به‌نظر می‌رسد افزایش شاخص وزنی بنیه گیاهچه در مقادیر مصرف ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول به‌دلیل افزایش ضریب تسهیم و نیز بیش‌تربودن دوام سطح برگ در بوته‌های تیمارشده با این مقادیر، افزایش نسبی مقدار کلروفیل برگ‌ها و نیز بیش‌تر بودن راندمان مصرف تشعشع باشد (Ramberg *et al*., 2002; Ramirez *et al.,* *2006*).

**وزن خشک ریشه‌چه**

نتیجه تجزیه مرکب اثر سال، متانول و جمعیت متیلوباکتریوم بر وزن خشک ریشه‌چه نشان داد اثر سال بر این صفت فقط در آزمون جوانه‌زنی استاندارد معنی‌دار شد و اثر سال در دو آزمون سرما و پیری تسریع‌شده معنی‌دار نشد (جدول ۲). در آزمون جوانه‌زنی استاندارد نیز وزن خشک ریشه‌چه در بذرهای تولیدشده در سال ۱۳۸۹ بهتر از سال ۱۳۹۰ بودند (جدول ۴). وزن خشک ریشه‌چه در آزمون استاندارد با محلول‌پاشی مقادیر ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول روی گیاه مادری به مقدار بیش‌تری افزایش یافت ولی تفاوت وزن خشک ریشه‌چه بین این دو مقدار مصرف از لحاظ آماری معنی‌دار نشد. در دو آزمون سرما و پیری تسریع‌شده اثر سال بر وزن خشک ریشه‌چه معنی‌دار نشد و فقط مقادیر مصرف متانول روی بوته‌های مادری بر این صفت اثر معنی‌داری داشتند (جدول ۲). بیش‌ترین وزن خشک ریشه‌چه در بذرهایی که روی بوته‌های مادری آن‌ها متانول به‌مقدار ۲۰ درصد حجمی محلول‌پاشی شده بود (۹۴/۳میلی‌گرم)، به‌دست آمد (جدول ۴). در این آزمون نیز با محلول‌پاشی مقدار ۳۰ درصد حجمی متانول روی بوته‌های مادری وزن خشک ریشه‌چه کاهش پیدا کرد (۷۰/۳ میلی‌گرم). در آزمون پیری تسریع‌شده بالاترین مقدار وزن خشک ریشه‌چه در مقادیر مصرف ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول مشاهده شد (۵۶/۸ و ۵۱/۶) که با وزن خشک ریشه‌چه در دو مقدار مصرف دیگر متانول تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۴).

**جدول ۲-تجزیه مرکب برخی خصوصیات مرتبط با قابلیت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه بادام‌زمینی در مقادیر مختلف متیلو باکتریوم و متانول در دو سال زراعی**

**Table 2. Combined analysis data of some germinability characteristics and seedling vigour of peanut at different levels of methylobacterium and methanol in two growing seasons**

| منبع تغیرات S.O.V. | درجه آزادی df | درصد جوانه‌زنی نهایی Final germination percentage | | | وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight | | | شاخص بنیه وزنی گیاهچه Seedling weight vigour index | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging |
| | | میانگین مربعات Mean squares | | | | | | | | |
| سال Year (Y) | 1 | 100.165** | 69.776** | 68.752* | 715.541* | 33.3* | 64.844* | 1131.349** | 1483.684** | 1519.961** |
| بلوک درون سال Rep(year) | 4 | 11.466 | 7.364 | 3.911 | 486.0923 | 6.181 | 50.182 | 5.149 | 86.523 | 234.078 |
| جمعیت باکتری Bacterium concentration (BC) | 3 | 191.680** | 204.212** | 55.793* | 20.174 | 5.538 | 1.438 | 4.222 | 5.068 | 77.386 |
| مقدار متانول Methanol rate (Mr) | 3 | 131.047** | 332.263** | 45.097* | 333.161** | 226.667** | 15.790 | 423.261** | 403.167** | 296.413** |
| Mr× BC | 9 | 104.360** | 46.773** | 18.865 | 56.843 | 68.399 | 27.166 | 48.874 | 94.902 | 202.208 |
| Y × BC | 3 | 13.211 | 17.135 | 1.007 | 38.914 | 2.484 | 0.501 | 8.381 | 48.187 | 13.804 |
| Y× Mr | 3 | 16.069 | 34.442 | 5.318 | 201.437 | 16.151 | 17.185 | 126.567 | 361.090 | 187.328 |
| Y× Mr× BC | 9 | 20.685 | 22.763 | 1.602 | 23.009 | 8.150 | 3.442 | 6.534 | 112.392 | 75.939 |
| خطای آزمایش Error | 60 | 10.0195 | 9.751 | 12.390 | 55.152 | 54.386 | 9.246 | 124.977 | 241.836 | 440.837 |
| ضریب تغییرات (%) CV | - | 12.31 | 14.94 | 20.12 | 14.182 | 16.72 | 16.22 | 19.51 | 21.56 | 24.49 |

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

** and * significant at 1 and 5 percent level of probability, respectively

ادامه جدول ۲

| منبع تغیرات S.O.V. | درجه آزادی df | وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight (mg) | | | وزن خشک هیپوکوتیل Hypocotyl dry weight (mg) | | | وزن خشک ساقه‌چه Plumule dry weight (mg) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging |
| | | میانگین مربعات Mean square | | | | | | | | |
| سال Year (Y) | 1 | 12.981** | 4.146 | 0.004 | 161.203** | 83.664** | 138.543* | 65.346** | 408.382** | 43.946** |
| بلوک درون سال Rep(Year) | 4 | 0.683 | 0.342 | 62.872 | 14.966 | 10.205 | 151.794 | 35.964 | 3.165 | 3.806 |
| جمعیت باکتری Bacterium concentration (BC) | 3 | 0.062 | 4.173 | 24.227 | 0.746 | 2.074 | 48.495 | 7.726 | 5.754 | 0.210 |
| مقدار متانول Methanol rate (Mr) | 3 | 31.48**4 | 0.306* | 233.914** | 219.324* | 76.442** | 962.145* | 82.358** | 138.257** | 62.437** |
| Mr× BC | 9 | 0.760 | 1.563 | 12.051 | 5.385 | 6.914 | 51.186 | 3.936 | 6.174 | 2.441 |
| Y × BC | 3 | 0.375 | 0. 147 | 2.546 | 0.657 | 1.376 | 16.047 | 5.946 | 3.636 | 0.275 |
| Y× Mr | 3 | 0.927 | 0.284 | 3.705 | 20.818 | 3.187 | 38.85 | 2.992 | 4.637 | 0.263 |
| Y× Mr× BC | 9 | 0.117 | 0.326 | 3.185 | 0.205 | 1.366 | 6.525 | 0.974 | 2.874 | 0.117 |
| خطای آزمایش Error | 60 | 1.46 | 1.803 | 32.305 | 23.336 | 2.724 | 58.18 | 4.357 | 10.093 | 6.106 |
| ضریب تغییرات CV (%) | - | 17.36 | 21.92 | 20.58 | 7.46 | 19.294 | 22.28 | 2.79 | 14.52 | 5.67 |

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

** and * significant at 1 and 5 percent level of probability, respectively

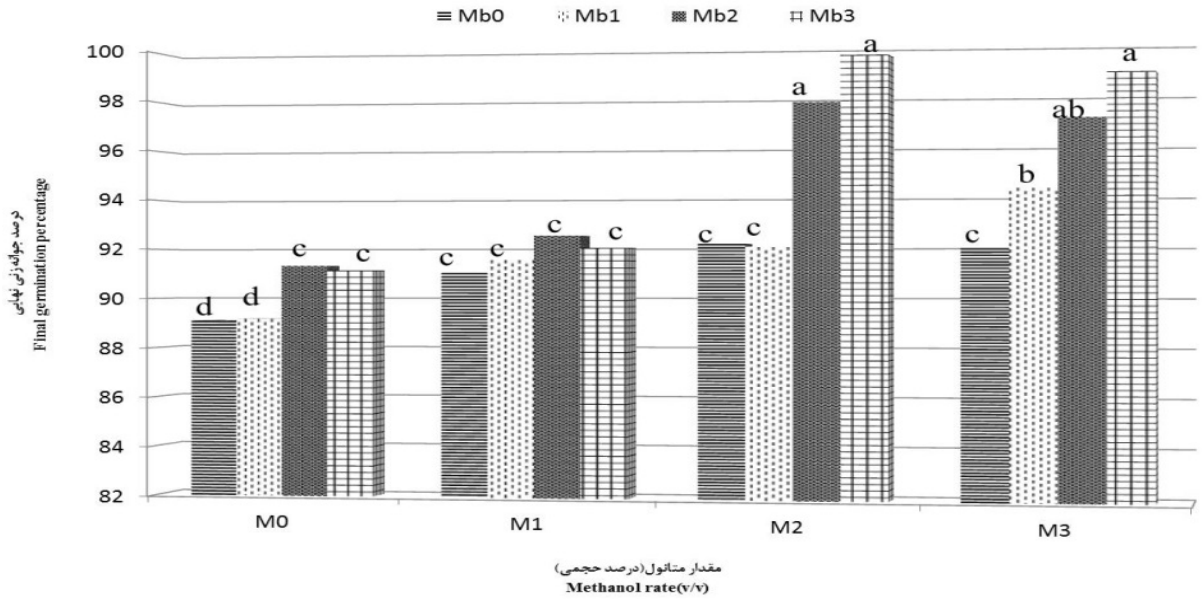
**جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سال، جمعیت باکتری و مقدار متانول بر درصد جوانه‌زنی نهایی بادام‌زمینی در دو سال زراعی**

**Table 3. Mean comparisons of year, Bacterium concentration and methanol rate on Final germination percentage of peanut in two growing seasons**

| | درصد جوانه‌زنی نهایی Final germination percentage | | |
|---|---|---|---|
| | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging |
| سال Year | | | |
| ۱۳۸۹ (2010) | 98.41 a | 48.67 a | 58.77 a |
| ۱۳۹۰ (2011) | 92.36 b | 42.55 b | 52.33 b |
| جمعیت باکتری (CFU/ml) | | | |
| ۰ 0 | 92.76b | 41.12 b | 45.37b |
| $10^{6}$ ۱۰۶ | 92.8b | 41.23 b | 46.41 b |
| $10^{8}$ ۱۰۸ | 93.5b | 44.67 b | 55.44 a |
| $10^{12}$ ۱۰۱۲ | 96.74a | 49.65 a | 57.37 a |
| مقدار متانول(درصد حجمی) Methanol rate(v/v) | | | |
| ۰ 0 | 91.42c | 42.22b | 46.47c |
| ۱۰ 10 | 92.47c | 42.88b | 59.39b |
| ۲۰ 20 | 98.65b | 54.86a | 66.12 a |
| ۳۰ 30 | 97.5a | 54.37 a | 65.97 a |

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability levels using Duncan test




**شکل ۱- اثر مقادیر مختلف متانول و جمعیت متیلوباکتریوم بر درصد جوانه‌زنی نهایی بذرها در آزمون جوانه‌زنی استاندارد**

**Figure 1. Effect of methanol rate and methylobacterium concentration on Final germination percentage in standard germination test**

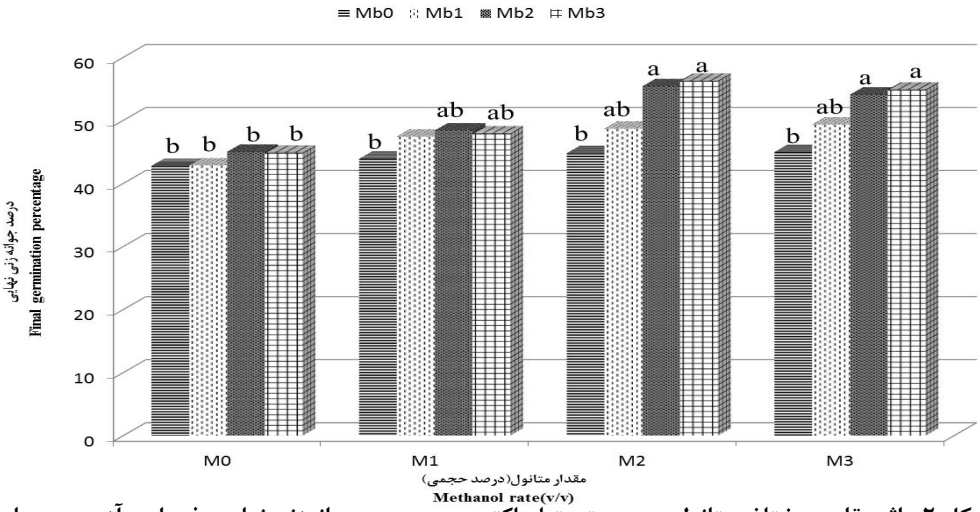
**جدول ۴- مقایسه میانگین اثر سال و مقدار متانول بر برخی از خصوصیات مورد بررسی در دو سال زراعی**

**Table 4. Mean comparison of year and methanol rate effects in some of studied characteristics in two growing seasons**

| | وزن خشک گیاهچه (میلی‌گرم) Seedling dry weight (mg) | | | شاخص بنیه وزنی گیاهچه Seedling weight vigour index | | | وزن خشک ریشه‌چه (میلی‌گرم) Radicle dry weight (mg) | | | وزن خشک هیپوکوتیل (میلی‌گرم) Hypocotyl dry weight (mg) | | | وزن خشک ساقه‌چه (میلی‌گرم) Plumule dry weight (mg) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging | استاندارد Standard | سرما Cold | پیری Aging |
| سال Year | | | | | | | | | | | | | | | |
| ۱۳۸۹(2010) | 518.65 a | 431.6 a | 333.6 a | 29.3 a | 21.6 a | 24.5 a | 108.55 a | 84.6a | 61.4 a | 199.6 a | 127.6 a | 101.6 a | 138.4 a | 108.4 a | 66.9 a |
| ۱۳۹۰ (2011) | 495.62b | 395.51b | 309.21b | 22.4 b | 16.3 b | 20.2 b | 92.6b | 80.3 a | 63.2 a | 172.5 b | 112.5 b | 93.4 b | 121.7 b | 89.6 b | 51.3 b |
| مقدار متانول Methanol rate(v/v) | | | | | | | | | | | | | | | |
| ۰ 0 | 472.28c | 321.6c | 296.01b | 22.4c | 14.27b | 27.16b | 77.12b | 50.7c | 35.1b | 151.4 c | 105.4 c | 91.2 c | 102.7 c | 95.8c | 50.3c |
| ۱۰ 10 | 478.44c | 341.67c | 303.92b | 29.2b | 15.4b | 29.12b | 80.1b | 51.4c | 38.1b | 152.2 c | 107.1 c | 91c | 110.2c | 96.2c | 52.2c |
| ۲۰ 20 | 533.45a | 462.62a | 344.93a | 35.3a | 24.6a | 34.2a | 118.65 a | 94.3a | 56.8 a | 208.6a | 139.7a | 110.6a | 161.7a | 120.4a | 79.5a |
| ۳۰ 30 | 508.91b | 427.31b | 348.15a | 34.6a | 24.2a | 34a | 95.2ab | 70,3b | 51.6 a | 198.9b | 129.4b | 104.8b | 146.5 b | 113.6b | 63.2b |

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability levels using Duncan test




**شکل ۲- اثر مقادیر مختلف متانول و جمعیت متیلوباکتریوم بر درصد جوانه‌زنی نهایی بذرها در آزمون سرما**

**Figure 2. Effect of methanol rate and methylobacterium concentration on Final germination percentage in cold test**

### وزن خشک هیپوکوتیل و ساقه‌چه

نتیجه تجزیه مرکب اثر سال، متانول و جمعیت متیلوباکتریوم بر وزن خشک هیپوکوتیل و ساقه‌چه نشان داد اثر سال بر این دو صفت در هر سه آزمون جوانه‌زنی استاندارد، سرما و پیری تسریع‌شده معنی‌دار شد (جدول ۲) و وزن خشک هیپوکوتیل و ساقه‌چه در بذرهای تولیدشده در سال ۱۳۸۹ بیش‌تر از وزن خشک هیپوکوتیل و ساقه‌چه در سال ۱۳۹۰ بود (جدول ۴). اثر مقادیر مصرف متانول نیز بر این دو صفت معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش مقدار مصرف متانول از ۰ تا ۲۰ درصد حجمی روی بوته‌های مادری وزن خشک هیپوکوتیل و ساقه‌چه به‌تدریج در هر سه آزمون افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری نیز با یکدیگر داشتند اما با مصرف ۳۰ درصد حجمی متانول روی بوته‌های مادری وزن خشک هیپوکوتیل و ساقه‌چه در بذرهای جوانه‌زده در هر سه آزمون نسبت به بذرهای حاصل از بوته‌های محلول‌پاشی‌شده با متانول ۲۰ درصد حجمی پایین‌تر بود (جدول ۴).

### نتیجه‌گیری

ازآن‌جایی که تولید بادام‌زمینی در استان گیلان به‌صورت دیم می‌باشد، عوامل محیطی در هر سال می‌توانند به‌طور قابل توجهی بر قابلیت جوانه‌زنی و بنیه بذرهای بادام‌زمینی تاثیرگذار باشند. وقوع بارندگی‌های زیاد در ابتدای فصل رشد در بسیاری از سال‌ها بذرهای کاشته‌شده بادام‌زمینی را با رطوبت و سرمای زیاد مواجه می‌کند و در این شرایط بسیاری از کشاورزان تا چند بار اقدام به کاشت مجدد بذر می‌نمایند. در اواسط دوره پرشدن غلاف‌ها در زیر خاک نیز تنش خشکی اثرات سوء زیادی بر رشد بذرها در غلاف‌های در حال رشد می‌گذارد. بنابراین جهت تولید بذور با قدرت زیاد توجه به عملیاتی که بتواند بنیه بذرها و جوانه‌زنی آن‌ها را در شرایط مزرعه بهبود بخشد، یکی از ضروریات اصلی در تولید بادام‌زمینی می‌باشد. این امر می‌تواند به‌عنوان یکی از موثرترین راه‌ها جهت بالابردن عملکرد و کاهش هزینه‌های کاشت در نظر گرفته شود. استفاده از محلول‌پاشی بوته‌های مادری با متانول باعث افزایش بنیه بذر در مزارع بادام‌زمینی می‌شود و محلول متانول ۲۰ درصد حجمی می‌تواند یکی از موارد قابل توجه در این زمینه باشد. از طرف دیگر محلول‌پاشی بوته‌های مادری با جمعیت $10^{12}$ CFU/ml متیلوباکتریوم می‌تواند اثر متانول روی بوته‌های مادری را افزایش دهد زیرا به نظر می‌رسد استفاده از متیلوباکتریوم به‌ویژه در جمعیت‌های زیاد باعث افزایش اثر متانول روی بوته‌های مادری برای تولید بذور با بنیه خوب می‌گردد. این موضوع به‌صورت افزایش درصد جوانه‌زنی نهایی بذرها در آزمون‌های جوانه‌زنی استاندارد و سرما مشاهده شد. بنابراین جمعیت این باکتری یکی از عوامل بسیار تاثیرگذار در بروز بیش‌تر اثرات متانول در رشد گیاهان است.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت تشکر و قدردانی می‌گردد.

**منابع**


Abanda-Nkpwatt, D., Musch, M., Tschiersch, J., Boettne, M. and Schwab, W. 2006. Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. Journal of Experimental Botany, 57(15): 4025-4032. **(Journal)**

Anonymous. 2011. International rules for seed testing. Supplement to Seed Science and Technology, 21: 1-288. Published by: International Seed Testing Assemblage (ISTA). **(Handbook)**

Bhattacharya, S., Bhattacharya, N.C. and Bhatnagar, B.B. 1985. Effect of ethanol, methanol and acetone on rooting etiolated cuttings of *Vigna radiata* in presence of sucrose and auxin. Annals of Botany, 55: 143–145. **(Journal)**

Corpe, W.A. and Rheem, S. 1989. Ecology of the Methylotrophic Bacteria Living on Leaf Surfaces. FEMS Microbiology Ecology, 62(2): 243–248. **(Journal)**

Don, R. 2009. ISTA Handbook on Seedling Evaluation. 3rd Edition. Published by: The International Seed Testing Assemblage (ISTA). Bassersdorf, CH- Switzerland. **(Handbook)**

Downie, A., Miyazaki, S., Bohnert, H., John, P., Coleman, J., Parry, M. and Haslam, R. 2004. Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. Phytochemistry, 65: 2305–2316. **(Journal)**

Fall, R. and Benson, A.A. 1996. Leaf methanol,The simplest natural product from plants. Trends Plant Science, 1: 296–301. **(Journal)**

Galbally, E. and Kirstine, W. 2002. The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. Journal of Atmospheric Chemistry, 43(3): 195-229. **(Journal)**

Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D.M. and Corpe, T.A.T. 1996. Review: Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 32: 272-289. **(Journal)**

Golombek, S.D. and Johansen, C. 1997. Effect of soil temperature on vegetative and reproductive groeth and development in three Spanish genotypes of peanut (*Arachis hypogaea L.*). Peanut Science, 24: 67-72. **(Journal)**

Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F. and Nonomura, A.R. 2000. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. Plant Physiology, 123: 287–296. **(Journal)**

Green, P.N. 2006. *Methylobacterium*. In The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria, 3rd edn, vol. 5, pp. 257–265. Edited by M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer and E. Stackebrandt. New York: Springer. **(Book)**

Hampton, J.G. and TeKrony, D.M. 1995. Handbook of Vigour Test Methods. 3nd edition. Published by: International Seed Testing Assemblage (ISTA). Zurich, Switzerland, 117 p. **(Handbook)**

Holland, M.A. 1997. *Methylobacterium* and plants. Rec. Res. Dev. Plant Physiology, 1: 207–213. **(Journal)**

Holland, M.A. and Polacco, J.C. 1994. PPFMs and other contaminants: Is there more to plant physiology than just plant? Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 45: 197–209. **(Journal)**

Ivanova, E.G., Doronina, N.V. Shepelyakovskaya, A.O., Laman, A.G., Brovko, F.A. and Trotsenko, Y.A. 2000. Facultative and Obligate Aerobic Methylobacteria Synthesize Cytokinins. Microbiology, 69(6): 764–769. **(Journal)**

Jourand, P., Giraud, E., Bena, G., Sy, A., Willems, A., Gillis, M., Dreyfus, B. and De Lajudie, P. 2004. Methylobacterium nodulans sp. nov., for a group of aerobic, facultatively methylotrophic, legume root-nodule-forming and nitrogen-fixing bacteria. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology, 54: 2269–2273. **(Journal)**

Karczmarczyk S.J., Devlin, R. and Zbieć, M. 1995. Influence of methanol on winter rape seedlings. Acta Agrobotanica, 48(2): 37-42. **(Journal)**

Koenig, R.L., Morris, R.O. and Polacco, J.C. 2002. tRNA is the source of low-level *trans*-Zeatin production in *Methylobacterium* spp. Journal of Bacteriology, 184: 1832–1842. **(Journal)**

Kotzabasis, K., Hatziathanasiou, A., Bengoa-Ruigomez, M.V. Kentouri, M. and Divanach, P. 1999. Methanol as alternative carbon source for quicker efficient production of the microalgae Chlorella

minutissima: role of the concentration and frequence of administration. Journal of Biotechnology, 70: 357– 362. **(Journal)**

Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Senthilkumar, M., Seshadri, S., Chung, H., Yang, J., Sundaram, S. and Sa, T. 2004. Growth promotion and induction of systemic resistance in rice cultivar Co-47 (*Oryza sativa* L.) by *Methylobacterium* spp. Botanical Bulletin-Academia Sinica Taipei, 45: 315-324. **(Journal)**

Madhaiyan, M., Suresh Reddy, B.V., Anandham, R., Senthilkumar, M., Poonguzhali S., Sundaram, S.P. and Sa, T. 2006. Plant Growth–Promoting Methylobacterium Induces Defense Responses in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Compared with Rot Pathogens. Current Microbiology, 53: 270–276. **(Journal)**

Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Lee, H.S. Hari, K., Sundaram, S.P. and Sa, T.M. 2005. Pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria accelerate germination, growth and yield of sugarcane clone Co86032 (*Saccharum officinarum* L.). Biology and Fertility of Soils, 41: 350–358. **(Journal)**

Maiti, R. and Ebeling, P.W. 2002. The peanut (*Arachis hypogaea*) crop. Science Publisher, Inc., pp: 376. **(Book)**

Malik, C.P., Sing, P., Kaur, S,. malik, S., Parmar, U., Grewal, M. and Bhatia, D.S. 1990. Modification of leaf photosynthesis by foliar application of aliphatic alcohols. Journal of Agronomy and Crop Science, 165: 198-201. **(Journal)**

Maliti, C.M., Basile, D.V. and Corpe, W A. 2005. Effects of *Methylobacterium* spp. strains on rice *Oryza sativa* L. callus induction, plantlet regeneration, and seedlings growth in vitro. Journal of the Torrey Botanical Society, 132(2): 355-367. **(Journal)**

Nautiyal, P.C. 2009. Seed and seedling vigour traits in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Seed Science and Technology, 37: 721-735. **(Journal)**

Nemecek-Marshall, M., MacDonald, R.C., Franzen, J.J., Wojciechowski, C.L. and Fall, R. 1995. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance and leaf development. Plant Physiology, 108: 1359–1368.

Okon, Y., Albrecht, S.L. and Burris, R.H. 1977. Methods for growing *Spirillum lipoferum* and for counting it in pure culture and in association with plants. Applied and Environmental Microbiology, 33(1): 85-88. **(Journal)**

Omer, Z.S., Tombolini, R., Broberga, A. and Gerhardson, B. 2004. Indole-3-acetic acid production by pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria. Plant Growth Regulation, 43: 93–96. **(Journal)**

Ramberg, H.A., Bradley, J.S.C., Olson, J.S.C., Nishio, J.N., Markwell, J. and Osterman, J.C., 2002. The Role of Methanol in Promoting Plant Growth: An Update. Rev. Plant Biochemistry and Biotechnology, 1: 113-126.

Ramirez, I., Dorta, F., Espinoza, V., Jimenez, E., Mercado, A. and Pen a-Cortes, H. 2006. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of arabidopsis, tobacco and tomato plants. Journal of Plant Growth Regulation, 25: 30–44. **(Journal)**

Reynolds, J. and Farinha, M. 2005. Counting bacteria. Richland college, pp: 1-10. **(Book)**

Ryu, J., Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Yim, W., Indiragandhi, P., Kim, K., Anandham, R., Yum, J., Kim, K.H. and Sa, T. 2006. Plant Growth Substances Produced by *Methylobacterium* spp. and Their Effect on Tomato *(Lycopersicon esculentum* L.) and Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Growth. Journal of Microbiology and Biotechnology, 16(10): 1622-1628. **(Journal)**

Shepelyakovskaya, A.O., Doronina, N.V., Laman. A.G., Brovko, F.A. and Trotsenko, Y.A. 1999. New data on the ability of aerobic methylotrophic bacteria to synthesize cytokinins. Doklady Akademii Nauk, 368: 555–557. **(Journal)**

Smartt, J. 1994. The groundnut crop. A scientific basis for improvement. London. Chapman and Hall, pp: 734. **(Book)**

Theodoridou, A., Dornemann, D., and Kotzabasis, K. 2002. Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol. Biochimica et Biophysica Acta, 1573: 189–198.

Trotsenko, Y.A., Ivanova, E.G. and Doronina, N.V. 2001. Aerobic Methylotrophic Bacteria as Phytosymbionts. Mikrobiologiya, 70(6): 725–736. **(Journal)**

# Study of some characteristics related to germinability and seedling vigour of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds cultivar $NC_2$ from plants had been sprayed with methanol and mthylobacterium

**AliReza Hossinzadeh Gashti[1], Vorham Rashidi[2*], Mohammad Naghi Safarzad Vishgahi[3], Masoud Esfehani[4], Farhad Farahvash[2]**

Received: January 3, 2017 Accepted: February 13, 2017

**Abstract**

In order to evaluate Germinability and seedling vigour associated with peanut seeds of the plants had been sprayed with methanol and mthylobacterium a laboratory research at 2 years was conducted in Islamic Azad University of Rasht. This study was conducted using standard germination test, cold and accelerated aging test. Each test using factorial experiment based on randomized complete block design with 16 treatments (bacteria populations mthylobacterium in unit of CFU in 4 levels, $10^6$, $10^8$ and $10^{12}$ and 4 levels of methanol 0, 10, 20 and 30 % v/v) in three replications. characteristics studied were: final germination percentage, seedling vigour, root dry weight, hypocotyl dry weight , shoot dry weight and seedling dry weight. The results showed that the effect of year was significant on all studied characteristics in all the tests. Bacteria population only significant effect on the final germination percentage in all the tests. The amount of methanol had significant effect on all studied characters in the three tests. Interaction between the bacterial population with amount of methanol only the final germination percentage in standard germination and cold tests had a significant effect. Comparison of means showed the highest final germination percentage in the population of bacteria $10^{12}$ CFU was observed in all the tests. Most of all investigated characteristics in all tests was 20 percent methanol.

**Keywords: Methanol rate; Methylobacterium concentration; Peanut; Seed tests**

**How to cite this article**

Hossinzadeh Gashti, A.R., Rashisd, V., Safarzad Vishgahi, M.N., Esfehani, M. and Farahvash, F. 2020. Study of some characteristics related to Germinability and seedling vigour of peanut (Arachis hypogaea L.) seeds cultivar NC2 from plants had been sprayed with methanol and mthylobacterium. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(4): 485-499. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2020.3927

**COPYRIGHTS**

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D Candidate of Agronomy, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
4. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

*Corresponding author: rash270@yahoo.com