پژوهش‌های بذر ایران/ سال هفتم/ شماره دوم/ ۱۳۹۹/ صفحات: ۵۳-۳۳

مقاله پژوهشی

تأثیر پیش‌تیمارهای زیستی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فیزیولوژیک گیاهچه کدوی تخم کاغذی (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) تحت تنش شوری

سید اسماعیل موسوی [۱]، حشمت امیدی [۲،*]، آیت‌اله سعیدی‌زاده [۳]، مهدی عقیقی شاهوردی [۳]

چکیده مبسوط

مقدمه: شوری از مهم‌ترین عوامل زیان‌بار در نواحی خشک و نیمه‌خشک جهان است که تولید گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ریزجانداران می‌توانند نقش مهمی را در سازگاری گیاهان به شرایط تنش ایفا کنند و با تولید هورمون‌های تحریک‌کننده رشد گیاهی از قبیل سیتوکینین، اسیدجیبرلیک، اکسین، اسیدهای آمینه ویتامین‌های گروه B، به رشد بیشتر گیاه کمک کرده و نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان در شرایط نامساعد محیطی داشته باشند.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در دانشگاه شاهد تهران اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل شوری در ۴ سطح (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و پیش‌تیمار زیستی در هشت سطح (عدم تلقیح، تلقیح با قارچ *Trichoderma harzianum* سویه BI، تلقیح با کود زیستی ازتوبارور ۱، تلقیح با کود زیستی فسفاته بارور ۲، تلقیح با تلفیق قارچ و کود زیستی ازتوبارور ۱، تلقیح با تلفیق قارچ و کود زیستی فسفاته بارور ۲، تلقیح با تلفیق کودهای زیستی ازتوبارور ۱ و فسفاته بارور ۲، تلقیح با تلفیقی از قارچ و کودهای زیستی ازتوبارور ۱ و فسفاته بارور ۲) بودند. در این آزمایش شاخص‌های جوانه‌زنی، رنگیزه‌های گیاهی، پرولین، میزان سدیم و پتاسیم، نشاسته، کربوهیدرات، هدایت الکتریکی و پروتئین محلول گیاهچه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: اثر متقابل پیش‌تیمار زیستی و شوری بر همه شاخص‌های مورد ارزیابی به‌جز کلروفیل b و آنتوسیانین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تیمار کود زیستی فسفاته بیشترین تأثیر مثبت بر درصد جوانه‌زنی را با افزایش شوری داشت. در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی ازتوباکتر مقادیر کلروفیل a، b و کل در سطوح مختلف شوری از بقیه تیمارها بیشتر و با افزایش سطح شوری بیشتر به‌صورت افزایشی بود. بیشترین مقدار پتاسیم (۴/۱۰ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی ازتوبارور در شوری ۴۰ میلی‌مولار به‌دست آمد و در مقایسه با شاهد در همین سطح شوری، ۲۲/۰۲ درصد افزایش نشان داد. با افزایش شوری، تیمارهای قارچ در جلوگیری از افزایش بیشتر مقدار سدیم و همچنین کود زیستی ازتوبارور در جلوگیری از کاهش بیشتر پتاسیم از مؤثرترین تیمارها بودند. مقدار پروتئین‌های محلول در تیمار تلفیق قارچ با هر دو کود زیستی در بالاترین سطح شوری، بیشترین مقدار را دارا بود (۰۹/ ۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) که نسبت به شاهد در همین سطح شوری، ۳۸ درصد افزایش نشان داد.

نتیجه گیری: استفاده از پیش‌تیمار زیستی سبب کاهش اثرات منفی شوری از طریق کاهش محتوای سدیم و افزایش پتاسیم اندام هوایی شد و همچنین باعث شد با کم شدن هدایت الکتریکی در بالاترین سطح شوری نسبت به شاهد، تأثیر مثبتی در جوانه‌زنی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تریکودرما، رنگیزه‌های گیاهی، کربوهیدارت

جنبه‌های نوآوری:

۱- اثر عوامل بیوکنترل باکتریایی و قارچی بر صفات فیزیولوژیک گیاهچه کدوی تخم کاغذی تحت تنش شوری بررسی گردید.

۲- آستانه تحمل به شوری گیاه کدو از طریق افزایش پتاسیم و کاهش سدیم اندام هوایی تحت پیش‌تیمارهای زیستی بهبود یافت.

۳- ترکیبات اسمولیتی به‌وسیله استفاده از پیش‌تیمارهای زیستی افزایش یافت.

[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] استادیار دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

رایانامه نویسنده مسئول: omidi@shahed.ac.ir

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1399.7.2.2.1

DOI: 10.29252/yujs.7.2.33

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۷)

مقدمه

کدوی تخم کاغذی (*Cucurbita pepo* var.*styriaca*) از گیاهانی است که در گذشته از دانه‌های آن برای دفع کرم کدو استفاده شده است. پژوهش‌ها نشان داده است که دانه‌های این گیاه و روغن حاصل از آن حاوی مواد مؤثره ارزشمندی است که نقش عمده‌ای در معالجه غده پروستات، مداوای سوزش مجاری ادراری و معالجه تصلب شرایین دارد. این گیاه در صنایع دارویی اهمیت زیادی دارد و در طب سنتی بسیاری از کشورها مورداستفاده قرار می‌گیرد (فوو[1] و همکاران، ۲۰۰۶).

شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده رشد و تولید گیاهان به شمار می‌رود. مطالعات متعدد سیتولوژیکی در بافت‌های گیاهان زراعی و غیرزراعی نشان می‌دهد که فرایند تقسیم، طویل شدن سلول و همچنین رشد گیاه در شرایط شور توسط غلظت‌های بیش‌ازحد املاح محلول در محیط رشد ریشه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. نمک‌ها با کاهش انرژی آزاد آب باعث کاهش فراهمی آب در گیاه می‌شوند. ضمن اینکه جوانه‌زنی و رشد گیاه با جذب بیش از مقدار موردنیاز از املاح محلول در محیط شور دچار اختلال می‌گردد. علاوه بر این یک یا چند یون خاص در شرایط شور وجود دارد که گیاه با جذب بیش از مقدار موردنیاز آن‌ها دچار مسمومیت شده و اختلالات فیزیولوژیک و متابولیک در گیاه رخ می‌دهد (گالشی[2]، ۲۰۱۵). مطالعات روی گونه‌های مختلف گیاهی نشان داده که ظرفیت فتوسنتزی در اثر شوری کاهش می‌یابد.

برای مقابله با تنش شوری روش‌های مختلفی ازجمله استفاده از ریزجاندارانی مانند باکتری‌های محرک رشد و قارچ به‌منظور تسهیل رشد گیاهان در خاک‌های شور وجود دارد (باسیلیو[3] و همکاران، ۲۰۰۱). جنس‌های مختلفی از باکتری‌ها مانند باسیلوس، سودوموناس، آزوسپریلیوم و ازوتوباکتر رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند و به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد[4] نامیده می‌شود (ندیم[5] و همکاران، ۲۰۰۶). این باکتری‌ها از راه‌های گوناگون مانند تولید هورمون‌ها، افزایش رهاسازی عناصر غذایی، تولید آنزیم ACC دی‌آمیناز، تثبیت زیستی نیتروژن و انحلال ترکیبات نامحلول، سبب جذب عناصر غذایی شده و مقاومت گیاهان را در برابر تنش شوری افزایش می‌دهند (محبوب[6] و همکاران، ۲۰۰۹).

باکتری‌ها از طریق فعالیت متابولیکی، مواد معدنی و آلی خاک را از شکلی به شکل دیگر تغییر داده و مواد غذایی ضروری از قبیل نیتروژن، گوگرد و فسفر که در محیط شور برای گیاه قابل‌استفاده نیستند را برای گیاهان و دیگر موجودات زنده خاک تغییر داده و به فرم قابل‌استفاده در می‌آورند (جورجینسن و امرلینگ[7]، ۲۰۰۷). براساس مطالعات انجام‌شده، در شرایط تنش شوری محتوای کلروفیل در گیاهان حساس به شوری نظیر گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، نخودفرنگی و باقلا کاهش یافت، اما در گیاهان متحمل مثل ارزن مرواریدی و خردل وحشی در شرایط تنش شوری افزایش نشان داد (سودهیر و موردی[8]، ۲۰۰۴). در پژوهشی مشاهده گردید تلقیح بذر گیاه ناترک[9] با باکتری‌های زیستی ازوتوباکتر توانست درصد جوانه‌زنی را تحت تنش شوری نسبت به شاهد افزایش دهد (یوسفی[10] و همکاران، ۲۰۱۷). استفاده از باکتری‌های محرک رشد در گیاه خردل درصد و سرعت جوانه‌زنی را نسبت به شاهد افزایش داد (گلپایگانی[11] و همکاران، ۲۰۱۰). محققان اثر باکتری محرک رشد ازتوباکتر را بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر عدس معنی‌دار گزارش کردند (عقیقی شاهوردی[12] و همکاران، ۲۰۱۱). در آزمایشی تأثیر مثبت استفاده از باکتری‌های محرک رشد آزوسپریلیوم و فسفوباکتریا بر بهبود درصد جوانه‌زنی و قوه نامیه در گیاه کنجد گزارش شد (سوما[13] و همکاران، ۲۰۱۴). در تحقیق دیگری اثر بهبود بخش باکتری‌های محرک رشد

[1] Fu
[2] Galeshi
[3] Bacilio
[4] PGPR
[5] Nadeem
[6] Mehboob
[7] Jeorgensen and Emmerling
[8] Sudhir and Murthy
[9] *Dodonaea viscosa*
[10] Yousefi
[11] Golpayeghani
[12] Aghighi Shahverdi
[13] Suma

ازتوباکتر و ریزوبیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در گیاه یونجه گزارش گردید (ناگانانداو[1] همکاران، ۲۰۱۰). قارچ‌ها به‌ویژه جنس تریکودرما نیز می‌توانند در شرایط تنش نقش مؤثری برای جوانه‌زنی و رشد گیاه ایفا کنند. محققان گزارش کرده‌اند که قارچ تریکودرما هزینه‌های تولید، تأثیرات مضر زیست‌محیطی و شوری خاک را کاهش می‌دهد (پوسپاتی[2] و همکاران، ۲۰۱۳). قارچ‌های تریکودرما با کنترل پاتوژن‌های خاک‌زی، تولید هورمون‌های رشد، حل کردن عناصر نامحلول، افزایش جذب و انتقال عناصر غذایی، دفع مسمومیت و افزایش انتقال قند و اسیدآمینه در ریشه گیاهان، ایجاد مقاومت القایی در برابر تنش‌های محیطی سبب افزایش رشد و نمو گیاهان می‌شوند (مذهبی[3] و همکاران، ۲۰۱۱). باکتری‌هایی مانند سودوموناس تحت تنش‌های مختلف محیطی می‌توانند به‌دلیل تولید ترکیبات مختلف زنده بمانند و مسیرهای سنتز متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان القاء کرده و گیاه را از تنش‌های محیطی حفظ کنند (سندهایا[4] و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات زیادی در زمینه اثر شوری بر جوانه‌زنی و تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان انجام شده اما مطالعات در زمینه توانایی باکتری‌های محرک رشد و قارچ در بهبود وضعیت جوانه‌زنی و رشد گیاهان در شرایط تنش شوری اندک می‌باشد. از این‌رو این مطالعه به‌منظور بررسی توانایی باکتری‌های محرک رشد (باسیلوس لنتوس[5] و سودوموناس پوتیدا[6]) و قارچ تریکودرما[7] بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی کدوی تخم کاغذی در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد تهران در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل تنش شوری در چهار سطح (صفر (به‌عنوان شاهد)، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و پیش‌تیمار زیستی در هشت سطح (عدم تلقیح (به‌عنوان شاهد)، تلقیح با قارچ *Trichoderma harzianum* سویه BI، تلقیح با کود زیستی ازتوبارور ۱، تلقیح با کود زیستی فسفاته بارور ۲، تلقیح با تلفیق قارچ و کود زیستی ازتوبارور ۱، تلقیح با تلفیق قارچ و کود زیستی فسفاته بارور ۲، تلقیح با تلفیق کودهای زیستی ازتوبارور ۱ و فسفاته بارور ۲، تلقیح با تلفیقی از قارچ و کودهای زیستی ازتوبارور ۱ و فسفاته بارور ۲) بودند.

قارچ تریکودرما از کلنی قارچ موجود در کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی دانشگاه شاهد تهیه شد. سوسپانسیون مورداستفاده از این قارچ در این آزمون به میزان 1×10^{8} پروپاگول در میلی‌لیتر آب مقطر بود. کودهای زیستی ازتوبارور ۱ و فسفاته بارور ۲ نیز از شرکت زیست فناور سبز با غلظت 10^{8} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر[8] تهیه و طبق توصیه شرکت استفاده گردید. لازم به ذکر است کود زیستی ازتوبارور-۱ حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس ازتوباکتر و فسفاته بارور-۲ حاوی دو نوع باکتری حل‌کننده فسفات از گونه‌های باسیلوس لنتوس[9] و سودوموناس پوتیدا[10] می‌باشد.

بذرهای مورداستفاده توده اصفهان بوده و قبل از تیمار توسط هیپوکلریت‌سدیم ۰/۵ درصد به مدت چهار دقیقه ضدعفونی شدند و پس از انجام این فرآیند، بذرها برای اعمال پیش‌تیمار زیستی، به مدت ۱۸ ساعت و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در محلول کودهای زیستی و قارچ برحسب تیمارها قرار داده شدند. پس از اتمام زمان تیمار، بذرها در داخل پتری‌ها روی کاغذ واتمن قرار داده شد و براساس تیمارهای موردنظر، آب مقطر یا آب شور به داخل پتری‌ها اضافه گردید و سپس به ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۰ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی انتقال داده شدند (اسدی آقبلاغی[11] و همکاران، ۲۰۱۵). بعد از یک هفته و اتمام شمارش‌ها برای محاسبه شاخص‌های جوانه‌زنی،

[1] Nagananda
[2] Poospati
[3] Mazhabi
[4] Sandhya
[5] *Bacillus lentus*
[6] *Pseudomonas putida*
[7] *Trichoderma harzianum*
[8] CFU/ml
[9] *Bacillus lentus*
[10] *Pseudomonas putida*
[11] Asadi Aghbolaghi

بلافاصله گیاهچه‌های ایجادشده برای محاسبه شاخص‌های بیوشیمیایی انتخاب و صفات به‌صورت زیر اندازه‌گیری شدند.

شاخص‌های جوانه‌زنی براساس فرمول‌های موجود به شرح زیر محاسبه گردید.

درصد جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (ایستا[1]، ۲۰۱۰)

رابطه (۱) $PG = (n/N) \times 100$

در این رابطه PG درصد جوانه‌زنی، n تعداد بذر جوانه‌زده، N تعداد کل بذر کشت‌شده می‌باشد.

محاسبه میانگین مدت زمان جوانه‌زنی از رابطه ۲ محاسبه گردید (آلیس و روبرت[2]، ۱۹۸۱).

رابطه (۲) $MGT = \frac{\sum_{i=n}^{n} NiDi}{\sum Ni}$

در این رابطه MGT میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، Ni تعداد بذر جوانه‌زده در هر شمارش، Di تعداد روز تا شمارش، n دفعات شمارش می‌باشد.

اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید گیاهچه‌های ایجادشده پس از تکمیل مرحله جوانه‌زنی به روش آرنون[3] (۱۹۶۷) با استفاده از استون ۸۰ درصد و قرائت میزان جذب نمونه‌ها در سه طول‌موج ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ صورت گرفت و درنهایت با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه به دست آمد (روابط ۳ تا ۶).

رابطه (۳)

$$\text{Chlorophyll a} = \frac{(12.3 * A663 - 0.86 * A645)V}{1000W}$$

رابطه (۴) $\text{شاخص پایداری غشاء} = \frac{EC1}{EC2} * 100$

$$\text{Chlorophyll b} = \frac{(19.3 * A645 - 3.6 * A663)V}{1000W}$$

رابطه (۵)

Chlorophyll Total= Chlorophyll a+ Chlorophyll b

رابطه (۶)

Carotenoids = 100×(A470) - 3.27×(mg chl.a) – 104×(mg chl.b)/227

V= حجم محلول صاف‌شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، A جذب نور در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر، W وزن‌تر نمونه برحسب گرم.

[1] ISTA
[2] Ellis and Roberts
[3] Arnon

برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین در لپه‌ها، جذب عصاره نمونه در طول‌موج‌های ۵۳۷، ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر اسپکتروفوتومتر خوانده شد و طبق رابطه ۷ محاسبه گردید (سیمز و گامون[4]، ۲۰۰۲).

رابطه (۷)

Anthocyanin =0.08173 A537-0.00697 A647 - 0.002228 A663

AX میزان جذب عصاره در داخل کوت در طول‌موج X می‌باشد. واحد آنتوسیانین برحسب میکرو مول بر میلی‌لیتر است.

سنجش کل کربوهیدرات‌ها با استفاده از روش فوکس و روبیت[5] (۱۹۹۱) انجام شد.

برای اندازه‌گیری نشاسته از روش مک‌کریدی[6] و همکاران (۱۹۵۰) استفاده شد.

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین از روش بیتس[7] و همکاران (۱۹۷۳) و براساس رابطه ۸ استفاده شد.

رابطه (۸) $FP = \frac{R*T*W}{115/5} * 1000$

FP محتوای پرولین، R عدد قرائت‌شده از دستگاه اسپکتروفوتومتر، T میزان تولوئن مصرف‌شده، W وزن نمونه برگی مورداستفاده (۰/۵ گرم)

برای تعیین مقدار کل پروتئین[8] از روش برادفورد (برادفورد[9]، ۱۹۷۶) و قرائت دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر استفاده شد.

برای اندازه‌گیری میزان پایداری غشاء برگ از رابطه ۹ استفاده شد (عزیزپور[10] و همکاران، ۲۰۱۰).

رابطه (۹)

در رابطه فوق EC1 و EC2 به ترتیب نشان‌دهنده میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها در دمای ۴۰ و ۱۰۰ درجه سلسیوس می‌باشد.

اندازه‌گیری عناصر سدیم و پتاسیم به روش هامادا و النای[1]، ۱۹۹۴) با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر انجام

[4] Sims and Gamon
[5] Fox and Robyt
[6] McCready
[7] Bates
[8] TSP
[9] Bradford
[10] Azizpour

شد. درنهایت تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل این دو عامل بر درصد جوانه‌زنی و میانگین مدت زمان جوانه‌زنی معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش سطح شوری از درصد جوانه‌زنی کاسته شد. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۹۳/۳۳ درصد) در تیمارهای قارچ، تلفیق هر دو کود زیستی و تلفیق قارچ با هردو کود زیستی در سطح شوری صفر حاصل گردید و نسبت به شاهد در همین سطح شوری ۸/۸۹ درصد افزایش یافت. کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار کود زیستی ازتوباکتر در بالاترین سطح شوری حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد در همین سطح شوری ۱۱/۱۱ درصد کاهش نشان داد. در بین تیمارهای پیش تیمار زیستی، بیشترین تأثیر مثبت را تیمار کود زیستی فسفاته بارور روی درصد جوانه‌زنی در همه سطوح شوری داشت به‌گونه‌ای که در این تیمار مقدار درصد جوانه‌زنی در همه سطوح شوری در یک سطح قرار داشتند (جدول ۲).

با افزایش سطح شوری بر مقدار میانگین مدت زمان جوانه‌زنی افزوده شد اما اثر تیمار قارچ بر این صفت با افزایش سطح شوری به‌صورت کاهشی بود. بیشترین میانگین این صفت در تیمار تلفیق کودهای زیستی در بالاترین سطح شوری (۸/۰۹ روز) به‌دست آمد و کمترین میزان نیز در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی فسفاته در سطح صفر شوری حاصل گردید (جدول ۲).

شوری به‌وسیله کاهش پتانسیل آب و تأثیر یون‌های جذب‌شده روی آنزیم‌ها و هورمون‌های فعال داخل بذر باعث کاهش جوانه‌زنی می‌شود (موجیب[2] و همکاران، ۲۰۰۸). باکتری‌های محرک رشد با تولید ایندول استیک در محیط رشد، درصد جوانه‌زنی را افزایش می‌دهند (اشرف‌الزمان[3] و همکاران، ۲۰۰۹). یون‌های موجود در آب آبیاری در مرحله جوانه‌زنی می‌توانند به‌صورت تحریک‌کننده، بازدارنده و یا خنثی‌کننده جوانه‌زنی عمل کنند (موجیب و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه‌ای روی گوجه‌فرنگی محققان افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گیاه را در اثر تلقیح با قارچ تریکودرما تحت تنش شوری گزارش نمودند (مستوری[4] و همکاران، ۲۰۱۰). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاهی و قارچ میکوریز باعث افزایش جوانه‌زنی در غلات و سایر گیاهان گردیده است (زهیر[5] و همکاران، ۲۰۰۴). کمتر بودن مقدار میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، یعنی این‌که بذرها در مدت زمان کمتری جوانه‌زده‌اند. در شرایط تنش جذب آب توسط بذر دچار اختلال شده و یا جذب به‌کندی صورت می‌گیرد. در چنین حالتی فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به‌آرامی انجام می‌شود و درنتیجه مدت زمان لازم برای جوانه‌زنی افزایش می‌یابد (دی و کار[6]، ۱۹۹۵). گزارش شده است که استفاده از کودهای زیستی آزوسپریلیوم، باکتری‌های حل‌کننده فسفات، ازتوباکتر و ترکیب آن‌ها در گیاهان دارویی پنیرباد[7] و ریحان[8] باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی مانند درصد و میانگین مدت زمان جوانه‌زنی شد (کریشنا[9] و همکاران، ۲۰۰۸).

رنگیزه‌های گیاهی

نتایج حاصل نشان داد، اثر متقابل پیش‌تیمار زیستی و شوری بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

طبق نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها در همه تیمارها با افزایش سطح شوری مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل کاهش یافت. بیشترین (۱/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) و کمترین (۰/۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) مقدار کلروفیل a به ترتیب در تیمارهای تلفیق قارچ با هر دو کود زیستی در سطح صفر شوری و

[1] Hamada and Elenay
[2] Mujeeb
[3] Ashrafuzzaman
[4] Mastouri
[5] Zahir
[6] De and Kar
[7] *Withania somniferum*
[8] *Ocimum sanctum*
[9] Krishna

تلفیق قارچ با کود زیستی فسفاته در بالاترین سطح شوری (۱۲۰ میلی‌مولار) حاصل گردید (جدول ۲).

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر پیش تیمار زیستی و شوری بر کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد ازنظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) نشان داد در بین همه تیمارهای پیش تیمار زیستی، بیشترین مقدار کلروفیل b متعلق به تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی ازتوباکتر بود. در تیمارهای شوری هم بیشترین مقدار کلروفیل b (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) در سطح صفر شوری (شاهد) حاصل شد که با سطح ۴۰ میلی‌مولار شوری تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار این صفت (۰/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) نیز در بالاترین سطح شوری به دست آمد (جدول ۵).

اثر متقابل پیش تیمار زیستی در شوری برکلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). کلروفیل کل با افزایش سطح شوری کاهش یافت. میانگین‌های مربوط به کلروفیل کل در سطوح مختلف شوری در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی ازتوباکتر نسبت به سایر تیمارها بیشترین مقدار را دارا بودند که می‌توان بیان کرد که این پیش تیمار زیستی در تعدیل اثر شوری بر کلروفیل کل نسبت به سایر تیمارها بهتر عمل نموده است (جدول ۲).

بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ، احتمالاً به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت بالای جذب فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان تلقیح شده باشد. (زارع[1] و همکاران، ۲۰۱۲). فسفر به‌عنوان حامل انرژی در طی فتوسنتز عمل می‌کند. پاریدا و داس[2] (۲۰۰۲) بیان کردند که محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاهان، تحت تنش شوری کاهش می‌یابند. به‌طورکلی وقتی‌که گیاه تحت تنش شوری قرار می‌گیرد میزان کلروفیل و کل کارتنوئیدهای موجود در برگ‌ها کاهش می‌یابد (آگاستین[3] و همکاران، ۲۰۰۰) اما اما واکنش گیاهان می‌تواند متفاوت باشد به‌طوری‌که محققان گزارش کردند که در گیاه تاج‌خروس تحت تنش شوری میزان کلروفیل برگ افزایش می‌یابد (ونگ و نیل[4]، ۲۰۰۰). محققان با مطالعه روی گوجه‌فرنگی بیان کردند با اعمال تنش شوری میزان کلروفیل کل و کلروفیل a کاهش می‌یابد (خاوری‌نژاد و مستوفی[5]، ۱۹۹۸). یکی از اثرات منفی شوری روی گیاه این است که باعث کاهش فعالیت فتوسنتزی در گیاه می‌شود و آن نیز موجب کاهش مقدار کلروفیل و کاهش جذب دی‌اکسیدکربن و ظرفیت فتوسنتزی می‌گردد. چام و کیردمانی[6] (۲۰۰۹) گزارش کردند که شوری در گیاه ذرت غلظت کل کلروفیل را کاهش داد. مطالعه شیرودی و گالشی[7] (۲۰۱۲) بر روی گیاه سیاه‌دانه نشان داد که شوری مقدار کلروفیل a و b را کاهش می‌دهد. مطالعه آن‌ها نشان داد که شوری اثرات منفی‌تری بر کلروفیل b نسبت به کلروفیل a دارد. تنش شوری باعث افزایش سدیم و کاهش پتاسیم می‌گردد. پتاسیم با فعال‌سازی آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل و هم‌چنین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در حفاظت از تخریب کلروفیل نقش مؤثری دارد (کاکمک[8]، ۱۹۹۴). اولین آنزیم بیوسنتز کلروفیل، گلوتامات لیگاز می‌باشد که نمک از فعالیت آن ممانعت به عمل می‌آورد؛ بنابراین در شرایط شور تولید کلروفیل به دلیل کاهش فعالیت آنزیم گلوتامات لیگاز کاهش می‌یابد (مهرین‌فر[9] و همکاران، ۲۰۱۴). تنش باعث ایجاد اختلالات متابولیکی در گیاه از طریق کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو، فسفوریلاسیون نوری، تغییر نسبت کلروفیل‌ها به همدیگر شده و درنهایت سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد (خادم‌پیر[10] و همکاران، ۲۰۱۵). مطالعات هان و لی[11] (۲۰۰۵) نشان داد که شوری در گیاه کاهو موجب کاهش فتوسنتز، عملکرد روزنه‌ها و میزان کلروفیل نسبت به شاهد شد اما تلقیح با *Rhizobium legominosarum* به‌عنوان محرک رشد گیاه، فتوسنتز را افزایش داد. افزایش مقدار کلروفیل می‌تواند یکی از سازوکارهای افزایش مقاومت

[1] Zarea
[2] Parida and Das
[3] Agastian
[4] Wang and Nil
[5] Khavarinejad and Mostofi
[6] Cha-Um and Kirdmanee
[7] Shiroodi and Galeshi
[8] Cakmak
[9] Mehrinfar
[10] Khadempir
[11] Han and Lee

جدول ۱. خلاصه تجزیه واریانس اثر پیش تیمار زیستی و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فیزیولوژیکی گیاهچه کدوی تخم کاغذی

Table 1. Summary of analysis of variance for effect of bio priming and salinity on germination and physiological indices of pumpkin seedling

منابع تغییرات Sources of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares													
		درصد جوانه‌زنی PG	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (روز) MGT	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total Chl	کاروتنوئید Carotenoid	آنتوسیانین Anthocyanins	پرولین Proline	سدیم Sodium	پتاسیم Potassium	نشاسته Starch	هیدرات‌های کربن محلول Soluble carbohydrates	هدایت الکتریکی برگ Leaf Electrical conductivity	پروتئین محلول Soluble protein
پیش‌تیمار زیستی Bio-priming	7	126.99*	4.03**	73.82**	48.83**	212.43**	7.22**	0.69**	2.68**	2.15**	0.85**	4.91**	756696**	72.16**	3/64**
شوری Salinity	3	865.48**	3.98**	263.76**	71.25**	601.53**	26.87**	1.08**	1.20*	14.16**	4.70**	6.77**	1121531.30**	282.17**	3.80**
پیش‌تیمار زیستی× شوری Bio-priming× Salinity	21	116.19**	3.54**	11.03**	3.28ns	19.69**	2.18**	0.07ns	1.63**	0.75**	0.28**	14.58**	558303.39**	127.84**	3.05**
خطا Error	64	51.38	0.81	3.53	2.57	2.80	0.0008	0.11	0.33	0.0003	0.0003	0.00003	946.13	7.96	0.33
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	8.71	11.08	13.81	13.22	12.08	8.28	11.37	8.59	0.09	0.19	0.007	1.28	6.79	5.49

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

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

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل پیش تیمار زیستی و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فیزیولوژیکی گیاهچه کدوی تخم کاغذی

Table 2. Mean comparisons of germination and physiological traits of pumpkin seedling affected by bio-priming× salinity stress

پیش تیمار زیستی Biopriming	سطوح شوری (میلی‌مولار) Salinity levels (mM)	درصد جوانه‌زنی PG	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (روز) MGT	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) Chlorophyll a ($mg.g^{-1}FW$)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) Total Chlorophyll ($mg.g^{-1}FW$)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) Carotenoid ($mg.g^{-1}FW$)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن‌تر) Proline ($\mu M.g^{-1}FW$)
شاهد (عدم تلقیح) Control	0	84.44 $^{a..e}$	3.02 ^{hi}	1.180 ^{be}	1.901 ^{cd}	0.336 ^{e}	1.85 ^{g}
	40	84.44 $^{a..e}$	5.82 $^{b..e}$	1.162 ^{bf}	1.879 ^{cde}	0.332 ^{e}	2.63 ^{dg}
	80	91.11 ^{ab}	5.91 $^{b..e}$	1.032 ^{eh}	1.627 ^{ef}	0.286 ^{f}	2.92 ^{def}
	120	71.11 ^{efg}	4.88 $^{c..g}$	0.930 ^{ei}	1.496 ^{fg}	0.263 ^{g}	4.41 ^{b}
کودزیستی ازتوباکتر B1 Azotobacter bio-fertilizer	0	86.66 $^{a..d}$	5.62 $^{b..e}$	1.350 ^{bc}	1.906 ^{cd}	0.250 ^{i}	2.62 ^{dg}
	40	84.44 $^{a..e}$	4.93 $^{c..g}$	0.917 ^{ei}	1.470 ^{fg}	0.244 ^{j}	2.58 ^{dg}
	80	91.11 ^{ab}	6 ^{bcd}	0.893 ^{ei}	1.239 ^{gj}	0.061 ^{s}	2.63 ^{dg}
	120	60 ^{g}	3.62 $^{f..i}$	0.582 ^{jo}	0.7 ^{mno}	0.015 ^{t}	2.83 ^{def}
کود زیستی فسفاته B2 بارور Phosphate bio-fertilizer	0	88.89 ^{abc}	5.53 $^{b..e}$	0.872 ^{fj}	1.289 ^{ghi}	0.176 ^{n}	2.68 ^{dg}
	40	88.89 ^{abc}	6.35 ^{bcd}	0.699 ^{im}	1.087 ^{ijk}	0.175 ^{n}	2.73 ^{dg}
	80	91.11 ^{ab}	5.49 $^{b..e}$	0.546 ^{ko}	0.892 ^{kn}	0.166 ^{o}	2.73 ^{dg}
	120	82.22 $^{a..e}$	4.66 $^{d..h}$	0.380 ^{no}	0.695 ^{mno}	0.148 ^{p}	3.19 ^{cd}
B1×B2	0	93.33 ^{a}	5.20 $^{c..f}$	0.898 ^{ei}	1.399 ^{fgh}	0.232 ^{k}	2.14 ^{efg}
	40	80 $^{a..f}$	6.15 ^{bcd}	0.559 ^{ko}	1.016 ^{jkl}	0.213 ^{l}	2.90 ^{def}
	80	75.55 $^{c..f}$	5.57 $^{b..e}$	0.449 ^{lo}	0.749 ^{lo}	0.139 ^{q}	3.50 ^{bcd}
	120	73.33 ^{def}	8.09 ^{a}	0.380 ^{no}	0.645 ^{no}	0.126 ^{r}	4.11 ^{bc}
(قارچ تریکودرما)F Trichoderma fungus	0	93.33^{a}	5.95 $^{b..e}$	0.927 ^{ei}	1.647 ^{def}	0.332 ^{e}	2.06 ^{fg}
	40	82.22 $^{a..e}$	5.33 $^{c..f}$	0.727 ^{hl}	1.3 ^{ghi}	0..60 ^{gh}	2.08 ^{fg}
	80	84.44 $^{a..e}$	4.57 $^{d..h}$	0.414 ^{mno}	0.732 ^{mno}	0.151 ^{p}	2.07 ^{fg}
	120	66.66 ^{fg}	3.26 ^{ghi}	0.354 ^{o}	0.639 ^{no}	0.013 ^{t}	3.04 ^{de}
F×B1	0	88.89 ^{abc}	4.15 $^{e..i}$	1.814 ^{a}	3.087 ^{a}	0.590 ^{a}	2.91 ^{def}
	40	82.22 $^{a..e}$	4.86 $^{c..g}$	1.445 ^{b}	2.515 ^{b}	0.516 ^{b}	2.59 ^{dg}
	80	84.44 $^{a..e}$	5.06 $^{c..f}$	1.043 ^{dg}	1.856 ^{cde}	0.256 ^{h}	2.59 ^{dg}
	120	77.77 $^{b..f}$	7.15 ^{ab}	0.778 ^{gk}	1.333 ^{ghi}	0.006 ^{u}	3.27 ^{cd}
F×B2	0	71.11 ^{efg}	2.88 ^{i}	1.344 ^{bcd}	2.313 ^{b}	0.446 ^{c}	2.69 ^{dg}
	40	80 $^{a..f}$	5.46 $^{b..e}$	1.118 ^{cf}	1.940 ^{c}	0.381 ^{d}	3.28 ^{cd}
	80	77.77 $^{b..f}$	5.35 $^{c..f}$	0.667 ^{in}	1.137 ^{hk}	0.213 ^{l}	2.86 ^{def}
	120	77.77 $^{b..f}$	4.99 $^{c..f}$	0.343 ^{o}	0.651 ^{no}	0.148 ^{p}	4.02 ^{bc}
F×B1×B2	0	93.33^{a}	5.86 $^{b..e}$	1.881 ^{a}	2.382 ^{b}	0.232 ^{k}	2.69 ^{dg}
	40	84.44 $^{a..e}$	5.89 $^{b..e}$	0.898 ^{ei}	1.311 ^{ghi}	0.206 ^{m}	3.34 ^{cd}
	80	80 $^{a..f}$	5.80 $^{b..e}$	0.635 ^{io}	0.935 ^{klm}	0.332 ^{k}	4.02 ^{bc}
	120	80 $^{a..f}$	6.53 ^{bc}	0.345 ^{o}	0.569 ^{o}	0.004 ^{u}	5.65 ^{a}

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

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

به تنش شوری باشد که می‌تواند به‌وسیله ریزجانداران اعمال شود (حاجی‌نیا[1] و همکاران، ۲۰۱۱). افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با ریزجاندارانی مانند قارچ می‌تواند مربوط به جذب بیشتر عناصر معدنی باشد (جنتسکی[2] و همکاران، ۲۰۰۰). محققان گزارش کردند که قارچ میکوریزا با افزایش جذب منیزیوم موجب افزایش سنتز کلروفیل می‌شود (گیری[3] و همکاران، ۲۰۰۲).

[1] Hajinia

[2] Jentschke

[3] Giri

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل پیش تیمار زیستی و شوری بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه کدوی تخم کاغذی

Table 3. Mean comparisons of biochemical traits of pumpkin seedling affected by bio-priming× salinity stress

پیش تیمار زیستی Biopriming	سطوح شوری (میلی‌مولار) Salinity levels (mM)	سدیم Na ($mg.g^{-1}$ DW)	پتاسیم K^+ ($mg.g^{-1}$ DW)	نشاسته (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) Starch ($mg.g^{-1}FW$)	کربوهیدرات‌های محلول (میکرو مول بر گرم وزن‌تر) Soluble carbohydrates ($\mu M.g\ FW^{-1}$)	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) Electrical conductivity ($dS.m^{-1}$)	پروتئین‌های محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) Soluble proteins ($mg.g^{-1}\ FW^{-1}$)
شاهد (عدم تلقیح) Control (Non inoculation)	0	4.29 ^{s}	3.36 ^{c}	0.47 ^{abc}	2628.16 ^{e}	37.07 ^{jm}	11.07 ^{cde}
	40	5.93 ^{j}	3.36 ^{c}	0.56 ^{a}	2289.18 ^{j}	39.73 ^{gl}	12.06 ^{b}
	80	6.18 ^{h}	2.37 ^{g}	0.55 ^{a}	2822.56 ^{b}	50.79 ^{bc}	11.27 ^{be}
	120	6.31 ^{g}	2.62 ^{f}	0.23 ^{eh}	2653.94 ^{de}	58.91 ^{a}	9.43 ^{jk}
کودزیستی B1 ازتوباکتر Azotobacter bio-fertilizer	0	4.55 ^{r}	2.86 ^{e}	0.43 ^{ad}	3055.24 ^{a}	36.31 ^{klm}	9.59 ^{ijk}
	40	4.55 ^{r}	2.37 ^{g}	0.44 ^{ad}	2222.27 ^{kl}	40.49 ^{el}	11.69 ^{bc}
	80	4.92 ^{o}	2.12 ^{h}	0.28 ^{dh}	2636.58 ^{de}	44.34 ^{dg}	8.74 ^{k}
	120	7.06 ^{g}	2.86 ^{e}	0.23 ^{eh}	2503.31 ^{gh}	47.48 ^{bcd}	10.47 ^{ei}
کود زیستی B2 فسفاته بارور Phosphate bio-fertilizer	0	4.67 ^{q}	3.36 ^{c}	0.34 ^{bf}	2510.26 ^{gh}	38.40 ^{hm}	9.23 ^{jk}
	40	6.06 ^{i}	3.36 ^{c}	0.23 ^{fgh}	2760.30 ^{c}	38 ^{m}	9.60 ^{ijk}
	80	7.32 ^{b}	2.62 ^{f}	0.44 ^{ad}	2207.76 ^{l}	41.53 ^{ek}	9.25 ^{k}
	120	7.06 ^{c}	2.62 ^{f}	0.19 f^{gh}	2378.70 ^{i}	45.34 d^{ef}	11.64 ^{ei}
B1×B2	0	4.92 ^{o}	3.36 ^{c}	0.41 ^{ae}	3073.78 ^{a}	40.42 ^{fl}	10.48 ^{ei}
	40	6.18 ^{h}	2.86 ^{e}	0.50 ^{ab}	2809.55 ^{bc}	41.66 ^{ek}	10.84 ^{cg}
	80	6.31 ^{g}	2.62 ^{f}	0.14 ^{gh}	2238.50 ^{kl}	41.55 ^{ek}	9.34 ^{jk}
	120	6.56 ^{e}	2.62 ^{f}	0.11 ^{ch}	2560.96 ^{f}	44.61 ^{ek}	10.99 ^{bcd}
قارچ تریکودرما F Trichoderma fungus	0	5.55 ^{m}	3.85 ^{b}	0.23 ^{eh}	2093.90 ^{m}	38.76 ^{hm}	9.79 ^{hij}
	40	5.68 ^{l}	2.86 ^{e}	0.21 ^{fgh}	2387.68 ^{i}	42.13 ^{dj}	10.67 ^{eh}
	80	6.18 ^{h}	2.37 ^{g}	0.54 ^{a}	2646.70 ^{de}	43.64 ^{dh}	9.42 ^{jk}
	120	5.68 ^{l}	2.62 ^{f}	0.30 ^{ch}	2512.85 ^{fgh}	45.43 ^{def}	9.69 ^{ij}
F×B1	0	5.05 ^{n}	3.85 ^{b}	0.33 ^{bg}	2686.68 ^{d}	33.55 ^{mn}	10.01 ^{gi}
	40	5.81 ^{k}	4.10 ^{a}	0.59 ^{a}	1436.68 ^{o}	25.99 ^{o}	10.08 ^{fj}
	80	5.68 ^{l}	2.37 ^{g}	0.21 ^{fgh}	1975.13 ^{n}	50.61 ^{bc}	12.05 ^{b}
	120	6.56 ^{e}	2.86 ^{e}	0.19 ^{fgh}	2533.15 ^{fg}	52.38 ^{b}	10.82 ^{cg}
F×B2	0	4.80 ^{p}	3.85 ^{b}	0.19 ^{fgh}	2516.92 ^{fg}	36.03 ^{ml}	10.82 ^{cg}
	40	3.36 ^{g}	3.36 ^{c}	0.45 ^{ad}	485.21 ^{p}	43.06 ^{di}	9.57 ^{ijk}
	80	2.86 ^{g}	2.86 ^{e}	0.15 ^{gh}	2466.22 ^{h}	37.54 ^{im}	9.63 ^{ijk}
	120	3.36 ^{b}	3.36 ^{c}	0.23 ^{eh}	2258.49 ^{jk}	45.38 ^{def}	11.74 ^{bc}
F×B1×B2	0	5.68 ^{l}	3.85 ^{b}	0.23 ^{eh}	2258.49 ^{jk}	29.16 ^{no}	11.74 ^{bc}
	40	6.44 ^{f}	3.36 ^{c}	0.59 ^{a}	2357.28 ^{i}	34.13 ^{m}	10.47 ^{ei}
	80	6.94 ^{d}	3.11 ^{d}	0.35 b^{f}	2351.78 ^{i}	42.70 ^{di}	10.71 ^{dh}
	120	7.57 ^{a}	2.62 ^{f}	0.19 ^{fgh}	2351.78 ^{i}	46.03 ^{cde}	13.09 ^{a}

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

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

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل پیش تیمار زیستی در شوری بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در مقایسه میانگین اثر متقابل بیشترین و کمترین مقدار کاروتنوئید به ترتیب در تیمارهای تلفیق قارچ با کود زیستی ازتوباکتر در شوری سطح صفر (۰/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) و تلفیق قارچ با هر دو کود زیستی در بالاترین سطح شوری (۰/۰۰۴

میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) به دست آمد (جدول ۲). کاروتنوئیدها گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرونوئید هستند که توسط تمامی اندام‌های فتوسنتزی و بسیاری از اندام‌های غیر فتوسنتزی ساخته می‌شوند (آندریو[1] و همکاران، ۲۰۰۸). تنش اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تنش شوری در بافت‌های گیاهی توسط فعالیت کاروتنوئید در هر دو سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد (پروکازکوا[2] و همکاران، ۲۰۰۱). کاروتنوئیدها از رنگیزه‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان هستند که به تنش اکسیداتیو ایجادشده در اثر تنش شوری، بسیار حساس می‌باشند (هاواوکس[3]، ۱۹۹۸). کاهش میزان کاروتنوئیدها تحت تنش شوری در گونه‌های مختلف اکالیپتوس توسط عصاره و شریعت[4] (۲۰۰۷) گزارش شد. گزارش‌های متعددی حکایت از کاهش محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها تحت تنش شوری دارد که ازجمله می‌توان به گزارش‌هایی روی سویا (شتاوی[5]، ۲۰۰۷) اشاره کرد. پاریدا و داس (۲۰۰۲) گزارش کردند محتوای کاروتنوئید گیاهان تحت تنش شوری کاهش می‌یابد. می‌توان گفت که باکتری‌های محرک رشد، آب و مواد غذایی بیشتری را به‌صورت بهینه در اختیار گیاه قرار می‌دهد که درنتیجه، میزان ساخت رنگیزه‌ها را افزایش داده و انتقال آب و مواد فتوسنتزی را در گیاه تسهیل می‌کند (ماریوس[6] و همکاران، ۲۰۰۵).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌تیمار زیستی و شوری در سطح احتمال یک درصد بر میزان آنتوسیانین معنی‌دار شد (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) در بین پیش‌تیمارهای زیستی، بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار تلفیق کودهای زیستی به دست آمد (۲/۲۲ میکرو مول بر میلی‌لیتر) که با تیمارهای شاهد، قارچ و تلفیق قارچ با کود زیستی فسفاته تفاوت معنی‌داری نداشت. تأثیر افزایش سطح شوری بر میزان آنتوسیانین به‌صورت کاهشی بود به‌طوری‌که بیشترین میزان آنتوسیانین (۲/۲۰ میکرو مول بر میلی‌لیتر) در سطح صفر شوری (شاهد) و کمترین میزان آن نیز در بالاترین سطح شوری حاصل شد (جدول ۵). آنتوسیانین و کاروتنوئیدها رنگیزه‌های گیاهی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانتی دارند و این رنگیزه‌ها با جذب رادیکال‌های فعال اکسیژن سبب محافظت کلروفیل در برابر تنش‌ها می‌گردند.

صفات بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل این دو عامل بر پرولین اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تغییرات میزان پرولین اندام هوایی (جدول ۲) بیانگر این بود که با افزایش سطح شوری بر میزان پرولین افزوده شد. بیشترین مقدار پرولین (۵/۶۵ میکرو مول بر گرم وزن‌تر) و کمترین مقدار آن (۱/۸۵ میکرو مول بر گرم وزن‌تر) به ترتیب در تیمارهای تلفیق قارچ با کودهای زیستی در بالاترین سطح شوری و تیمار قارچ در سطح شوری صفر حاصل گردید (جدول ۲).

متابولیسم پرولین یک سازوکار معمولی بیوشیمیایی است که باعث سازگاری در موجودات زنده به شرایط تنش می‌شود. گیاهان برای مقابله با تنش اسمزی و یونی ناشی از تنش شوری از فرآیندهای مختلفی استفاده می‌کنند و نسبت به تنش سازگار می‌شوند. این سازگاری بطور عمده به‌وسیله تنظیم کننده‌های اسمزی مانند پرولین، پتاسیم، قند و گلیسین بتائین اتفاق می‌افتد (ردی[7] و همکاران، ۲۰۰۴). افزایش میزان پرولین پرولین در بافت سبز گیاهان در طی بروز تنش شوری توسط برخی از محققین گزارش شده است (خان[8] و همکاران، ۲۰۰۹).

سطح بالای پرولین گیاه را قادر می‌سازد که پدیده اسمزی را وقتی‌که در پتانسیل‌های آبی پایین رشد می‌کند حفظ کند. پرولین به‌عنوان ذخیره انرژی و نیتروژن برای استفاده در خلال تنش شوری به کار می‌رود (سودهاکار[9] و همکاران، ۱۹۹۳). میرزا

[1] Andrew
[2] Prochazkova
[3] Havaux
[4] Osareh and Shariat
[5] Sheteawi
[6] Marius
[7] Reddy
[8] Khan
[9] Sudhakar

معصوم‌زاده[1] و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند تنش وارد شده به چغندرقند با استفاده از کلریدسدیم منجر به افزایش ۲۲/۹ درصد در پرولین شد. ریزجانداران (قارچ و باکتری) می‌توانند با تحریک سنتز تنظیم کننده‌های اسمزی مقاومت گیاه را در تنش بالا ببرند (راسندول و روسندال[2]، ۱۹۹۱). محققان بامطالعه بر روی برنج تحت تنش شوری مشاهده کردند تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در گیاهچه‌های برنج موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ و کاهش اثرات منفی تنش شوری بر سلامت غشاهای سلولی شد (بهاتاکارجی و موخرجی[3]، ۲۰۰۲).

در بررسی تلقیح بذور ذرت با سویه‌های باکتری *Pseudomonas fluorescence* تحت تنش شوری، محققان به این نتیجه رسیدند که همه سویه‌های باکتری نسبت به شاهد میزان پرولین گیاه را افزایش داده و در جذب انتخابی یون پتاسیم اثر گذاشته و ذرت را در تحمل تنش شوری یاری می‌کند (بانو و فاتیما[4]، ۲۰۰۹). ۲۰۰۹). افزایش مقدار پرولین توسط ریزجاندارانی مانند باکتری آزوسپریلیوم می‌تواند به دلیل نقش این باکتری در تثبیت نیتروژن باشد که با افزایش مقدار نیتروژن موجب افزایش مقدار پرولین می‌شود (کندوانکو[5] و همکاران، ۲۰۰۹).

اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و برهمکنش پیش تیمار زیستی در شوری بر محتوای نشاسته اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۳) با افزایش سطح شوری ابتدا مقدار نشاسته افزایش و سپس با افزایش بیشتر شوری کاهش یافت. نتیجه این آزمایش با نتیجه آزمایش پوراسماعیل[6] و همکاران (۲۰۰۵) که بر روی گیاه سیاه‌شور[7] تحت شوری انجام شد، مطابقت داشت. بیشترین مقدار نشاسته در تیمار عدم پرایمینگ در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار به دست آمد (۰/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) و با همین سطح شوری در تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). از معمول‌ترین واکنش‌هایی که گیاهان در برابر تنش‌های اسمزی (تنش شوری و خشکی) از خود نشان می‌دهند، پدیده تنظیم اسمزی است. تجمع قند در اندام‌های گیاه و کاهش نشاسته در آن‌ها که با تخریب مولکول‌های درشت در سلول‌های گیاهان به‌منظور گریز از انجام پلاسمولیز و برقراری تورژسانس بر اثر تنش‌های محیطی تحقق می‌یابد و درنتیجه مولکول‌های درشت‌تری نظیر نشاسته به ساکارز و سپس به گلوکز و فروکتوز شکسته می‌شوند، موجب منفی‌تر شدن پتانسیل آب در سلول‌ها و تنظیم اسمزی می‌شود. گزارش شده است که با افزایش شوری در گیاه برنج از میزان نشاسته کاسته شد (امیرجانی[8]، ۲۰۱۱).

همان‌طور که مشاهده می‌شود اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و برهمکنش پیش‌تیمار زیستی در شوری بر کربوهیدرات‌های محلول اندام هوایی نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد میزان قندهای محلول ابتدا با افزایش سطح شوری کاهش یافته و با افزایش بیشتر شوری مقدار قندهای محلول افزایش نشان داد. این نتیجه با نتیجه پژوهش پوراسماعیل و همکاران (۲۰۰۵) در مورد گیاه هالوفیت سیاه‌شور و نیز با پژوهش مهرین‌فر و همکاران (۲۰۱۴) روی گیاه چمن‌شور[9] مطابقت دارد. قندها می‌توانند به‌صورت‌های مختلفی مانند حفاظت اسمزی، تنظیم اسمزی و ذخیره کربن در تحمل تنش‌های اسمزی در گیاهان شرکت کنند. قندها موجب پایداری غشا و پروتئین‌های موجود در سلول‌ها می‌شوند (پروایز و ساتیاواتی[10]، ۲۰۰۸). در پژوهشی که توسط سیلوا[11] و همکاران (۲۰۰۳) بر روی لوبیا چشم بلبلی انجام شد، دریافتند که شوری باعث افزایش میزان قندهای محلول می‌گردد. علت تجمع قندهای محلول در طی تنش شوری این است که قندهای نامحلول مانند نشاسته تجزیه شده و قندهای محلول را ایجاد می‌کند تا پتانسیل اسمزی حفظ گردد

[1] Mirza Masoumzadeh
[2] Rosendahl and Rosendahl
[3] Bhattacharjee and Mukherjee
[4] Bano and Fatima
[5] Kandowangko
[6] Pour Esmaeil
[7] *Saueda futicosa*
[8] Amirjani
[9] *Aleuropus littoralis*
[10] Parvaiz and Satyawati
[11] Silva

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر پیش تیمار زیستی بر آنتوسیانین و کلروفیل b

Table 4. Mean comparisons of the effect of bio-priming on anthocyanins and chlorophyll b

سطوح مختلف پیش تیمار زیستی Bio-priming levels	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) Chlorophyll b ($mg.g^{-1}FW$)	آنتوسیانین (میکرو مول بر میلی‌لیتر) Anthocyanins ($\mu M.mL^{-1}$)
شاهد (عدم تلقیح) Control (Non inoculation)	0.651 [b]	1.96 [b]
کودزیستی ازتوباکتر B1 Azotobacter bio-fertilizer	0.394 [c]	1.47 [c]
کود زیستی فسفاته بارور B2 Phosphate bio-fertilizer	0.368 [c]	1.87 [b]
B1×B2	0.382 [c]	2.22 [a]
قارچ تریکودرما F Trichoderma fungus	0.476 [c]	2.15 [a]
F×B1	0.929 [a]	1.85 [b]
F×B2	0.644 [b]	2.15 [a]
F×B1×B2	0.361 [c]	1.86 [b]

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

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

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر شوری بر آنتوسیانین و کلروفیل b

Table 5. Mean comparisons of the effect of salinity on anthocyanins and chlorophyll b

سطوح مختلف شوری (میلی‌مولار) Salinity levels (mM)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه) Chlorophyll b ($mg.g^{-1}FW$)	آنتوسیانین (میکرو مول بر میلی‌لیتر) Anthocyanins ($\mu M.mL^{-1}$)
0	0.709 [a]	2.20 [a]
40	0.625 [a]	1.99 [b]
80	0.438 [b]	1.88 [bc]
120	0.331 [c]	1.69 [c]

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

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

و همچنین از آنجایی که در تنش شوری فتوسنتز کاهش می‌یابد می‌تواند عاملی برای افزایش غلظت قندهای محلول در سلول باشد. پژوهشگران همچنین افزایش قند را در گیاهان تحت تنش شوری به‌دلیل تأثیر این تنش بر کاهش قدرت انتقال آوند آبکش و یا تقلیل در مصرف اندام‌های مصرف کننده گزارش نمودند (نیمان و کلار[1]، ۱۹۷۳). در آزمایشی در ارقام مختلف گندم تحت تنش شوری، میزان قندهای محلول افزایش یافت (هامادا و خلادف[2]، ۲۰۱۰). با اعمال تنش شوری بر گیاه *Sebamia grandiflora* میزان قندهای محلول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (داناپاکیام و محمد[3]، ۲۰۱۰). رضائی[4] و همکاران (۲۰۰۴) نیز با اعمال تنش شوری بر گیاه پنبه، افزایش میزان قندهای محلول را

[1] Nieman and Clare

[2] Hamada and Khulaef

[3] Dhanapackiam and Muhammad

[4] Rezaee

گزارش کردند. تمامی نتایج بیان شده از آزمایش‌های بالا، با نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابقت دارد.

اثر شوری، پرایمینگ و پیش‌تیمار زیستی در شوری بر هدایت الکتریکی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش سطح شوری هدایت الکتریکی افزایش یافت. بیشترین مقدار هدایت الکتریکی مربوط به تیمار عدم پرایمینگ (شاهد) در بالاترین سطح شوری (۱۲۰ میلی‌مولار) (۵۸/۹۱ دسی‌زیمنس بر متر) بدست آمد. کمترین میانگین این صفت نیز در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی ازتو در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار به دست آمد (۲۵/۹۹ دسی‌زیمنس بر متر). در بین همه پیش‌تیمارهای زیستی، در تیمار تلفیق هر دو کود زیستی فاصله بین مقدار هدایت الکتریکی در بالاترین و پایین‌ترین سطح شوری نسبت به سایر تیمارها کمتر بود (جدول ۳).

هدایت الکتریکی میزان پایداری غشا را نشان می‌دهد به‌طوری‌که اگر غشا پایداری خود را از دست داده باشد میزان نشت یونی افزایش یافته و هدایت الکتریکی افزایش می‌یابد و برعکس. یکی از اثرات بارز تأثیر تنش‌های محیطی بر سلامت گیاهان، تخریب غشاهای سلولی است. تنش‌های محیطی با تأثیرگذاری بر سلامت غشاها که بطور عمده از اسیدهای چرب به همراه ترکیبات پروتئینی و کربوهیدرات‌ها تشکیل شده‌اند، فرآیندهای گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (مانز و جیمز[1]، ۲۰۰۳). محققین تخریب غشاء سلولی تحت تأثیر تنش شوری را در گیاه ذرت گزارش کردند. افزایش تجمع یون سدیم در بافت گیاه و تأثیر منفی آن بر ساختار غشاء سلولی، عامل تخریب غشاء سلولی و کاهش رشد گیاهچه ذرت بیان شده است (گانز[2] و همکاران، ۲۰۰۷). گروهی دیگر از محققان آسیب یونی ناشی از تنش شوری را از عوامل اصلی تخریب غشاء سلولی عنوان نمودند (فاروق و اعظم[3]، ۲۰۰۶). اشرف[4] و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که بعضی از باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید اگزوپلی‌ساکاریدهایی را می‌کنند که با کاتیون‌ها ازجمله سدیم پیوند برقرار کرده و این موضوع موجب کاهش سدیم و اثرات منفی ناشی از آن در سلول شده، درنتیجه اثرات منفی شوری را کاهش می‌دهد و منجر به بهبود خسارت غشاء سلولی در شرایط تنش شوری می‌شود. همزیستی موجب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ایجادشده توسط شوری و درنتیجه کاهش نشت الکترولیتی می‌شود.

طبق نتایج تجزیه واریانس اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و برهمکنش پیش تیمار زیستی در شوری بر میزان کل پروتئین محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تغییرات مربوط به پروتئین محلول به‌گونه‌ای بود که در تیمار عدم پرایمینگ (شاهد) با افزایش سطح شوری میانگین آن کاهش یافت، اما در سایر پیش تیمارهای زیستی تقریباً می‌توان بیان کرد مقادیر به دست آمده در پایین‌ترین و بالاترین سطح شوری با همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند و یا در بعضی موارد، مقدار مربوط به بالاترین سطح شوری بیشتر از پایین‌ترین سطح شوری بود. به‌طوری‌که در تیمار تلفیق قارچ با هر دو کود زیستی میانگین به دست آمده در بالاترین سطح شوری در بین همه تیمارها بیشترین مقدار بود (۰۹/ ۱۳ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) (جدول ۳). می‌توان بیان داشت تیمار تلفیق قارچ با هر دو کود زیستی در افزایش میزان کل پروتئین محلول از سایر تیمارها مؤثرتر واقع شد.

تغییر در متابولیسم پروتئین یکی دیگر از اثرات عمده‌ای است که در شرایط شور حادث می‌گردد. سطوح پروتئین سنتز شده بسته به متحمل یا حساس بودن به شوری گونه‌های گیاهی متفاوت است و مشخص شده که پروتئین‌هایی که در شرایط تنش شوری تشکیل می‌شوند، نقش مهمی را در تحمل به شوری و سازگاری گیاه به شرایط محیطی دارا هستند، هر چند که تمام سازوکارهای به کار رفته توسط گیاه برای این سازگاری مشخص نشده است. به‌طورکلی سنتز پروتئین در گیاهان رشد یافته در محیط‌های شور، به‌طور معکوس تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در گونه‌های مختلف کاهش پروتئین در گیاهان در معرض تنش شوری به کاهش سنتز پروتئین، کاهش فراهمی آمینواسیدها و غیر طبیعی شدن آنزیم‌هایی که باعث سنتز آمینواسیدها و

[1] Munns and James
[2] Gunes
[3] Farooq and Azam
[4] Ashraf

پروتئین‌ها می‌گردند، مربوط می‌شود (دوبی[1]، ۱۹۹۹). در مطالعه‌ای با بررسی اثر گونه‌ای از باسیلوس بر رشد گیاهچه پنبه تحت تنش شوری مشخص شد با افزایش تنش شوری پروتئین محلول در برگ‌ها افزایش یافته، اما حضور باسیلوس تجمع پروتئین محلول در برگ‌ها را در تنش شوری کاهش داد (وسی[2]، ۲۰۰۳).

سدیم و پتاسیم اندام هوایی

اثر شوری، پیش‌تیمار زیستی و اثر متقابل پیش تیمار زیستی در شوری بر میزان سدیم و پتاسیم اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) در همه پیش‌تیمارهای زیستی، با افزایش سطح شوری میزان سدیم رو به افزایش و میزان پتاسیم رو به کاهش بود. به‌طوری‌که در همه تیمارها بیشترین میزان سدیم در بالاترین سطح شوری و بیشترین میزان پتاسیم در شوری صفر بود. در بین همه پیش‌تیمارهای زیستی و بالاترین سطح شوری، مقدار سدیم در تیمار قارچ نسبت به سایر تیمارها کمتر بود و می‌توان نتیجه گرفت در این گیاه استفاده از قارچ نسبت به سایر تیمارها در کاهش اثر شوری با کم کردن سدیم مؤثرتر بود. همچنین در بین همه پیش‌تیمارهای زیستی و بالاترین سطح شوری، میزان پتاسیم در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی فسفاته نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود و این تیمار در کاهش اثر شوری با افزایش دادن پتاسیم مؤثر بود. در محیط‌های خیلی شور جذب یون‌های موجود در املاح با دیگر عناصر غذایی به ویژه پتاسیم رقابت می‌کند و باعث کاهش می‌شود. در چنین شرایطی با غلظت نمک بالا و کمبود پتاسیم، عملکرد کوانتومی به دلیل کارکرد بد فتوسیستم ۲ کاهش می‌یابد (بال[3] و همکاران، ۱۹۸۷). کاهش یون پتاسیم تحت تأثیر تنش شوری و اثر نامطلوب آن بر تولید ماده خشک در بسیاری از گیاهان زراعی گزارش شده است (اش[4] و همکاران، ۲۰۰۰). به‌طورکلی تحمل به شوری در گیاهان بستگی به قابلیت انتخاب برای جذب پتاسیم دارد تا سدیم و در واقع نسبت سدیم به پتاسیم[5] یک شاخص مهم برای ارزیابی تحمل به شوری در گیاهان می‌باشد. پتاسیم یکی از عناصر سیتوپلاسمی مهم می‌باشد که در تنظیم اسمزی نقش دارد و با سدیم رقابت می‌کند و در شرایط شور به‌عنوان یکی از عناصر بسیار مهم قلمداد می‌شود. افزایش سدیم در محیط رشد معمولاً باعث کاهش محتوی پتاسیم می‌گردد که بیانگر اثر آنتاگونیستی بین سدیم و پتاسیم می‌باشد (گالشی، ۲۰۱۵). نتیجه گزارش‌های بیان شده با نتیجه این آزمایش همخوانی داشت. تلقیح با باکتری‌های محرک رشد باعث جذب بیشتر پتاسیم نسبت به سدیم در گیاهان تحت تنش شوری می‌شود (ندیم[6] و همکاران، ۲۰۰۷) همچنین محرک‌های رشد جذب دیگر عناصر مهمی که محتوای آب گیاهان تحت تنش را بهبود می‌دهند را افزایش می‌دهد (ندیم و همکاران، ۲۰۰۶).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که شوری باعث کاهش رنگیزه‌های گیاهی شده و از این طریق کاهش فتوسنتز و رشد گیاه را باعث می‌شود. با افزایش شوری کلروفیل b حساسیت بیشتری نسبت به کلروفیل a نشان داد. با افزایش تنش شوری، گیاه به‌منظور تنظیم اسمزی، نشاسته را تجزیه کرده و برعکس بر میزان قندهای محلول و پرولین می‌افزاید که نتیجه این تغییرات منجر به منفی‌تر شدن پتانسیل آب در سلول شده و به جذب بهتر آب توسط گیاه در تنش کمک می‌کند. با افزایش شوری از میزان پتاسیم کاسته و بر میزان سدیم افزوده شد. استفاده از تیمارهای بیولوژیک بر میزان پتاسیم مؤثر بود و مانع از کاهش آن با افزایش شوری گردید. طبق نتایج این آزمایش میانگین‌های مربوط به کلروفیل‌های a، b و پتاسیم در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی ازتو در سطوح مختلف شوری نسبت به سایر تیمارها بیشتر بودند. استفاده از پیش‌تیمار زیستی باعث شد میانگین هدایت الکتریکی در بالاترین سطح شوری نسبت به شاهد (عدم پیش‌تیمار) در همان سطح شوری کمتر شود. تیمار قارچ در حفظ غشای سلولی تحت

[1] Dubey
[2] Vessey
[3] Ball
[4] Asch
[5] K^+/Na^+
[6] Nadeem

شوری در این گیاه مؤثرتر بوده است. در نهایت استفاده از ریزجانداران به خصوص تلفیق قارچ و باکتری برای کاهش اثرات منفی ناشی از تنش شوری بر صفات فیزیولوژیک توصیه می‌گردد.

منابع

Agastian, P., Kingsley, S. J. and Vivekanadan, M. 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulbery genotype. Photostnthetica, 38(2): 287-290. https://doi.org/10.1023/A:1007266932623

Aghighi Shahverdi, M., Heydari, M.S. and Tobeh, A. 2011. The impact of Azetobacter on germination indices of lentils. Proceeding of Conference on Sustainable Management of Natural Resources, Gorgan. [In Persian].

Amirjani, M.R. 2011. Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. International Journal of Botany, 7(1): 73-81. https://doi.org/10.3923/ijb.2011.73.81

Andrew, J.S., Moreau, H., Kuntz, M., Pagny, G., Lin, C., Tanksley, S. and McCarthy, J. 2008. An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. Journal of Plant Physiology, 165(10): 1087-1106. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.016

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

Asadi Aghbolaghi, M., Parmoon, Gh. Mosanneie, H. 2015. Evaluation of the effect of accelerated aging on germination and seedling growth process of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). Review of Seed Research, 5: 60-68.

Asch, F., Ding Kuhn, M., Dorffling, K. and Miezan, K. 2000. Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. Euphytica, 113(2): 109-118. https://doi.org/10.1023/A:1003981313160

Ashraf, M., Berg, S.H. and Mahmood, O.T. 2004. Inoculation of wheat seedling with exopolysaccharide producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. Biology and Fertility of Soils, 40(3): 157-162. https://doi.org/10.1007/s00374-004-0766-y

Ashrafuzzaman, S.M., Hossen, F. A., Razi, I.M., Anamul, H.M., Zahurul, I.M., Shahidullah, S.M., Sariah, M. 2009. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of rice growth. African Journal of Biotechnology, 8(3): 1247-1252.

Azizpour, K., Shakiba, M.R., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. and Pessarakli, M. 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of Plant Nutrition, 33(6): 859-873. https://doi.org/10.1080/01904161003654097

Bacilio, M., Rodriguez, M., Morero, M., Hernandez, J.P. and Bushan, Y. 2001. Mitigation of salt stress in wheat seedling by AGFP-taged *Azosprillium lipoferum*. Biology and Fertility of Soil, 40: 188-193. https://doi.org/10.1007/s00374-004-0757-z

Ball, M.C., Chow, W.S. and Anderson, J.M. 1987. Salinity induced potassium deficiency causes loss of functional photosystem 2 in leaves of grey mangroves. *Avicennia marina*, through depletion of the atrazine-binding polypeptide. Functional Plant Biology, 14(3): 351-361. https://doi.org/10.1071/PP9870351

Bano, A. and Fatima, M. 2009. Salt tolerance in Zea mays following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. Biology and Fertility of Soils, 45(4): 405-413. https://doi.org/10.1007/s00374-008-0344-9

Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A.K. 2002. Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. Seed Science and Technology, 30(2): 279-287.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dyebinding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Cakmak, I. 1994. Activity of ascorbate-dependent H_2O_2 scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves but not in phosphate deficient leaves. Journal of Experimental Botany, 45(9): 1259-1266. https://doi.org/10.1093/jxb/45.9.1259

Cha-Um, S. and Kirdmanee, C. 2009. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. Pakistan Journal of Botany, 41(1): 87-98.

De, R. and Kar, R.K. 1995. Seed germination and seedling growth of mung been (*Vigna radiate*) under water stress induced by PEG-6000. Seed Science and Technology, 23(4): 301-308.

Dhanapackiam, S. and Muhammad, I. 2010. Effect of salinity on chlorophyll and carbohydrate contents of *Sebania grandiflora* seedlings. Indian Journal of Science and Technology, 3(1): 64-66. https://doi.org/10.17485/ijst/2010/v3i1.20

Dubey, R.S. 1999. Protein synthesis by plants under stressful condition. In: Pessarakli, M. (ed.), Handbook of Photosynthesis, Marcel Dekker, New York, 365-397. https://doi.org/10.1201/9780824746728.ch16

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

Farooq, S. and Azam, F. 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerance wheat varieties. Journal of Plant Physiology, 163(6): 629-637. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.06.006

Fox, J.D. and Robyt, J.F. 1991. Miniaturization of three carbohydrate analyses using a microsample plate reader. Analytical Biochemistry, 195(1): 93-96. https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90300-I

Fu, C.L., SHI, H. and LI, Q.H. 2006. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. Plant Foods for Human Nutrition, 61: 73-80. https://doi.org/10.1007/s11130-006-0016-6

Galeshi, S. 2015. Effect of environmental stresses on plants. The Gorgan University of Agriculture Science and Natural Resource Press. 386p. [In Persian].

Giri, B., Kapoor, R. and Mukerji, K.G. 2002. VA Mycorrhiza technique VAM technology in establishment of plants under salinity stress condition. In: Mukerji, K.G., Manoracheir, C., Singh, I. (eds.). Techniques in Mycorrhiza Studies. Kluwer, Dordrecht: 313-327. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3209-3_17

Golpayeghani, A., Heydari, M., Gholami, H. and Sadeghi, M. 2010. Sustainable production and improving growing herbs basil (*Ocimum basilicum* L.) in the response of the inoculated bacteria growth promoting (PGPR). New Ideas Fifth National Conference on Agriculture, Islamic Azad University Branch Isfahan, College of Agriculture, 26-27.

Gunes, A., Inal, A., Alpuslan, M., Fraslan, F. and Cicek, N. 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize growth under salinity. Journal of Plant Physiology, 164(6): 728-736. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.12.009

Hajinia, S., Zare, M. J., Mohammadi Goltapeh, A. and Rejali, F. 2011. Evaluation of the effectiveness of endophytic *Piriformospora indica* fungus and *Azospirillium* sp. Bacteria in

increasing of Sardari wheat (*Triticum aestivum*) tolerance to salinity stress. Journal of Environmental stresses in Crop Science, 4(1): 21-31. [In Persian with English Summary].

Hamada, A. M. and EL-enany, A. E. 1994. Effect of NaCl salinity on growth, pigment and mineral element contents, and gas exchange of broad bean and pea plants. Biologia Plantarum, 36: 75-81. https://doi.org/10.1007/BF02921273

Hamada, A.M. and Khulaef, E.M. 2010. Effect of salinity and heat-shock on wheat seedling and content of carbohydrates, proteins and amino acids. Biologia Plantarum, 37(3): 399-404. https://doi.org/10.1007/BF02913988

Han, H.S. and Lee, K.D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 1(2): 210-215.

Havaux, M. 1998. Cartenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. Trends in Plant Science, 3(4): 147-151. https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01200-X

ISTA, 2010. International rules for seed testing. Supplement of Seed Science and Technology. 21: 1-288.

Jentschke, G., Brandes, B., Kuhn, A.J., Schoder, W.H., Becker, J.S. and Godlbdd, D.L. 2000. The mycorrhizal fungus Paxillus in volutes magnesium to Noway spruce seedlings. Evidence from stable isotope labeling. Plant and Soil, 220(4): 243-246. https://doi.org/10.1023/A:1004727331860

Joergensen, R. G. and Emmerling, C. 2007. Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 169: 295-309. https://doi.org/10.1002/jpln.200521941

Kandowangko, N., Suryatmana, G., Nurlaeny, N. and Simanungkalit, R. 2009. Proline and abscisic acid content in droughted corn plant inoculated with *Azosprillium* sp. and Arbuscular mycorrhizae fungi. Hayati Journal of Bioscinces, 16(1): 15-20. https://doi.org/10.4308/hjb.16.1.15

Khadempir, M., Galeshi, S., Soltani, A., and Ghaderifar, F. 2015. Evaluation of antioxidant activity, chlorophyll fluorescence, amount of leave chlorophyll (a,b) and carotenoid under the effect of flooding period and different nutritional regimes in Glycine max. Journal of Crop Production, 8(2): 1-30. [In Persian with English Summary].

Khan, M.U., Shirazi, M.A., Khan, S.M. and Mujtaba, E. 2009. Role of proline, K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum*). Pakistan Journal of Botany, 41(2): 633-638.

Khavarinejad, R.A. and Mostofi, Y. 1998. Effect of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. Photosynthetica, 35(1): 151-154. https://doi.org/10.1023/A:1006846504261

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

Marius, S., Octavita, A., Eugen, U. and Vlad, A. 2005. Study of a microbial inoculation on several biochemical indices in sunflower (*Helianthus annus* L.). Genetics and Molecular Biology, 12(2): 11-17.

Mastouri, F., Bjorkman, T, Harman, G.E. 2010. Seed treatment with T*richoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic and physiologic stresses in germination seeds and seedlings. Phytopathology, 100(11): 1213-1221. https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-10-0091

Mazhabi, M., Nemati, H., Rouhani, H., Tehranifar, A., Moghaddam, E.M., Kaveh, H. and Rezaee, A. 2011. The effect of *Trichoderma polianthes* qualitative and quantitative properties. Journal of Animal and Plant Sciences, 21(3): 617-621.

McCready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V., Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Analytical Chemistry, 22(9): 1156-1158. https://doi.org/10.1021/ac60045a016

Mehboob, I., Naveed, M. and Zahir, Z.A. 2009. Rhizobial association with non-legumes: mechanisms and applications. Critical Reviews in Plant Science, 28: 432-456. https://doi.org/10.1080/07352680903187753

Mehrinfar, F., Nematzadeh, G., Pirdashti, H.A. and Mobser, H. R. 2014. Effect of salinity on ion content, plant pigments, soluble sugars and starch of halophyte plant (*Aeluropus littoralis*). New Finding in Agriculture, 8(3): 251-261. [In Persian with English Summary].

Mirza Masoumzadeh, B., Imani, A.A. and Khayamaim, S. 2012. Salinity stress effect on proline and chlorophyll rate in four beet cultivars. Annals of Biological Research, 3(12): 5453-5456.

Mujeeb, U.R., Soomro, U.A., Mohammad Zadeh, U.H., Shereen, G. 2008. World Journal of Agricultural Science, 4(3):398-403.

Munns, R. and James, R.A. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil, 253(1): 201-218. https://doi.org/10.1023/A:1024553303144

Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M. and Arshad, M. 2007. Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. Canadian Journal of Microbiology, 53(10): 1141-1149. https://doi.org/10.1139/W07-081

Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M., Arshad, M. and Shahzad, S.M. 2006. Variation in growth and ion uptake of maize due to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria under salt stress. Soil and Environment, 25(3): 78-84.

Nagananda, G.S., Das, A., Bhattacharya, S. and Kalpana, T. 2010. In vitro studies on the effect of boifertilizers (Azetobacter and Rhizobium) on seed germination and development of *Trigonella foenum- graceum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. International Journal of Botany, 6(4): 394-403. https://doi.org/10.3923/ijb.2010.394.403

Osareh, M. and Shariat, A. 2007. Evaluation of resistance to salinity in germination stage and vegetative growth in four species of eucalyptus. Journal of Agriculture Science and Natural Resources, 15(6): 1-14. [In Persian with English Summary].

Parida, A.K., Das, A.B. and Das, P. 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. Journal of Plant Biology, 45(1):28-36. https://doi.org/10.1007/BF03030429

Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. Plant, Soil and Environment, 54(3): 89-99. https://doi.org/10.17221/2774-PSE

Poosapati, S., Ravulapalli, P.D., Tippirishetty, N., Vishwanathaswamy, K.D. and Chunduri, S. 2013. Selection of high temperature and salinity tolerant Trichoderma isolates with antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. Springer Plus, 3: 1-11. https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-641

Pour Esmaeil, M., Ghorbanli, M.L. and Khavarinejad, R. 2005. Effect of salinity on germination, fresh and dry weight, ion content, proline, soluble sugar and starch of S*uaeda fruticosa*. Desert, 2(1): 257-266. [In Persian with English Summary].

Prochazkova, D., Sairam, R.K., Srivastava, G.C. and Singh, D.V. 2001. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. Plant Science, 161(4): 765-771. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00462-9

Rosendahl, C.N. and Rosendahl, S. 1991. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (Glomus spp.) on the response of Cucumber (*Cucumis sativa* L.) to salt stress. Environment and Experimental Botany, 31(3): 313-318. https://doi.org/10.1016/0098-8472(91)90055-S

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M. 2004. Drought induced response of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161(11): 1189-1202. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.013

Rezaee, M.A., Khavarinejad, R. and Fahimi, H. 2004. Physiologic response of Cotton (*Gossypium hirsutum*) to different salinity of soil. Journal of Horticultural Science, 62(2): 81-89. [In Persian with English Summary].

Sandhya, V., Ali, S.K.Z., Grover, M., Reddy, G. and Venkateswarlu, B. 2010. Effect of plant growth promoting Pseudomonas spp. On compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. Plant Growth Regulation, 62(1): 21-30. https://doi.org/10.1007/s10725-010-9479-4

Sheteawi, S.A. 2007. Improving growth and yield of salt stressed soybean by exogenous application of jasmine acid and ascorbic. International Journal of Agriculture and Biology, 9(3): 473-478.

Shiroodi, A. and Galeshi, S. 2012. Evaluation effect of salinity stress on some morphologic and physiologic traits of Black cumin (*Nigella sativa*). The first national conference on the sustainable development of agriculture and the environment healthy. In: The First National Congress of Sustainable Development of Agriculture and Healthy Environment. 1-7. [In Persian with English Summary].

Silva, J.V., Lacerd, C.F., Costa, P.H.A., Filho, E.G. and Prisco, J.T. 2003. Physiological responses of NaCl stressed cowpea plants grown in nutrient solution supplemented with $CaCl_2$. Brazilian Journal of Plant Physiology, 15(2): 99-105. https://doi.org/10.1590/S1677-04202003000200005

Sims, D.A., Gamon, J.A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structure and developmental stages. Remote Sensing of Environment, 81: 337-354. https://doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00010-X

Sudhakar, P.R., Reddy, M.P. and Veeranjaneyulu, K. 1993. Effect of salt stress on the enzymes of proline synthesis and oxidant in Green gram seedling. Journal of Plant Physiology, 141(5): 621-623. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80466-9

Sudhir, P. and Murthy, S.D.S. 2004. Effect of salt stress on basic processes of photosynthesis. Photosynthetica, 42(4): 481-486. https://doi.org/10.1007/S11099-005-0001-6

Suma, N., Srimathi, P. and Roopa, V.M. 2014. Influence of biofertilizer pelleting on seed and seedling quality characteristics of *Sesamum indicum*. International Journal of Current Microbiology Applied Science, 3(6): 591-594.

Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil, 225(2): 571-586. https://doi.org/10.1023/A:1026037216893

Wang, Y. and Nil, N. 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycin betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. The Journal of Horticulture Science and Biotechnology, 75(6): 623-627. https://doi.org/10.1080/14620316.2000.11511297

Yousefi, S., Kartoolinejad, D., Bahmani, M., Naghdi, R. 2017. Effect of *Azosprillium lipofenum* and *Azotobacter chroococcum* on germination and early growth of hopbush (*Dodonaea viscosa* L.) under salinity stress. Journal of Sustainable Forestry, 2: 107-120. https://doi.org/10.1080/10549811.2016.1256220

Zahir, Z.A., Arshad, M. and Frankenberger, W.T. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 81: 97-168. https://doi.org/10.1016/S0065-2113(03)81003-9

Zarea, M.J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F. and Varma, A. 2012. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillium* strains from saline or non-saline soil on the effect of NaCl. Soil Biology and Biochemistry, 45(1): 139-149. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.11.006

Iranian Journal of Seed Research, 2021, 7(2): 33-53

Research Article

The Effect of Biological Pre-Treatments on Germination and Physiological Indices of Pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *Styriaca*) Seedling under Salt Stress

Seyyed Esmaeil Mousavi[1], Heshmat Omidi[2, *], Ayatollah Saeedizadeh[3], Mehdi Aghighi Shahverdi [3]

Extended Abstract

Introduction: Salinity is one of the most harmful factors in the arid and semi-arid regions in the world that influences crop production. Micro-organisms can play an important role in adaptation strategies of plants to stress and by producing of plant growth promotion hormones such as cytokinin, gibberellic acid, auxin, amino acids, and vitamins of B groups help to more growth of the plant and have an important role in increasing of tolerant in plants in unsuitable environments.

Material and Methods: This experiment was established as factorial in a completely randomized design with three replicates at Shahed University of Tehran. The treatments included salinity in four levels (0, 40, 80, and 120 mM NaCl) and biological pre-treatment at eight levels (control: non-inoculation), inoculation with *Trichoderma harzianum* fungus strain BI, with inoculation with azotobacter bio-fertilizer, inoculation with phosphate bio-fertilizer, inoculation with both bio-fertilizer, a combination of fungus and azotobacter bio-fertilizer, a combination of fungus and phosphate bio-fertilizer, inoculation with fungus and both bio-fertilizer). In this experiment, germination indices, photosynthetic pigments, proline, sodium, and potassium amount, starch, carbohydrate, electrical conductivity, and soluble protein were studied.

Results: The result showed that the interaction effect of biological pre-treatment and salinity was significant on all indices except chlorophyll b and anthocyanin. Treatment of phosphate bio-fertilizer had maximum positive effect on germination percent with increasing salinity. In the co-application of fungus and azotobacter bio-fertilizer treatment, the amounts of chlorophyll a, b, and total chlorophyll in different levels of salinity were more than the other treatments and were incremental with further increasing of salinity level. The highest amount of potassium (4.10 mg/g FW) obtained in the co-application of a fungus with azotobacter bio-fertilizer under 40 mM of salinity and showed 22.02 percent increase in comparison to control. With rising salinity, fungus treatments were the most effective in preventing more increasing sodium amount and azotobacter bio-fertilizer in preventing more reducing potassium. The number of soluble proteins was the highest amount (13.09 mg/g FW) in the co-application of fungus and both bio-fertilizer and showed 38% increase compared to control at the same level of salinity.

Conclusion: The uses of microorganisms reduced the negative effect of salinity and led to the increase of potassium in shoots. Also, utilization of microorganism led to lower electrical conductivity at the highest salinity level compared to control and thus, positively affected germination.

Keywords: Plant pigments, Proline, Carbohydrate, Trichoderma

***Highlights*:**

1- The effect of bio- primed bacteria and fungus on physiological traits of Pumpkin was investigated seedlings under salinity.
2- Threshold of tolerance of pumpkin seedlings to salinity was improved by increasing K content and reducing Na under bio- primed treatments.
3- Osmolite components of pumpkin seedlings increased under bio- primed treatments.

[1] Graduated Student of Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
[2] Associate Professor of Faculty of Agriculture Member, Shahed University, Tehran, Iran
[3] Assistant Professor of Faculty of Agriculture Member, Shahed University, Tehran, Iran

* Corresponding author, E-mail: omidi@shahed.ac.ir

(Received: 01.05.2019; Accepted: 07.07.2020)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1399.7.2.2.1

DOI: 10.29252/yujs.7.2.33