

اثر تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی، بیوشیمیایی و محتوای برخی عناصر رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) تحت تنش شوری

علی مرادی*^۱، معصومه حسینی‌مقدم^۲، رامین پیری^۲

۱. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۲. فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۱۴)

چکیده

با هدف بررسی واکنش شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گیاه رازیانه به تلقیح با باکتری‌های محرک رشد، در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل دو عاملی و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار، با تلقیح بذرها با باکتری در پنج سطح (PF2 و PF56 از سودوموناس فلورسنس، باسیلوس سابیلیس، ازتوباکتر کروکوکوم و عدم تلقیح) و تنش شوری در سه سطح (صفر، ۴- و ۸- بار) در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۵ انجام شد. نتایج نشان داد که تنش شوری، صفات محتوای پروتئین محلول، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، فسفر گیاهچه، پتاسیم گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، صفات شاخص وزنی و طولی بنه را کاهش داد و محتوای سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم گیاهچه را افزایش داد. در هر سه سطح تنش شوری، به ترتیب، بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی از بذرهایی تلقیح شده با PF2 و بذرهایی تلقیح نشده به دست آمد. در تنش ۸- بار، بیشترین پروتئین محلول (۰/۸۴۱ میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر) و کمترین نسبت سدیم به پتاسیم (۰/۶۷۴ درصد) از سویه PF2 و کمترین پروتئین محلول (۰/۵۳۱ میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر) و بیشترین نسبت سدیم به پتاسیم (۱/۰۸۱ درصد)، از تیمار بدون تلقیح به دست آمد. به طور کلی، تیمارهای زیستی، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و حفظ تعادل عناصر در بذر و گیاهچه، در بهبود جوانه‌زنی گیاه رازیانه در شرایط تنش شوری مؤثر بودند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، باکتری‌های محرک رشد، تنش شوری، گیاه دارویی.

Effect of seed inoculation with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on some germination, biochemical indices and element contents of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) under salinity stress

Ali moradi*¹, Massoumeh hoseinimoghadam², Ramin Piri²

1. Assistant Professor of Agronomy and Plant Breeding, Yasouj University

2. M.Sc. graduate of Seed Science and Technology, Agronomy and Plant Breeding Department, Yasouj University

(Received: December 13, 2017 - Accepted: October 6, 2018)

ABSTRACT

Resistance to powdery mildew disease were evaluated using 17 wheat landraces in the field and greenhouse environments. The field experiment was performed at three disease hotspots in Sari, Gorgan and Moghan under natural disease incidence and the reaction of the genotypes was evaluated at adult plant stage. In order to evaluate the resistance of the genotypes at seedling stage, the isolates of the disease were collected from different regions and the pathotypes were identified by inoculation on the differential varieties. The results of field evaluation indicated that the average reaction level of genotypes to the disease in Sari and Gorgan was similar and lower than Moghan. 10 pathotypes were identified, all of which had virulence factors for *Pm2*, *Pm3a*, *Pm3c*, *Pm3g*, *Pm4a*, *Pm5*, *Pm6* and *Pm8*. Shamrock (with unknown R gene), Normandie (*Pm1+* *Pm2+* *Pm9*), Axona (*Pm2+**Pm3d*+*Mld*), Maris Dove (*Mld*+*Pm2*) and Wembley (*Pm12*) varieties were resistant to the all pathotypes. The presence of *Pm7* was postulated in genotype 7, so that the resistance spectrum of this genotype was similar to Transfed. Genotypes 4 and 11 appeared resistant or moderately resistant at adult plant stage while they were susceptible to the all pathotypes at seedling stage and therefore, they were identified as genotypes with adult plant resistance. The total results of this research led to identification of seedling and adult plant resistance sources with different resistance gene combinations which could be exploited in breeding programs.

Keywords: Antioxidant Enzymes, Medicinal Plants, Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Salinity Stress.

مقدمه

رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* گیاهی است متعلق به خانواده چتریان که به دلیل داشتن ویژگی‌های ضدکاسایی ناشی از حضور فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، کاروتنوئیدها و کومارین، در انواع مواد غذایی و نوشیدنی‌ها، به عنوان طعم‌دهنده استفاده می‌شود (Singh *et al.*, 2006). رازیانه از جمله گیاهانی می‌باشد که به دلیل وجود خواب، جنین نارس و اندازه کوچک بذر و مقدار کم ذخایر آندوسپرم، جوانه‌زنی ضعیفی دارد که در شرایط تنش، باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌شود (Moradi *et al.*, 2012). در حال حاضر، شوری مسئله‌ای جهانی است و روز به روز، به دلیل استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی و آب آبیاری شور، به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک، افزایش می‌یابد (Sharma *et al.*, 2014). شوری بر جنبه‌های مختلف رشد اثر می‌گذارد و موجب کاهش و به تأخیر افتادن جوانه‌زنی، کاهش رشد اندام‌های هوایی و کاهش تولید ماده خشک می‌شود (Tobe and Omasa, 2004).

شوری از طریق کاهش پتانسیل اسمزی و اختلال در جذب برخی عناصر غذایی، رشد و عملکرد زراعی را محدود می‌کند و با افزایش یون‌های سدیم و کلر، موجب کاهش جذب یون‌های ضروری، از جمله پتاسیم، کلسیم، آمونیم و نترات می‌شود و از فعالیت آنزیم‌ها می‌کاهد و ساختار غشاء را برهم می‌زند (Shahrajabian and Moradi, 1999). بر اساس مطالعات انجام شده، تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی رازیانه شد (Mesri and Piri, 2013). Macali *et al.* (2013)، عدم جوانه‌زنی رازیانه در شوری پنج و ۱۰ درصد را گزارش دادند. در مطالعات Fazeliniya (2015)، تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی، شاخص وزنی و طولی بنیه در رازیانه شد. سوری و موسوی بر اساس نتایج تحقیقی دیگر، افزایش غلظت‌های شوری تا ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه رازیانه شد (Soori and Musavi, 2016). در پژوهش Roodbari *et al.* (2013)، کاهش درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص‌های طولی و وزنی بنیه گیاهچه زیره در شرایط تنش شوری مشاهده شد.

باکتری‌های محرک رشد، گروهی از باکتری‌های ریزوسفری مفید می‌باشند که می‌توانند به‌طور مستقیم (تثبیت نیتروژن، تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه، تولید ویتامین‌ها و دیگر مواد محرک رشد گیاه) و یا غیرمستقیم (تولید آنتی‌بیوتیک، تخلیه ریزوسفر از آهن، رقابت با گونه‌های مضر برای اشغال ریشه، تولید آنزیم‌های هیدرولیزکننده دیواره‌ی سلولی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده)، موجب افزایش رشد گیاه شوند (Glick *et al.*, 1995).

استفاده از عوامل زیستی مانند قارچ‌ها و باکتری‌های آنتاگونیست، جایگزین مناسبی برای پرایمینگ متداول است. در پژوهشی، باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس و باسیلوس سلبتیلیس باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بذر کتان در شرایط انبارداری متفاوت شد (Bakht and Moradi, 2017). Moradi and Piri (2018) نتیجه گرفتند که در شرایط تنش شوری، باکتری‌های محرک رشد سودوموناس، از توباکتر کروکوم و باسیلوس سابتیلیس، باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی زیره‌ی سبز، شدند. Hoseini moghadam *et al.* (2017) گزارش کردند که تلقیح بذرها رازیانه به‌وسیله باکتری‌های محرک رشد، موجب افزایش ۲۳ درصدی جوانه‌زنی شد. طی این آزمایش، تیمارهای زیستی، شاخص وزنی و طولی بنیه گیاهچه را در پتانسیل اسمزی، به صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. طبق مطالعات انجام شده، باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس، باسیلوس سابتیلیس و از توباکتر کروکوم در شرایط تنش شوری، شاخص‌های جوانه‌زنی، از جمله درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و طول گیاهچه در گیاه زیره‌ی سبز را افزایش دادند (Piri *et al.*, 2016). در تحقیقی دیگر، باکتری‌های محرک رشد سودوموناس فلورسنس، از توباکتر کروکوم و باسیلوس سابتیلیس، باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی در بذرها زوال یافته شنبلیله شدند (Feizi and Moradi, 2017). در بررسی Sohrabiani (2015) مشخص شد که تنش شوری، باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی، از جمله درصد و سرعت جوانه‌زنی و شاخص طولی و وزنی بنیه

در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تلقیح بذرها با باکتری در پنج سطح [سویه‌های PF2 و PF56 از باکتری سودوموناس فلورسنس)، باسیلوس سابتیلیس، ازتوباکتر کروکوکوم و بدون تلقیح] و م تنش شوری در سه سطح صفر، ۴- و ۸- بار بود. سطوح پتانسیل اسمزی ۴- و ۸- بار، به ترتیب معادل ۱۸ میلی‌زیمنس بر متر بود. ابتدا بذره‌های رازیانه به مدت ۳۰ ثانیه، با محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شدند و سپس چندبار با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس این بذرها به مدت یک ساعت در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه‌ی سلسیوس)، در آب مقطر (برای تیمار بدون تلقیح) یا سوسپانسیون باکتریایی (برای تیمارهای تلقیحی) قرار داده شدند. سویه PF2، از دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد و سویه PF56، از خاک منطقه ده‌برآفتاب شهرستان بویراحمد استان کهگیلویه و بویراحمد، جداسازی شد و به روش شاد و همکاران (Schaad et al., 2001)، در آزمایشگاه گیاهپزشکی دانشگاه یاسوج شناسایی شدند و در همان آزمایشگاه تکثیر شدند. باکتری‌های باسیلوس سابتیلیس و ازتوباکتر کروکوکوم، از آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شدند. از این جدایه‌ها، قبلاً در آزمایشات دیگری استفاده شده بود و تأثیر مثبت آنها در بهبود جوانه زنی بذر، مورد تأیید قرار گرفته است (Bakhit and Moradi, 2017; Feizi and Moradi, 2017). برای تکثیر باکتری، جدایه‌های باکتری با لوله آزمایشگاهی (لوپ)، بر روی محیط کشت نوترینت آگار و به شکل زیگزاک کشت شدند و پس از رشد باکتری، به مدت ۳۶ ساعت (زمان مناسب تشکیل کلونی برای باکتری‌ها) درون انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. برای دستیابی به تراکم مایه تلقیح 10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلونی، میزان جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر، روی ۰/۵ تنظیم شده بود (Burd et al., 1998). برای تلقیح، به بذرها، ۲۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جدایه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد، اضافه شد. برای چسبیدن سوسپانسیون باکتری به بذرها، از صمغ عربی ۰/۱ درصد استفاده شد و پس از تلقیح، آزمون جوانه‌زنی استاندارد انجام شد. برای آزمون جوانه‌زنی استاندارد، ۲۵ عدد بذر رازیانه، درون پتری دیش‌های ۹ سانتی‌متری که کف آن‌ها

گیاهچه زیره‌ی سبز شد و تیمارهای پرایمینگ توانستند تا حدودی، باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای، در شرایط تنش شوری شوند.

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از میکروبه‌های سودمند می‌تواند مقاومت گیاه به تنش نامطلوب زیست محیطی مانند خشکسالی، شوری، کمبود مواد مغذی و آلودگی فلزات سنگین را بالا ببرد. چنین تلقیحی می‌تواند به توسعه کشاورزی پایدار، در شرایط تنش‌زا کمک کند (Berg et al., 2013). مزایای تلقیح گیاه با باکتری‌های محرک رشد شامل افزایش شاخص‌های متعددی مانند سرعت جوانه‌زنی، رشد ریشه، میزان تولید در واحد سطح، کنترل عوامل بیماری‌زا، مقاومت به خشکی، وزن ریشه و اندام هوایی می‌باشد (Kaymak et al., 2009). در مطالعه‌ی، Jahanian et al. (2013) گزارش دادند که باکتری‌های محرک رشد، باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص طولی بنیه گیاهچه کنگر فرنگی شد.

با توجه به افزایش تقاضای جهانی برای استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها (Oussalah et al., 2007) و افزایش وسعت اراضی تحت تنش شوری و آسمزی و کاهش و تخریب منابع آب و خاک، تحقیق در خصوص گیاهان مقاوم به شرایط نامساعد محیطی، از اهمیت بالایی برخوردار است (Nezami et al., 2009). با توجه به اینکه شوری، یکی از مضرترین فاکتورهای محیطی است که محدودیت بهره‌وری گیاهان را افزایش می‌دهد، برای مقابله با اثرات شوری، به طیف گسترده‌ای از سازوکارها و استراتژی‌ها نیاز است که اصولاً، نیازمند زمان طولانی و هزینه‌های سنگین هستند. به همین دلیل، توسعه روش‌های زیستی ساده و کم هزینه، برای مدیریت تنش شوری که می‌تواند در کوتاه مدت مورد استفاده قرار گیرد، امری ضروری است. در همین راستا، آزمایشی با عنوان تأثیر تلقیح بذرها با باکتری‌های محرک رشد، بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی و محتوای برخی عناصر رازیانه، در شرایط تنش شوری به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ و در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج، به صورت فاکتوریل و

سی‌سی ریخته شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۹۵ نانومتر، میزان جذب اندازه‌گیری شد. غلظت پروتئین بر حسب میکروگرم بر گرم بذر تازه و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. با استفاده از روش ککمک و هورست (Cacmak and Horst, 1991)، فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری آنزیم، به ۱۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، $2/8$ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی مولار با اسیدیته $6/8$ ، اضافه شد و میزان جذب، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر و به مدت یک دقیقه یادداشت شد. فعالیت آنزیم، به صورت جذب در دقیقه و به ازای میلی‌مول در گرم وزن تر بذر، گزارش شد (ضریب خاموشی کاتالاز $(\epsilon = 0.394 \text{ mMol}^{-1}\text{cm}^{-1})$). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، به روش ناکانو و آسودا (Nakano and Asada, 1978) و با کمی تغییر، اندازه‌گیری شد. در این روش، با استفاده از تغییرات جذب در دقیقه (بازه زمانی صفر و یک دقیقه) و ضریب خاموشی آسکوربات، میزان آسکوربات به‌جا مانده پس از یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر واکتس آنزیمی، محاسبه شد و به صورت جذب در دقیقه، به ازای میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر گزارش شد (ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز $(\epsilon = 2/8 \text{ mMol}^{-1}\text{cm}^{-1})$). جهت اندازه‌گیری عناصر، ابتدا بذرها در پتانسیل‌های اسمزی تعیین شده قرار گرفتند و پس از پایان آزمایش، گیاهچه‌های بدست آمده از این بذرها خشک شدند و $0/5$ گرم از مواد خشک شده، برای اندازه‌گیری عناصر انتخاب شد. جهت اندازه‌گیری فسفر، از دستگاه اسپکتروفوتومتر و روش کالریمتری (رنگ زرد مولیبدات - وآنادات) استفاده شد و میزان فسفر گیاهچه بر حسب درصد گزارش شد (امامی، ۱۹۹۶، Emami). مقادیر سدیم و پتاسیم، به روش نشر شعله‌ای و با دستگاه فلیم‌فوتومتر بر حسب میلی‌گرم بر گرم، اندازه‌گیری شد. مقادیر به‌دست آمده، با مقایسه با نمودار حاصل از نمونه‌های استاندارد، تعدیل شدند و در نهایت، میزان عناصر سدیم و پتاسیم محاسبه شد و در آخر، میزان عناصر بر حسب درصد گزارش شد (Patterson et al., 1984). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد؛ برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

با کاغذ صافی پوشانده شده بود، قرار داده شد و پنج میلی‌لیتر محلول نمکی (NaCl) در غلظت‌های مختلف به این پتری دیش‌ها اضافه شد. پتری دیش‌ها، با چیدمان مشخص شده بر روی کاغذ، به مدت ۱۴ روز و در دمای متناوب ۲۰-۳۰ درجه سلسیوس، درون ژرمیناتور قرار گرفتند. شمارش بذرهای جوانه زده به صورت روزانه انجام شد و سپس درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. در نهایت، درصد و شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی طبق معادلات زیر محاسبه شدند.

معادله ۱:

$$(Ikic \text{ et al.}, 2012) \quad 100 \times (\text{تعداد کل بذرها} / \text{تعداد بذرهای}$$

جوانه زده) = درصد جوانه‌زنی (GP)

معادله ۲:

$$(Verma \text{ et al.}, 2005) \quad (\text{تعداد روز پس از شروع آزمایش} /$$

تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز) = سرعت جوانه‌زنی (GR)

معادله ۳:

$$(Abdulbaki \text{ and Anderson}, 1975)$$

شاخص طولی بنیه گیاهچه = $100 / (\text{طول گیاهچه (سانتی‌متر)} \times$

درصد جوانه‌زنی استاندارد)

برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، ابتدا بذرها در تنش‌های اسمزی تعیین شده، آبنوشی شدند و سپس، نمونه برداری لازم انجام شد. پس از نمونه‌برداری و تا زمان ارزیابی صفات، بذرها به فریزری با دمای -40 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. زمان آبنوشی، با توجه به زمان اتمام مرحله دوم جوانه‌زنی (قبل از خروج ریشه‌چه) و بر اساس پیش‌آزمایش بذرها به مدت ۴۸ ساعت، انتخاب شد. سپس، $0/6$ گرم از بذرهای تر (آبنوشی شده)، جدا شد و صفات بیوشیمیایی آنها اندازه‌گیری شدند. در پایان آزمایش، محتوای عناصر گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد.

میزان پروتئین محلول گیاهچه، به روش برادفورد (Bradford, 1976) اندازه‌گیری شد. برای تهیه بافر استخراج، از دو ماده پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) و سدیم هیدروکسید (NaOH) استفاده شد. به این منظور، ۹۹۰ میکرولیتر محلول برادفورد، داخل میکروتیوپ‌های دو میلی‌لیتری ریخته شد و سپس ۱۰ میکرولیتر عصاره به آن به آن اضافه شد و پس از یک دقیقه (به منظور کامل شدن واکنش)، به داخل کووت یک

نتایج و بحث

محتوی پروتئین محلول بذر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تیمارهای زیستی و تنش شوری بر صفت پروتئین محلول، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس برش‌دهی، حاکی از تأثیر مثبت و معنی‌دار تلقیح زیستی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و محتوای پروتئین‌های محلول در سطوح مختلف تنش شوری بود (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین برش‌دهی، بیشترین پروتئین محلول، در سطح بدون تنش (۰/۹۷۸ میلی‌گرم برگرم وزن تر بذر) و مربوط به باکتری باسیلوس بود. در سطوح تنش ۴- و ۸- بار، بیشترین و کمترین پروتئین محلول، به ترتیب به باکتری PF2 (به ترتیب ۰/۸۴۱ و ۰/۹۰۸ میلی‌گرم برگرم وزن تر بذر) تیمار آب مقطر (به ترتیب ۰/۶۶۴ و ۰/۵۳۱ میلی‌گرم برگرم وزن تر بذر) تعلق داشت. سنتز پروتئین‌ها، در فرآیند جوانه‌زنی،

رشد محور جنینی و تولید آنزیم‌های هیدرولیز کننده و سایر سیستم‌های سلولی انتقال دهنده مواد اندوخته‌ای بذر، نقش مهمی را ایفا می‌نمایند (Bailly, 2004). در پژوهشی، Metwali *et al.* (2015) اظهار داشتند که تلقیح بذور باقلا با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش شوری، محتوای پروتئین محلول بذرها را افزایش داد. (جمله تکراری است. چند خط بالاتر همین جمله آمده است) پروتئین‌های محلول، از جمله ترکیباتی هستند که برای کاهش میزان خسارت در شرایط تنش در گیاهان تولید می‌شوند (Mohamad *et al.*, 2007). به نظر می‌رسد که محرک‌های رشد گیاهی، با افزایش سنتز اسیدهای آمینه و سنتز DNA و RAN، پروتئین‌های محلول را افزایش می‌دهند (Selvaraj *et al.*, 2008) که منجر به بهبود تنظیم تنش اسمزی و کاهش اثرات تنش شوری می‌شوند.

جدول ۱- اثر تیمارهای زیستی و تنش شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در بذر رازیانه

biochemical traits of fennel seed. Table1. Effect of the biological treatments and Salinity stress on some

S.O.V	Soluble Protein Content	Catalase	Ascorbate peroxidase
Biological treatment (A)	0.0904**	2338**	0.0638**
Osmotic potential (B)	0.1358**	2991**	0.0929**
A*B	0.0010**	50.69 ^{ns}	0.0021*
Error	0.0003	40.18	0.0008
C.V (%)	2.31	11.6	8.65

ns, ** و * به ترتیب، غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد.

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

جدول ۲- برش‌دهی اثر تیمارهای زیستی و تنش شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در بذر رازیانه

Table 2. Slicing the effect of the biological treatments and salinity stress on some Biochemical traits of fennel seed.

Osmotic potential (bar)	df	Soluble Protein Content	Ascorbate peroxidase
0	4	0.0321**	0.0303**
-4	4	0.0245**	0.0239**
-8	4	0.0359**	0.0138**

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** significant at 1% probability level

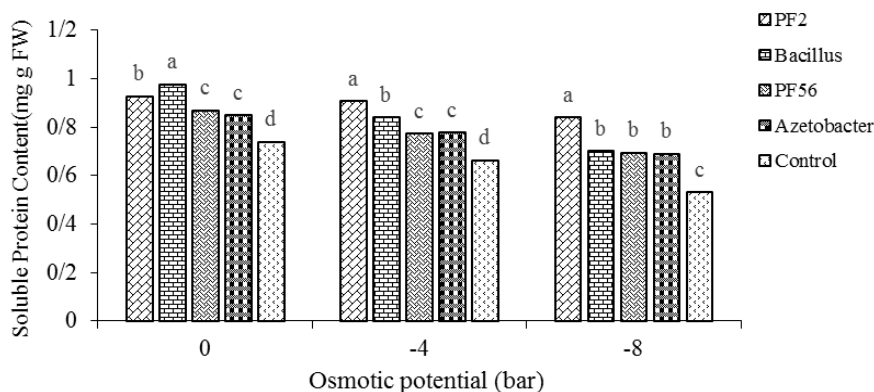
آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا کرد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در بین جدایه‌های باکتری، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز، به باکتری‌های PF2 و باسیلوس، به ترتیب با ۷۱/۴۴ و ۶۹/۱۳ میلی‌مول برگرم وزن تر بذر در

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثرات اصلی تیمارهای زیستی و تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار شد ($P \leq 0.01$). با افزایش تنش شوری، میزان

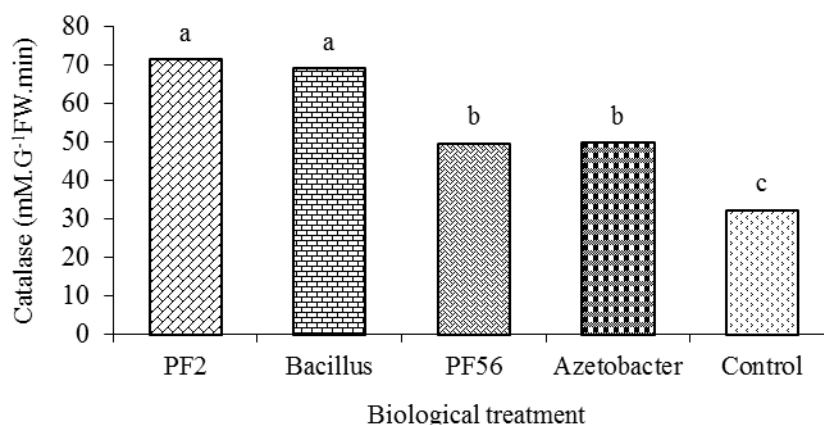
می‌کند (Liu *et al.*, 2007). کاتالاز، یکی از مهمترین جاره کننده‌های پراکسید هیدروژن محسوب می‌شود که این عمل را با تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن انجام می‌دهد. مشاهدات Nidhi *et al.* (2014) بر روی گیاه سنای چمنی نشان داد که باکتری‌های محرک رشد در شرایط شوری، فعالیت آنزیم کاتالاز در این گیاه را افزایش داد. در بررسی دیگری بر روی گیاهان اسفناج، هویج و شنبلیله، تلقیح زیستی با باکتری‌های محرک رشد، فعالیت آنزیم کاتالاز را در شرایط تنش شوری افزایش داد (Nautiyal *et al.*, 2008).

دقیقه اختصاص داشت و اختلاف بین این دو، معنی‌دار نبود. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۳/۳ میلی‌مول برگرم وزن تر بذر در دقیقه) از تیمار شاهد بدست آمد. در بین سطوح شوری، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۶۸/۷ میلی‌مول برگرم وزن تر بذر در دقیقه) تیمار بدون تنش و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۴۰/۴۶ میلی‌مول برگرم وزن تر بذر در دقیقه)، به سطح تنش ۸- اختصاص داشت. تنش شوری، موجب تولید رادیکال آزاد می‌شود و تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد؛ در چنین شرایطی، گیاه برای مقابله با اکسیژن‌های آزاد، از سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی نظیر آنزیم کاتالاز و پراکسیداز استفاده



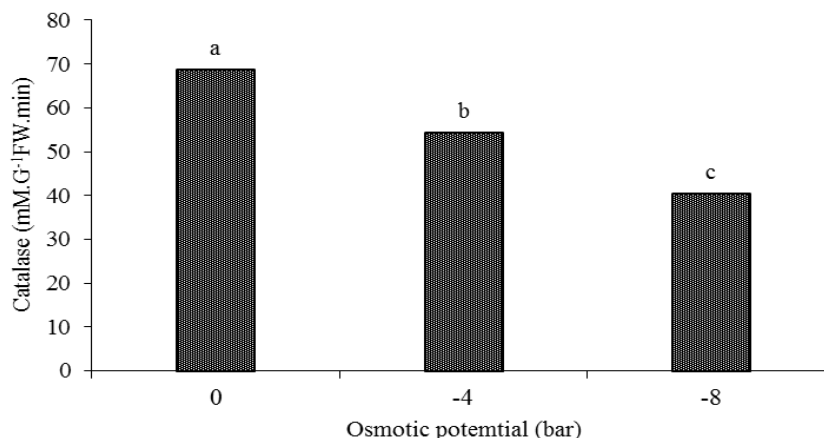
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر محتوای پروتئین محلول بذر رازیانه، در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure1. Mean comparison of the effect of the biological treatments on soluble protein content of fennel at different levels of salinity stress (Within each stress level, columns with the same letters had no significant differences at 5 % statistical level).



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر فعالیت آنزیم کاتالاز بذر رازیانه (حروف مشترک بین ستون‌ها، نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد).

Figure2. Mean comparison of the effect of the biological treatment on catalase activity in fennel seeds at different levels of salinity stress (columns with the same letters had no significant difference at 5 % statistical level).



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز بذر رازیانه.

Figure 3. Mean comparison of the effect of the salinity osmotic potential on the catalase activity in fennel seeds.

افزایش مقاومت به شوری است. در گزارشی، در بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بذرهای تلقیح شده گندم با باکتری‌های محرک رشد، افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، در شرایط تنش شوری مشاهده شده است که این افزایش، کاهش خسارت ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را به همراه داشت (Chamani *et al.*, 2012). در مطالعه‌ای با عنوان تأثیر باکتری‌ها بر گیاه بامیه تحت تنش شوری گزارش شد که باکتری‌های محرک رشد، باعث افزایش فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز و پراکسیداز این گیاه تحت تنش شوری شد (Habib *et al.*, 2016).

سدیم گیاهچه

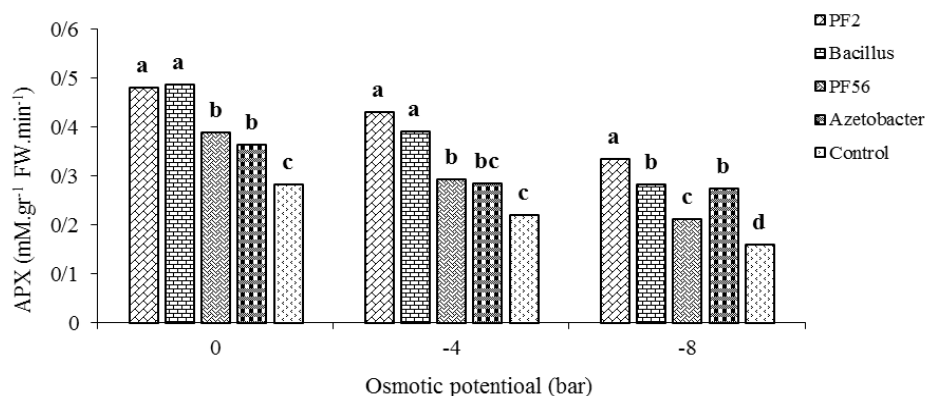
برهمکنش تیمارهای زیستی و تنش شوری بر میزان سدیم گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین برشده‌ی نشان داد که در سطح بدون تنش، بیشترین میزان سدیم گیاهچه (۰/۰۸۵۶ درصد) به تیمار شاهد و کمترین آن (۰/۰۷۸۶ درصد)، به باکتری PF2 اختصاص داشت. در سطح -۴ و -۸ بار نیز بیشترین میزان سدیم، به تیمار شاهد (به ترتیب ۰/۱۰۶ و ۰/۱۱۹ درصد) اختصاص داشت و کمترین میزان سدیم گیاهچه از باکتری PF2 بدست آمد (به ترتیب ۰/۰۸۷۶ و ۰/۰۹۷ درصد). در شرایط تنش شوری، وجود مقدار زیاد سدیم در خاک، منجر به اختلال در جذب، انتقال و توزیع عناصر ضروری در بخش‌های مختلف گیاه می‌شود. Hamdia *et al.* (2004) مشاهده کردند که در اثر تلقیح گیاه ذرت با باکتری *Azospirillum*

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش اثر تیمارهای زیستی و تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین برشده‌ی نشان داد که در سطوح بدون تنش، بیشترین فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز مربوط به باکتری باسیلوس بود. در سطوح -۴ و -۸ بار، باکتری PF2، موجب بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. کمترین میزان فعالیت این آنزیم در همه سطوح تنش شوری، به تیمار شاهد اختصاص داشت. مقاومت گیاه در برابر تنش، به شاهد تأثیرپذیری بیشتر سیستم آنتی‌اکسیدانی بستگی دارد (Bor *et al.*, 2003). تنش شوری، موجب تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول و خسارت به بخش‌های مختلف، از جمله غشاهای سلولی می‌شود (MaaliAmiri *et al.*, 2010). کاهش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در محورهای جنین در شرایط تنش ممکن است منجر به افزایش تولید پراکسید هیدروژن شود که به احتمال زیاد، جوانه‌زنی را به طور مستقیم و یا از طریق تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل تحت تأثیر قرار می‌دهد. از آنجا که آسکوربات پراکسیداز با کمک اسید آسکوربیک، باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود، بالاتر بودن فعالیت این آنزیم در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد، به معنی حذف بیشتر رادیکال‌های اکسیژن و در نتیجه، کاهش مرگ سلولی و

پارامترهای جوانه‌زنی در بذره‌های تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد، نسبت به بذور تلقیح نشده در تنش شوری، ممکن است به دلیل توانایی این باکتری‌ها، برای محدود کردن انتقال سدیم به بذر باشد.

brasiliense، جذب سدیم در شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد. محققین، محدود کردن جذب کلر و سدیم را به عنوان مکانیسم احتمالی باکتری‌های محرک رشد گیاه برای کاهش اثرات مخرب سدیم عنوان کرده‌اند (Yildirim *et al.*, 2008). به نظر می‌رسد که تأثیرپذیری کمتر



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بذر رازیانه در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

Figure4. Mean comparison of the effect of the biological treatments on fennel seed ascorbat proxidase activitis of at different levels of salinity stress(within each stress level, columns with the same letters had no significant differences at 5 % statistical level).

جدول ۳- اثر تیمارهای زیستی و پتانسیل اسمزی بر برخی عناصر اندازه‌گیری شده در گیاهچه رازیانه

Table 3- Effect of the biological treatments and salinity stress on some measured elements in fennel seedling.

S.O.V	Na	K	Na/K	P
Biological treatment (A)	0.00008**	0.001417**	0.07933**	0.001634**
Osmotic potential (B)	0.001881**	0.003653**	0.37414**	0.003784**
A*B	0.000011**	0.000092**	0.01283**	0.000108**
Error	0.000001	0.000016	0.00034	0.000048
C.V (%)	1.31	2.83	2.81	1.44

**معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** significant at 1% probability level

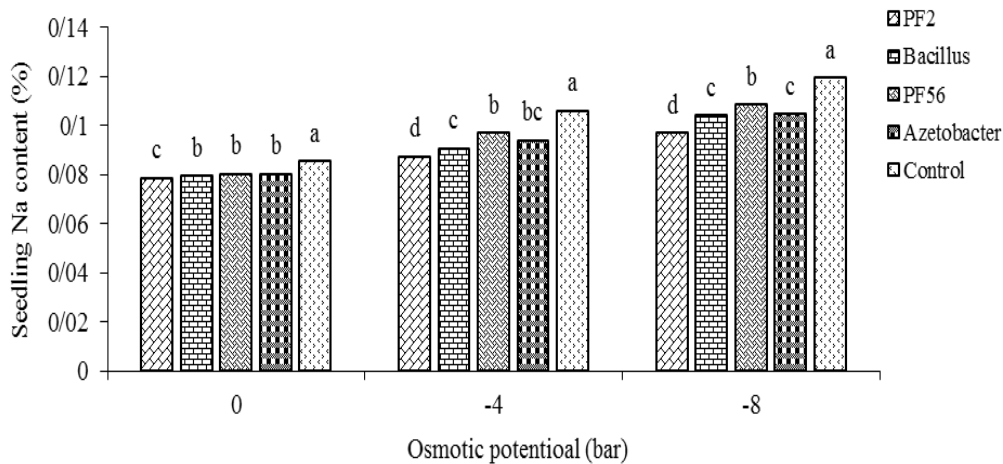
جدول ۴- برش‌دهی اثر تیمارهای زیستی بر محتوای برخی عناصر اندازه‌گیری شده گیاهچه رازیانه در سطوح مختلف پتانسیل اسمزی تنش شوری.

Table 4. Slicing the effect of the biological treatments on some measured elements in the fennel seeds under different levels of osmotic potential

Osmotic potential (bar)	df	Na	K	Na/K	P
0	4	0.0000036**	0.00020**	0.0032**	0.00021**
-4	4	0.000046**	0.00057**	0.0250**	0.00064**
-8	4	0.000061**	0.00094**	0.0774**	0.00092**

**معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** significant at 1% probability level



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر محتوای سدیم گیاهچه رازیانه در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure 5. Mean comparison of the effect of the biological treatments on fennel seedling Na content at different levels of salinity stress (within each stress level, columns with the same letters had no significant difference at 5 % statistical level).

فعالیت پمپ پروتون ATPase (Yao *et al.*, 2010) ذکر شده است.

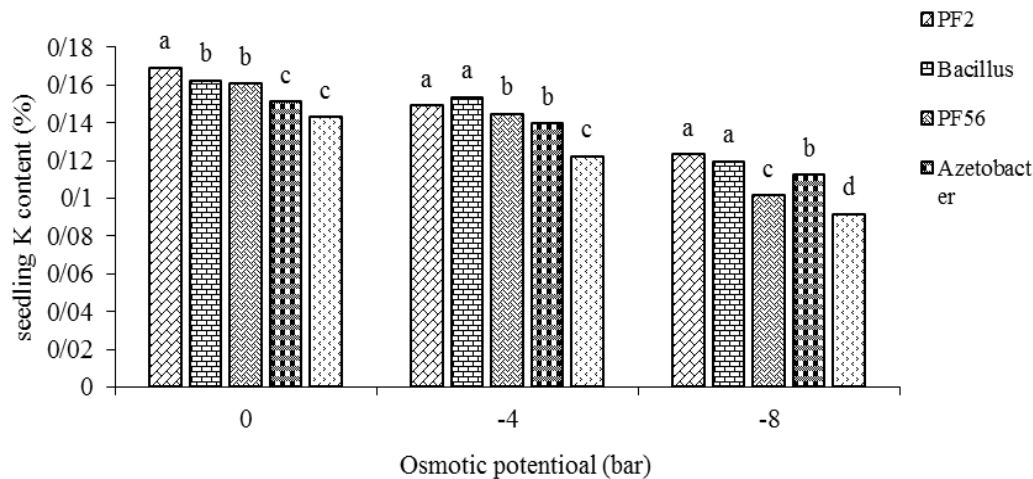
نسبت سدیم به پتاسیم گیاهچه

اثر تیمارهای زیستی و تنش شوری و برهمکنش آنها بر نسبت سدیم به پتاسیم گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین برش‌دهی، در سطح بدون تنش، بیشترین نسبت سدیم به پتاسیم گیاهچه از تیمارهای شاهد و باکتری ازتوباکتر کروکوکوم (به ترتیب، ۰/۵۴۸ و ۰/۵۳۰) به دست آمد و کمترین میزان، به باکتری‌های باسیلوس و PF2 (به ترتیب، ۰/۵۰۰ و ۰/۴۸۱) اختصاص داشت. در سطوح تنش ۴- و ۸-، بار بیشترین نسبت سدیم به پتاسیم (به ترتیب، ۰/۸۰۱ و ۱/۰۸)، مربوط به شاهد و کمترین نسبت، از باکتری PF2 (به ترتیب، ۰/۵۶۴ و ۰/۶۷۴ درصد) بدست آمد. علت کاهش پتاسیم در شرایط تنش شوری، زیاد بودن سدیم در محیط رشد گیاه و جذب بیشتر این عنصر است. در شرایط شوری، به دلیل عدم تعادل عناصر غذایی، رشد گیاهان کاهش می‌یابد؛ بنابراین، وجود تعادل در تجمع یونی و جذب و توزیع یون‌ها، به‌ویژه بین غلظت سدیم با سایر یون‌ها، در درون گیاه لازم می‌باشد و توانایی گیاهان برای مقاومت به شرایط شور، به محدود شدن جذب سدیم و جذب پیوسته پتاسیم توسط ریشه‌ها نسبت داده می‌شود (Ashraf, 2004).

پتاسیم گیاهچه

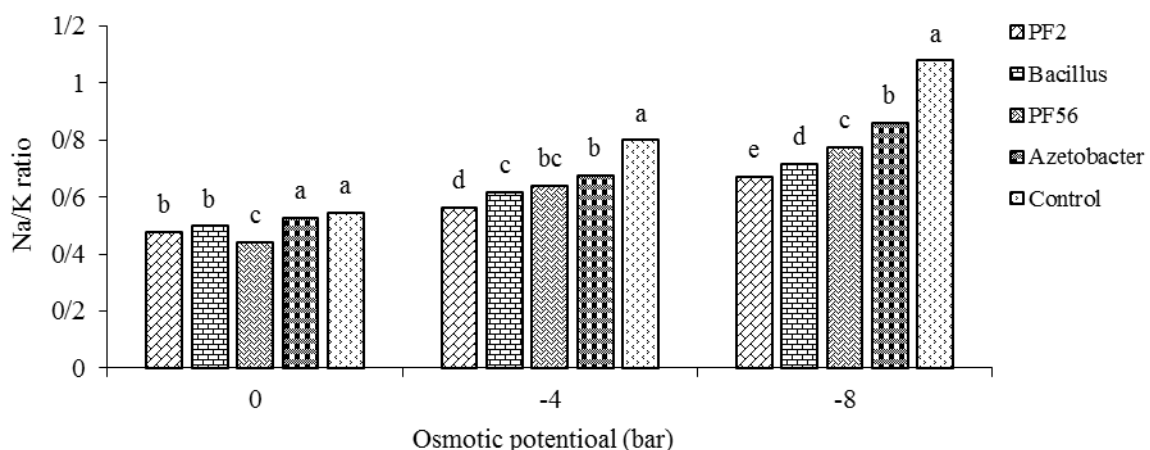
برهمکنش تیمارهای زیستی و تنش شوری بر میزان پتاسیم گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین برش‌دهی، باکتری PF2، بیشترین میزان پتاسیم گیاهچه در سطح بدون تنش (۰/۱۶۹ درصد)، را دارا بود؛ در سطح ۴- و ۸- بار، بیشترین محتوای پتاسیم بذر، به باکتری‌های باسیلوس و PF2 (به ترتیب، ۰/۱۵۳ و ۰/۱۴۹ درصد) اختصاص داشت و کمترین میزان پتاسیم در همه سطوح شوری، از تیمار شاهد بدست آمد.

در شرایط تنش شوری، نسبت بالای Na/K و ناهنجاری‌های تغذیه‌ای، باعث کاهش عناصر ضروری از جمله پتاسیم در گیاه می‌شود. طبق بررسی‌های انجام شده، تلقیح بذر بوسیله باکتری‌های محرک رشد در تنش شوری، موجب افزایش میزان پتاسیم و کلسیم می‌شود (Hamdia *et al.*, 2004). در پژوهشی، با بررسی اثر تیمارهای زیستی بر روی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ریحان در شرایط تنش شوری مشخص شد که باکتری‌های محرک رشد، باعث افزایش غلظت عناصر فسفر و پتاسیم در شرایط تنش شوری در این گیاه تحت شدند (Golpayegani and Gholami Tilebeni, 2011). مکانسیم باکتری‌های محرک رشد گیاه برای افزایش عناصر غذایی، تولید اسیدهای آلی توسط باکتری-ها و در نتیجه کاهش pH (Erturk *et al.*, 2011) و افزایش



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر محتوای پتاسیم گیاهچه رازیانه در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure 6. Mean comparison of the effect of the biological treatments on fennel seedling K⁺ Content at different levels of salinity stress (within each stress level, columns with the same letters had no significant difference at 5 % statistical level)



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر نسبت سدیم به پتاسیم گیاهچه رازیانه در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

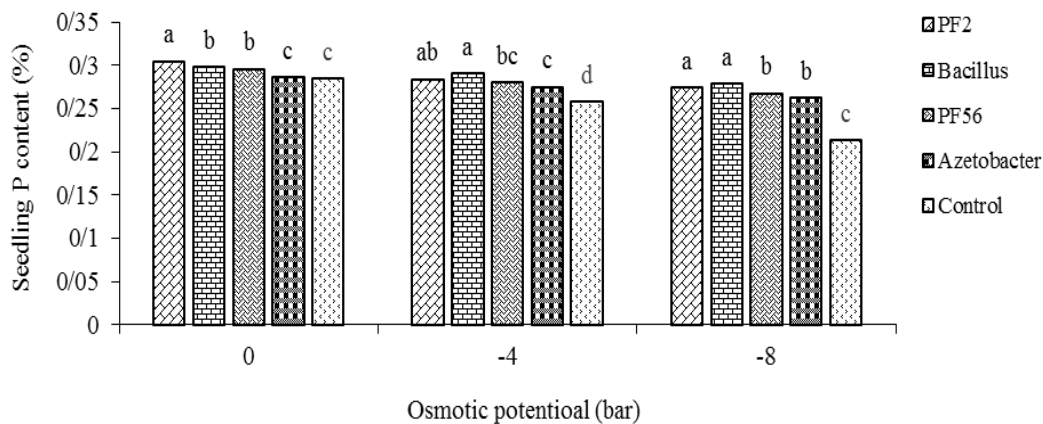
Figure 7. Mean comparison of the effect of the biological treatments on the fennel seedling Na/K at different levels of salinity stress (within each stress level, columns with the same letters had no significant difference at 5 % statistical level).

می‌کند و جزء مهمی از مولکول‌هایی مانند ATP و کوآنزیم‌ها است (Hawkesford *et al.*, 2012). کاهش فسفر در نتیجه تنش شوری، موجب برهم خوردن تعادل در تولید هورمون‌ها در بذر، از جمله تولید آبسزیک اسید و سیتوکینین می‌شود و از این طریق، جوانه زنی را کاهش می‌دهد (Wittenmayer and Merbach, 2005). در مطالعه‌ای، Nidhi *et al.* (2014)، با بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد بر گیاه دارویی نعنای وحشی در شرایط تنش شوری، گزارش دادند که باکتری‌های محرک

فسفر گیاهچه

در شرایط بدون تنش، بیشترین میزان فسفر از باکتری PF2 بدست آمد و کمترین میزان فسفر (۲۸۴/۰ درصد)، به تیمار شاهد اختصاص داشت. در تنش -۴ و -۸ بار، بیشترین فسفر، از باکتری باسیلوس بدست آمد که اختلاف معنی داری با باکتری PF2 نداشت (شکل ۸). فسفر دارای نقش‌های متعددی در ساختار سلول و عملکرد کاتالیزوری در متابولیسم گیاهان است. این عنصر، در ساختمان اسیدهای نوکلئیک و فسفولیپیدها شرکت

رشد، باعث کاهش غلظت عنصر سدیم و افزایش غلظت عنصر فسفر و پتاسیم شدند.



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر محتوای فسفر گیاهچه رازیانه در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

Figure 8. Mean comparison of the effect of the biological treatments on fennel seedling phosphorus contents at different levels of salinity stress (within each stress level, columns with the same letters had no significant difference at 5 % statistical level).

جدول ۵- اثر تیمارهای زیستی و پتانسیل اسمزی بر برخی شاخص‌های جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بذر رازیانه germination and seedling growth Table 5- Effect of the biological treatment and drought stress in some indices of fennel seeds

S.O.V	Germination percentage	Germination rate	Seedling weight vigor index
Biological treatment (A)	819.259**	1.109**	54.850**
Osmotic potential (B)	13873.88**	23.859**	652.291**
A*B	250.092*	0.074 ^{ns}	1.562**
Error	9.074	0.072	0.377
C.V (%)	5.149	12.653	5.079

**، * و ns به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد و عدم معنی داری. **، * and ns are significant at 1 and 5% probability levels and non-significant, respectively.

جدول ۶- برشدهی اثر تیمارهای زیستی بر برخی صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای اندازه‌گیری شده رازیانه، در سطوح مختلف پتانسیل اسمزی

Table 6. Slicing the effect of the biological treatment on some germination and seedling growth characteristics of fennel under different levels of osmotic potential

Osmotic potential (bar)	df	Germination percentage	Seedling weight vigor index
0	4	360**	27.5**
-4	4	254**	17.72**
-8	4	254**	12.73**

** معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** significant at 1% probability level

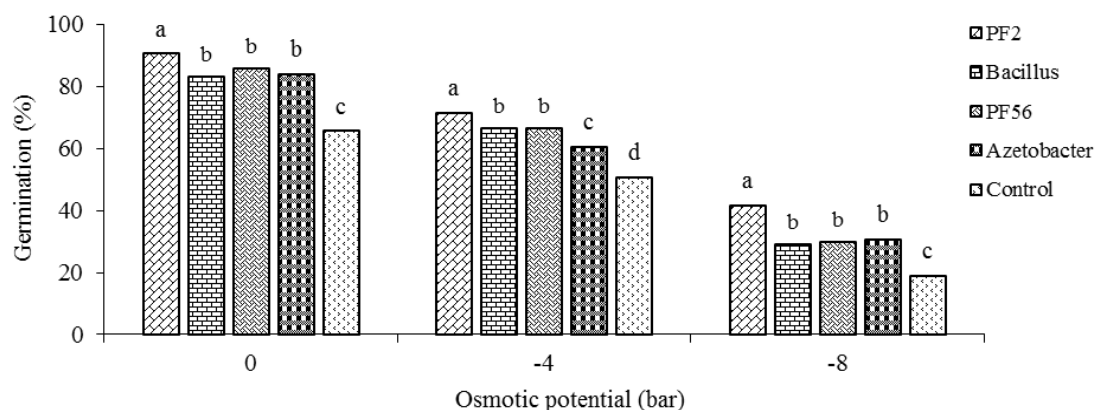
باکتری PF2 و کمترین درصد جوانه‌زنی، به تیمار شاهد اختصاص داشت. در تنش ۸- بار، باکتری PF2، موجب افزایش ۲۵ درصدی جوانه زنی نسبت به تیمار شاهد شد. تلقیح باکتری‌های محرک رشد در همه سطوح شوری، سبب افزایش درصد جوانه‌زنی نسبت به عدم تلقیح باکتری شد.

درصد جوانه‌زنی

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۵)، برهمکنش تیمارهای زیستی و تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی معنی دار شد ($P \leq 0.05$). نتایج مقایسه میانگین برشدهی داده‌ها نشان داد که در همه سطوح تنش شوری، بیشترین درصد جوانه‌زنی با اختلاف معنی دار با سایر تیمارها، به

موجود در کودهای زیستی، با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه و همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف و انواع آنتی‌بیوتیک، موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی شده است که این مسئله، سبب تولید آسیمیلات بیشتر و انتقال آن‌ها به سایر اندام‌ها می‌شود (Han and Lee, 2006). همچنین باکتری‌های دارای آنزیم ACC دآمیناز، مانند سودوموناس نیز از طریق کاهش سطح اتیلن در گیاه، باعث افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در شرایط تنش شوری می‌شوند (Glick, 2005). در تحقیقی دیگر مشخص شده است که افزایش جوانه‌زنی می‌تواند، به دلیل تأثیر باکتری‌ها در افزایش تولید برخی هورمون‌ها، به‌ویژه جیبرلین باشد زیرا این هورمون، با فعال کردن برخی آنزیم‌ها مانند آمیلاز که در سوخت و ساز نشاسته دخالت دارند، جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Gholami et al., 2009).

کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی مورد مطالعه در شرایط تنش شوری را می‌توان به کاهش میزان و کندشدن سرعت جذب اولیه آب (De and Kar, 1994) و همچنین تأثیر منفی پتانسیل‌های اسمزی کم و سمیت یون‌ها بر فرآیندهای بیوشیمیایی مراحل کاتابولیک (هیدرولیز آنزیمی مواد ذخیره‌ای بذر) و آنابولیک (ساخت بافت‌های جدید)، با استفاده از مواد هیدرولیز شده در مرحله اول جوانه‌زنی، نسبت داد (Misra and Dwivedi, 1995). در پژوهشی، عدم جوانه‌زنی بذور رازیانه در سطوح پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد NaCl گزارش شد (Makali et al., 2013). استفاده از کودهای زیستی آروسپیریلیوم، باکتری‌های حل‌کننده فسفات، ازتوباکتر و ترکیب آنها در گیاهان *Ocimum sanctum* و *Withania somniferum* باعث بهبود برخی ویژگی‌های جوانه‌زنی، مانند درصد و سرعت جوانه‌زنی شد (Krishna et al., 2008). باکتری‌های



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر درصد جوانه‌زنی رازیانه در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure 9. Mean comparison of the effect of the biological treatments on germination percentage of fennel seeds at different levels of salinity stress (within each stress level, columns with the same letters had no significant difference at 5 % statistical level).

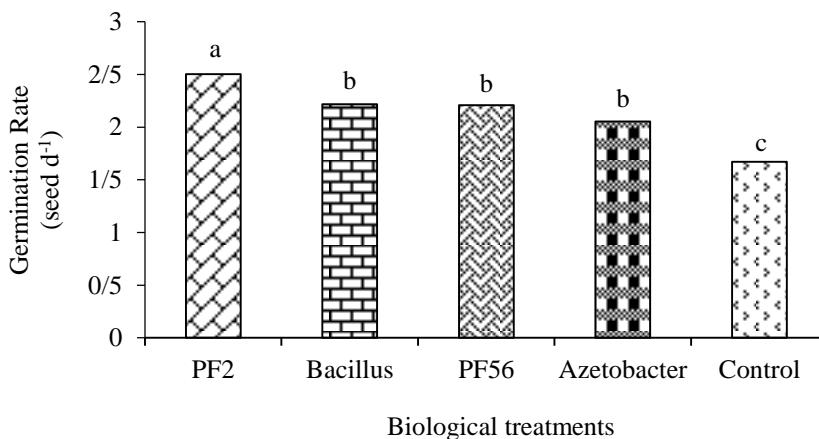
با افزایش تنش شوری، سرعت جوانه‌زنی بذرها، کاهش یافت به طوری که بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۳/۱۱) بذر در روز، در سطح بدون تنش و کمترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۹۵۴) بذر در روز، در سطح تنش ۸- بار به دست آمد. اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال شود و یا جذب به آرامی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی انجام خواهد شد و در نتیجه، مدت زمان لازم برای خروج ریشه‌چه از بذر افزایش می‌یابد و سرعت جوانه‌زنی کاسته می‌شود (De and Kar, 2004). در

سرعت جوانه‌زنی

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۵)، اثرات اصلی تیمارهای زیستی و تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار شد ($P \leq 0.01$). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که باکتری‌های محرک رشد، باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی، نسبت به شاهد شدند. در بین جدایه‌های باکتری، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۲/۵۰) بذر در روز از باکتری PF2 و کمترین آن (۱/۶۶) بذر در روز، از تیمار شاهد بدست آمد. روند سرعت جوانه‌زنی این گونه بود که

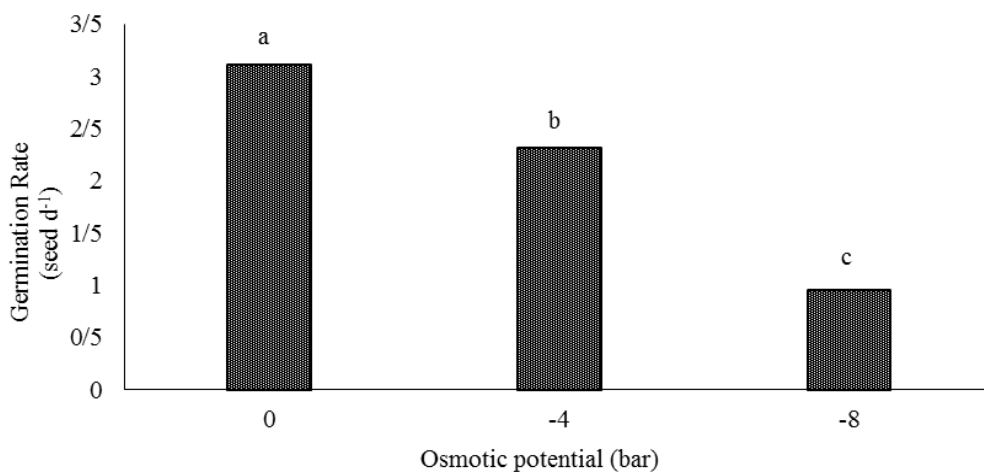
ترشح هورمون‌هایی نظیر سیتوکینین و اکسین می‌باشد که جذب آب و مواد غذایی را تحریک می‌کنند و به واسطه‌ی آن، سرعت جوانه‌زنی افزایش می‌یابد (Mirshekari and Baser, 2009).

یک بررسی، *Khoshvaghti et al.* (2013) گزارش دادند که باکتری‌های محرک رشد گیاه، باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در گیاه رازیانه نسبت به شاهد شدند. افزایش سرعت جوانه‌زنی در بذرهاى تلقیح شده می‌تواند در اثر



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی بر سرعت جوانه‌زنی رازیانه (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

Figure 10. Mean comparison of the effect of the biological treatments on germination rate of fennel(columns with the same letter had no significant difference at 5 % statistical level).



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی بذر رازیانه.

Figure 11. Mean comparison of the effect of the salinity osmotic potential on germination rate of fennel.

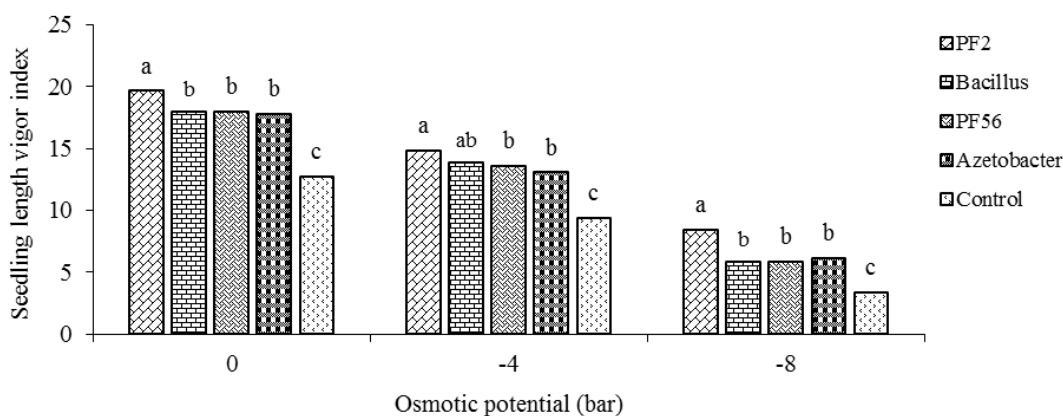
۴- بار، باکتری PF2، بیشترین شاخص (۱۴/۹۱) را داشت که با باکتری باسیلوس، اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین شاخص (۹/۴۱)، مربوط به تیمار شاهد بود. همچنین در سطح تنش ۸- بار، بیشترین شاخص وزنی (۸/۴۵)، از باکتری PF2 و کمترین آن، از تیمار تلقیح نشده (۳/۴۱) به‌دست آمد. شاخص وزنی بنیه گیاهچه ترکیبی از دو عامل درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه

شاخص وزنی بنیه گیاهچه

برهمکنش تیمارهای زیستی و تنش شوری بر شاخص وزنی بنیه گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین برش‌دهی داده‌ها نشان داد که در سطح بدون تنش، بیشترین شاخص وزنی بنیه گیاهچه (۱۹/۷۱)، به باکتری PF2 و کمترین آن (۱۲/۷۹)، به تیمار شاهد اختصاص داشت. در سطح تنش

ایجاد رابطه همزیستی با گیاه نیز مفید می‌باشند (Werner, 1992). Arora et al. (2010)، اثر پلی- ساکاریدهای خارج سلولی را بر روی جوانه‌زنی سه گیاه گندم، ذرت و برنج، در غلظت‌های مختلف شوری مورد بررسی قرار دادند؛ نتایج نشان داد که پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی ترشح شده از باکتری‌های محرک رشد، جوانه‌زنی و شاخص بنیه گیاهچه در هر سه گیاه را افزایش داد به طوری که در واکنش به پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، شاخص وزنی بنیه این گیاهان از ۱/۱ به ۲/۴ برابر افزایش یافت که بیانگر نقش آن‌ها در کاهش اثرات تنش شوری می‌باشد.

(ریشه‌چه و ساقه‌چه) می‌باشد که بهبود یا تأثیرپذیری در هر کدام از این صفات، باعث تغییر در بنیه بذر می‌شود. ریشه، اولین اندامی است که به دلیل جذب عناصر، به طور مستقیم با تنش مواجه می‌شود. از جمله دلایل کاهش شاخص بنیه را می‌توان، از بین رفتن تعادل یونی و اسمزی دانست که از جمله آثار مخرب شوری به حساب می‌آیند. باکتری‌های محرک رشد، با تولید بیوسورفکتانت‌ها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، می‌توانند اثرات زیان‌بار شوری را کاهش می‌دهند (Margesin and Schinner, 2001). پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی سویه‌های باکتری، نه تنها باعث بهبود شرایط تنش شوری می‌شوند، بلکه در



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای زیستی برای شاخص وزنی بنیه گیاهچه رازیانه در سطوح مختلف تنش شوری (ستون‌های دارای حرف مشترک در هر سطح تنش، با هم تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure 12. Mean comparison the effect of the biological treatments on fennel seedling weight vigor index at different levels of salinity stress (within each stress level, columns with the same letters had no significant difference at 5 % statistical level).

فلورسنس PF2، بهترین تیمار استفاده شده در شرایط تنش شوری بود که در شرایط تنش شوری، باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بذر رازیانه شد. با توجه به نتایج بدست آمده توصیه می‌شود که جهت افزایش بنیه بذر رازیانه، قبل از کاشت بذرها، با PF2 از باکتری سودوموناس فلورسنس تیمار شوند.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده می‌توان اظهار داشت که با افزایش پتانسیل اسمزی، شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی رازیانه کاهش یافتند. تلقیح بذرها با تیمارهای زیستی، اثرات اسمزی ناشی از تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی این گیاه را تعدیل نمود و در شرایط بدون تنش نیز باعث بهبود این شاخص‌ها گردید. در بین تیمارهای زیستی، باکتری سودوموناس

REFERENCES

1. Abdulbaki, A. A. & Anderson, J. D. (1975). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13: 630-633.
2. Arora, M., Kaushik, A., Rani, N. & Kaushik, C. P. (2010). Effect of Cyanobacterial exopolysaccharides on salt stress alleviation and seed germination. *Journal of Environmental Biology*, 31(5): 701-704.
3. Ashraf, M. (2004). Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora-Morphology Distribution Functional Ecology of Plants*, 199, 361-376.

4. Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14(02): 93-107.
5. Bakhit, M. & Moradi, A. (2017). The effect of bio-priming on germination and deterioration control of flax seeds (*Linum usitatissimum*). *Seed Science and Technology*, 45(2): 1-13.
6. Berg, G., Alavi, M., Schmidt, C. S., Zachow, C., Egamberdieva, D., Kamilova, F. & Lugtenberg, B. (2013). Biocontrol and osmoprotection for plants under salinated conditions. *Molecular microbial ecology of the rhizosphere*, 1(2): 561-573.
7. Bor, M., Ozdemir, F. & Türkan, I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet (*Beta maritima* L). *Plant Science*, 164, 77-84.
8. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Annual Review Biochemistry*, 72: 248- 25.
9. Burd, G. I., Dixon, D. G. & Glick, B. R. (1998). A plant growth-promoting bacterium that decreases nickel toxicity in seedlings. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 64: 3663-3668.
10. Cacamak, I. & Horst, W. (1991). Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip soybean. *Plant Physiology*, 83: 463- 468.
11. Chamani, F., Habibi, D., Khodabandeh, N., Davarifard, M. & Asgharzadeh, A. (2012). Effect of salinity stress on grain yield and activity of wheat antioxidant enzymes inoculated with growth promoting bacteria (*Azotobacter chroocum*, *Azospirillum lipophorum*, *Pseudomonas putida*) and humic acid. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 8: 55-39.
12. De, R. & Kar, R. K. (1994). Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*) under water stress induced by PEG-6000. *Seed Science and Technology*, 23: 301-308.
13. Emami, A. (1996). *Plant decomposition methods*. Soil and Water Research Institute, Agricultural Research and Education Organization, Ministry of Agriculture, Tehran.
14. Erturk, Y., Cakmakci, R., Duyar, O. & Turan, M. (2011). The effects of plant growth promoting rhizobacteria on vegetative growth and leaf nutrient contents of hazelnut seedling (Turkish hazelnut cv. Tombul & Sivri). *International Journal of Soil Science*, 6(3): 188-198.
15. Fazeliniya, B. Mazarei, A. & Sobhanizadeh, A. (2015). Effect of magnetic field on growth and buds of fennel plant seeds under salt stress. *Second International Conference on Agriculture, Natural Resources, Environment and Medicinal Plants*. Fereydoun Shahr, Payame Noor University of Fereydoun Shahr.
16. Feizi, E. & Moradi, A. (2017). Effect of priming on germination and some biochemical traits of *Trigonella gracum* seeds. *The Second International Congress and 14th National Congress on Agriculture and Plant Breeding in Iran*. 9-11 September. University of Guilan. Rasht. Iran.
17. Gholami, A., S. Shahsavani, and S. Nezarat. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology*. 37 :2070-3740.
18. Glick, B. R., Karaturovic, D. M. & Newell, P. C. (1995). A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonads*. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 533-536.
19. Glick, B. R. (2005). Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiology Letters*, 251: 1-7
20. Golpayegani, A. & Gholami Tilebeni, H. (2011). Effect of biological fertilizers on biochemical and physiological parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.) medicine plant. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 11 (3): 445-450.
21. Habib, S. H., Hossain, K. & Saud. Halimi, M. (2016). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Salinity Stress Tolerance in Okra through ROS-Scavenging Enzymes. *Bio Med Research International*, 10, 1-10.
22. Hamdia, M. A., Shaddad, M. A. K. & Doaa, M. M. (2004). Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regulation*, 44: 165-174.
23. Han, H. S. & Lee, K. D. (2006). Effect of inoculate on with phosphate and potassium co-in solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil and Environment*, 52: 130-136.
24. Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Skrumsager Moller, I. & White, P. (2012). Functions of macronutrients. In: P. Marschner, *mineral nutrition of higher plants* (pp 135-189). Academic Press, London, U.K.
25. Hoseini Moghadam, M., Moradi, A., Baluchi H. R. & Salehi, A. (2017). Effect of different biological treatments on germination and seedlings of Fennel (*Foeniculum vulgare* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Seeds Science and Technology* (in Farsi).
26. Ikić, I., Maric, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z. S. & Arcevic, H. S. (2012). The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheat. *Euphytica*, 188: 25-34.
27. Jahanian, A., Chaichi, M. R., Rezaei, K., Rezayazdi, K. & Khavazi, K. (2012). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination and primary growth of artichoke (*Cynara scolymus*).

- International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(14), 923-929.
28. Kaymak, H. A., Guvenc, I., Yarali, F. & Denmez, M. F. (2009). The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. *Turkish Journal of Agriculture*, 33: 173-179.
 29. Khoshvaghti, H., Akrami, M., Yusefi, M., Baserkouchehbagh, S. & Hoseini, M. (2013). Influence of seed inoculation with biological fertilizer on fennel (*Foeniculum Vulgare*) and coriander (*Coriandrum Sativum*) germination. *International Journal of Biosciences*, 3(11): 108-114.
 30. Liu, J., Tong, L. P., Shen, T. W., Li, J., Wu, L. & Yu, Z. L. (2007). Impact of ion implantation on licorice (*Glycyrrhize uralensis*) growth and antioxidant activity under drought stress. *Plasma Science and Technology*, 9 (3): 301-306.
 31. MaaliAmiri, R., Yur'eva, N. O., Shimshilashvili, K. R., Goldenkova-Pavlova, I. V., Pchelkin V. P., Kuznitsova, E. I., Tsydendambaev, V. D., Trunova, T. I., Los, D. A., SalehiJouzani, G. R. & Nosov, A. M. (2010). Expression of acyl-lipid $\Delta 12$ -desaturase gene in prokaryotic and eukaryotic cells and its effect on cold stress tolerance of potato. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52: 289-297.
 32. Makäli, H., Atabakhshandeh, P. & Mojarad, N. (2013). Effect of salinity on germination of fennel seeds. *First National Conference on Agricultural Science*, Payame Noor University.
 33. Margesin, R. & F. Schinner. (2001). Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. *Extremophiles*, 5: 73-83.
 34. Mesri, F. & Piri, R. (2013). Effect of drought stress induced by PEG and salinity stress on germination traits, proline changes, carbohydrates and antioxidant enzymes in three cultivars of medicinal plant. *Second International Management Conference, Entrepreneurship and Economic Development*.
 35. Metwali, M. R., Abdelmoneim, S., Bakheit, M. A. & Kadasa, M. S. (2015). Alleviation of salinity stress in faba bean (*Vicia faba* L.) plants by inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Omics Journal*, 8(5): 449-46.
 36. Mirshekari, B. & Baser, S. (2009). The effects of seed inoculation with nitragin on germination and early growth of oilseed rape (*Brassica napus* L.), sesame (*Sesamum indicum*) and sunflower (*Helianthus annus* L.). *New Journal of Agriculture*. 5(17): 91-100. (In Farsi).
 37. Misra, N. & Dwivedi, U. N. (1995). Carbohydrate metabolism during seed germination and seedling growth in green gram under saline stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33: 33-40.
 38. Moradi, A. & Piri, R. (2018). Enhancement of salinity stress tolerance in Cumin (*Cuminum cyminum* L.) as affected by plant growth promoting rhizobacteria during germination stage. *Journal of Plant Process and Function*, 6(22): 47-53.
 39. Moradi, N., Izadi Darandi, A., Bahmani, K., Fazel Najafabadi, M. & Sadat Nouri, S. A. (2012). Effect of drought stress on 15 Iranian fennel populations at germination stage. *Third National Conference on Agricultural and Food Industries*. Islamic Azad University of Fasa.
 40. Nakano, Y. & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiology*, 28: 131-140.
 41. Nezami, A., Nabati, J., Kafi, M. & Mohseni, M. (2009). Evaluation of salinity tolerance at emergence and seedling stages of kochia under control environment. *Environmental Stresses in Agricultural Science*, 1(1): 69-77. (In Farsi)
 42. Nidhi, B., Barnawal, D., Awasthi, A., Yadav, A. & Kalra, A. (2014) Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36: 45-60.
 43. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18: 414-420.
 44. Patterson, B., Macrae, E. & Ferguson, I. (1984) Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). *Annual Biochemical*, 139: 487-492.
 45. Piri, R. Moradi, A., Maghsoudi, A., Fereydoni M. J. & Amrolahi, M. H. (2017). Effect of seed primer on plant growth retardant bacteria on germination indices and seedling cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) under drought stress. *The Second International Congress and 14th National Congress on Agriculture and Plant Breeding in Iran*. 9-11 September. University of Guilan. Rasht. Iran.
 46. Roodbari, N., Lahooti, M., Aein, A., ganjali, A. & Roodbari, S. (2013). The Effect of Salinity Stress on Germination and Seedling Growth of Cumin (*Cuminum Cyminum* L.). *Journal of Agriculture and Food Technology*. 3(5): 1-4. (In Farsi)
 47. Selvaraj T., Rajeshkumar S., Nisha M. C., Wondimu L. & Mitiku T. (2008). Effect of Glomus mosseae and plant growth promoting-rhizomicro-organisms (PGPR's) on growth, Nutrients and content of secondary metabolites in *Begonia malabarica* Lam, Maejo. *International Journal of science and technology*, 2: 516-525.

48. ShahRajabian, M. H. & Moradi, K. (2009). *The effect of hydropriming time on tomato seed germination percent and seedling early growth in salinity stress*. Agricultural bulletin. Islamic Azad University, Takestan unit, 1(3): 26-32.
49. Sharma, S., Puri, S., Jamwal A., Bhattacharya, S., Dhindsa, N. & Thakur, K. (2014). Effect of salt stress on seedling growth and survival of *Oenothera biennis* L. *International Research Journal of Environment Sciences*, 3(9): 70-74,
50. Singh, G. S., Maurya, M. P., Lampasona, D. E. & Catalan, C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Journal of Food Control*, 17: 745-752.
51. Sohrabiani, S. (2016). The effect of priming on germination indices and some enzymes of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) with different life spans in terms of drought stress and salinity. Master's Thesis, Faculty of Agriculture Yasuj University, Yasuj, Iran.
52. Sori, N., Mosavi, F. & Sori, F. (2016). Investigation on the effect of salinity stress on seed germination of fennel (*Foeniculum vulgare*). *The first national conference on the role of medicinal herbs in resilient economy*.
53. Tobe, K. & Omasa, K. (2004). Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae). *Seed Science Research*, 14: 345-353.
54. Verma, S. K., Bjpai, G. C., Tewari, S. K. & Singh, J. (2005). Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. *Legume Research*, 28 (2): 143-145.
55. Werner, D. 1992. *Symbiosis of plant and microbes*. Chapman and Hall. P: 49-167.
56. Wittenmayer, L. & Merbach, W. (2005). Plant responses to drought and phosphorus deficiency: contribution of phytohormones in root-related processes. *Journal of Plant Nutrition. Soil Science*, 168: 531-540.
57. Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., Kaleem I., & Li. C. (2010). Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. *European Journal of Soil Biology*, 46: 49-54.
58. Yildirim, E., M. FigenDonmez. & Turan, M. (2008). Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus sativus* L.) by plant growth promoting rhizobacteria. *Rumanian Biotechnological Letters*, 13(5): 3933-3943.
59. Mohamad, A. A., Eichler-Löbermann, B. & Schnug, E. (2007). Response of crops to salinity under Egyptian conditions: a review. *Landbauforschung Völkenrode*, 2: 119-125.