"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد یازدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
(ص ۱۴۵-۱۱۷)
مقاله پژوهشی

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 11, No.: 1, Spring 2022
(pp: 117-145)
DOI: 10.22034/ijsst.2021.355229.1400
Research Article

اثر پیش‌تیمارهای زیستی بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشدی و فیزیولوژیک گیاهچه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) تحت تنش شوری طبیعی

سید مهدی موسوی[۱]، حشمت امیدی[۲*]، سید اسماعیل موسوی[۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
۳. دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۶)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تیمارهای زیستی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شنبلیله تحت شرایط تنش شوری طبیعی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل پیش‌تیمارهای زیستی در چهار سطح (شاهد، تلقیح با کود زیستی ازته ، تلقیح با کود زیستی فسفاته و تلقیح با تلفیقی از کودهای زیستی) و سطوح شوری طبیعی (نمک طبیعی دریاچه قم) در پنج سطح (صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بودند. نتایج نشان داد افزایش شوری باعث بیشتر شدن میانگین مدت زمان جوانه‌زنی شد و استفاده از تیمارهای کود زیستی فسفاته و تیمار تلفیقی منجر شد این شاخص در بالاترین سطح شوری تیمارهای بیان شده نسبت به بالاترین سطح شوری تیمار شاهد ۲۲ درصد کاهش نشان دهد. شوری باعث کاهش ضریب جوانه‌زنی گردید و بیشترین میزان این شاخص (۷۴/۳) در شوری ۳ دسی‌زیمنس بر متر تیمار تلفیقی به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد و در همان سطح شوری ۸۹ درصد افزایش نشان داد. شوری کلروفیل کل را کاهش داد و تیمار زیستی ازته موجب گردید میزان کلروفیل کل در شوری صفر نسبت به همان سطح شوری در تیمار شاهد ۱۵۵ درصد افزایش پیدا کند. پروتئین‌های محلول با افزایش شوری افزایش یافت و تیمار تلفیقی این شاخص را در بالاترین سطح شوری نسبت به تیمار شاهد ۱۲ درصد افزایش داد. تحت تنش، گیاهان با تنش اکسیداتیو روبرو شده و برای مقابله با آن از تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بهره می‌برند. در این آزمایش استفاده از تیمارهای زیستی با بالا بردن تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باعث شد اثر شوری تعدیل و کاهش یابد.

کلید واژه‌ها: آنتی‌اکسیدانت، پروتئین، طول گیاهچه، کلروفیل، کود زیستی.

The effect of biological pre-treatments on germination, growth and physiological indices of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seedling under natural salinity stress

S.M. Mousavi[1], H. Omidi[2*], S.E. Mousavi[3]

1- Graduated Master of Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran
2- Associate Professor and Faculty of Agriculture Member, Shahed University, Tehran
3- Ph.D Student of Crop Physiology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
(Received: Aug. 13, 2021 – Accepted: Oct. 18, 2021)

Abstract

To study of the effect of biological pre-treatments on germination and growth of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seedling under natural salinity stress, a factorial experiment in a completely randomized design was conducted in three replications. Experimental treatments were biological pre-treated at four levels (control, inoculation with Azoto bio-fertilizer, inoculation with Phosphate bio-fertilizer, inoculation with both bio-fertilizers) and natural salinity (salt of Qom Lake) at five levels (zero, 3, 6, 9 and 12 dS/m).The results showed that increasing of salinity levels led to increasing of mean germination time and using of bio-fertilizer treatments and combination treatment caused this index show 22 percentages reduction at highest level of salinity compared to control treatment at same level of salinity. Salinity reduced the germination coefficient and the highest amount of this index (74.3) obtained at 3 dS/m level of salinity that compared to control treatment and at the same level of salinity showed 89 percentages increasing. Salinity reduced total chlorophyll and using of biological treatments caused amount of total chlorophyll at zero level of salinity show 155 percentages increasing compared to control treatment and at the same level of salinity. With increasing of salinity level increased soluble protein and combination treatment increased this index 12 percentages at the highest level of salinity compared to control. Under stress, plants face with oxidative stress and to confront of that use antioxidant enzymes. In this experiment, the using of biological treatments by raising of the production of antioxidant enzymes caused the reduction of salinity effects.

Keywords: *Antioxidant, bio-fertilizer, Chlorophyll, plant length, protein.*

* Email: omidi@shahed.ac.ir

مقدمه

شوری یکی از مهم‌ترین موانع محدود کننده تولید محصولات زراعی در نواحی خشک و نیمه خشک است. این اراضی حدود یک سوم غذای مردم دنیا را تولید می‌کنند (Munns, 2002). در گیاهان، جوانه‌زنی حساس‌ترین مرحله به تنش‌های محیطی از جمله شوری به حساب می‌آید (Patanea *et al*., 2009). کاهش جذب آب به دلیل افزایش فشار اسمزی و هم‌چنین از طریق ایجاد سمیت ناشی از تجمع یون‌ها جوانه‌زنی بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Zhu, 2002). بنابراین جوانه‌زنی بحرانی‌ترین مرحله برای کشت و استقرار مناسب گیاهچه در اراضی شور و رسیدن به یکنواختی و مدیریت بهینه در مبارزه با آفت و بیماری‌ها و عملکرد مناسب است (Taheri *et al*., 2017). پرایمینگ روشی است که از طریق آن بذور قبل از قرار گیری در محیط کشت به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آماده جوانه‌زنی می‌شوند. این روش موجب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی در بذرها و گیاهچه‌هایی که از آن‌ها به‌وجود می‌آید، می‌شود. به‌طوری که اثر آن باعث بهبود جوانه‌زنی و استقرار مناسب گیاهچه می‌شود (Hosseini and Koocheki, 2007). خماری و همکاران در بررسی اثر سطوح مختلف شوری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.)، چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)، سنای هندی (*Cassia angustifolia* Vahl.) و ریحان (*Ocimum bacillicum* L.) گزارش کردند که با افزایش سطح شوری سرعت و درصد جوانه‌زنی کاهش یافت (Khomri *et al*., 2007). شوری منجر به کاهش میزان کلروفیل می‌شود که از دلایل آن می‌توان به افزایش تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آن‌ها و نیز اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی اشاره کرد. در سال‌های اخیر به منظور کاهش اثر تنش‌های مختلف محیطی بر بذر در مرحله جوانه‌زنی، استفاده از باکتری‌های محرک رشد به منظور ایجاد یکنواختی و افزایش درصد جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه افزایش یافته است (Bashan *et al.*, 2004). تقویت زیستی بذر با به‌کارگیری باکتری‌های افزاینده رشد گیاه، در حال جایگزینی تدریجی با تیمارهای شیمیایی می‌باشد.

باکتری‌های افزاینده رشد از راه‌های گوناگون مانند تولید هورمون‌های رشد مثل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها، تثبیت نیتروژن، حل کردن فسفات‌های نامحلول و افزایش جذب آن توسط ریشه و کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی، شاخص‌های رشدی را تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Bashan *et al*., 2004). از عمده باکتری‌های محرک رشد گیاه که درتحقیقات زیادی به‌کار می‌رود می‌توان به جنس‌های آزوسپریلیوم، ازتوباکتر، سودوموناس و ریزوبیوم مربوط می‌باشند (Motamednejad *et al*., 2016). تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد می‌تواند باعث افزایش وزن خشک، افزایش نیتروژن کل گیاه، افزایش عملکرد دانه، افزایش وزن دانه‌ها، افزایش سرعت جوانه‌زنی و تغییر در طول مراحل رشد گردد، هم‌چنین استفاده از کودهای زیستی فسفردار باعث افزایش جذب عناصر غذایی مانند فسفر، افزایش جذب آب، کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی مانند شوری و هم‌چنین بهبود خصوصیات کمی و کیفی محصولات زراعی می‌گردد (عقیقی و همکاران، ۱۳۹۶). استفاده از کودهای زیستی و باکتری‌های محرک رشد در ارتقای بنیه بذر و گیاهچه نیز مؤثر بوده و بذرها و گیاهچه‌های ایجاد شده را در تحمل تنش شوری مقاوم‌تر می‌سازد (Ramamoorthy *et al*., 2000). رویکرد روز افزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهانی اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. در حال حاضر کاربرد گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف به صورت علمی و سنتی روند رو به رشدی داشته است (Hecl and Sustrikova. 2006). شنبلیله با نام علمی (*Trigonella foenum-graecum* L.) و از خانواده

(Fabaceae) کـه بومی ایران بوده، در بیش‌تر نواحی ایران قابلیت رویش داشـته و به‌عنوان سـبزی مصـرف می‌شود. این گیـاه دارای خـاصـــیـت دارویی مانند کاهش قند خون در بیماران دیابتی، ضد سرطان و همچنین ضد میکروبی می‌باشد (Mehrafarin *et al*., 2011). هدف از این تحقیق ارزیابی تغییرات مؤلفه‌های رشـــدی بذر شـــنبلیله در مرحله‌ی اولیه جوانـه‌زنی و مقـدار کلروفیـل و پروتئین محلول در مرحلهٔ گیـاهچـه‌ای در واکنش بـه اثر پیش‌تیمـار باکتریایی بذر با باکتری‌های محرک رشد و تنش بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسـی تأثیر تیمارهای زیسـتی بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشـــدی وفیزیولوژیک گیاهچه شـــنبلیله تحت تنش شـوری طبیعی آزمایشـی به‌صـورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصـادفی با سـه تکرار در آزمایشگاه فناوری بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد تهران در سال ۱۳۹۷ اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل پیش‌تیمارهای زیستی در چهار سـطح (شـاهد، تلقیح با کود زیستی ازتوبارور، تلقیح با کود زیســـتی فســـفاته‌بارور و تلقیح با تلفیق کود زیســـتی ازتوبارور و فسـفاته‌بارور) و سـطوح شـوری طبیعی (نمک طبیعی دریاچه قم) شـامل پنج سـطح (صـفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دسـی‌زیمنس بر متر) بودند. کودهای زیسـتی ازتوبارور۱ و فسـفاته بارور۲ از شـرکت زیست فناور سبز با غلظت cfu/ml ۱۰۸ تهیه و اسـتفاده گردید. لازم به ذکر اسـت کود زیسـتی ازتوبارور شـامل باکتری‌هایی از جنس ازتوباکتر و فسـفاته بارور دارای باکتری‌هایی از گونه‌های باســـیلوس لنتوس و سـودوموناس پوتیدا بود. بذر مورد نظر از شـرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. بذرها با استفاده از هیپوکلرید سدیم ۲٪ به مدت ۲۰ ثانیه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شـدند (رومانی و احتشـامی، ۱۳۹۳). پیش از انجام آزمایش، آزمون اســـتاندارد جوانه‌زنی، جهت پی بردن به وضـــعیت بذرها صـورت پذیرفت. پس از انجام این فرآیند برای اعمال کود زیسـتی، بذور به مدت ۲۴ سـاعت و در دمای ۴ درجه سـلسـیوس در محلول تیمارهای تهیه شـــده قرار گرفتند (Ghasemi Jobshahr and Khoramivafa, 2013). پس از اتمام زمان پیش‌تیمار زیسـتی، در هر پتری‌دیش ۲۵ عدد بذر قرار گرفت و طبق تیمارهای مورد نظر آب مقطر یا شـوری به داخل پتری‌دیش‌ها افزوده شـد و جهت کاهش مقدار تبخیر آب درون پتری‌دیش‌ها، درب آنها بسته شد و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس داخـل ژرميناتور قرار گرفتند (Ghorbanpur *et al*., 2011). بذرهای جوانه‌زده از روز دوم شـروع به شـمارش شدند. در حین شـمارش، بذرهایی جوانه‌زده محسـوب شـدند که دارای طول ریشـــه‌چـه بیش از دو میلی‌متر بود (Odoemena, 1988). در پایان آزمایش پس از شـمارش تعداد بذرهای جوانه‌زده، از هر پتری پنج عدد گیاهچه نرمال به صـورت تصادفی انتخاب و طول گیاهچه با اسـتفاده از خط کش مدرج و وزن خشـک ریشه‌چه و سـاقه‌چه با اسـتفاده از ترازوی حساس ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. شاخص‌های مورد ارزیابی به روش‌های زیر محاسبه شدند.

درصـد جوانه‌زنی با اسـتفاده از رابطه ۱ محاسـبه گردید (Ellis and Roberts, 1981).

$$PG=(G/N)\times 100$$ رابطه ۱

در ایـن رابطـه PG درصـــد جوانـه‌زنی، G تعـداد بـذر جوانه‌زده، N تعداد کل بذر موجود در بستر کشت می‌باشد.

محاسبه میانگین مدت زمان جوانه‌زنی از رابطه ۲ محاسبه گردید (Ellis and Roberts, 1981).

$$MGT=\sum(ni\times di)/\sum ni$$ رابطه ۲

MGT میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر شمارش، di تعداد روز تا شمارش.

ضـــریب جوانه‌زنی براســـاس رابطه ۳ محاســـبه شـــد (Scott *et al*., 1984)

$$GC=\frac{1}{MGT}\times 100$$ رابطه ۳

GC ضـــریـب جوانـه‌زنی، MGT میـانگین مدت زمان جوانه‌زنی

برای محاسبه شاخص طولی بنیه بذر از رابطه ۴ استفاده شد (Abdul- Baki and Anderson, 1973).

رابطه ۴ = شاخص طولی بنیه گیاهچه
درصد جوانه‌زنی × طول گیاهچه

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل کل (مجموع کلروفیل های a و b): اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی به روش Arnon (1967) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری محتوای پروتئین کل: برای تعیین مقدار کل پروتئین محلول از روش برادفورد (Bradford, 1967) استفاده شد.

سنجش‌های آنزیمی

میزان غلظت کمی آنزیم پراکسیداز به روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1995) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام می‌گیرد. در این روش ۳۳ میکرومول از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتراز محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گوایکول، پنج میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات‌پتاسیم (pH=۷) بود، مخلوط گردید و جذب آن به مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ nm خوانده شد. برای ساختن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات‌پتاسیم، ۳۹ میلی‌لیتر پتاسیم مونوفسفات ۵۰ میلی‌مولار با ۶۱ میلی‌لیتر پتاسیم دی‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار ترکیب شد. برای به دست آوردن میزان پراکسیداز و گزارش آن، عدد قرائت شده از اسپکتروفوتومتر در عدد ۱۰۰۰ ضرب شده و بر ۲۶/۶ تقسیم شد، سپس عدد حاصل در دو ضرب گردید.

سنجش میزان غلظت کمی آنزیم آسکوربیک‌پراکسیداز از طریق روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) صورت گرفت. بر اساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری اسکوربیک‌پراکسیداز، که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات‌پتاسیم (pH=۷)، ۰/۱ میلی‌مول EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار اسکوربیک‌اسید، ۰/۱۵ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن بود، مخلوط گردید. سپس جذب آن در طول موج ۲۹۰ nm بعد از مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای تبدیل اسکوربیک‌پراکسیداز عدد به دست آمده از اسپکتروفوتومتر در عدد ۱۰۰۰ ضرب و بر ۲/۸ تقسیم شد، سپس عدد حاصل در دو ضرب شد.

اندازه‌گیری میزان غلظت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش دهیندزا و همکاران (Dhindsa *et al*., 1981) انجام شد. بر اساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر از محلول اندازه‌گیری کاتالاز، که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات‌پتاسیم (pH=۷) و ۱۵ میلی‌مول پراکسیدهیدروژن بود، مخلوط گردید. سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ nm به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای تبدیل کاتالاز، عدد به دست آمده از اسپکتروفوتومتر در عدد ۱۰۰۰ ضرب و بر ۳۹/۲ تقسیم شد، سپس عدد حاصل در دو ضرب شد.

به‌منظور تجزیه‌ی داده‌ها از نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده گردید و مقایسه‌ی میانگین صفات مورد ارزیابی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

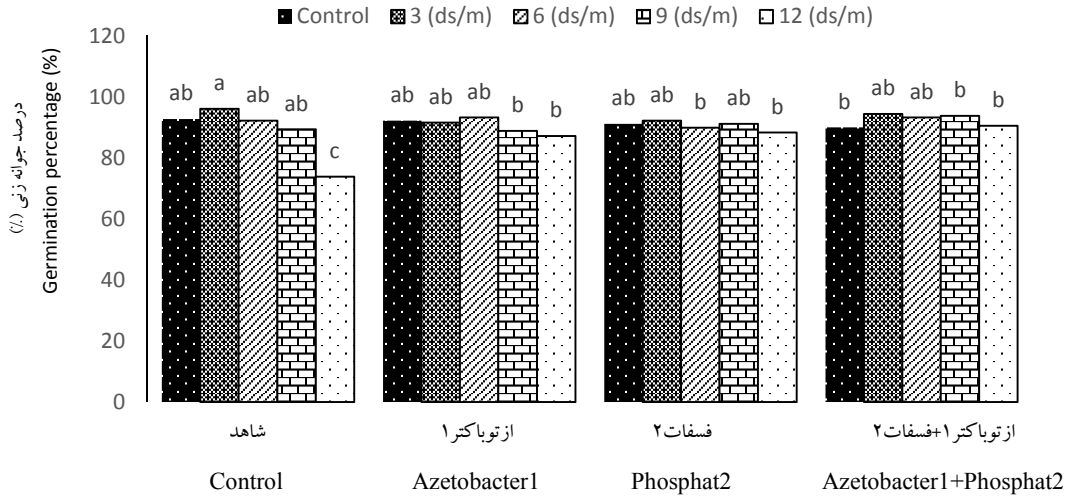
نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل شوری و کودهای زیستی بر درصد جوانه در سطح احتمال یک درصد معنی دار است (جدول ۱). بر اساس نمودار مقایسه میانگین (نمودار ۱) در تیمار شاهد با افزایش سطح شوری از درصد جوانه‌زنی کاسته شد به‌طوری‌که کمترین میزان جوانه‌زنی (۷۳/۸ درصد) در بالاترین سطح شوری حاصل گردید، اما در این تیمار میزان جوانه‌زنی تا شوری ۹ دسی زیمنس برمتر با میزان جوانه‌زنی در تیمارهای کود زیستی تفاوت معنی داری را نشان نداد. استفاده از تیمار کود زیستی به‌خصوص در ترکیب هر دو کود زیستی باعث شد کاهش

جوانه‌زنی با افزایش سطح شوری متوقف گردد، به‌گونه ای که درصد جوانه‌زنی در بالاترین سطح شوری با درصد جوانه‌زنی به‌دست آمده در شوری صفر در یک سطح آماری قرار داشتند که دلیل آن را می‌توان این‌طور بیان داشت که میکروارگانیسم‌ها با تولید هورمون سیتوکینین از تجمع آبسیزیک اسید ممانعت کرده و همچنین باعث از بین رفتن گونه‌های اکسیژن فعال می‌شوند. عدم کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی تا شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر در تیمار شاهد نشان دهنده این است که جوانه‌زنی در این گیاه مقاومت بالایی به تنش شوری دارد.

شوری با کم کردن پتانسیل آب خاک و تأثیر بر یون‌های جذب شده، اثر منفی بر آنزیم‌ها و هورمون‌های داخل بذر داشته و موجب کاهش جوانه‌زنی می‌شود (Mujeeb *et al*., 2008). تیمارهای زیستی با تولید تنظیم کننده‌های گیاهی که در جوانه‌زنی اثر مهمی دارند، می‌تواند نقشی مؤثری در افزایش جوانه‌زنی بذور به‌خصوص در شرایط تنش داشته باشد (Younesi *et al*., 2012). اثر مثبت استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاهی و قارچ میکوریز در افزایش جوانه‌زنی در غلات گزارش شده است (Zahir *et al*., 2004). در پژوهشی تأثیر مثبت باکتری‌های محرک رشد بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه از طریق تولید تنظیم کننده های رشدی گزارش شده است (Dakora, 2003).



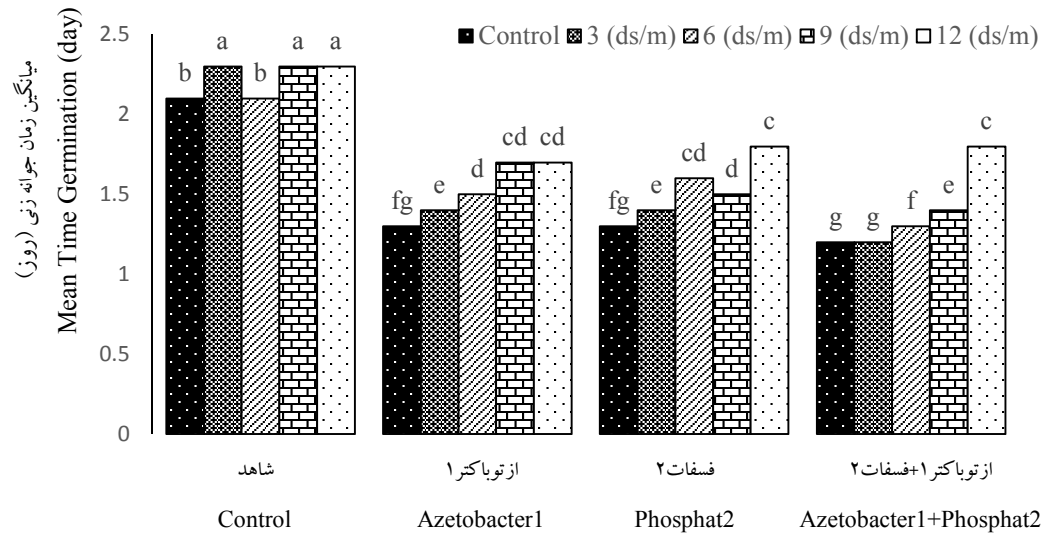
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار کود زیستی × تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی

Fig.1- Mean comparison of germination percentage index in bio-fertilizer × salinity stress interaction

متوسط زمان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی

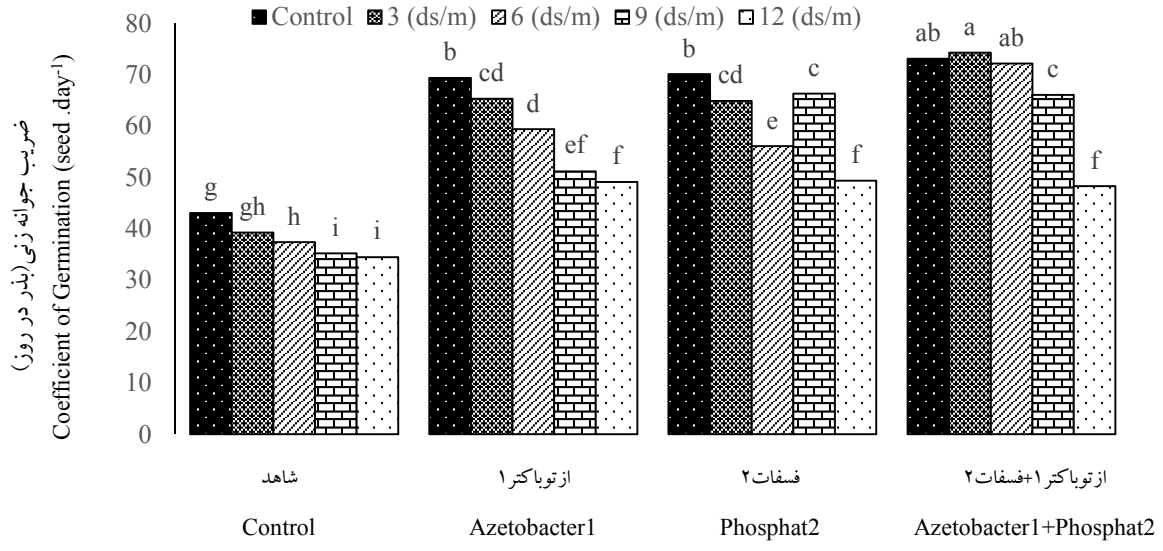
اثر شوری، پیش‌تیمار زیستی و اثر متقابل شوری در تیمار زیستی بر متوسط زمان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش شوری بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی افزوده شد. به‌طور کلی میانگین های به‌دست آمده در سطوح مختلف شوری تیمار شاهد بالاتر از میانگین‌های حاصل در سطوح مختلف شوری تیمارهای زیستی بودند. این امر نشان‌دهنده این است که استفاده از تیمارهای زیستی باعث کاهش مدت زمان جوانه‌زنی شد. در بین تیمارهای زیستی نیز استفاده از تیمار تلفیقی باعث شد میانگین‌های به‌دست آمده مربوط به این شاخص تا شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر کمتر از تیمارهای دیگر در همان سطوح شوری بود که نشان می دهد. در بین تیمارهای زیستی، تیمار تلفیقی با کم کردن بیشتر مدت زمان جوانه‌زنی موثرتر عمل کرده است (نمودار ۲). با افزایش شوری از ضریب جوانه‌زنی کاسته شد. به‌طور

کلی در تیمار شـاهد میانگین‌های به‌دسـت آمده در سـطوح مختلف شوری نسبت به تیمارهای زیستی کمتر بود. کمترین ضـریب جوانه‌زنی (۳۴/۵) در بالاترین سـطح شـوری تیمار شـاهد به‌دسـت آمد. بیشـترین میانگین‌های مربوط به ضریب جوانه‌زنی در تیمار تلفیق زیسـتی به‌دسـت آمد، به‌طوری‌که بالاترین ضـریب جوانه‌زنی (۷۴/۳) در این تیمار و شـوری سـطح ۳ دس‌زیمنس بر متر به‌دست آمد و با میانگین به‌دست آمده در شـوری ۶ دس‌زیمنس بر متر از نظر آماری در یک سطح آماری قرار داشتند (نمودار ۳).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار کود زیستی × تنش شوری بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

Fig. 2- Mean comparison of mean time germination in bio-fertilizer × salinity stress interaction



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار کود زیستی × تنش شوری بر ضریب سرعت جوانه‌زنی

Fig. 3- Mean comparison of coefficient of germination Percentage in bio-fertilizer × salinity stress interaction

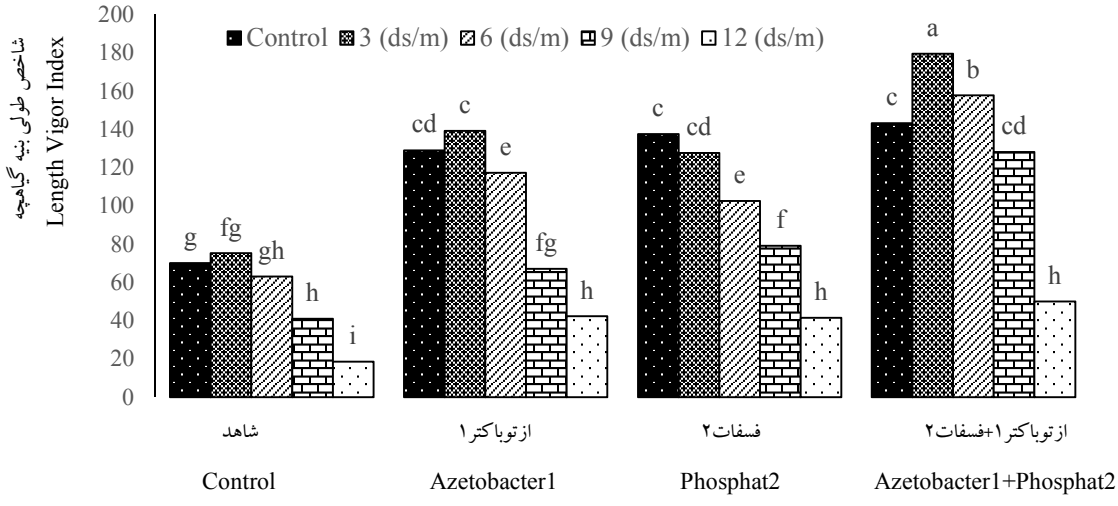
جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی و جوانه‌زنی شنبلیله در سطوح مختلف تنش شوری و پیش‌تیمار

Table 1- Analysis of variance of the growth and germination indices of fenugreek at different levels of salinity and pre-treatments

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
		درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Time Germination	ضریب سرعت جوانه‌زنی Germination Coefficient	طول گیاهچه Seedling Length	وزن خشک گیاهچه‌چه Seedling Dry Weight
شوری Salinity	4	263.78 **	0.78 **	1313.93 **	70.09 **	373.33 **
کود زیستی Bio-fertilizer	3	63.26 ns	4.07 **	4738.41 **	14.28 **	85.92 ns
شوری * کود زیستی Salinity*Bio-fertilizer	12	89.25 **	0.05 **	109.97 **	0.76 **	24.02 *
خطا Error	40	32.97	0.02	42.17	0.36	12.87
ضریب تغییرات ٪(CV%)		6.33	8.78	11.56	9.23	11.36

ns, *, ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار کود زیستی × تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی

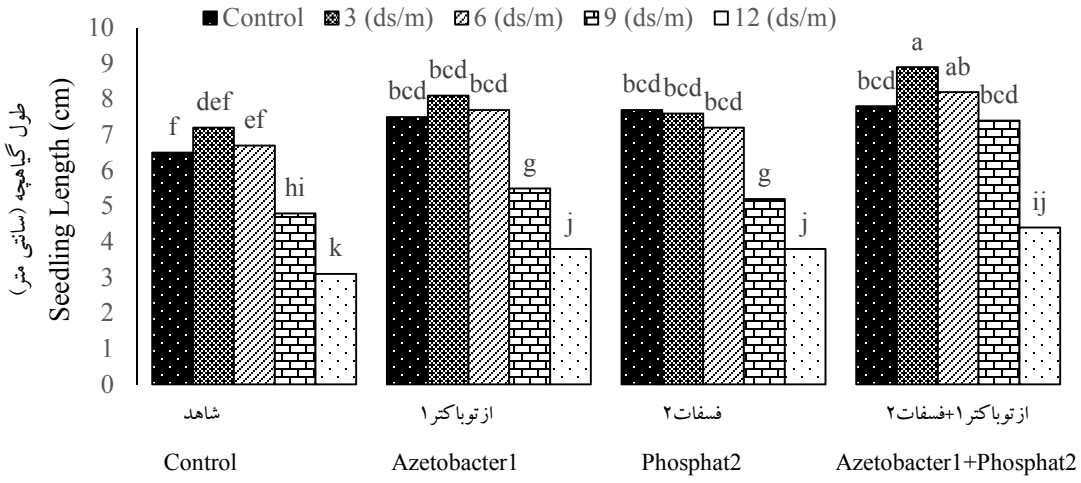
Fig. 4- Mean comparison of Germination Percentage in bio-fertilizer × salinity stress interaction

تحت تنش، جذب آب در بذر با مشکل مواجه شده و یا با سرعت کمی انجام می‌شود. در این وضعیت فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به کندی صورت می‌گیرد و در نتیجه زمان زیادی طول می‌کشد تا جوانه‌زنی رخ دهد (De and Kar, 1995). تحت تنش شوری علاوه بر اینکه در مرحله آب‌نوشی و استقرار گیاهچه جذب آب کاهش می‌یابد، یون‌های اضافه نیز جذب می‌شوند که باعث ایجاد پتانسیل اسمزی شده و در نهایت باعث تاخیر در جوانه‌زنی و خروج ریشه‌چه می‌شود (Makar *et al*., 2009). حافظ و همکاران (Hafeez *et al*., 2004) بیان نمودند استفاده از

باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش سرعت ظهور گیاهچه در گیاه پنبه شد و دلیل این افزایش را ترشح اسید ایندول۳-استیک گزارش کردند.

طول و وزن خشک گیاهچه

اثر متقابل شوری و کود زیستی بر شاخص های طول گیاهچه و وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطح شوری از طول گیاهچه کاسته شد. استفاده ار تیمارهای زیستی، شیب کاهش طول گیاچه را کم کرد. در تیمار تلفیقی کودهای زیستی، میانگین‌های به‌دست آمده در سطوح مختلف شوری نسبت به تیمارهای دیگر بالاتر بود. بیشترین طول گیاهچه (۸/۹ سانتی‌متر) در شوری ۳ دسی‌زیمنس بر متر تیمار تلفیقی حاصل شد و میانگین به‌دست آمده در شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر (۷/۴ سانتی‌متر) در تیمار تلفیقی نسبت به میانگین حاصل شده در همان سطح شوری تیمارهای دیگر بالاترین میزان را داشته و از نظر آماری با همه آنها تفاوت معنی‌داری را نشان داد. این موضوع بیانگر آن است که تیمار تلفیقی نسبت سایر تیمارها در کاهش اثر شوری بر طول گیاهچه مؤثرتر عمل نموده است (نمودار ۵).



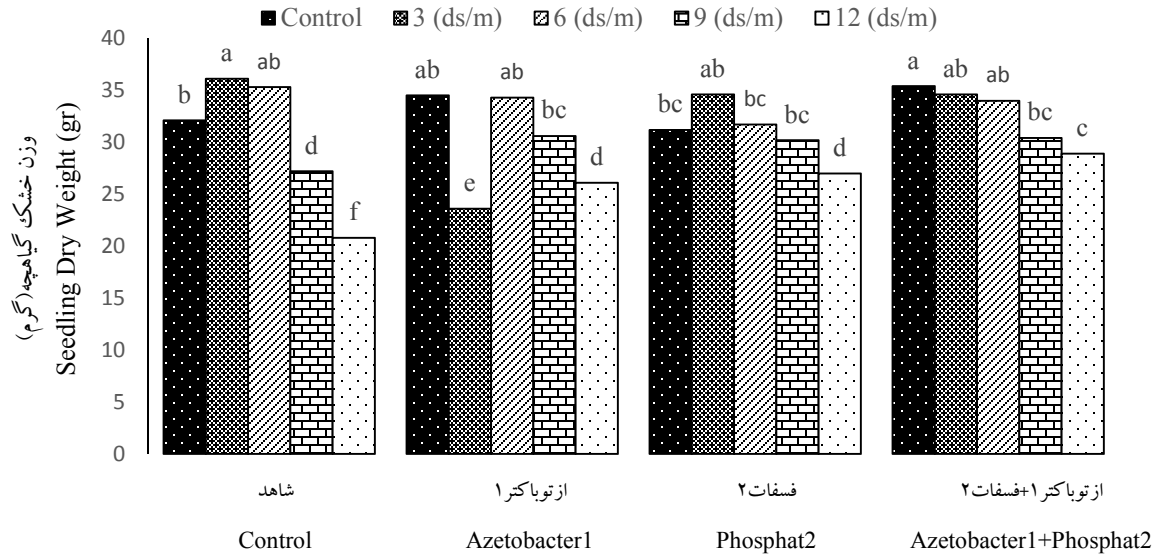
شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار کود زیستی × تنش شوری بر طول گیاهچه

Fig. 5- Mean comparison of seedling lenghth in bio-fertilizer × salinity stress interaction

طبق نمودار ۶، اثر افزایش شوری بر وزن خشک گیاهچه به‌صورت کاهشی بود. در سطوح بالاتر شوری استفاده از تیمار زیستی باعث گردید شیب کاهش وزن خشک گیاهچه در اثر شوری کمتر شود. میانگین‌های به‌دست آمده مربوط به این شاخص در سطوح مختلف شوری در تیمار تلفیقی نسبت به سایر تیمارها بیشترین میزان را دارا بودند، به‌طوری که میانگین‌های حاصل شده در سطوح شوری ۳، ۶ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر این تیمار از نظرآماری در یک سطح قرار داشتند. میانگین وزن خشک گیاهچه در بالاترین سطح شوری تیمار تلفیقی (۲۸/۹ گرم) نسبت به همان سطح شوری تیمارهای دیگر بالاترین مقدار را داشت و نسبت به همه آنها تفاوت معنی‌داری را نشان داد.

با توجه به اینکه تحت تنش شوری جذب آب دچار اختلال می‌شود در نتیجه شکسته شدن مواد ذخیره‌ای بذر به‌منظور تولید بافت‌های گیاهچه‌ای با مشکل روبرو گشته و موجب کاهش وزن خشک آن می‌شود. استفاده از باکتری‌های محرک رشد از طریق راهکارهای مختلفی مانند تولید هورمون‌هایی مثل ایندول‌استیک‌اسید و جیبرلین،

موجب افزایش رشد ریشه و تعداد ریشه‌های مویین شده که در اثر آن نفوذ ریشه در خاک و جذب عناصر غذایی افزایش یافته و در نتیجه رشد گیاه بهبود یافته و گیاه کمتر تحت تأثیر اثر منفی تنش قرار می‌گیرد (Egamberdieva and Kucharova, 2009). باکتری جنس سودوموناس نیز به‌خاطر داشتن فعالیت آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دی‌آمینازی، مانع از افزایش سطح اتیلن در گیاه تحت تنش می‌شود. اتیلن مانع رشد گیاه شده به‌طوری که باعث توقف طویل شدن ریشه و ساقه شده و در نتیجه پیرشدن گیاه را سرعت می‌بخشد (Costa *et al*., 2005).



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار کود زیستی × تنش شوری بر وزن خشک گیاهچه

Fig. 6- Mean comparison of seedling dry weight in bio-fertilizer × salinity stress interaction

کلروفیل کل

اثر شوری، کود زیستی و اثر متقابل شوری در تیمار زیستی بر کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌داری بود (جدول ۲). بر اساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) با افزایش سطح شوری از میزان کلروفیل کل کاسته شد. استفاده از تیمارهای زیستی باعث شد میانگین‌های به‌دست آمده در سطوح مختلف شوری نسبت به سطوح شوری تیمار شاهد بالاتر باشند. بیشترین میانگین کلروفیل کل (۲۷/۳ میکرو مول بر میلی‌لیتر) در شوری صفر تیمار کود زیستی ازته حاصل شد و نسبت به همان سطح شوری تیمار شاهد، ۱۵۵ درصد افزایش نشان داد. همچنین میانگین به‌دست آمده در شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر تیمار کود زیستی ازته (۱۷/۶ میکرو مول بر میلی‌لیتر) نسبت به همان سطح شوری در تیمار شاهد و سایر تیمارهای زیستی بالاتر بود و با همه آن‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان داد. می‌توان بیان داشت در این آزمایش تیمار کود زیستی ازته در کاهش اثر شوری بر کلروفیل کل مؤثرتر عمل نموده است.

آنزیم گلوتامات لیگاز آنزیمی است که در بیوسنتز کلروفیل نقش دارد و تنش شوری از فعالیت آن جلوگیری می‌کند. بنابراین تحت تنش شوری به‌علت کاهش فعالیت آنزیم مذکور تولید کلروفیل کاهش می‌یابد (Mehrinfar *et al*., 2014). هان و لی (Han and Lee, 2006) گزارش کردند که تنش شوری در گیاه کاهو باعث کاهش میزان کلروفیل و در نتیجه کاهش فتوسنتز

گردید اما تلقیح با محرک رشد گیاهی *Rhizobium legominosarum* منجر به افزایش فتوسنتز شد. افزایش میزان کلروفیل می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای مقاومت به تنش شوری باشد که در نتیجه استفاده از میکروارگانیسم‌ها می‌تواند اعمال شود.

در شرایط تنش شوری عوامل مختلفی هستند که باعث کاهش کلروفیل می‌شوند از جمله آن موارد می‌توان به کاهش در پروتئین‌های غشایی خاص ، افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیدازاشاره کرد و همچنین در شرایط تنش امکان دارد به‌علت کاهش جریان نیتروژن به بافت‌ها و تغییر در فعالیت آنزیم‌هایی مانند نیترات‌ریداکتاز کاهش سبزینگی در برگ‌ها ایجاد شود (Davoodifard *et al*., 2012).

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های بیوشیمیایی شنبلیله در سطوح مختلف تنش شوری و پیش‌تیمار

Table 2- Analysis of variance of the bio-chemical indices of fenugreek at different levels of salinity and pre- treatment

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
		کلروفیل کل Total Chlorophyll	پروتئین محلول Soluble Protein	فعالیت آسکوربیک پروکسیداز Ascorbic peroxidase activity	فعالیت پراکسیداز Peroxidase activity	فعالیت کاتالاز Catalase activity
شوری Salinity	4	19.09 **	3.52 **	3.18 **	15854.19 **	55867 **
کود زیستی Bio-fertilizer	3	19.29 **	2.34 **	15.64 **	82848.68 **	47814.68 **
شوری * کود زیستی Salinity*Bio-fertilizer	12	27.28 **	4.64 **	7.52 **	46141.12**	100886.12 **
خطا Error	40	0.003	0.33	0.30	33.33	48
ضریب تغییرات (٪) CV %	-	5.17	1.97	19.02	3.73	1.49

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

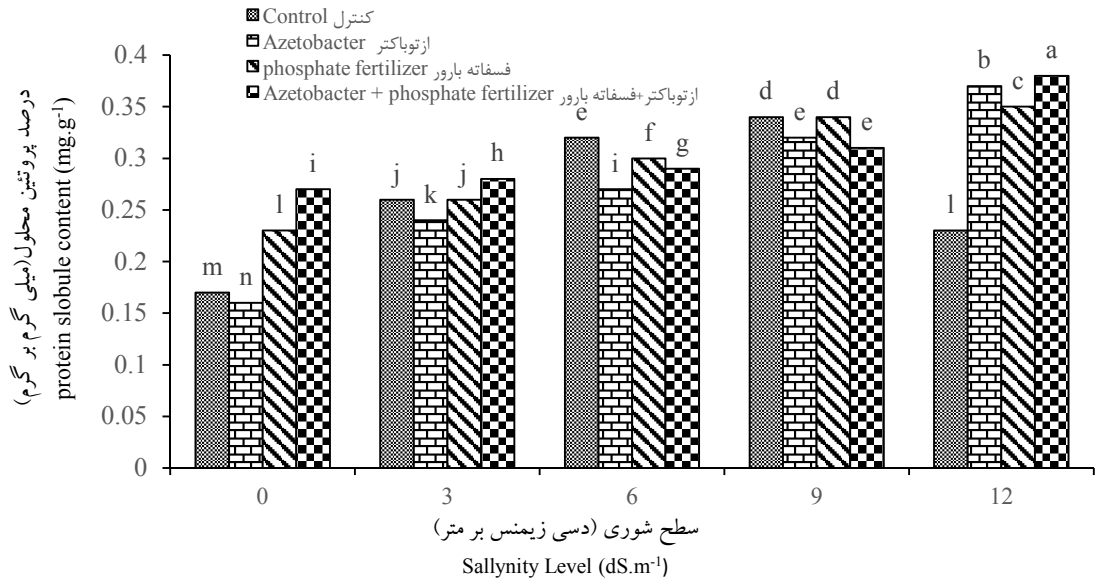
ns,* and ** respectively non-significant and significant at 5 and 1%.

پروتئین محلول

اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل این دو عامل بر پروتئین محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) شوری باعث افزایش تولید پروتئین‌های محلول شد و استفاده از تیمارهای زیستی باعث شد این افزایش بیشتر شود. بیشترین میانگین مربوط به پروتئین محلول (۰/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در بالاترین سطح شوری تیمار تلفیق کودهای زیستی به‌دست آمد و نسبت به تیمار شاهد در همان سطح شوری ۱۲ درصد افزایش نشان داد.

گیاهان از طریق تولید ترکیبات اسمزی سازگار مانند گلایسین، بتایین، مانیتول و پرولین می‌توانند با کم کردن پتانسیل اسمزی و جذب بیشتر آب تحت تنش، تورژسانس خود را حفظ کرده و از طریق اجتناب به محیط شور مقاومت نشان دهند (Ashraf and harris, 2004). توحیدی مقدم و همکاران (Tohidimoghadam *et al*., 2008) گزارش کردند استفاده از باکتری‌های ازتوباکتر موجب افزایش میزان پروتئین می‌شود. دو مورد از مهمترین باکتری‌های محرک رشد باکتری‌های جنس‌های ازوتوباکتر و سودوموناس هستند که علاوه بر تثبیت زیستی نیتروژن و حل کردن فسفرغیرمحلول، با تولید مقادیر زیادی تنظیم کننده‌های رشدی مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکنین رشد و نمو و در نهایت عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند

(Zahir *et al.*, 2004). نیتروژن یکی از عناصر غذایی مهم می‌باشد که برای رشد گیاهان ضروری است این عنصر در تشکیل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک نقش دارد. محققان گزارش کرده‌اند سویه‌های مختلف باکتری‌های جنس ازتوباکتر با تولید تنظیم‌کننده‌های گیاهی باعث افزایش رشد ذرت می‌شوند (Zahir *et al.*, 2004).



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار کود زیستی × تنش شوری بر محتوای پروتئین‌های

Fig. 8- Mean comparison of protein content in bio-fertilizer × salinity stress interaction

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

آسکوربیک پراکسیداز

اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل پیش‌تیمار زیستی در شوری بر آنزیم اسکوربیک‌پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). شوری باعث افزایش میزان آنزیم آسکوربیک پراکسیداز شد. بیشترین میزان این آنزیم (۳۵۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در بالاترین سطح شوری تیمار تلفیقی کودهای زیستی به‌دست آمد که با بقیه میانگین‌های به‌دست آمده در بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان داد و نسبت به تیمار شاهد در همان سطح شوری توانست میانگین آسکوربیک پراکسیداز را ۱۲ درصد افزایش دهد (جدول۳).

کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و پیش‌تیمار زیستی در سطوح مختلف شوری بر میزان آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش سطح شوری بر میزان آنزیم کاتالاز افزوده شد. تیمارهای زیستی باعث شدند تا تولید آنزیم کاتالاز نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کند. در تیمار تلفیق کودهای زیستی، میانگین‌های حاصل شده در سطوح مختلف شوری نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. بالاترین میزان این آنزیم (۷۲۹/۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در بالاترین سطح شوری تیمار تلفیقی به‌دست آمد و توانست نسبت به تیمار شاهد در همان سطح شوری ۳۳ درصد افزایش نشان دهد. کمترین میزان (۲۸۳/۶) نیز در شوری صفر تیمار شاهد به‌دست آمد (جدول۳). استفاده از تیمارهای زیستی میزان تولید این آنزیم را در همه مختلف شوری نسبت به تیمار شاهد کاهش داد که نشانگر این است که تیمارهای زیستی با کاهش اثر شوری از تولید بیشتر آنزیم کاتالاز جلوگیری کنند. در بین تیمارهای زیستی

میانگین‌های حاصل شده در تیمار زیستی کود فسفاته کمترین میزان را دارا بودند که نشان از مؤثر بودن این تیمار در کاهش اثر شوری و تولید کاتالاز بوده است، به‌طوری که استفاده از این تیمار توانست تولید کاتالاز در بالاترین سطح شوری (۵۴۸/۱) را نسبت به همان سطح شوری در تیمار شاهد ۲۴ درصد کاهش دهد.

جدول۳- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش تیمارزیستی و شوری بر کلروفیل کل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

Table 3- Mean comparison of interaction effect of biological treatment and salinity on total chlorophyll and antioxidant enzymes

سطوح تیمارزیستی Biological treatment level	سطوح شوری (دسی‌زیمنس بر متر) Salinity levels (ds/m)	کلروفیل کل (میکرو مول بر میلی‌لیتر) Total Chlorophyll (µm.ml^{-1})	پروتئین محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر) Soluble proteins (mg.g^{-1}FW^{-1})	آسکوربیک پراکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) Ascorbic peroxidase activity (U mg^{-1} protein min^{-1})	پراکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) Peroxidase activity (U mg-1 protein min-1)	کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) Catalase activity (U mg-1 protein min-1)
شاهد (عدم تلقیح) Control	0	h 10.7	0.17 m	103 j	1.6 gh	283.6 n
	3	g 12.3	0.23 l	116 i	2.1 fg	329.7 m
	6	j 8.9	0.26 j	135 h	2.2 fg	375.8 k
	9	8.5 j	0.32 e	143 g	2.7 ef	489.2 g
	12	4.5 l	0.34 d	315 b	4.1 b	548.1 de
B1 (کود زیستی ازتوباکتر) (Azotobacter bio-fertilizer)	0	27.3 a	0.16 n	65 m	1.6 gh	331.6 m
	3	19.7 c	0.24 k	56 n	2.3 fg	370.7 k
	6	19.9 c	0.27 i	86 l	3.2 cde	401 i
	9	17.6 e	0.32 e	90 k	3.4 bc	508.6 f
	12	6 k	0.37 b	119 i	4.8 a	551.8 de
B2 (کود زیستی فسفاته) (Phosphate bio-fertilizer)	0	18.6 d	0.23 l	103 j	1.3 h	350.5 l
	3	17.6 e	0.26 j	218 e	1.7 gh	389.4 j
	6	14.7 f	0.30 f	237 d	1.6 gh	500.7 f
	9	12.1 g	0.34 d	240 d	1.9 gh	543.6 e
	12	6.2 k	0.35 c	251 c	3.9 b	585.5 c
تلفیق کودهای زیستی B1×B2	0	22.2 b	0.27 i	64 m	2.9 de	336.6 m
	3	17.9 e	0.28 h	94 k	3.1 de	456.6 h
	6	10.6 h	0.29 g	97 k	3.7 bc	554.9 d
	9	9.8 i	0.31 e	193 f	4 b	609.4 b
	12	9 j	0.38 a	352 a	5.2 a	729.4 a

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ با روش LSD تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means followed by similar letters in the same column do not have significant difference based on LSD test at 5% probability level.

فعالیت پراکسیداز

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل این دو عامل بر میزان آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). شوری باعث افزایش آنزیم پراکسیداز شد. گیاهان با افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به تنش‌های محیطی پاسخ می دهند و اثر آن را کم می‌کنند. استفاده از تیمارهای زیستی موجب شد تا تولید این آنزیم نسبت به تیمار شاهد بیشتر شود. میانگین های حاصل شده در سطوح مختلف شوری تیمار تلفیقی کودهای زیستی نسبت به سایر تیمارها بالاترین مقدار را دارا بود، به‌طوری که بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز (۵/۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در

بالاترین سطح شوری این تیمار حاصل گردید که با میزان به‌دست آمده در همان سطح شوری تیمار کود زیستی ازته از نظر آماری در یک سطح قرار داشته و اما نسبت به تیمار شاهد توانست ۲۷ درصد افزایش نشان دهد (جدول۳).

تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با ایجاد مقاومت در غشاهای سلولی از آن‌ها در برابر اثرات مخرب رادیکال‌های فعال اکسیژن تولید شده در شرایط تنش‌های غیرزنده محافظت کرده و باعث مقاوم شدن و پایداری گیاهان در شرایط تنش‌هایی مانند شوری می‌شوند (Mohammadkhani and Heidari 2007). افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان تحت تنش، تنها راهکار تحمل به شوری نیست بلکه می‌تواند در کنار ترکیبات اسمزی مانند پرولین و کربوهیدرات‌ها بر میزان تحمل گیاهان بیفزاید.

در آزمایشی گزارش شده است تنش شوری با افزایش تولید فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در برگ کلزا، موجب کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری گردید (Ashraf and Ali, 2008). در شوری به‌خاطر وجود نمک‌ها تنش‌های اسمزی و یونی بوجودآمده که نتیجه آن ایجاد تنش‌های اکسیداتیو می‌شود و گیاهان برای مقابله با آن با افزایش ترکیبات ساختمانی و افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در خود ایجاد مقاوت کرده و خسارت تنش را کاهش می‌دهند (Parida and Das, 2005). در گیاهان میزان مقاومت به تنش اکسیداتیو، رابطه مستقیمی با میزان تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت دارد که هر چه این آنزیم‌ها بیشتر شوند میزان مقاومت افزایش می‌یابد. گزارش‌ها حاکی از آن است که باکتری‌ها با تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی را افزایش می‌دهند (Turan *et al*., 2013).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد شوری با کاهش درصد جوانه‌زنی و افزایش میانگین مدت زمان جوانه تأثیر منفی بر مرحله اولیه رشدی داشت. از آنجایی که جوانه‌زنی مهمترین مرحله رشدی گیاه می‌باشد و هر چقدر درصد جوانه‌زنی با محدودیت مواجه شود تراکم گیاهی مدنظر حاصل نخواهد گردید و بذرهای جوانه‌نزده بعد از مدتی از بین می‌روند و تیماری می‌تواند مؤثر عمل کند که اثر شوری بر این مرحله را کاهش دهد. استفاده از تیمار زیستی به‌ویژه تیمار تلفیقی با افزایش درصد جوانه‌زنی و کاهش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی توانست اثر منفی شوری را کاهش دهد.

در شرایط شوری با ایجاد پتانسیل اسمزی، آب در دسترس گیاه کاهش یافته و با ایجاد تنش اکسیداتیو فعالیت‌های گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرند. گیاه برای اینکه اثر تنش اکسیداتیو را کاهش دهد از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بهره می‌برد و تولید آنها را افزایش می‌دهد. در این آزمایش نیز شوری موجب افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گردید.استفاده از پیش تیمار زیستی به‌ویژه تیمار تلفیقی موجب شد میزان این آنزیم‌ها نسبت به تیمار عدم تلقیح (شاهد) بیشتر تولید گردد. در این مطالعه به‌منظور کاهش اثر شوری بر جوانه‌زنی و رشد این گیاه، می‌توان پیش‌تیمار تلفیق کودهای زیستی را توصیه نمود.

منابع

Reference

Abdul- Baki, A., and J. D. Anderson. 1973. Vigor determination in Soybean seed by multiple criteria. Crop Sci. 13(6):630–633.

Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23: 112-121.

Ashraf, M., and P. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Sci. 166: 3–16.

Ashraf, M., and Q. Ali. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environ. Exp. Bot. 63: 266–273.

Bashan, Y., G. Holguin, and L. De-Bashan. 2004. Azosprillum-plant relationship: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances. Can. J. Microbiol. 50(8): 521-577.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principles of protein dyebining. Anal. Biochem. 72:248-254.

Chance, B., and A. C. Maehly. 1995. Assay of catalase and peroxidase. PP. 764-765 In S.P. Culuwic, and N.O. Kapland (Eds). Method in enzymology. Academic Press. Inc, New York.

Costa, M., P. Civello, G. Chaves, and G. Martinez. 2005. Effect of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophy II degrading enzymes and a peroxidaselinked chlorophy II bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica Oleraceae* L.). Postharvest. Biol. Technol. 35: 191-199.

Dakora, F. D. 2003. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. New Phytol. 157: 39-49.

Davoodifard, M., D. Habibi, and F. Davoodifard. 2012. Effects of salinity stress on membrane stability, chlorophyll Content and yield components of wheat inoculated with plant growth promoting bacteria and humic acid. Agron. Plant Breed. 8(2): 71- 86. (In Persian)

De, R., and R. K. Kar. 1995. Seed germination and seedling growth of mung been (*Vigna radiate*) under water stress induced by PEG-6000. Seed Sci. Technol. 23: 301-308.

Egamberdieva, D., and Z. Kucharova. 2009. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. Biol. Fertil. Soils. 45: 563-571.

Ellis, R.H., and E. H. Roberts. 1981. The quantification of aging and survival in orthodox seeds. Seed Sci. Technol. 9: 373-409.

Ghorbanpur, A., Y. Mami, M. Ashournezhad, F. Abri, and M. Amani. 2011. Effect of salinity and drought stress on germination of fenugreek. Afr. J. Agric. 6(24): 5529-5532.

Hafeez, F., M. Safdar, A. Chaudry, and K. Malik. 2004. Rhizobial inoculation improves seedling emergence, nutrient uptake and growth of cotton. Aust. J. Exp. Agric. 44: 617-622.

Han, H., and K. Lee, 2006. Effect of inoculate on with phosphate and potassium co-in solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. Plant. Soil. Environ. 52: 130-136.

Hecl, J., and A. Sustrikova. 2006. Determination of heavy metals in chamomile flower drug-an assurance of quality control. Program and Abstract book of the 1st International Symposium on Chamomile Research, Development and Production. 7-10 June, Presov, Slovak Republic.

Khomri, A., A. Sarani, and M. Dahmardeh. 2007. The effect of salt stress on germination seed and growth seedling in six medicinal plants. Iranian. J. Med. Aromat. Plants. 23(3): 331-339.

ISTA, 2010. International rules for seed testing. Supp. Seed Sci. Technol. 21: 1-288.

Krishna, A., C.R. Patil, S. M. Raghavendra, and M. D. Jakati. 2008. Effect of bio-fertilizers on seed germination and seedling quality of medicinal plants. Karnataka. J. Agric. Sci. 21(6): 588-590.

Makar, T. K., O. Turan, and Y. Ekmekcd. 2009. Effects of water deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars and lines at early seedling stages. Gazi University. J. Sci.22 (1): 5-14.

Mehrafarin, A., S. H. Rezazadeh, H. Naghdi Badi, Gh. Noormohammadi, E. Zand, and A. Qaderi. 2011. A Review on Biology. Cultivation and Biotechnology of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a Valuable Medicinal Plant and Multipurpose. J. Med. plants. 10(37): 1-19.

Mohammadkhani, N., and R. Heidari. 2007. Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. Pakistan. J. Biol. Sci. 10(21): 3835-3840

Motamednejad, M., S. V. Eslami, M.H. Sayari, and S. Mahmodi. 2016. Effect of enrichment with bio fertilizers and three micronutrients of iron, zinc and manganese on germination characteristics of ajowan plant (*Carum copticum* L.). J. Hortic. Sci. 29(4): 564-571.

Mujeeb, U.R., U.A. Soomro, U.H. Mohammad Zadeh, and G. Shereen. 2008. World J. Agric. Sci. 4(3):398-403.

Munns, R. 2002. Camparative physiology of salt and water stress. Plant. Cell. Environ. 25: 239-250.

Nakano, Y., and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.

Odoemena, C. S. 1988. Breaking of seed coat dormancy in a medicinal plant *Tetrapleura tetraptera*. J. Agric. Sci. 111(2): 393– 394.

Parida, A.K., and A. B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60: 324-349.

Patanea, C., V. Cavallaroa, and S. Cosentinob. 2009. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures in dustrial. Ind. Crops Prod. 30: 1-8.

Ramamoorthy, K., N. Natarajan, and A. Lakshmanan. 2000. Seed biofortfication With Azospirillum spp. for improvement of seedling vigour and productivity in rice (*Oryza sativa*). Seed Sci. Technol. 28: 809- 815.

Scotl, S. J., R. A. Jones, and W. A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Sci. 24(6):1192-1199.

Taheri, S., T. Barzegar, and A. Zaeam zadeh. 2017. Effect of salicylic acid pre-treatment on cucumber and watermelon seeds germination under salinity stress. Iranian. J. Seed Sci. Res. 3(4): 15-27.

Younesi, O., K. Poustini, M.R. Chaichiand, and A. A. Pourbabaie. 2012. Effect of Growth Promoting Rhizobacteria on germination and early growth of two alfalfa cultivars under salinity stress condition. J. Crop Improv. 14(2):83-96.

Zahir, A. Z., M. Arshad, and W. F. Frankerberger. 2004. Plant growth promoting rhizobactria. Applications and perspectives in agriculture. Adv. Agron. 81: 97-168.

Zhu, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annu. Rev. Plant Biol. 153: 247-273.