

ارزیابی اثر ریزجانداران بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد و فیزیولوژیک کدوی تخم کاغذی (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) تحت تنش شوری

سید اسماعیل موسوی^۱، حشمت امید^{۲*}، آیت‌اله سعیدی زاده^۳

۱. 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 گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۶)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار زیستی بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد و فیزیولوژیک گیاه کدوی تخم کاغذی تحت تنش شوری آزمایشی به صورت عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح شوری (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و هشت سطح تیمار پیش‌تیمار زیستی (عدم تلقیح، تلقیح با قارچ *Trichoderma harzianum*، تلقیح با کود زیستی از تو بارور ۱، تلقیح با کود زیستی فسفات بارور ۲، تلقیح با قارچ و کود زیستی از تو بارور ۱، تلقیح با قارچ و کود زیستی فسفات بارور ۲، تلقیح با قارچ و کود زیستی فسفات بارور ۱ و کود زیستی از تو بارور ۱ و کود زیستی فسفات بارور ۲، تلقیح با قارچ و هر دو کود زیستی) بودند. اثر متقابل پیش‌تیمار زیستی و شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و شاخص‌های رشدی و جوانه‌زنی به غیر از شاخص وزنی بذر و وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود. بیشترین درصد جوانه‌زنی در بالاترین سطح شوری، در تیمار کودزیستی از تو بارور حاصل گردید و با تیمار شاهد در همین سطح شوری تفاوت معنی‌داری داشت. سطوح پایین شوری بر شاخص‌های رشدی تأثیر مثبت داشت و باعث افزایش این شاخص‌ها گردید. وزن خشک با افزایش سطح شوری کاهش یافت و در تیمار قارچ بیشترین مقدار را دارا بود. با افزایش شوری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت‌ها افزایش یافت و استفاده از تیمارهای پیش‌تیمارهای زیستی میزان این آنزیم‌ها را نسبت به تیمار شاهد بیشتر افزایش داد که نشان از مؤثر بودن این تیمارها در تعدیل اثر شوری به وسیله افزایش آنزیم می‌باشد. استفاده از ریزجانداران با افزایش بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نسبت به شاهد سبب کاهش اثرات منفی تنش شوری شد.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدانت، باسیلوس، پیش‌تیمار زیستی، تریکودرما، سودوموناس

Evaluation of the effect of microorganisms on germination, growth and physiological indices of pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) under salinity stress

S.E. Mousavi¹, H. Omidi^{2*}, A.O. Saedizadeh³

1. Master of Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran

2. Associate Professor and Faculty of Agriculture Member, Shahed University, Tehran

3. Assistant Professor and Faculty of Agriculture Member, Shahed University, Tehran

(Received: Dec. 03, 2019 – Accepted: Apr. 14, 2020)

Abstract

To study the effect of bio-priming on germination, growth and physiological indices of pumpkin under salinity a factorial experiment in a completely randomized design was conducted in three replications. Experimental treatments were salinity at four levels (zero, 40, 80 and 120 mM) and biological pre-treated at eight levels (control, inoculation with *Trichoderma harzianum* fungi, Azoto bio-fertilizer, phosphate bio-fertilizer, both bio-fertilizer, combination of fungi and azoto bio-fertilizer, combination of fungi and phosphate bio-fertilizer, fungi and both bio-fertilizer). The highest germination percentage at the highest salinity level were obtained in Azotobacter biofertilizer treatment and shows significantly difference with control treatment at the same salinity level. Low levels of salinity had positive effect on growth indices and caused an increase that these indices. The maximum seedling length in different levels of salinity obtained in the combination of both biofertilizer treatment. Maximum amount of vigor weighted index obtained in fungi treatment and increasing of salinity level caused that reduced this trait. With increasing salinity level reduced dry weight of seedling and was the maximum amount in fungi treatment. The use of microorganisms caused reduced the negative effect of salinity. With salinity increasing increased the number of antioxidant enzymes and the use of bioprimer treatments more increased the amount of these enzymes in comparison to control which shows these treatments were effective in the reduction of salinity effect by means of increasing the enzymes. Using of microorganisms with more increasing antioxidant enzymes compared to control caused the reduction of the negative effect of salinity stress.

Key words: Antioxidants, *Bacillus*, Bio-priming, *Trichoderma*, *Pseudomonas*

* Email: omidi@shahed.ac.ir

مقدمه

واکنش‌های تطبیقی سلول‌ها بازی می‌کند. گزارش شده است در گوجه‌فرنگی در شرایط شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز افزایش می‌یابد. گیاهان در مراحل مختلف چرخه‌ی زندگی خود مقاومت متفاوتی را نشان می‌دهند و معمولاً در اغلب آنها مرحله‌ی ابتدایی رشد به عنوان حساس‌ترین مرحله‌ی رشدی تلقی می‌شود (Eslami et al., 2009). از آنجایی که شوری یک محدود کننده‌ی مهمی برای تولیدات گیاهی در جهان می‌باشد، محققان در حال تلاش برای پیدا کردن گیاهان مقاوم به شوری برای پاسخگویی به نیاز بشر هستند. یکی از موثرترین روش برای غلبه مشکلات شوری، ایجاد تحمل به شوری در گیاه است. بسیاری از یافته‌ها نشان می‌دهند که محصولات گیاهی در طول گیاهچه‌ای و مراحل اولیه رشد رویشی در مقایسه با جوانه‌زنی معمولاً نسبت به شوری حساس‌تر هستند (Rana et al., 2013). کدوی تخم کاغذی از اهمیت فراوانی در صنایع دارویی برخوردار است و در طب سنتی بسیاری از کشورها از جمله چین، یوگسلاوی، آرژانتین، هند، مکزیک، برزیل و آمریکا مورد استفاده قرار می‌گیرد. از دانه‌های این گیاه در گذشته به طور سنتی به منظور دفع کرم روده استفاده می‌شده است (Fu et al., 2006). مهمترین اسید چرب موجود در روغن این گیاه لینولئیک اسید (۴۵ تا ۵۰ درصد) است. از مواد مؤثره این گیاه، داروهایی مانند پیون، پیوسترین و گرونفینگ برای معالجه تورم پروستات و سوزش مجاری اداری ساخته می‌شود (Aroiee and Omidbaigi, 2004).

در سال‌های اخیر تلاش‌های گسترده‌ای به منظور یافتن راهکار مناسب برای بهبود کیفیت خاک، محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها آغاز شده است. امروزه برای حفظ کیفیت خاک به خصوص خاک‌های فقیر از عناصر غذایی، نیاز به استفاده از انواع کودهای زیستی بیشتر احساس می‌شود. کودهای زیستی، منحصرأ به مواد آلی

شوری یکی از مهمترین عامل‌های زیست محیطی است که باعث کاهش رشد گیاه، توسعه و تولید در سراسر گیاه می‌شود. تنش شوری واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه را تغییر می‌دهد (Siringam et al., 2001). شوری هنگامی که نمک‌ها در منطقه ریشه تجمع می‌یابند، به طور منفی رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. سطوح بالای شوری، جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه را با سازوکارهای کاهش آب (تنش اسمزی)، سمیت یونی، عدم تعادل یونی و یا ترکیبی از این عوامل محدود می‌سازد (Lauchli and Grattan, 2007). عدم تعادل یونی و تنش اسمزی منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود که این‌ها نیز باعث تخریب DNA، لیپیدها و پروتئین‌ها می‌شود (Yasar et al., 2006). همزمان گونه‌های اکسیژن فعال باعث تجزیه کلروفیل و پراکسیداسیون چربی غشا، کاهش سیالیت غشا و خاصیت انتخابی آن می‌شود (Zhu et al., 2004). گیاهان دارای سیستم‌های مؤثری برای از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال هستند که آنها را از واکنش‌های مخرب اکسیداتیو محافظت می‌کند. در قسمتی از این سیستم، یک سری از آنزیم‌های ضد اکسیداتیو، عناصر کلیدی برای سازوکار دفاعی می‌باشند. از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون پراکسیداز اشاره کرد (Baby and Jini, 2011). برای مثال سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال‌های اکسیژن را به هیدروژن پراکسید متابولیزه می‌کند، بنابراین سلول‌ها را از تخریب محافظت می‌کند. به طور کلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو بیشترین اهمیت را در سمیت‌زدایی اکسیژن فعال دارند. آنزیم کاتالاز از سلول‌ها در برابر پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند. کاتالاز برای برخی انواع سلول‌ها تحت شرایط طبیعی الزامی بوده و نقش مهمی در کسب مقاومت در برابر تنش اکسایشی در

شاخص‌های رشدی و فعالیت بیوشیمیایی گیاهچه‌های کدوی تخم کاغذی در شرایط تنش شوری است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر تیمارهای زیستی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت تنش شوری آزمایشی به صورت عاملیل در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه بیماری گیاهی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه شاهد در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح شوری صفر به عنوان شاهد، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و هشت سطح تیمار پیش تیمار زیستی شامل عدم تلقیح به عنوان شاهد، تلقیح با قارچ *Trichoderma harzianum*، تلقیح با کود زیستی از توبرورور ۱، تلقیح با کود زیستی فسفات بارور ۲، تلقیح با قارچ و کود زیستی از توبرورور ۱، تلقیح با کود زیستی فسفات بارور ۲، تلقیح با کود زیستی از توبرورور ۱ و کود زیستی فسفات بارور ۲، تلقیح با تلفیقی از قارچ و کود زیستی از توبرورور ۱ و کود زیستی فسفات بارور ۲ بودند. انتخاب غلظت‌های شوری (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بر اساس بررسی منابع انتخاب گردیدند (Sorkhi Lalelou et al., 2013). برای تهیه مایه قارچ *T.harzianum*، قطعه‌ای از کلنی قارچ مورد نظر (موجود در کلکسیون آزمایشگاه بیماری شناسی دانشگاه شاهد) در پتری دیش‌های حاوی محیط کشت PDA تکثیر شد. تحت شرایط استریل به هر پتری حاوی پرگنه ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه گردید. توسط یک میله‌ی شیشه‌ای سرکج سترون و حرکت آرام آن رو سطح پرگنه، اسپورها از پرگنه جدا شده و سوسپانسیونی از آن شکل گرفت. برای تعیین غلظت سوسپانسیون مورد استفاده از قارچ، سوسپانسیون اصلی به دست آمده از پرگنه قارچ در چند نوبت رقیق سازی گردید. در انتها یک میلی‌لیتر از رقیق‌ترین سوسپانسیون در محیط PDA کشت شد و پس از طی دوره انکوباسیون (دمای ۲۵ درجه سلسیوس به

حاصل از کودهای دامی، بقایای گیاهی، کود سبز و غیره گفته نمی‌شود، بلکه ریز جانداران باکتریایی، قارچی مفید و مواد بدست آمده از فعالیت آنها را نیز شامل می‌شود (Manaffee and Klopper, 1994). در بین ریزجانداران موجود در ریزوسفر، باکتری‌ها مهمترین و بیشترین بخش را تشکیل می‌دهند (Kaymak, 2010). جنس‌های مختلفی از باکتری‌ها مانند باسیلوس، سودوموناس، آزوسپریلیوم و آزوتوباکتر، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند و به عنوان باکتری‌های محرک رشد نامیده می‌شود (Glick et al., 2007). افزایش رشد و توسعه گیاه با استفاده از این جمعیت‌های میکروبی مشهود است (Bhattacharyya and Jha, 2012). مکانیسم‌های این باکتری‌ها شامل تثبیت نیتروژن، حل فسفر، تولید سیدروفورها، تنظیم کننده‌های گیاهی و اسیدهای آلی و همچنین حفاظت از گیاه از طریق آنزیم‌هایی مانند ACC-دی آمیناز، کیتیناز و گلوکاناز می‌باشد (Hayat et al., 2010). گزارش‌های اخیر نشان داده‌اند که قارچ، تحمل به تنش‌های غیرزنده را در گیاه در حال رشد افزایش می‌دهد (Bae et al., 2009). یکی از این قارچ‌ها، جنس *Trichoderma* می‌باشد. گونه‌های این قارچ آزادی هستند که عموماً به صورت ساپروفیت روی بقایای موجود در خاک به سر می‌برند. جدایه‌های تریکودرما به وسیله‌ی مکانیسم‌های مختلف مانند مایکوپارازیتسم، آنتی‌بیوز، رقابت بر سر غذا و فضا، تحریک مکانیسم‌های مقاومت گیاه، تحریک رشد و توسعه گیاه، تغییر شرایط محیطی خصوصاً ریزوسفر و افزایش حلالیت عناصر معدنی جهت جذب آنها توسط گیاه، فعالیت بیوکنترلی خود را اعمال می‌کنند (Benitez et al., 2004). جدایه‌های این قارچ، عامل‌های رشدی مانند اکسین، سیتوکینین، اتیلن و مولکول‌های شبه سیتوکینین مانند زآتین و جبرلین یا وابسته به جبرلین را تولید می‌کنند که باعث افزایش رشد ریشه و توسعه گیاه می‌شوند (Osiewacx, 2002). هدف از این آزمایش بررسی اثر تلقیح باکتری‌های محرک رشد و قارچ بر

$$PG=(G/N)\times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

در این رابطه PG درصد جوانه‌زنی، G تعداد بذر جوانه‌زده، N تعداد کل بذر کشت شده می‌باشد. محاسبه میانگین مدت زمان جوانه‌زنی از رابطه ۲ محاسبه گردید (Ellis and Roberts, 1981).

$$MGT=\sum (ni \times di) / \sum ni \quad (\text{رابطه ۲})$$

MGT میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، ni تعداد بذرها جوانه‌زده در هر شمارش، di تعداد روز تا شمارش. ضریب جوانه‌زنی براساس رابطه ۳ محاسبه شد (Scott et al., 1984)

$$GC=\frac{1}{MGT} \times 100 \quad (\text{رابطه ۳})$$

GC ضریب جوانه‌زنی، MGT میانگین مدت زمان جوانه‌زنی محاسبه واریانس جوانه‌زنی طبق رابطه ۴ محاسبه شد (Hoogenboom and Peterson, 1987).

$$V = \delta = \frac{\sum (di-d)ni}{\sum N} \quad (\text{رابطه ۴})$$

V واریانس جوانه‌زنی، di تعداد روز بعد از کاشت، N تعداد بذر جوانه‌زده و d میانگین روزهای جوانه‌زنی برای محاسبه همگنی جوانه‌زنی از رابطه ۵ استفاده گردید (Hoogenboom and Peterson, 1987).

$$UG = \frac{1}{V} \times 10 \quad (\text{رابطه ۵})$$

UG همگنی جوانه‌زنی، V واریانس جوانه‌زنی برای محاسبه شاخص وزنی بذر از رابطه زیر استفاده شد (ISTA, 2010).

= شاخص وزنی بینه گیاهچه

درصد جوانه‌زنی × وزن خشک گیاهچه

سنجش‌های آنزیمی

برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی آنزیم پراکسیداز از روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1995)

مدت ۳ روز) تعداد کلنی‌های شکل گرفته در پتری حاوی محیط شمارش گردید. بر اساس تعداد کلنی‌ها و رقت سوسپانسیون بکار رفته، میزان غلظت سوسپانسیون اصلی به دست آمد (1×10^8 پروپاگول در میلی‌لیتر آب مقطر). کودهای زیستی از توبرور ۱ و فسفات بارور ۲ نیز از شرکت زیست فناوری سبز با غلظت 10^8 cfu/ml تهیه و استفاده گردید. لازم به ذکر است کود زیستی از توبرور-۱ حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس از توباکتر و فسفات بارور-۲ حاوی دو نوع باکتری حل‌کننده فسفات از گونه‌های باسیلوس لنتوس و سودوموناس پوتیدا می‌باشد. بذور قبل از تیمار توسط هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت چهار دقیقه ضدعفونی شدند. پس از انجام ۱۸ ساعت و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محلول کودهای زیستی و قارچ بر حسب تیمارها قرار داده شدند. پس از اتمام زمان پیش‌تیمار زیستی، در هر پتری دیش ۱۵ عدد بذر بر روی کاغذ واتمن قرار داده شد و بر اساس تیمارهای مورد نظر آب مقطر یا شوری به داخل پتری‌ها اضافه گردید و به منظور کاهش میزان تبخیر آب و جلوگیری از آلودگی درون پتری‌ها، درب آنها بسته شد و سپس به ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس انتقال داده شدند. شمارش بذرها جوانه‌زده از روز دوم به صورت روزانه در ساعتی معین انجام گردید. به هنگام شمارش، بذرهایی جوانه‌زده تلقی می‌شدند که طول ریشه‌چه آنها از دو میلی‌متر بیشتر بود (ISTA, 2010).

در پایان آزمایش پس از شمارش تعداد بذرها جوانه‌زده، از هر پتری پنج عدد گیاهچه نرمال به صورت تصادفی انتخاب و طول گیاهچه با استفاده از خط کش مدرج و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه با استفاده از ترازوی حساس ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. شاخص‌های جوانه‌زنی بر اساس روابط ۵-۱ محاسبه گردید.

درصد جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (ISTA, 2010).

فسفات‌ها بارور روی درصد جوانه‌زنی در همه سطوح شوری داشت به گونه‌ای که در این تیمار مقدار درصد جوانه‌زنی در همه سطوح شوری در یک سطح قرار داشتند (جدول ۳). شوری به وسیله کاهش پتانسیل آب خاک و تأثیر یون‌های جذب شده روی آنزیم‌ها و هورمون‌های فعال داخل بذر باعث کاهش جوانه‌زنی می‌شود (Mujeeb *et al.*, 2008). ریزجانداران می‌توانند یک نقش مهمی را در راهکارهای سازگاری ایفا کنند و تحمل به تنش‌های غیرزنده را در گیاهان زراعی افزایش دهند (Grover *et al.*, 2010). باکتری‌های محرک رشد با تولید ایندول استیک در محیط رشد ریشه درصد جوانه‌زنی را افزایش می‌دهند (Ashrafuzzaman *et al.*, 2009). برخی باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید موادی مانند سیتوکینین و آنتی‌اکسیدانت از تجمع اسیدآبسیزیک ممانعت و موجب تخریب گونه‌های اکسیژن فعال می‌شوند. یون‌های موجود در خاک یا آب آبیاری در مرحله جوانه‌زنی می‌توانند به صورت تحریک کننده، بازدارنده و یا خنثی کننده جوانه‌زنی عمل کنند (Mujeeb *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای روی گوجه‌فرنگی محققان افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های این گیاه را در اثر تلقیح با قارچ تریکودرما تحت تنش‌های شوری و خشکی گزارش نمودند (Mastouri *et al.*, 2010). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاهی و قارچ میکوریز باعث افزایش جوانه‌زنی در غلات و سایر گیاهان گردیده است (Zahir *et al.*, 2004).

میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل این دو عامل بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی معنی‌دار شد (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳)، بیشترین میانگین این صفت در تیمار تلفیق کودهای زیستی در بالاترین سطح شوری (۸/۰۹ روز) به دست آمد و کمترین میزان نیز در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی فسفات‌ها در سطح صفر شوری حاصل گردید

استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گویاکول توسط این آنزیم انجام می‌گیرد.

برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی آنزیم آسکوربیک‌پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان غلظت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش دهیندزا و همکاران (Dhindsa *et al.*, 1981) انجام شد.

اندازه‌گیری میزان غلظت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز با استفاده از روش بیچامپ و فریدوویچ (Beauchamp and Fridovic, 1971) محاسبه شد. این اندازه‌گیری بر اساس توانایی آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز در متوقف کردن احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) توسط رادیکال‌های سوپراکسید در حضور ریبوفلاوین در نور صورت می‌گیرد. در نهایت تجزیه‌ی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه‌ی میانگین صفات مورد ارزیابی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل این دو عامل بر درصد 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 هر دو 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 از تو باکتر در بالاترین سطح شوری حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد در همین سطح شوری ۱۱/۱۱ درصد کاهش نشان داد. در بین تیمارهای پیش‌تیمار زیستی، بیشترین تأثیر مثبت را تیمار کود زیستی

(جدول ۳). کمتر بودن مقدار این صفت یعنی این که بذرها در مدت زمان کمتری جوانه زده‌اند. در شرایط تنش جذب آب توسط بذر دچار اختلال شده و یا جذب به کندی صورت می‌گیرد. در چنین حالتی فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی انجام می‌شود و در نتیجه مدت زمان لازم برای جوانه‌زنی افزایش می‌یابد

(جدول ۳). کمتر بودن مقدار این صفت یعنی این که بذرها در مدت زمان کمتری جوانه زده‌اند. در شرایط تنش جذب آب توسط بذر دچار اختلال شده و یا جذب به کندی صورت می‌گیرد. در چنین حالتی فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی انجام می‌شود و در نتیجه مدت زمان لازم برای جوانه‌زنی افزایش می‌یابد

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی بذر کدوی تخم کاغذی در سطوح مختلف پیش‌ تیمار زیستی و شوری

Table 1- Analysis of variance for germination indices of pumpkin seeds under bio-priming and salinity levels.

میانگین مربعات (Mean Squares)					
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percent	ضریب جوانه‌زنی Germination coefficient	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی Mean germination time	شاخص وزنی بینه بذر Seed Vigor Weight Index
پیش‌ تیمار زیستی Bio-priming	7	126.99*	97.28**	4.03**	9098.63**
شوری Salinity	3	865.48**	94.84*	3.98**	19608.07**
پیش‌ تیمار زیستی × شوری Salinity × Bio-priming	21	116.19**	98.80**	3.54**	3581.64ns
اشتباه آزمایشی Error	64	51.38	23.90	0.81	3082.89
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	8.71	24.01	16.98	17.73

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

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

در بالاترین سطح شوری به دست آمد (جدول ۳).

ضریب جوانه‌زنی

اثر پیش‌ تیمار زیستی، شوری و پیش‌ تیمار زیستی در شوری بر ضریب جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین، ضریب جوانه‌زنی در سطوح مختلف پیش‌ تیمار زیستی، تغییرات متفاوتی را با افزایش سطح شوری نشان داد. در تیمار تلفیق قارچ با کودهای زیستی کاهش ضریب جوانه‌زنی با افزایش سطح شوری معنی‌دار نبود و مقادیر مربوط به این صفت در همه سطوح شوری در یک سطح قرار داشتند (جدول ۳). بیشترین میانگین ضریب جوانه‌زنی (۳۷/۴۲) در تیمار شاهد در سطح صفر شوری حاصل شد و با همین سطح شوری در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی فسفات‌ها در یک سطح قرار داشت. همچنین کمترین میزان (۱۲/۳۸) نیز در تیمار تلفیق کودهای زیستی

وزن خشک گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر پیش‌ تیمار زیستی و شوری بر وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در بین تیمارهای پیش‌ تیمار زیستی بیشترین مقدار وزن خشک گیاهچه در تیمار قارچ به دست آمد (۱/۲۶ گرم) و با سایر تیمارها به غیر از تلفیق قارچ با کود زیستی فسفات‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. تأثیر شوری بر وزن خشک گیاهچه با افزایش سطح شوری به صورت کاهشی بود به طوری که بیشترین وزن خشک گیاهچه در سطح شوری صفر حاصل شد (۱/۲۹ گرم) و با سطوح شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار تفاوت

معنی دار نداشت و کمترین وزن خشک گیاهچه (۰/۶۱ گرم) نیز در بالاترین سطح شوری به دست آمد (جدول ۸). محققان با بررسی اثر تنش شوری بر روی دو گیاه آرتیشو و سرخارگل بیان کردند با افزایش شدت تنش، وزن خشک گیاهچه گیاهان مورد مطالعه کاهش یافت. برای تولید بافت‌های گیاهچه‌ای در مرحله جوانه‌زنی بذر از مواد ذخیره‌ای داخل بذر استفاده می‌شود و این مواد ذخیره‌ای حین جوانه‌زنی با استفاده از آنزیم‌های هیدرولیز کننده مانند آمیلاز، پروتاز و فسفاتاز هیدرولیز می‌شوند (Soltani *et al.*, 2006) و از آنجاییکه در شرایط تنش شوری، جذب آب با مشکل مواجه می‌شود. لذا عمل هیدرولیز مواد ذخیره‌ای، جهت تولید بافت‌های گیاهچه‌ای با مشکل مواجه شده و وزن خشک کاهش می‌یابد. مکانیسم‌های مختلفی از کاهش تنش در گیاهان توسط باکتری‌های محرک رشد در گیاهان ذکر شده است. به طوری که این باکتری‌ها با تولید ایندول استیک اسید، جیبرلین و برخی مواد دیگر، باعث افزایش طول ریشه، سطح جذب ریشه و تعداد ریشه‌های موین، افزایش نفوذ و جذب مواد غذایی و در نهایت سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش می‌شوند (Egamberdieva and Kucharova, 2009). شاهارونا و همکاران (Shaharona *et al.*, 2006) بیان کردند تلقیح ذرت با برخی از سویه‌های سودوموناس باعث افزایش معنی‌داری در طول گیاهچه، وزن ریشه و بیوماس کل در مقایسه با شاهد شد. این سویه‌ها احتمالاً از طریق کاهش میزان اتیلن در ریشه‌ها و به دنبال آن کاهش اثرات بازدارندگی آن موجب افزایش رشد گیاه شده‌اند.

شاخص وزنی بنیه بذر

طبق جدول تجزیه واریانس، اثر پیش تیمار زیستی و شوری بر شاخص وزنی بنیه بذر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در بین تیمارهای پیش تیمار زیستی بیشترین میانگین شاخص وزنی بنیه بذر در تیمار قارچ به دست آمد (۱۰۹/۱۷) و با تیمارهای دیگر به غیر از تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی فسفات‌بارور در یک سطح

قرار داشت و کمترین میانگین آن (۲۴/۸۷) نیز در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی فسفات‌بارور به دست آمد و با تیمار کود زیستی از تو باکتر تفاوت معنی‌داری نداشت و نسبت به بیشترین مقدار، ۲۲/۷۸ درصد کاهش یافت (جدول ۵). در تیمار شوری با افزایش سطوح شوری مقدار شاخص وزنی بنیه بذر کاهش یافت. به طوری که بیشترین مقدار آن در سطح شوری صفر (۱۱۵/۸۷) و کمترین مقدار آن (۴۵/۹۴) در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار حاصل گردید و نسبت به بیشترین مقدار ۳۹/۶۴ درصد کاهش نشان داد (جدول ۸). از آنجایی که شاخص وزنی بنیه بذر حاصل ضرب وزن خشک و درصد جوانه‌زنی است هر عاملی که این دو را تحت تأثیر قرار دهد شاخص وزنی بنیه بذر کاهش خواهد یافت. از دلایل کاهش درصد جوانه‌زنی در محیط شور می‌توان گفت که در شرایط شور پتانسیل اسمزی آب منفی‌تر می‌شود و جذب آب توسط بذر با مشکل مواجه می‌شود. بررسی‌های متعددی کاهش رشد ناشی از تنش شوری را گزارش کرده‌اند (Sharbatkhari *et al.*, 2013). افزایش نمک در محیط رشد باعث کاهش پتانسیل آب خاک و آن نیز منجر به کاهش پتانسیل آب گیاهچه می‌شود و این امر بر بسیاری از فرآیندهای گیاه مؤثر خواهد بود در پتانسیل‌های خیلی کم آب خاک، قدرت جذب آب توسط گیاه کم شده و حفظ آماس کاهش می‌یابد و همچنین فرآیند تقسیم و طویل شدن سلول‌ها کاهش می‌یابد. در نتیجه طویل شدن گیاه کاهش می‌یابد. در اکثر مناطق دنیا یون‌های سدیم و کلر در مناطق شور غالب هستند و بالا بودن آنها نسبت به بقیه یون‌ها و عناصر مورد نیاز باعث می‌شود در جذب سایر عناصر اختلال ایجاد شده و کمبود عناصر غذایی مشاهده شود (Grattan and Grive, 1999). نتیجه آزمایشی که روی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری انجام شد نشان داد که تلقیح با باکتری محرک رشد *باسیلیوس ساب‌تیلیس* سبب افزایش معنی‌دار تجمع عناصر غذایی در برگ شد (Markus *et al.*, 2004). همچنین در بررسی دیگر تلقیح

طول ساقه‌چه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر پیش تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل پیش تیمار زیستی در شوری بر طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). طبق نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۴) در همه پیش تیمارهای زیستی، کمترین میانگین مربوط به طول ساقه‌چه در بالاترین سطح شوری حاصل گردید. در بین همه تیمارها بیشترین میانگین مربوط به این شاخص (۷/۰۸ سانتی‌متر) در تیمار تلفیق قارچ با کود زیستی ازتوباکتر با شوری سطح صفر به دست آمد و با میانگین به دست آمده در سطح شوری بعد از خود و تا سطوح شوری ۸۰ میلی‌مولار تیمارهای شاهد و تلفیق کودهای زیستی در یک سطح قرار داشت. کمترین میانگین مربوط به این شاخص (۲/۷۵ سانتی‌متر) نیز در بالاترین سطح شوری هر دو کود زیستی حاصل گردید و با میانگین‌های به دست آمده در بالاترین سطح شوری تیمارهای شاهد، قارچ، تلفیق قارچ و کود زیستی ازتوباکتر و تلفیق قارچ و کودزیستی فسفات‌ها تفاوت معنی‌داری نشان ندادند.

باکتری‌های محرک رشد به طور معنی‌داری وزن تر و خشک را در شرایط تنش نسبت به شاهد افزایش داد (Mayak, 2004).

طول ریشه‌چه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر پیش تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل پیش تیمار زیستی در شوری بر طول ریشه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در تیمار عدم تلقیح (شاهد) و بعضی از تیمارهای پیش تیمار زیستی با افزایش سطح شوری ابتدا طول ریشه‌چه افزایش و سپس کاهش یافت و در تیمارهای دیگر نیز که با افزایش شوری شیب کاهشی نشان دادند در سطوح پایین شوری تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. می‌توان گفت در این گیاه شوری در سطوح پایین تحریک کننده رشد ریشه بوده است. در بین تیمارها مؤثرترین تیمار بر طول ریشه‌چه تیمار تلفیق کودهای زیستی بود به دلیل اینکه طول ریشه‌چه در این تیمار در شوری سطح ۸۰ با طول آن در همین تیمار در شوری صفر که بالاترین طول ریشه‌چه را داشت (۱۰/۲۵ سانتی‌متر) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی بذر کدوی تخم کاغذی در سطوح مختلف پیش تیمار زیستی و شوری

Table 2- Analysis of variance for growth indices of pumpkin under bio-priming and salinity levels.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Mean Squares)				
		طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Shoot length	نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه Root length/ Shoot length	طول گیاهچه Plant length	وزن خشک گیاهچه Dry weight
پیش تیمار زیستی Bio-priming	7	32.79**	7.29**	0.81**	64.44**	1.13**
شوری Salinity	3	132.53**	26.59**	0.91**	234.26**	1.90**
پیش تیمار زیستی × شوری Salinity × Bio-priming	21	6.44**	3.68**	0.24**	16.59**	0.37ns
اشتباه آزمایشی Error	64	0.77	0.63	0.05	2.04	0.36
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	13.67	15.52	18.30	12.32	12.21

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

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

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل پیش‌ تیمار زیستی و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر کدو تخم کاغذی

Table 3- Mean comparison of effect of bio-priming and salinity on germination indices of pumpkin seeds

پیش‌ تیمار زیستی Biopriming	سطوح شوری (میلی‌مولار) Salinity levels (mM)	درصد جوانه‌زنی Germination percent (%)	ضریب جوانه‌زنی Germination coefficient	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (day)
شاهد (عدم تلقیح) Control	0	84.44 ae	37.42 a	3.02 hi
	40	84.44 ae	17.26 de	5.82 be
	80	91.11 ab	21.45 cde	5.91 be
	120	71.11 efg	17.29 de	4.88 cg
B1 (کودزیستی از تو باکتر) Azotobacter bio-fertilizer	0	86.66 ad	27.71 bc	5.62 be
	40	84.44 ae	20.76 cde	4.93 cg
	80	91.11 ab	18.34 cde	6 bcd
	120	60 g	16.87 de	3.62 fi
B2 (کود زیستی فسفات بارور) Phosphate bio-fertilizer	0	88.89 abc	22.27 be	5.53 be
	40	88.89 abc	18.64 cde	6.35 bcd
	80	91.11 ab	19.03 cde	5.49 be
	120	82.22 ae	15.74 de	4.66 dh
B1×B2	0	93.33 a	19.48 cde	5.20 cf
	40	80 af	16.37 de	6.15 bcd
	80	75.55 cf	18.06 cde	5.57 be
	120	73.33def	12.38 e	8.09 a
F (قارچ تریکودرما) Trichoderma fungi	0	93.33 a	30.67 ab	5.95 be
	40	82.22 ae	17.37 de	5.33 cf
	80	84.44 ae	22.05 be	4.57 dh
	120	66.66 fg	19.23 cde	3.26 ghi
F×B1	0	88.89 abc	24.61 bcd	4.15 ei
	40	82.22 ae	21.04 cde	4.86 cg
	80	84.44 ae	19.83 cde	5.06 cf
	120	77.77 bf	14.01 e	7.15 ab
F×B2	0	71.11 efg	37.11 a	2.88 i
	40	80 af	20.38 cde	5.46 be
	80	77.77 bf	18.77 cde	5.35 cf
	120	77.77 bf	20.13 cde	4.99 cf
F×B1×B2	0	93.33 a	17.05 de	5.86 be
	40	84.44 ae	17.12 de	5.89 be
	80	80 af	17.54 de	5.80 be
	120	80 af	15.33 de	6.53 bc

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 not significant difference based on LSD test at 5% level probability.

طول گیاهچه

صفر به دست آمد (۱۷/۰۸ سانتی‌متر) و با سطوح ۴۰ و ۸۰ بعد از خود تفاوت معنی‌داری نداشت و می‌توان بیان کرد این تیمار مؤثرترین تیمار بر طول گیاهچه بوده است. کمترین طول گیاهچه (۳/۱۲ سانتی‌متر) مربوط به تیمار قارچ در بالاترین سطح شوری بود (جدول ۴). احتشام‌نیا (Ehteshamnia, 2006) با مطالعه بر روی ۱۰ گیاه دارویی گزارش کرد تنش شوری بر طول گیاهچه اثر منفی دارد. در پژوهشی روی خرفه، با افزایش غلظت نمک

اثر پیش‌ تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل پیش‌ تیمار زیستی در شوری بر طول گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش شوری ابتدا طول گیاهچه افزایش و سپس با افزایش بیشتر شوری کاهش یافت. در تیمارهایی هم که به صورت کاهش‌ی بود این کاهش در سطوح پایین شوری معنی‌دار نبود. بیشترین طول گیاهچه در تیمار تلفیق کودهای زیستی در شوری سطح

آنتی‌بیوتیک (Aneja *et al.*, 2005) دفع سموم و افزایش جذب عناصر غذایی به دلیل افزایش حلالیت عناصر، ترشح هورمون‌های رشد و تولید اتیلن (Gravel *et al.*, 2007) اشاره نمود. در آزمایشی که مکی‌زاده تغیتی و همکاران (Makizadeh Tafti *et al.*, 2012) بر روی گیاه ریحان انجام دادند مشاهده کردند که کاربرد کودهای زیستی طول گیاهچه را نسبت به شاهد افزایش داد. گزارش شده است که در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری و خشکی، در اثر تلقیح با قارچ تریکودرما جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها افزایش یافت (Mastouri *et al.*, 2010).

کلریدس‌دیم طول اندام هوایی کاهش یافت. گروهی از باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن از جمله آزوسپریلیوم و از تو باکتر که به ریزوباکتری‌های افزاینده رشد گیاه معروف هستند از طریق تشکیل کلونی با ریشه گیاهان باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند (Yadegari *et al.*, 2012). این باکتری‌ها با مکانیسم‌های مختلفی مانند تثبیت زیستی نیتروژن، تولید هورمون‌ها و تنظیم کننده‌های رشد گیاه، افزایش تحرک و قابلیت جذب عناصر غذایی برای گیاه به اثبات رسیده است (Mohammadi *et al.*, 2010). گونه‌های تریکودرما با استفاده از مکانیسم‌هایی مانند تولید

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل پیش تیمار زیستی و شوری بر شاخص‌های رشدی بذر کدو تخم کاغذی

Table 4- Mean comparison of effect of bio-priming and salinity on growth indices of pumpkin

پیش تیمار زیستی Biopriming	سطوح شوری (میلی‌مولار) Salinity levels (mM)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Root length (cm)	طول ساقه‌چه (سانتی - متر) Shoot length (cm)	نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه Root length/ Shoot length	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Plant length (cm)
شاهد (عدم تلقیح) Control	0	9.08 abc	5.54 ah	1.64 ad	14.62 ad
	40	8.66 af	6.50 ae	1.34 bh	15.16 ad
	80	9.08 abc	6.16 af	1.46 af	15.25 ad
	120	5.12 klm	3.38 ijk	1.39 ag	8.81 hi
B1 Azotobacter bio-fertilizer	0	7.77 bg	6.44 ae	1.21 dh	14.22 be
	40	8.66 af	5.12 di	1.71 bh	13.78 bf
	80	6.87 gj	4.58 gj	1.66 af	11.45 fg
B2 Phosphate bio-fertilizer	120	3.91 m	2.75 jkl	1.13 eh	7.41 i
	0	7.18 di	4.30 hij	1.67 abc	11.48 fg
	40	8.50 bg	5.75 ah	1.51 af	14.25 be
B1×B2	80	8.87 ad	6 ag	1.47 af	14.87 ad
	120	4.25 lm	2.75 kl	1.55 ae	7 ij
	0	10.25 a	6.83 abc	1.51af	17.08 a
	40	8.55 ag	6.58 ae	1.30 bh	15.13 ad
F Trichoderma fungi	80	8.58 af	6.83 abc	1.25 ch	15.41 ad
	120	5.08 klm	5.41 ch	0.93 h	10.50 gh
	0	5.50 jm	5 ej	1.11 eh	10.50 gh
	40	8.50 bg	4.75 fj	1.81 a	13.25 cg
F×B1	80	5.75 il	6.08 ag	0.94 gh	11.83 efg
	120	0.93 n	2.18 l	0.40 i	3.12 k
	0	9.41 ab	7.08 a	1.33 bh	12.70 ab
	40	7.08 ej	6.62 ad	1.09 fgh	13.70 bf
F×B2	80	7.54 ch	5.16 di	1.46 af	12.70 dg
	120	2.37 n	2.12 l	1.14eh	4.49 jk
	0	2.37 n	2.12 n	1.14 eh	4.49 jk
	40	8 bg	6.42 ijk	1.30 bh	14.42 be
F×B1×B2	80	0.9 ln	3.74 klm	0.25 i	4.66 jk
	120	0.91 n	3.74 klm	0.25 i	4.66 jk
	0	8.72 ae	7 ab	1.26 ch	15.72 abc
	40	6.95 fj	6.16 af	1.13 eh	13.12 cg
	80	6.08 hk	5.45 bh	1.23 ch	11.08 fgh
	120	5.11 klm	5 ei	0.94 gh	10.56 gh

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 not significant difference based on LSD test at 5% level probability.

جدول ۵- تأثیر پیش تیمار زیستی و شوری بر شاخص وزنی بینه بذر و وزن خشک گیاهچه

Table 5- Effect of bio-priming and salinity on seed vigor weight index and dry weight indices

سطوح مختلف پیش تیمار زیستی Priming levels	شاهد (عدم تلقیح) Control	B1 (کودزیستی ازتوباکتر) Azotobacter bio-fertilizer	B2 (کود زیستی فسفات بارور) Phosphate bio-fertilizer	B1×B2	F (قارچ تریکودرما) Trichoderma fungi	F×B1	F×B2	F×B1×B2
شاخص وزنی بینه بذر Seed Vigor Weight Index	98.52 ^a	60.86 ^{ab}	100.56 ^a	84.84 ^a	109.17 ^a	97.13 ^a	24.87 ^b	79.85 ^a
وزن خشک گیاهچه (گرم) Dry weight (gr)	1.17 ^a	0.72 ^{ab}	1.13 ^a	1.03 ^a	1.26 ^a	1.14 ^a	0.32 ^b	0.94 ^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 not significant difference based on LSD test at 5% level probability.

نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه

اثر پیش تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل پیش تیمار زیستی در شوری بر نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میانگین مربوط به این نسبت (۱/۸۱) در تیمار قارچ و شوری ۴۰ میلی‌مولار حاصل گردید و نسبت به تیمار شاهد در همین سطح شوری ۳۵ درصد افزایش نشان داد. کمترین میانگین این نسبت (۰/۲۵) نیز در سطوح شوری ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار تیمار تلفیق قارچ و کود زیستی فسفات حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد در همین سطح شوری ۸۲ درصد کاهش را نشان داد (جدول ۴). گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی مانند شوری، واکنش‌های متفاوتی را از خود نشان می‌دهند. برخی با افزایش طول ریشه و کاهش طول اندام هوایی و در نتیجه افزایش نسبت طول اندام زیرزمینی به اندام هوایی تنش را تحمل می‌کنند در حالیکه گیاهان دیگر قادر به انجام این کار نبوده و از تنش آسیب بیشتری می‌بینند. فلاحی و همکاران (Fallahi *et al.*, 2009) در بررسی خود بر روی مریم گلی گزارش کردند که با افزایش سطح شوری از صفر به ۴- بار، طول گیاهچه افزایش یافت

آنها دلیل این امر را افزایش طول ریشه‌چه در شرایط تنش نسبت دادند. زیرا در شرایط تنش اسمزی بسیاری از گیاهان بخش زمینی را گسترش داده و نسبت ساقه به ریشه را کاهش می‌دهند تا بتوانند آب مورد نیاز گیاه را تأمین کرده و تنش کمتری به اندام هوایی وارد کنند. در خصوص گیاهان مقاوم به تنش شوری، این گیاهان دارای مکانیسم‌هایی مانند جذب کمتر سدیم در ریشه، انتقال کمتر آن به بخش هوایی و تجمع آنها در برخی اندامک‌های سلولی می‌باشد (Shannon and Grieve, 1999). نتایج تحقیق استفانی و همکاران (Stephanie *et al.*, 2005) روی گیاه مریم گلی بیانگر کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با شدت تنش اسمزی بود. در آزمایشی دیگر که بر روی گیاه *Cakile maritime* انجام شد گزارش گردید که شوری باعث کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود. نتایج این آزمایش با تحقیقات انجام شده همخوانی داشت. از اینرو گیاه کدوی تخم کاغذی مقاومت بالایی به شوری از خود نشان نداده و می‌توان بیان داشت که از نظر مکانیسم ذکر شده، ضعیف می‌باشد. یکی از دلایل کاهش طول ساقه‌چه گیاه در شرایط تنش اسمزی، تجزیه آهسته‌تر مواد آندوسپرم و در نتیجه کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از

میزان آنزیم کاتالاز افزوده شد. در همه تیمارها بیشترین مقدار در بالاترین سطح شوری حاصل شد. در بین همه تیمارها بیشترین مقادیر مربوط به کاتالاز با افزایش سطح شوری مربوط به تیمار تلفیق قارچ با کودهای زیستی بود. بیشترین (۱۶/۸۹) واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) و کمترین (۷۳/۷۳) واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه (۱) مقدار کاتالاز به ترتیب در بالاترین و پایین ترین سطح شوری تیمار تلفیق قارچ با کودهای زیستی به دست آمد (جدول ۷).

سوپراکسیددیسموتاز

اثر پیش تیمار زیستی، شوری و پیش تیمار زیستی در سطوح مختلف شوری بر آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۶). با افزایش سطح شوری بر میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزوده گردید. بالاترین میانگین های به دست آمده این آنزیم در بین همه تیمارهای پیش تیمار زیستی در سطوح مختلف شوری مربوط به تیمار تلفیق کودهای زیستی بود.

بافت های ذخیره ای بذر به جنین ذکر شده است (Soltani *et al.*, 2006). باکتری های موجود در کودهای زیستی علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پر مصرف و ریز مغذی مورد نیاز گیاه با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه و همچنین ترشح اسیدهای مختلف موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی شده که این مسئله سبب آسمیلات بیشتر و انتقال آن ها به سایر اندام ها می شود (Han and Lee, 2006). طبق گزارش های موجود، قارچ تریکودرما خطرهای ناشی از تنش ها را کاهش می دهد و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش های زنده و غیر زنده می شود (Harman *et al.*, 2004).

آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر پیش تیمار زیستی، شوری و پیش تیمار زیستی در سطوح مختلف شوری بر میزان آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۶). در همه تیمارها با افزایش سطح شوری بر

جدول ۶- تجزیه واریانس شاخص های فیزیولوژیکی (آنزیم ها) کدوی تخم کاغذی در سطوح مختلف پیش تیمار زیستی و شوری

Table 6- Analysis of variance for physiological indices (Enzymes) of pumpkin seedling under bio-priming and salinity levels.

میانگین مربعات (Mean Squares)					
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربیک پراکسیداز Ascorbic peroxidase	سوپراکسیددیسموتاز Superoxid dismutase
پیش تیمار زیستی Bio-priming	7	15.84 **	1750.33**	7644.16**	3.32**
شوری Salinity	3	114.62 **	1020.84**	42451.51**	10.26**
پیش تیمار زیستی × شوری Salinity × Bio-priming	21	40.43 **	1374.53**	7765.30**	0.42**
اشتباه آزمایشی Error	64	0.33	0.29	6.76	0.003
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	9.14	4.06	4.74	4.62

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

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

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل پیش تیمار زیستی و شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیکی (آنزیم‌ها) گیاهچه کدو تخم کاغذی
Table 7- Mean comparison of effect of bio-priming and salinity on physiological indices (Enzymes) of pumpkin seedling

پیش تیمار زیستی Biopriming	سطح شوری (میلی مولار) Salinity levels (mM)	کاتالاز Catalase activity (واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) (U mg ⁻¹ protein min ⁻¹)	پراکسیداز Peroxidase activity (واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) (U mg ⁻¹ protein min ⁻¹)	آسکوربیک پراکسیداز Ascorbic peroxidase activity (واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) (U mg ⁻¹ protein min ⁻¹)	سوپراکسید دیسموتاز Super oxid dismutase activity (واحد بر دقیقه در گرم وزن تر) (Umin ⁻¹ g ⁻¹ FW)
شاهد (عدم تلقیح) Control	0	2.72 p	3.05 q	15.73 t	0.20 m
	40	4.77 m	4.12 ^f p	25.23 ps	0.20 m
	80	6.83 k	7.68 m	41.52 jk	1.40 g
	120	7.68 hij	26.79 e	175.29 a	1.40 g
B1 (کودزیستی از تو باکتر) Azotobacter bio-fertilizer	0	1.90 d	2.22 s	34.44 lmn	0.40 l
	40	3.94 no	10.26 j	40.66 jk	0.60 k
	80	7.44 ij	45.10 d	59.37 h	1 i
	120	10.63 d	89.72 a	158.87 b	2 d
B2 (کود زیستی فسفات بارور) Phosphate bio-fertilizer	0	2.34 pq	0.52 wv	11.09 u	1 i
	40	6.01 l	3.78 p	22.23 rs	1 i
	80	8.95 g	9.39 k	33.73 mn	1.80 e
	120	11.71 c	89.72 a	70.30 f	3 b
B1×B2	0	3.48 o	0.63 wv	24.30 qrs	1.20 h
	40	3.41 o	2.75 qr	42.52 j	1.50 f
	80	10.07 e	2.95 q	53.16 i	2 d
	120	14.62 b	3.03q	75.73 e	3.40 a
F (فارچ تریکودرما) Trichoderma fungi	0	3.48 o	1.10 u	32.87 no	0.40 l
	40	7.72 hij	4.88 o	34.23 mn	0.80 j
	80	7.87 hi	13.88 h	65.87 g	1 i
	120	9.44 fg	16.53 g	96.47 c	1.50 f
F×B1	0	2.32 pq	0.36 w	25.44 ps	0.80 j
	40	6 l	6.29 n	27.94 pq	1 i
	80	7.28 jk	8.72 l	40.02 jk	1.40 d
	120	9.94 ef	61.07 c	80.87 d	2.40 ^r c
F×B2	0	2.14 qr	0.87 uv	29.47 op	0.40 l
	40	4.26 mn	1.51 t	37.66 klm	0.60 k
	80	6.77 k	3.03 q	38.59 jkl	1 i
	120	8.04 h	6.13 n	60.23 h	1.40 g
F×B1×B2	0	1.73 r	1.10 u	21.73 s	0.40 l
	40	7.30 jk	2.45 rs	26.23 pqr	0.60 k
	80	9.69 ef	23.70 f	38.94 jk	0.80 j
	120	16.89 a	64.74 b	39.73 jk	0.80 j

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 not significant difference based on LSD test at 5% level probability.

دقیقه در گرم وزن تر) حاصل گردید (جدول ۷). تنش شوری سبب تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن در درون سلول شده، این امر مانع فعالیت چرخه کلونین و در نهایت فرآیند قند سازی در گیاهان می‌شود.

بیشترین و کمترین میانگین این آنزیم نیز به ترتیب در تیمارهای تلفیق کودهای زیستی در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار (۳/۴۰) واحد بر دقیقه در گرم وزن تر) و تیمار شاهد در سطوح صفر و ۴۰ میلی‌مولار (۰/۲۰) واحد بر

لذا بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همانند کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز از اثرات سوء تشکیل پراکسید هیدروژن بر فرآیند قند سازی در کلروپلاست جلوگیری می‌کنند (Shen *et al.*, 1997).

جدول ۸- تأثیر شوری بر شاخص وزنی بینه بذر و وزن خشک گیاهچه

Table 8- Effect of salinity on seed vigor weight index and dry weight indices

سطوح مختلف شوری (میلی مولار) Salinity levels (mM)	0	40	80	120
شاخص وزنی بینه بذر Seed Vigor Weight Index	115.87 a	82.15 b	83.94 ab	45.94 c
وزن خشک گیاهچه (گرم) Dry weight (gr)	1.29 a	0.97 a	0.98 a	0.61 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 not significant difference based on LSD test at 5% level probability.

اسکوریک پراکسیداز

اثر پیش تیمار زیستی، شوری و اثر متقابل این دو عامل بر آنزیم اسکوریک پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). با افزایش سطح شوری میزان آنزیم اسکوریک پراکسیداز افزایش یافت به طوری که در همه تیمارها بیشترین میزان این آنزیم در بالاترین سطح شوری به دست آمد. به طور کلی میانگین‌های به دست آمده این آنزیم در سطوح مختلف شوری تیمار کود زیستی از تو با کتر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود و می‌توان بیان کرد این تیمار با افزایش بیشتر اسکوریک پراکسیداز در تعدیل اثر شوری مؤثرتر واقع شد (جدول ۷).

سوپر اکسید دیسموتاز از مؤثرترین آنتی‌اکسیدان‌های درون سلولی می‌باشد که می‌تواند بسیاری از گیاهان را در مقابل حمله رادیکال‌های آزاد اکسیژن نگه دارد و بسیاری از پژوهشگران از آن به عنوان قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان یاد می‌کنند. اسکوریک پراکسیداز نیز یکی از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌ها است که با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش مهمی در محافظت از گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارد. این آنزیم توانایی زیادی در حذف پراکسید هیدروژن و تبدیل آن به دو مولکول آب با کمک اسکوریک پراکسیداز دارد. پژوهشگران اسکوریک پراکسیداز را مؤثرتر از کاتالاز و پراکسیداز

در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌دانند. سطح بالاتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به عنوان یکی از مکانیسم‌های تحمل شوری در بیشتر گیاهان در نظر گرفته شده است (Ashraf, 2009). تحقیقات نشان داده است که در ارقام مقاوم به شوری معمولاً فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نسبت به ارقام حساس بالا بوده است. این موضوع گونه‌های زیادی از گیاهان مانند گوجه‌فرنگی (Mittova *et al.*, 2004)، رازیانه آبی (Amor *et al.*, 2006)، یونجه (Mhadhbi *et al.*, 2011) و آزولا (Massood *et al.*, 2006) به اثبات رسیده است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از غشاهای در مقابل اثرات مخرب رادیکال‌های فعال اکسیژن که در برابر تنش غیر زنده تولید می‌شود محافظت می‌کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی هم چون شوری می‌شوند (Mohammadkhani, 2007). اوامی (Omami, 2005) ضمن بررسی اثرات تنش شوری بر گیاه آمارانتوس به بررسی برانگیختگی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت توسط تنش شوری پرداخته است. بر اساس اظهارات ایشان گزارش شده که تمام تنش‌های محیطی یا انسان ساخت منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که باعث صدمات اکسیداتیو می‌گردند. تنش‌های اسمزی و یونی ایجاد شده در اثر نمک‌ها باعث گسترش تنش‌های اکسیداتیو شده و گیاهان با افزایش ترکیبات ساختمانی و

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که شوری در این گیاه تأثیر منفی بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشت اما استفاده از تیمارهای پیش‌تیمار زیستی موجب تعدیل اثر منفی شوری گردید. از آنجایی که تنش شوری با کاهش آب و در نتیجه ایجاد تنش اسمزی بر فعالیت‌های گیاه تأثیر گذاشته و باعث تنش اکسیداتیو می‌شود. گیاه برای مقابله با این تنش، از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت استفاده می‌کند. در این گیاه نیز با افزایش سطح شوری بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت افزوده گردید. استفاده از تیمار پیش‌تیمار زیستی باعث گردید مقدار این آنزیم‌ها با افزایش سطح شوری نسبت به تیمار عدم تلقیح (شاهد) بیشتر تولید گردد. از آنجایی که جوانه‌زنی مهمترین مرحله رشدی گیاه می‌باشد و هر چقدر درصد جوانه‌زنی کمتر شود تراکم گیاهی مدنظر حاصل نخواهد گردید و بذره‌های جوانه‌زده بعد از مدتی از بین می‌روند و تیماری می‌تواند موثر عمل کند که در بالاترین سطح شوری، درصد جوانه‌زنی بالایی را حاصل کند. برای رسیدن به هدف بیان شده در این گیاه، می‌توان پیش‌تیمار کود زیستی از توباکتر را توصیه نمود.

افزایش سطوح آنتی‌اکسیدانت‌ها منجر به ایجاد مقاومت در برابر خسارت‌ها می‌شوند (Parida and Das, 2005). گیاهانی که دارای سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدانت‌ها هستند دارای مقاومت بیشتری به صدمات اکسیداتیو می‌باشند. گزارش‌های متعدد نشان داده‌اند که باکتری‌ها از طریق تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت موجب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف می‌شوند (Turan et al., 2013). محققان گزارش دادند که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محلول‌های سازگار موجب کاهش اثرات سوء تنش شوری و افزایش رشد گیاه جو تحت تنش شوری شده است (Baltruschat et al., 2008). باکتری سودوموناس آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش می‌دهد (Bianco and Defez, 2009). بالا رفتن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان تحت تنش تنها مکانیسم تحمل به شوری نیست، بلکه این مکانیسم می‌تواند در کنار ترکیبات سازگار کننده همانند پرولین و کربوهیدرات‌ها بر میزان تحمل گیاهان بیفزاید.

Reference

منابع

- Amor, N. B., A. Jimenez, W. Megdiche, M. Lundqvist, F. Sevilla, and C. Abdely. 2006. Response of antioxidant system to NaCl stress in the halophyte *Cakile maritime*. *Physiol. Plant.* 126: 446-157.
- Aneja, M., T. J. Gianfagna, and P. K. Hebbar. 2005. *Trichoderma harzianum* produces nonanoic acid, an inhibitor of spore germination and mycelial growth of two cacao pathogens. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 67: 304-307.
- Aroiee, H, and R. Omidbaigi. 2004. Effect of nitrogen fertilizer on productivity medicinal pumpkin. *Acta Hort.* 629: 415-419.
- Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv.* 27: 84-93.
- Ashrafuzzaman, S. M., F. A. Hossen, I. M. Razi, H. M. Anamul, I. M. Zahurul, S. M. Shahidullah, and M. Sariah. 2009. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of rice growth. *Afr. J. Biotechnol.* 8: 1247-1252.
- Baby, J, and D. Jini. 2011. Development of salt stress tolerance by gene manipulation of antioxidant enzymes. *As. J. Agric. Res.* 5: 17-27.

- Baltruschat, H., J. Fodor, B. D. Harrach, E. Niemczyk, B. Barna, and G. Gullner. 2008.** Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytol.* 180: 501-510.
- Beauchamp, C, and I. Fridovic. 1971.** Superoxide dismutases: improved assay and an assay predictable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44(1): 276-287.
- Benitez, T., A. M. Rincon, M. C. Limon, and A. C. Codon. 2004.** Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.* 7: 249- 260.
- Berg, G. 2009.** Plant microbe interaction promoting plant growth and health: perspective for controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84: 11-18.
- Bhattacharyya, P.N, and D. K. Jha. 2012.** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). Emergence in agriculture. *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 28: 1327-50.
- Bianco, C, and R. Defez. 2009.** *Medicago truncatula* improves salt tolerance when nodulated by an indole-3-acetic acid overproducing *Sinorhizobium meliloti* strain. *J. Exp. Bot.* 60: 3097-3107.
- Chance, B, and A. C. Maehly. 1995.** Assay of catalase and peroxidase. PP. 764-765 In: Culuwic, S. P., Kaplan, N.O (Eds). *Method in enzymology.* Acad. Press, New York.
- Cuevas, C. 2006.** Soil inoculation with *Trichoderma pseudokoningii* rifai enhances yield of rice. *Philipp. J. Sci.* 135(1): 31-37.
- De, R, and R. K. Kar. 1995.** Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiate*) under water stress induced by PEG-6000. *Seed Sci. Technol.* 23: 301-308.
- Dhindsa, R.S., P. Plumb-Dhindsa, and T. A. Thorpe. 1981.** Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* 32: 93-101.
- Egamberdieva, D, and Z. Kucharova. 2009.** Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biol. Fertil. Soils.* 45: 563-571.
- Ehteshamnia, A. 2006.** Effect of salinity on seedling growth indices of 10 medical plants. 3th Medicinal Plant Symposium. Shahid Beheshti University. (In Persian)
- Ellis, R.H, and E. H. Roberts. 1981.** The quantification of aging and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol.* 9: 373-409.
- Eslami, V., M. A. Behdani, and S. Ali. 2009.** Effect of salinity on germination and early seedling growth of canola cultivars. *Environ.Str.Agric. Sci.* 1(1): 45-110.
- Fallahi, J., M. T. Ebadi, and R. Ghorbani. 2009.** The effect of salinity and drought stresses on germination and seedling growth of clary. *Environ. Str. Agric. Sci.* 1(1): 57-67. (In Persian)
- Fu, C.L., H. SHI, and Q. H. LI. 2006.** A review on farmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods Hum. Nutr.* 61: 73-80.
- Glick, BR., Z. Cheng, J. Czarny, J. Duan. 2007.** Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 329-39.
- Grattan, S. R, and C. M. Grieve. 1999.** Mineral nutrient acquisition and response by plants growth in saline environment. Pp 203-229. In M. Pessaraki (ed.). *Handbook of Pant and Crop Stress.* 2nd edition. Marcel Dekker, New York.
- Gravel, V., H. Antouna, and R. J. Tweddell. 2007.** Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol. Biochem.* 39: 1968-1977.
- Grover, M., S. Z. Ali, V. Sandhya, A. Rasul, and B. Yenkaeswarlu. 2010.** Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27: 1231-1240.
- Han, H. S, and K. D. Lee. 2006.** Effect of inoculation with phosphate and potassium solubilization bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil. Environ.* 52: 130-136.

- Harman, G. E., C. R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, and M. Lorito. 2004.** Trichoderma species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Rev.* 2: 43-56.
- Hayat, R., S. Ali, U. Amara, R. Khalid, I. Ahmed. 2010.** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann. Microbiol.* 60: 579-98.
- Hoogenboom, G, and C. M. Peterson. 1987.** Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agron. J.* 79: 598-607.
- ISTA, 2010.** International rules for seed testing. *Supp. Seed Sci. Technol.* 21: 1-288.
- Kaymak, Dc. 2010.** Potential of PGPR in agricultural innovations. Pp 45-79. *In D .K. Maheshwari (ed.). Plant growth and health promoting bacteria.* Springer, Berlin; Heidelberg, Germany.
- Krishna, A., C. R. Patil, S. M. Raghavendra, and M. D. Jakati. 2008.** Effect of bio-fertilizers on seed germination and seedling quality of medicinal plants. *Kar. J. Agric. Sci.* 21: 588-590.
- Lauchli, A, and S. R. Grattan. 2007.** Plant growth and development under salinity stress. Pp 1-32. *In M. A. Jenks, P. M. Hasegawa, S. M. Jain (eds.). Advances in Molecular Breeding toward Drought and Salt Tolerant Crops.* Springer Verlag, Dordrecht.
- Makizadeh Tafti, M., S. Nasrolahzadeh, S. Zehtab Salmasi, M. Chaechi, and K. Khavazi. 2012.** Effect of bio-fertilizers, and organic chemical on quantitative characterization of basil (*Ocimum basilicum* L). *J. Sus. Agric. Prod.* 22(1): 1-12.
- Manaffee, W. F, and J. W. Kloepper. 1994.** Applications of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. Pp. 23-31. *In C. E. Pankhurst, B. M. Double, V. V. S. R. Gupta, and P. R. Grace (eds.). Soil biota management in sustainable farming system.* CSIRO, Pub. East Melbourne, Australia.
- Markus, W., H. Junge, and W. H. Schnitzler. 2004.** Bacillus subtilis as growth promoter in hydroponically grown tomatoes under saline condition. *Acta Hort.* 10: 363-370.
- Massood, A., N. A. Shah, M. Zeeshan, and G. Abraham. 2006.** Differential response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of Azolla (*Azolla pinnata* and *Azolla filiculoides*). *Environ. Exp. Bot.* 85: 216-222.
- Mastouri, F., T. Bjorkman, and G. E. Harman. 2010.** Seed treatment with Trichoderma harzianum alleviates biotic, abiotic and physiologic stresses in germination seeds and seedlings. *Biol. Control.* 100(11): 1213-1221.
- Mayak, S., T. T. Bernard, and R. Glick. 2004.** Plant growth promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol. Biochem.* 42:565-572.
- Mhadhbi, H., V. Fotopoulos, P. V. Mylona, M. Jebara, M. E. Aouani, and A. N. Polidoros. 2011.** Antioxidant gene-enzyme responses in Medicago Truncatula genotypes with different degree of sensitivity to salinity. *Plant Physiol.* 141: 201-214.
- Mittova, V., M. Guy, M. Tal, and M. Volokita. 2004.** Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species Lycopersicon pennelli. *J. Exp. Bot.* 55: 1105-1113.
- Mohammadi, R., M. Olamaee, R. Ghorbani, and M. R. Chakeralhoseini. 2010.** Effect of urea fertilizer, organic matter and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Nitrogen uptake and yield ow wheat (*Triticum aestivum* C.V Alvand). *J. Plant. Prod.* 17: 77-92.
- Mohammadkhani, N, and R. Heidari. 2007.** Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. *Pak. J. Biol. Sci.* 10(21): 3835-3840.
- Mujeeb, U.R., U. A. Soomro, U. H. Mohammad Zadeh, and G. Shereen. 2008.** *World J. Agric. Sci.* 4(3): 398-403.
- Nakano, Y, and K. Asada. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant. Cell Physiol.* 22: 867-880.
- Omami, E. N. 2005.** Response of Amarantha to salinity stress. Ph.D Thesis. University of Pretoria.
- Osiewacz, H.D. 2002.** Molecular biology of fungal development. Marcel Dekker, New York.

- Parida, A.K, and A. B. Das. 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.
- Rana, K., U. Kamile, A. Koksai, and N. O. Ahmet. 2013.** The influence of salinity on seedling growth of some pumpkin varieties used as rootstock. *Not. Bot. Horti Agro.* 41(1): 219-225.
- Scotl, S. J., R. A. Jones, and W. A. Williams. 1984.** Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Sci.* 24(6):1192-1199.
- Shaharoon, B., M. Arshad, Z. A. Zahir, and A. Khalid. 2006.** Performance of *Pseudomonas* spp. Containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the present of nitrogen fertilizer. *Soil Biol. Biochem.* 38: 2971-2975.
- Shannon, M. C, and C. M. Grieve. 1999.** Tolerance of vegetable crops to salinity. *Sci. Hortic.* 78: 5-38.
- Sharbatkhari, M., S. Galeshi, Z. S. Shobbar, B. Nakhod, and M. Shahbazi. 2013.** Assessment of agro-physiological, traits for salt tolerance in drought tolerant wheat genotypes. *Int. J. Plant Prod.* 7(3): 437-448.
- Shen, B., R. G. Jensen, and H. J. Bohnert. 1997.** Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiol.* 115: 527-532.
- Siringam, K., N. Juntawong, S. Chaum, and C. Kirdmanee. 2011.** Salt stress induce ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt- sensitive rice (*Oryza sativa* L.) roots under isoosmotic condition. *Afr. J. Biotechnol.* 10 (8): 1340-1346.
- Soltani, A., S. Galeshi, E. Zeinali, and N. Latifi. 2002.** Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. *Seed Sci. Technol.* 30: 51-60.
- Soltani, A., M. Gholipoor, and E. Zeinali. 2006.** Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. *Environ. Exp. Bot.* 55: 195-200.
- Sorkhi Lalelou, F., J. Shafagh-Kolvanagh, and M. Fateh. 2013.** Effect of salinity on germination indexes of medicinal plant naked pumpkin (*Cucurbita pepo*). *Int. J. Agric. Crop Sci.* 5(13): 1424-1426.
- Stephanie, E.B., V. P. Svoboda, A. T. Paul, and W. V. I. Marc. 2005.** Controlled drought affects morphology and anatomy of *Salvia solendens*. *Soc. Hortic. Sci.* 130(5): 775-781.
- Turan, M., M. Gulluce, R. Cakmak, and F. Sahin. 2013.** Effect of plant growth promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. *J. Plant Nutr.* 36: 731-748.
- Werner, J.E, and R. R. Finklestein. 1995.** Arabidopsis mutants with reduced response to NaCl and osmotic stresses. *Plant Physiol.* 93: 659-666.
- Yadeghari, M., G. H. N. Farahani, and Z. Mosadeghzad. 2012.** Biofertilizers effects on quantitative and qualitative yield of Thyme (*Thymus vulgaris*). *Afr. J. Agric. Res.* 7: 4716-4723.
- Yasar, F., S. Kusvuran, and S. Ellialtioglu. 2006.** Determination of anti- oxidant activities in some melon (*Cucumis melo* L.) Varieties and cultivar under Salt stress. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 81(4): 627-630.
- Zahir, Z.A., M. Arshad, W. T. Frankenberger. 2004.** Plant growth promoting rhizobacteria: applications and prespectives in agriculture. *Adv. Agron.* 81: 97-168.
- Zhu, Z., G. Wei, J. Li, Q. Qian, and J. Yu. 2004.** Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt stresses cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Sci.* 167: 527-533.