دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2018.120473.2244
جلد ۳۴، شماره ۲، ۲۷۱-۲۶۱ (۱۳۹۷)

تأثیر ازتوباکتر بر شاخص‌های رشدی، عملکرد و میزان اسانس دو توده محلی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در شرایط شوری

هنگامه وثوقی‌تبار[1]، سیدعلی حسینی تفرشی[2] و حمید دهقان‌زاده[3*]

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

۳*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، پست الکترونیک: Dehghanzadeh@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۶ تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۶

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر ازتوباکتر بر شاخص‌های رشدی، عملکرد دانه و میزان اسانس دو توده محلی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در شرایط شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه کاشان به‌صورت گلدانی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دو توده محلی زیره سبز اردستان و مشهد اردهال، چهار سطح شوری (صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و دو سطح باکتری ازتوباکتر (تلقیح و عدم تلقیح بذر) بودند. نتایج نشان داد که شوری و تلقیح بذر با باکتری تأثیر بسیار معنی‌داری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ارتفاع ساقه‌چه داشت. افزایش غلظت کلرید سدیم تا سطح ۲۰۰ میلی‌مولار منجر به کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، ارتفاع ساقه‌چه، عملکرد دانه و عملکرد اسانس شد. همچنین نتایج نشان داد در هر دو توده و در تمام سطوح شوری، تلقیح با باکتری در مقایسه با شاهد، منجر به افزایش معنی‌دار کلروفیل a، کلروفیل b، میزان آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، عملکرد دانه و عملکرد اسانس گردید. توده محلی اردستان کلروفیل a و b، آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز درصد اسانس بیشتری در مقایسه با توده محلی مشهد اردهال داشت و شرایط شوری را بهتر تحمل نمود. در شرایط شوری تلقیح بذرها با باکتری ازتوباکتر به‌دلیل تأثیرات مثبت، توانست اثرات منفی تنش را کاهش داده و سرعت جوانه‌زنی، عملکرد دانه و عملکرد اسانس را نسبت به نمونه‌های شاهد بهبود ببخشد. بنابراین می‌توان در شرایط مشابه با این آزمایش، توده محلی اردستان را کشت نموده و برای کاهش اثرات شوری از تلقیح بذر با ازتوباکتر استفاده و عملکرد دانه و اسانس بالاتری بدست آورد.

واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر، آنتی‌اکسیدان، تنش شوری، زیره (*Cuminum cyminum* L.)، سرعت جوانه‌زنی.

مقدمه

زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) دومین گیاه دارویی اقتصادی و صادراتی ایران بوده و بیشتر در مناطق خشک و نیمه‌خشک به‌صورت دیم و آبی کشت می‌شود (Alizadegan *et al*., 2011؛ Haghirsadat *et al*., 2011). گیاه زیره سبز دارای خواص دارویی متعددی ازجمله مدر، محرک اشتها، تقویت معده، خلط‌آور، ضد نفخ، ضدسرطان، ضد اسهال، قطع حالت قاعدگی در زنان جوان، درمان دیابت

و زیادکننده شیر می‌باشد (Saeed Najad & Rezvani, 2010؛ Moghaddam, 2011؛ Haghirsadat *et al*., 1994؛ Zargari).

اغلب مناطق کاشت زیره در معرض شوری هستند. امروزه محققان با انتقال ژن‌های مقاومت به شوری به گیاهان یا تلقیح آنها با باکتری‌های محرک رشد توانسته‌اند تا اندازه‌ای اثرات منفی شوری خاک را کاهش دهند (Arzanesh *et al*., 2012؛ Rojas-Tapias *et al*., 2012؛ Kreps *et al*., 2002). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، کاروتنوئیدها و حفظ کلروفیل‌های گیاهی از سازوکارهای تحمل به شوری می‌باشد (Mittova *et al*., 2002). ازتوباکتر علاوه‌بر تثبیت نیتروژن، مواد محرک رشد و آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز سنتز می‌کند. این باکتری یکی از فعال‌ترین سیتوکروم اکسیدازها و سیستم‌های دیسموتاز را دارد (Jnawali *et al*., 2015). با توجه به این خصوصیات، این باکتری می‌تواند نقش‌هایی در تحریک رشد و بهینه نمودن تغذیه در گیاهان ایفاء کند و به گیاهان با اعمال چندگانه سود برساند و سبب تقویت جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه شده و در نهایت بهبود رشد پایه گیاهی را به‌دنبال داشته باشد (Akhtar *et al*., 2012؛ Kochaki *et al*., 2008). گیاهان در مرحله جوانه‌زنی به شوری حساسیت بیشتری دارند. به‌طور کلی غلظت نمک باعث کاهش رشد و جوانه‌زنی گیاه می‌شود، به‌طوری که هر چه غلظت نمک بیشتر باشد کاهش رشد محسوس‌تر بوده که این می‌تواند شاخص مناسبی برای تعیین میزان مقاومت به شوری برای گیاهان مختلف باشد (Hasheminia *et al*., 2009). زیره سبز گیاهی است که دارای مقاومت نسبی به شوری می‌باشد (Kafi, 2002؛ Tatari, 2004). Nabizadeh Marvdasht و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند با افزایش شوری اجزاء عملکرد دانه در زیره سبز به شدت کاهش یافت. نتایج سایر تحقیقات نیز نشان داده که شوری اعمال شده روی زیره سبز بر اندام‌زایی و درصد جوانه‌زنی، قوه نامیه بذر، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه تأثیرات منفی معنی‌داری داشته است (Ekhtiari *et al*., 2010). Ghorbanli و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که با افزایش غلظت‌های کلرید سدیم بر روی زیره سبز میزان پرولین، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید افزایش یافت و گیاهانی که همزمان تحت تأثیر کلرید سدیم و آسکوربات قرار گرفتند در میزان غلظت‌های یکسان کلرید سدیم میزان پرولین، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش بیشتری نشان دادند. Rezaii و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که آغشته کردن بذر زیره سبز با ازتوباکتر به نسبت ۶/۲۵ گرم برای هر کیلوگرم بذر، سرعت جوانه‌زنی را در شرایط شوری افزایش داد.

با توجه به اثرات مثبتی که باکتری‌های تحریک‌کننده رشد بر کاهش و تقلیل اثرات منفی شوری بر رشد گیاهان مختلف داشته‌اند و با توجه به اهمیت گیاه زیره و بررسی امکان کشت این گیاه در مناطق با زمین یا آب شور، بررسی تأثیر این باکتری‌ها روی کاهش اثرات منفی شوری روی این گیاه دارویی و همچنین میزان اسانس آن از اهداف این تحقیق بوده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر ازتوباکتر (*Azotobacter* Sp) بر روی شاخص‌های رشدی، عملکرد دانه و میزان اسانس دو توده محلی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در شرایط شوری آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه کاشان به‌صورت درون شیشه‌ای و گلدانی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دو توده محلی اردستان و مشهد اردهال، چهار سطح شوری (صفر، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و دو سطح باکتری ازتوباکتر (تلقیح و عدم تلقیح بذر) بودند. این توده‌ها در مطالعات قبلی به شوری مقاومت نشان داده بودند (Salami *et al*., 2006). بذرهای زیره سبز از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. باکتری ازتوباکتر از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران (سویه PTCC ۱۶۵۸) تهیه و در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه کاشان کشت داده شد. از

محلول $MgSO_4$ $(7H_2O)$ به‌عنوان نگهدارنده باکتری ازتوباکتر استفاده گردید (Pierson, 1955). گلدان‌ها دارای قطر ۳۰ و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر بودند. گلدان‌های حاوی ترکیب خاکی، خاک معمولی (خاک مزرعه) خاکبرگ و ماسه بادی، به نسبت حجمی ۱:۱:۱ بودند. برای مشخص کردن درصد وزنی رطوبت خاک به‌منظور محاسبه میزان آب مورد نیاز، نمونه‌هایی از خاک گلدان برداشت و بلافاصله وزن مرطوب توزین و بعد به مدت ۱۲ ساعت در آون با حرارت ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد برای تعیین وزن خشک آن قرار داده شد. درصد حجمی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی ۲۹/۶۷ و میزان ظرفیت ذخیره خاک (Fc-Pwp) برابر ۱۷٪ بدست آمد. میزان آب مصرفی در هر آبیاری با استفاده از رابطه ۱ بدست آمد (Hassanli, 2000).

$$VW= [(FC-SM). Bd. D. A] \qquad (۱)$$

در این رابطه، VW: حجم آب مصرفی در هر آبیاری (برحسب مترمکعب)، FC: درصد وزنی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی، SM: درصد وزنی رطوبت خاک، Bd: جرم مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی متر مکعب)، D: ارتفاع گلدان (متر) و A: مساحت گلدان (مترمربع) می باشد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی این خاک در جدول ۱ آورده شده‌است. بذرهای استریل شده به مدت ۲۴ ساعت در محلول سولفات منیزیوم حاوی ازتوباکتر خیس شدند. گلدان‌ها در فیتوترون با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و تحت شدت نور ۴۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی قرار داده شدند. آبیاری هر ۵ روز یک‌بار و محلول‌دهی هوگلند که حاوی غلظت‌های مختلف شوری بود، هر ۲۰ روز یک‌بار به صورت منظم و تا ظرفیت زراعی انجام شد. برای تعیین درصد و سرعت جوانه زنی، درون هر ظرف پتری حاوی کاغذ صافی استریل، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از محلول نمک مورد نظر ریخته و تعداد ۲۵ عدد بذر سترون به هریک از آنها منتقل و کشت داده شد. سپس ظروف پتری در اتاقک رشد با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، با منبع نوری لامپ‌های فلورسنت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند (Salami *et al*., 2006). جوانه‌زنی بذرها بعد از ۷ روز از زمان کشت شروع شد و ثبت بذرهای جوانه زده هر ۵ روز یک‌بار انجام گردید.

جدول ۱- ویژگی‌های خاک مورد استفاده در آزمایش

بافت خاک	اسیدیته (pH)	هدایت الکتریکی (dS/m)	نیتروژن (٪)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	کربن (٪)	جرم مخصوص ظاهری (g/cm^3)
لومی شنی	۷/۸	۰/۸۴	۰/۱	۱/۸	۲۶۶	۱/۰۶	۱/۴۷

برداشت گیاهان و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز، میزان انواع کلروفیل a، b و کاروتنوئید در ۴۹ روز بعد از اعمال تیمار باکتریایی انجام گردید (Salami *et al*., 2006). عملکرد دانه، درصد اسانس دانه و عملکرد اسانس در هنگام رسیدگی بوته‌ها اندازه گیری شد. درصد جوانه‌زنی از رابطه Ellis و Roberts (۱۹۸۱) بدست آمد. طول ریشه چه و ساقه چه با خطکش اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از رابطه ۲ محاسبه گردید (Aebi, 1984):

$$EA = \frac{[\Delta OD \times (\frac{1000}{A}) \times B]}{EC \times C} \qquad (۲)$$

EA: میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد گرم وزن تر (براساس احیای یک میلی‌مولار H_2O_2 در دقیقه)، ΔOD: مقدار قرائت شده از دستگاه اسپکتروفتومتر، A: مقدارنمونه ریخته شده در کووت، B: مقدار فسفات اضافه شده به نمونه برای ساییدن، EC: ۰/۰۳ میکرومول بر سانتی‌متر (ضریب فعالیت آنزیم کاتالاز)، C: وزن بافت گیاهی برای ساییدن برحسب گرم.

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از رابطه ۳ محاسبه شد (Nakano & Asada, 1981):

$$EA = \frac{[\Delta OD \times (\frac{1000}{A}) \times B]}{EC \times C} \qquad (۳)$$

EA: میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد گرم وزن تر (میزان جذب آسکوربات اکسید شده در دقیقه)، EC: ۰/۰۲۸ میکرومول بر سانتی‌متر (ضریب فعالیت آنزیم آسکوربات اکسیداز).

اندازه‌گیری کلروفیل به روش Arnon (۱۹۴۹) و کاروتنوئید به روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام شد. سپس میزان کلروفیل‌های b، a و کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد:

$$\text{کلروفیل } a = \frac{[(12.7 \times OD663) - (2.68 \times OD645)] \times V}{1000 \times W}$$

$$\text{کلروفیل } b = \frac{[(22.9 \times OD645) - (4.93 \times OD663)] \times V}{1000 \times W}$$

$$\text{کاروتنوئید} = \frac{(100 \times OD470 - 1.82 \times ch\,a - 85.02 \times chl\,b)}{198}$$

استخراج اسانس از دانه به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام شد (Haghirsadat *et al.*, 2011). عمل تقطیر به مدت ۳ ساعت انجام شد و بعد از اسانس‌گیری، اسانس توسط سدیم سولفات بدون آب، آبگیری و درصد اسانس‌ها نسبت به وزن خشک محاسبه گردید.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد. برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

نتایج

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که شوری و تلقیح با باکتری تأثیر بسیار معنی داری در سطح احتمال ۱٪ بر درصد و سرعت جوانه زنی بذرها داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که شوری در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار منجر به بیشترین کاهش درصد جوانه‌زنی و به‌میزان ۸۴٪ در مقایسه با شاهد شد (جدول ۳). با این حال درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (جدول ۳). تلقیح با باکتری ازتوباکتر منجر به افزایش معنی دار سرعت جوانه زنی در مقایسه با شاهد شد (جدول ۲). افزایش سرعت جوانه‌زنی در تلقیح باکتری نسبت به شاهد ۳۷٪ بود (جدول ۳).

شوری، تلقیح با باکتری و رقم گیاهی از عوامل مؤثر بر طول ریشه چه و ساقه چه بودند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بیشترین طول ریشه را داشت و افزایش طول ریشه نسبت به شاهد ۱۵/۶٪ بود (جدول ۳). به طوری که با

افزایش غلظت کلرید سدیم به ۲۰۰ میلی‌مولار طول ریشه کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۳). حضور باکتری نیز در مقایسه با عدم تلقیح با باکتری طول ریشه را ۲۶/۵٪ افزایش داد (جدول ۳). روند تغییرات طول ساقه چه با افزایش غلظت کلرید سدیم به ۲۰۰ میلی مولار مشابه طول ریشه چه بود (جدول ۳). در کل می توان استنباط نمود که در شرایط تنش شدید شوری، از طول ساقه چه کاسته شد. البته تلقیح باکتری در مقایسه با شاهد، طول ساقه‌چه را ۲۲/۸٪ افزایش داد (جدول ۳).

میزان کلروفیل a و b تحت تأثیر شوری، رقم و باکتری قرار گرفت (جدول ۲). به‌نحوی که با افزایش شوری، محتوای کلروفیل a به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۳). میزان کلروفیل a و b در رقم اردستان در مقایسه با رقم مشهد اردهال بیشتر بود (جدول ۳). همچنین تلقیح با باکتری در مقایسه با عدم تلقیح باکتری نیز محتوی کلروفیل a و b را افزایش داد (جدول ۲).

فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به طور معنی داری و در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر شوری، رقم و باکتری قرار گرفتند (جدول ۲). شوری در مقایسه با تیمار شاهد، منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شد. به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و کمترین میزان فعالیت این آنزیم نیز متعلق به تیمار شاهد بود (جدول ۳). کاربرد باکتری منجر به افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز گردید (جدول ۳). با افزایش شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به طوری که بیشترین و کمترین میزان آن به‌ترتیب متعلق به تیمارهای ۲۰۰ میلی‌مولار و شاهد بود. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر ارقام بود (جدول ۲). به‌طوری که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز رقم اردستان در مقایسه با رقم مشهد اردهال ۱۰٪ بیشتر بود. همچنین تلقیح با باکتری در مقایسه با عدم تلقیح آن نیز به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت این آنزیم را افزایش داد (جدول ۳). عملکرد دانه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شوری، رقم و تلقیح با باکتری قرار گرفت (جدول ۲). البته با افزایش شوری عملکرد دانه کاهش معنی‌داری داشت. تلقیح با باکتری در مقایسه با عدم تلقیح نیز عملکرد دانه را ۵۹/۳۹٪ افزایش داد (جدول ۳). رقم اردستان هم نسبت به مشهد اردهال ۴۳٪ عملکرد بالاتری تولید نمود (جدول ۳).

درصد اسانس و عملکرد اسانس به طور بسیار معنی‌داری و در سطح احتمال ۱٪ تحت تأثیر رقم و تلقیح با باکتری قرار گرفت (جدول ۲). با این حال شوری تأثیر معنی داری بر درصد اسانس نداشت. رقم اردستان درصد اسانس بیشتری نسبت رقم مشهد اردهال داشت (جدول ۳). تلقیح با باکتری در مقایسه با عدم تلقیح درصد اسانس را ۱۰/۸٪ افزایش داد (جدول ۳). تلقیح با باکتری در مقایسه با عدم تلقیح عملکرد اسانس را نیز به‌طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد ارقام زیره تحت شرایط شوری و کاربرد باکتری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	فعالیت آسکوربات پراکسیداز	فعالیت کاتالاز	کلروفیل a	کلروفیل b	درصد اسانس	عملکرد دانه	عملکرد اسانس
تکرار	۲	۱۷/۴۴	۰/۰۳	۰/۴۹	۰/۵۶	۰/۰۰۴	۱/۶۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۴۸/۴۷	۰/۰۳
شوری	۳	۲۰۴۴۷/۸۶ **	۱۹۷۱/۱۰ **	۲۲/۸۳ **	۶۳/۹۱ **	۱۱/۵۹ **	۴۲۸/۹۳ **	۲/۴۳ **	۰/۱۶۶ **	۰/۰۰۴ ns	۱۲۴۳/۷۱ **	۳/۰۹ **
رقم	۱	۳۰/۲۵ *	۱/۹۹ *	۲/۱۵ **	۲۹/۱۶ **	۰/۷۲ **	۲۰/۵۶ **	۰/۲۱ **	۰/۰۴۵ **	۱/۰۱۳ **	۸/۸۴ *	۰/۰۶ **
شوری×رقم	۳	۱/۰۸ ns	۷۹/۷۰ **	۰/۲۲ ns	۵/۵۶ **	۰/۰۰۲ ns	۴/۶۴ *	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۶ ns	۰/۰۲۱ ns	۱۳/۹۱ ns	۰/۰۲۶ ns
باکتری	۱	۱۴۰۶/۲۵ **	۲۰۵/۹۲ **	۴۱/۳۹ **	۳۹/۶۹ **	۳/۳۸ **	۱۲۴/۵۸ **	۰/۶۵ **	۰/۱۱۴ **	۰/۳۶۴ **	۶۷۴/۹۶ **	۱/۰۸ **
شوری×باکتری	۳	۷/۵۸ ns	۶۱/۰۲ **	۱/۱۵ ns	۱/۴۴ ns	۰/۰۱ ns	۳/۳۷ *	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۲۵۲/۷۵۷ **	۰/۳۲ **
رقم×باکتری	۱	۲/۲۵ ns	۷/۴۷ ns	۰/۲۵ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۳ ns	۱/۱۷ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۷ ns	۰/۰۰۶ ns	۱۱/۰۷ ns	۰/۰۰۲ ns
شوری×رقم×باکتری	۳	۵/۲۵ ns	۱۲/۸۴ ns	۰/۶۶ ns	۰/۰۱ ns	۰/۰۵ ns	۰/۳۵ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۱ ns	۲۷/۷۷ ns	۰/۰۱۲ ns
خطا	۳۰	۲۹/۱۴	۴/۷۸	۰/۴۴	۰/۴۹	۰/۰۳	۰/۸۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۴	۰/۰۱۷	۳/۱۱	۰/۰۰۱۲
ضریب تغییرات (٪)		۸/۸۳	۱۴/۵۶	۹/۲۳	۸/۶۵	۶/۳۴	۵/۴۲	۵/۹۳	۸/۱	۷/۴۵	۱۶/۴۳	۱۸/۸

ns، *، **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد ارقام زیره تحت شرایط شوری و کاربرد باکتری

تیمار	درصد جوانه‌زنی (٪)	سرعت جوانه‌زنی (دانه در روز)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	فعالیت آسکوربات پراکسیداز (میکروگرم بر گرم وزن تر در دقیقه)	فعالیت کاتالاز (میکروگرم بر گرم وزن تر در دقیقه)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	درصد اسانس	عملکرد دانه در هر گیاه (گرم)	عملکرد اسانس در هر گیاه (گرم)
شاهد	۸۶/۵۸ a	۲۶/۲۷ a	۷/۲۱ b	۹/۷۶ a	۱/۶۳ c	۱۰/۸۶ c	۲/۰۴ a	۰/۹۰ a	۱/۷۱ a	۲۰/۶۴ a	۰/۳۵۳ a
۱۰۰ میلی مولار	۷۴/۳ b	۱۷/۳۲ b	۸/۹۴ a	۹/۳۵ a	۲/۶۰ b	۱۵/۸۰ b	۱/۷۳ b	۰/۸۱ b	۱/۷۴ a	۱۱/۲۰ b	۰/۱۹۵ b
۱۵۰ میلی مولار	۶۶/۳ b	۱۵/۱ b	۶/۸ b	۷/۹۰ a	۳/۲ b	۱۷/۱۰ b	۱/۴۹ b	۰/۷۶ b	۱/۷۶ a	۷/۰۷ c	۰/۱۲۴ b
۲۰۰ میلی مولار	۱۳/۵۰ c	۱/۰۷ c	۵/۷۸ c	۵/۴۹ b	۳/۵۱ a	۲۲/۸۰ a	۱/۱۴ c	۰/۶۷ c	۱/۷۹ a	۲/۰۳ d	۰/۰۳۵ c
تلقیح با باکتری	۶۷/۳۹ a	۱۷/۴۱ a	۸/۳ a	۹/۲ a	۳/۰۴ a	۱۸/۷۹ a	۱/۷۴ a	۰/۸۴ a	۱/۸۵ a	۱۴/۵۸ a	۰/۲۷ a
بدون باکتری	۵۴/۱۹ b	۱۲/۶۳ b	۶/۱ b	۷/۱ b	۲/۴۳ b	۱۴/۳۰ b	۱/۴۷ b	۰/۷۳ b	۱/۶۵ b	۵/۹۲ b	۰/۰۹۸ b
رقم مشهد اردهال	۵۶/۴۶ b	۱۳/۵۴ b	۶/۹ b	۷/۴۱ b	۲/۵۹ b	۱۵/۸۷ b	۱/۵۳ b	۰/۷۵ b	۱/۵۸ b	۷/۴ b	۰/۱۱۷ b
رقم اردستان	۶۵/۱۲ a	۱۶/۵۰ a	۷/۶ a	۹/۰ a	۲/۸۸ a	۱۷/۳۸a	۱/۶۹ a	۰/۸۲ a	۱/۹۲ a	۱۳/۱ a	۰/۲۵۱ a

میانگین‌های با حرف‌های مشابه در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

بحث

کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای زیره سبز در شرایط شوری توسط Ekhtiari و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده‌است. اثر شوری می‌تواند تا اندازه‌ای با توجه به ژنوتیپ و واریته گیاه مورد نظر تعدیل شود (Salami *et al*., 2006). با افزایش شوری و اختلال در جذب عناصر غذایی و کاهش جذب نیتروژن کاهش درصد جوانه‌زنی در زیره سبز رخ داد (Salami *et al*., 2006). تلقیح با ازتوباکتر منجر به افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی شد. اگرچه با افزایش تنش شوری درصد جوانه‌زنی کاهش یافت، اما با تلقیح باکتری‌های محرک، روند کاهش جوانه‌زنی مهار شد. بنابراین به نظر می‌رسد باکتری‌ها قادر به تولید بیشتر جیبرلین که نقش کلیدی در جوانه‌زنی دارند، می‌باشند (Hilhorst & Toorop, 1997).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه مهمترین شاخص‌های مؤثر در مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری هستند، زیرا ریشه در تماس مستقیم با خاک است و آب را از خاک جذب کرده و ساقه نیز آب و مواد محلول را از ریشه به سایر نقاط منتقل می‌کند و شوری زیاد، به علت کاهش جذب آب از طویل شدن ریشه و ساقه جلوگیری می‌نماید. با افزایش فشار اسمزی، پتانسیل اسمزی کاهش یافته و آب کمتری در اختیار بذر قرار می‌گیرد (Jamil *et al*., 2005). تلقیح با باکتری روند کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را کاهش داد. بنابراین به نظر می‌رسد این میکروارگانیسم‌ها با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای از هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به‌ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکنین، رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ravikumar *et al*., 2004).

مطالعات نشان دادند که در پنبه مقادیر کلروفیل a و b تحت شرایط تنش با سطوح مختلف شوری، کاهش شدیدی به پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه داشته‌اند (Rezaii *et al*., 2004؛ Javadipoor *et al*., 2013). از این‌رو به نظر می‌رسد کاهش غلظت کلروفیل در شرایط شوری به‌دلیل اثراتی است که بر کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیب‌های فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل صورت می‌گیرد. تنش شوری موجب تخریب کلروپلاست و تغییر تعداد و اندازه کلروپلاست‌ها می‌شود (Munns, 2002). کاهش غلظت کلروفیل برخی ارقام تحت تأثیر تنش شوری، احتمالاً به علت مشترک بودن مسیر بیوسنتزی کلروفیل و آلفا–توکوفرول می‌باشد که گیاه در شرایط تنش شوری می‌تواند با توقف بیوسنتز کلروفیل، مسیر بیوسنتزی آنتی‌اکسیدان آلفا–توکوفرول را فعال نماید (Kaya *et al*., 2002). از سویی افزایش تولید کلروفیل a و b در شرایط تنش با کاربرد کودهای زیستی در مطالعه Zand و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش شده که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد. عمده ترکیب‌های رنگدانه‌های فتوسنتزی دارای ساختار نیتروژنی هستند. از این‌رو تأمین نیتروژن بدلیل کاربرد کودهای زیستی می‌تواند تا حد زیادی سبب افزایش مقدار آنها در گیاه شود (Zand *et al*., 2017).

در مطالعه‌ای (Kohler *et al*., 2009) گزارش شد که در شرایط نرمال، گیاهچه‌های کاهوی تلقیح شده با باکتری زدوموناس، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. اما در شرایط تنش با افزایش عامل تنش‌زا، میزان فعالیت این آنزیم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. Ghorbanli و همکاران (۲۰۱۲) در زیره سبز و همچنین Bor و همکاران (۲۰۰۳) در چغندرقند نشان دادند که با افزایش شوری، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تمام تیمارها نسبت به شاهد افزایش یافت که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها با جلوگیری از ساخت و فعالیت‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن که می‌توانند منجر به تخریب سلول و مرگ آن شوند، باعث افزایش مقاومت به تنش‌ها ازجمله تنش شوری می‌شود (Motohashi *et al*., 2010).

در یک مطالعه (Zabihi *et al*., 2009) نشان داده شد که با افزایش شوری عملکرد و اجزای عملکرد کاهش و در حالت پیش‌تیمار با باکتری این شاخص‌ها افزایش پیدا کرد. تلقیح باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم به گیاه دارویی مریم‌گلی، ارتفاع اندام‌های هوایی آن را افزایش داد (Saeed Najad & Rezvani moghaddam, 2010). باکتری‌های محرک رشد با تولید ایندول استیک اسید، جیبرلین و برخی مواد دیگر، موجب افزایش طول ریشه، سطح جذب ریشه و تعداد ریشه‌های

موبین، افزایش نفوذ و جذب مواد غذایی و در نهایت سبب بهبود سلامتی گیاه تحت شرایط تنش می‌شوند (Egamberdieva & Kucharova, 2009).

نتایج بدست آمده از مصرف کودهای زیستی در حالت منفرد و در حالت ترکیبی نشان‌دهنده افزایش عملکردهای زیستی، عملکرد دانه و عملکرد اسانس در زیره سبز بوده است (Saeed Najad & Rezvani moghaddam, 2010)، این نتایج با یافته‌های این تحقیق همسو می‌باشد. کاربرد باکتری منجر به افزایش میزان جذب مواد غذایی و سرعت رشد و افزایش عملکرد گیاه زیره سبز می‌شود (Saeed Najad & Rezvani Moghaddam, 2010).

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش شوری، صفات فیزیولوژیک، میزان کلروفیل b و a، عملکرد دانه و عملکرد اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما شوری بر درصد اسانس تأثیر چندانی نداشت. با افزایش غلظت شوری میزان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. با افزایش سطح شوری روند جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. البته رقم اردستان شرایط شوری را بهتر از رقم مشهد اردهال تحمل نمود. در شرایط شوری تلقیح بذرها با باکتری ازتوباکتر به‌دلیل تأثیرات مثبت، توانست اثرات منفی تنش را کاهش داده و سرعت جوانه‌زنی، عملکرد دانه و اسانس را نسبت به نمونه‌های شاهد بهبود ببخشد. بنابراین می‌توان برای کاهش اثرات شوری بر جوانه‌زنی، رشد، عملکرد دانه و عملکرد اسانس زیره سبز، از باکتری ازتوباکتر به‌عنوان محرک رشد استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymology, 105: 121-126.
- Akhtar, Sh., Hossain, Sh.J., Hossain, SK.A. and Kumar Datta, R., 2012. Isolation and characterization of salinity tolerant *Azotobacter* sp. Greener Journal of Biological Sciences, 2(3): 043-051.
- Alizadegan, Z., Mortezavi, S.A. and Amirnejad, H., 2011. The comparative advantage of the production and trade of medicinal plants. M.Sc. Dissertation, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated choloroplast polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.
- Arzanesh, M.H., Bani Aghil, N., Ghorban Ali, M. and Shahbazi, M., 2012. The effect of plant growth promoting bacteria on growth parameters and concentration of micronutrients in two rapeseed cultivars under salt stress. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 2(2): 153-163.
- Bor, M., Osdemir, F. and Turkan, I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science, 164: 77-84.
- Egamberdieva, D. and Kucharova, Z., 2009. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. Biology and Fertility of Soils, 45(6): 563-571.
- Ekhtiari, R., Farbodi, M., Moraghebi, F. and Khodabandeh, N., 2010. The effect of salinity on seed germination of medicinal cumin (*Cuminum cyminum* L.) in laboratory conditions. Plant and Ecosystems, 6(22): 65-76.
- Ellis, R.H. and Roberts, E.H., 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 377-409.
- Ghorbanli, M., Ahmadi, F., Monfared, A. and Bakhshi Khaniki, Gh.H., 2012. The effect of salinity and its interaction with ascorbate on the activity of catalase, ascorbate peroxidase, proline and malondialdehyde cumin (*Cuminum cyminum* L.) four weeks after germination. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 28(1): 14-27.
- Haghirsadat, B.B.F., Vahidi, A., Sabor, M.H. Azimzade, M., Kalantar, S.M. and Sharafdini, M., 2011. Evaluation of active components and antioxidant properties of essential oil of cumin *(Cuminum cyminum* L.) native Yazd province. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 19(4): 472-481.
- Hassanli, A.M., 2000. Different Methods of Water Measurement. Shiraz University Publication, 345p.
- Hasheminia, S.M., Nasiri mahallati, M. and Keshavarzi, A. 2009. Salinity and temperature determine the appropriate threshold and investigate the combined effect on germination of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Iranian Journal of Crop Research, 7(1): 303-310.
- Hilhorst, H.W.M. and Toorop, P.E., 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. Advance of Agronomy, 61: 111-165.
- Jamil, M.C., Lee Rehman, S.U., Lee, D.B., Ashraf, M. and Rha, E.S., 2005. Salinity tolerance of *Brassica* species at germination and early seedling growth.

accumulation of salts and the percentage of Cumin. Iranian Journal of Field Crop Research, 1(1): 54-59.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen Peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology, 22(5): 867-880.
- Pierson, A., 1955. Functional aspects in mineral nutrition of green plants Annual Review of Plant physiology, 6: 71-114.
- Ravikumar, S., Kathiresan, K., Ignatiammal, S.T.M., Selvam, M.B. and Shanthy, S., 2004. Nitrogen fixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 312(1): 5-17.
- Rezaii, M.A., Khavazi Nejad, R.A. and Fahimi, H., 2004. Cotton plant physiological response to different soil salinity. Research and Construction, 62: 81-89.
- Rezaii, M.A., Khavazi Nejad, R.A. and Fahimi, H., 2005. Effects of different salinity levels on cumin seed germination. The Second Conference on Medicinal Plants, Shahed University, 26-27 January.
- Rojas-Tapias, D., Moreno-Galvan, A., Pardo-Dyaz, S., Obando, M., Rivera, D. and Bonilla, R., 2012. Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). Applied Soil Ecology, 61: 264-272.
- Saeed Najad, A.H. and Rezvani Moghaddam, P., 2010. Effect of biofertilizers and chemical fertilizers on morphological properties, yield, yield components and essence percentage of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Journal of Horticultural Science and Technology, 24(1): 38-44.
- Salami, M.H., Safarnejad, A. and Hamidi, H., 2006. Effect of salinity stress on morphological characteristics of cumin (*Cuminum cyminum* L.) and valerian (*Valeriana officinalis*). Research and Construction, 72: 77-83.
- Tatari, M., 2004. Effect of salinity levels and irrigation times on growth and yield of cumin in Mashhad province. M.Sc. dissertation, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
- Zabihi, H.R., Savagebi, G.R., Khavazi, K. and Gangali, A., 2009. Study of *Pseudomonas* strains application on yield and yield components of wheat in various levels of soil salinity. Journal of Soil and Water, 23(1): 199-208.
- Zand, A., Aroiee, H., Chaichi, M.R. and Nemati, S.H., 2017. Effects of bio-fertilizers on some physiological characteristics, essential oil percentage and yield of spearmint (*Mentha spicata* L.) under deficit irrigation. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33(1): 112-125.
- Zargari, A., 1994. Herb (Vol. 2). Tehran University Press, 840p.
Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 4(4): 970-976.
- Javadipoor, Z., Movahedi dehnavi, M. and Balochi, H.R., 2013. Evaluation of photosynthetic parameters, chlorophyll content and fluorescence safflower under salinity. Electronic Journal of Crop Production, 6(2): 35-56.
- Jnawali, A.D., Ojha, R.B. and Marahatta, M., 2015. Role of azotobacter in soil fertility and sustainability-a review. Advances in Plants and Agriculture Research, 2(6): 00069.
- Kafi, M., 2002. Cumin, Production and Processing. Ferdowsi University of Mashhad Publication, 195p.
- Kaya, C., Kirnak, H., Higgs, D. and Satali, K., 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. Journal of Horticultural Sciences, 93: 65-74.
- Kochaki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R., 2008. Evaluate the effectiveness of biological fertilizer on growth characteristics, yield and quality of medicinal herb hyssop (*Hyssopus officinalis*). Iranian Journal of Crop Research, 6(1): 12-137.
- Kohler, J., Antonio Hernandes, J., Caravaca, F. and Roldan, A., 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. Environmental and Experimental Botany, 63(2-3): 245-252.
- Kreps, J.A., Chang, H.S., Zhu, T., Wang, X. and Harper, J.F., 2002. Transcription changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic and cold stress. Plant Physiology, 130: 2129-2141.
- Lichtenthaler, H., 1987. Chlorophylls and carotenoid: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods of Enzimology, 148: 350-382.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and Volokita, M., 2002. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: increased activities of antioxidant enzymes in root plastids. Free Radical Research, 36: 195-202.
- Motohashi, T., Nagamiya, K. and Prodhan, S.H. 2010. Production of salt stress tolerant rice by overexpression of the catalase gene, kate, derived from Escherichia coli. Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology. 18: 37-41.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 28: 239-250.
- Nabizadeh marvdasht, M.R., Kafi, M. and Rashed mahsel, M.H., 2003. Effects of salinity on growth,

Effect of azetobacter on growth indices, yield and essence content of two cumin (*Cuminum cyminum* L.) landraces under salinity conditions

H. Vosoughi Tabar[1], S.A. Hosseini Tafreshi[2] and H. Dehghanzadeh[3*]

1- Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran
2- Department of Biotechnology, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran
3*- Corresponding author, Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran
E-mail: Dehghanzadeh@pnu.ac.ir

Received: January 2018 Revised: March 2018 Accepted: March 2018

Abstract

In order to investigate the effects of Azotobacter on growth indices, yield and essential oil content of two cumin (*Cuminum cyminum* L.) landraces under salinity conditions, an experiment was carried out in a factorial design arranged as randomized complete block design with three replications in 2015 at the Kashan University. The treatments included two cumin landraces (Ardestān and Mashhad Ardehal), four salinity levels (control, 100, 150 and 200 mili molar Nacl) and two levels of azotobacter (control and seed inoculation). Results showed that salinity and inoculation with bacteria had a very significant effect on germination rate and percentage, radicle length and plumule height. Increased concentrations up to 200 Mm sodium chloride resulted in a significant reduction in germination percentage and germination rate, radicle length, plumule height, grain yield and essential oil yield. According to the results, in both landraces and at all salinity levels, inoculation with bacteria, resulted in a significant increase in chlorophyll a, b, catalase, ascorbate peroxidase, grain yield and essential oil yield compared to the control. The Ardestān landrace had the highest chlorophyll a and b, catalase, ascorbate peroxidase and essential oil content and tolerated salinity better compared to the Ardehal Mashhad landrace. In salinity conditions, inoculation of seeds with Azotobacter could reduce the negative effects of stress and improve the germination rate, seed yield and essential oil yield. The results of this experiment indicated that Ardestān landrace could be cultivated and used to reduce the effects of salinity due to the inoculation with Azotobacter, and higher grain yield and essential oil yield could be obtained under conditions similar to this experiment.

Keywords: Azotobacter, antioxidant, salinity stress, cumin (*Cuminum cyminum* L.), germination speed.