

DOI: 10.22070/HPN.2021.13506.1116

## Improvement of quantitative and qualitative characteristics of coriander using native zinc solubilizing bacteria and zinc sulfate under greenhouse condition

*Esmail Bakhshandeh*<sup>1\*</sup>, *Fatemeh Davatgar*<sup>2</sup>, *Hossein Moradi*<sup>3</sup>

1- Corresponding authors and Assistant Professor, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

*e.bakhshandeh@sanru.ac.ir*

2- MSc Student of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

*fatemedavatgar@gmail.com*

3- Assistant Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

*moradiho@yahoo.com*

Received Date: 2020/11/01

Accepted Date: 2021/07/13

### Abstract

**Introduction:** Coriander (*Coriandrum sativum* L.; Apiaceae), an aromatic annual herb, is known as an important medicinal plant. It has been recommended due to its significant nutritional and medicinal properties. The fresh shoots of this plant are used as a food condiment in many places in the world. However, the application of agrochemical fertilizers is a main source of soil, water and environmental pollution which can harmfully affect human health. Plant growth promoting bacteria (PGPB) can be considered as an effective way to meet sustainable agriculture by reducing agrochemical fertilizers usage (Bakhshandeh et al., 2015). Since a limited number of studies are available to investigate the effects of PGPB on coriander growth, thus, this study aimed to evaluate different treatments of zinc sulfate on coriander along with and without zinc solubilizing bacteria.

**Material and methods:** Two separate experiments were carried out under greenhouse conditions to study the effect of native zinc solubilizing bacteria (*Burkholderia cepacia*) and zinc sulfate ( $ZnSO_4$ ) on the emergence, some vegetative and phytochemical characteristics of coriander. The first experiment was conducted based on a completely randomized design to evaluate different methods of inoculation (non-inoculation as control, seed inoculation and soil inoculation). While the second was performed as a factorial experiment in a completely randomized design. The factors were two inoculation methods (non-inoculation as control and seed inoculation) and five treatments of  $ZnSO_4$  (99%) application (without application of  $ZnSO_4$  as control, 1.5 and 3 g/L for foliar application and, 5 and 10 mg/kg soil for soil application). Three replications were made in both experiments. The experiment was carried out under optimal conditions. The seedlings were harvested when they had six fully expanded leaves. Emergence characteristics, photosynthetic pigments, plant dry weight, phenol content, flavonoid content and antioxidant enzymes activity were measured in this study.

**Results and discussion:** Based on the results obtained in the first experiment, the amount of all studied traits were remarkably increased by applying *B. cepacia*, except for antioxidant enzyme activity which was not significantly affected. Since there was no significant difference between the inoculation methods (soil and seed inoculations), thus, the seed inoculation method was selected as the best treatment for improving coriander growth in experiment I. In experiment II, the maximum emergence percentage and rate, chlorophyll a, b, total and carotenoids, phenol content in the leaves, flavonoid content in the leaves and root, guaiacol and superoxide dismutase enzymes activity increased by 16.5, 7.73, 9.63, 17.7, 3.94, 11.1, 3.24, 31.6, 23.5, 61.1 and 7.18% in the presence of *B. cepacia* as compared to the control (non-inoculation). While among the  $ZnSO_4$  treatments, higher amount of the studied traits was found in the foliar application at a concentration of 3 g/L and soil application at a concentration of 5 mg/kg soil. Furthermore, the interaction effect between the *B. cepacia* inoculation and  $ZnSO_4$  treatments was not statistically significant. In general, PGPB can improve plant growth and productivity in several ways: nitrogen fixation, solubilizing insoluble minerals such as phosphorus, potassium and zinc, plant hormone production, decreasing the inhibitory effects of biotic and abiotic stresses. The mechanisms mentioned above are fully described in Ahemad and Kibret (2014).

**Conclusions:** Our findings indicated that *B. cepacia* could be used in both inoculation methods (seed and soil inoculations) to improve the growth of coriander. Furthermore, foliar application at a concentration of 3 g/L and soil application at a concentration of 5 mg/kg soil by  $ZnSO_4$  along with *B. cepacia* inoculation were the best treatments for increasing quantitative and qualitative characteristics of coriander.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, *Coriandrum sativum*, Germination and vegetative traits, Plant growth promoting bacteria, Photosynthetic pigment.

## بهبود خصوصیات کمی و کیفی گشنیز با استفاده از باکتری بومی حل کننده روی و سولفات روی در شرایط گلخانه‌ای

اسماعیل بخشنده<sup>۱\*</sup>، فاطمه دواتگر<sup>۲</sup>، حسین مرادی<sup>۳</sup>

۱- نویسنده مسئول و استادیار پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.  
e.bakhshandeh@sanru.ac.ir

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی گرایش گیاهان دارویی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.  
fatemedavatgar@gmail.com

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.  
moradiho@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۱

### چکیده

اغلب کشاورزان به منظور افزایش محصول، از کودهای شیمیایی استفاده می‌کنند که این کودها علاوه بر نقش مثبت بر رشد گیاه باعث آسیب به خاک و محیط زیست می‌شوند. امروزه جهت جلوگیری از این آلودگی‌ها و افزایش راندمان تولید محصولات کشاورزی مخصوصاً گیاهان دارویی، استفاده از کودهای زیستی و بیولوژیکی به عنوان روش جایگزین مناسب برای کودهای شیمیایی معرفی شدند. گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) با توجه به ترکیبات دارویی موجود در آن از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین مطالعه حاضر به صورت دو آزمایش مجزا انجام گردید: آزمایش اول، ارزیابی روش‌های مختلف تلقیح باکتری حل‌کننده عنصر روی (*Burkholderia cepacia*) که در سه سطح شامل بدون تلقیح (شاهد)، بذر مال و خاک مصرف بودند. در آزمایش دوم نیز تأثیر تیمارهای مختلف کود سولفات روی به دو صورت محلول پاشی و خاک مصرف به همراه حضور و عدم حضور باکتری بر برخی صفات جوانه‌زنی، رویشی و فیتوشیمیایی گیاه گشنیز مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج آزمایش اول نشان داد که تلقیح باکتری موجب افزایش معنی‌دار صفات جوانه‌زنی، صفات رویشی و رنگدانه‌های فتوسنتزی (۱۱۶/۷۲-۳ درصد در تیمار بذر مال و ۱۰۳/۱۰-۱۲۳ درصد در تیمار خاک مصرف بسته به نوع صفت) نسبت به شرایط عدم تلقیح شد و بین روش‌های تلقیح اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت. در آزمایش دوم نیز کاربرد باکتری *B. cepacia* به طور میانگین موجب افزایش حداکثر درصد و سرعت سبز شدن، کلروفیل کل، مقدار فنل و فلاونوئید در برگ، گایاکول و سوپراکسیددیسموتاز به ترتیب ۳/۹۴، ۱۱/۱، ۳/۹۲، ۶۱/۱ و ۷/۱۸ درصد نسبت به تیمار عدم تلقیح شد. همچنین، از میان تیمارهای سولفات روی مورد مطالعه می‌توان تیمار محلول پاشی ۳ گرم در لیتر و خاک مصرف ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم را به عنوان بهترین تیمارهای برای افزایش کمیّت و کیفیت گیاه دارویی گشنیز پیشنهاد نمود.

**کلمات کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، باکتری افزایش‌دهنده رشد گیاه، رنگدانه‌های فتوسنتزی، صفات جوانه‌زنی و رویشی، *Coriandrum sativum*

## مقدمه

گشنیز با نام علمی (*Coriandrum sativum* L.) گیاهی یکساله که از قدیم به عنوان یک گیاه دارویی مورد توجه بوده است. این گیاه دارای ترکیبات مهمی از جمله لینالول، پینن، لیمونن، کامفور، استات ژرانیل، ژرانیل، اسیدهای چرب (اسید لینولئیک، اسید اولئیک)، گلیکوزیدهای فلاونوئیدی، مانیتول، روغن فرار و فلاونوئیدها می باشد (Silva et al., 2020). گشنیز حاوی اسانس در بذر و اندام‌های رویشی خود می باشد که از اسانس آن در صنایع غذایی، آرایشی بهداشتی، نوشابه سازی و تولید شکلات استفاده می شود (Bigonah et al., 2014). از دیگر خصوصیات این گیاه می توان به خاصیت ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد چربی خون، آنتی اکسیدانی، ضد دیابت، ضد جهش و ضد سرطان اشاره نمود. همچنین مصرف آن در بیماری های عفونی مانند تب تیفوئید و در کل بیماری هایی با منشأ باسیل توصیه شده است (Darughe et al., 2012).

اغلب موارد کشاورزان به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، از کودهای شیمیایی استفاده می کنند. مصرف بیش از حد این گونه کودها طی سالیان اخیر موجب افت کیفیت محصولات کشاورزی، کاهش تنوع زیستی، ایجاد مشکلات متعدد زیست محیطی مانند آلودگی منابع آب، کاهش میزان باروری خاک، آلودگی محیط زیست و انتقال زنجیره وار آن ها به منابع غذایی انسان ها شده که تهدیدی برای سلامت جامعه بشری می باشد (Omidi et al., 2009). در نتیجه، انجام مطالعات گسترده ای در سال های اخیر در راستای بهبود و حفظ باروری خاک، بهبود کیفیت محصولات کشاورزی، حذف آلاینده های و کاهش اثرات مخرب زیست محیطی به همراه افزایش عملکرد، مخصوصاً در گیاهان دارویی، با به کارگیری روش های جایگزین و نوین ضروری می باشد (Inanloofar et al., 2013). یکی از این روش های جایگزین جهت دستیابی به

اهداف کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی است.

امروزه برای بهبود رشد و تأمین عناصر غذایی، استفاده از ریزجانداران افزایش یافته رشد به صورت همزیست یا آزادی در ناحیه ریزوسفر ریشه گیاه مورد توجه قرار گرفته است. در حال حاضر استفاده از این ریزجانداران به صورت کودهای زیستی می تواند جایگزینی مناسب برای کودهای شیمیایی به شمار آید (Bakhshandeh et al., 2015). باکتری های ریزوسفری افزایش رشد گیاه از جمله ریزجاندارانی هستند که امروزه به طور گسترده به تنهایی و یا در ترکیب با کودهای شیمیایی برای بهبود عملکرد و حاصلخیزی خاک در راستای رسیدن به کشاورزی پایدار استفاده می شوند (Mahmood et al., 2016). این ریزجانداران معمولاً به روش های مختلفی به کار برده می شوند که از جمله آن می توان به تلقیح بذر (Bakhshandeh et al., 2020; Nazari et al., 2014)، تلقیح ریشه (Moghaddasan et al., 2015; Bakhshandeh et al., 2015)، تلقیح بذر به همراه محلول پاشی برگ (Duy et al., 2016) و یا کاربرد مستقیم در خاک (Kazemitabar, 2013) اشاره نمود. در مجموع، این ریزجانداران به دو روش یعنی روش مستقیم: همزیستی با گیاه میزبان برای تثبیت نیتروژن اتمسفری، حل کردن و یا قابل استفاده کردن برخی از ترکیبات معدنی از قبیل فسفر، پتاسیم، روی از طریق تولید آنزیم یا اسیدهای آلی و تولید هورمون های رشدی گیاه از قبیل اکسین، جیبرلین، سیتوکنین و اتیلن و روش غیرمستقیم یعنی تولید اسید سیانیدریک، آنتی بیوتیک ها، سیدروفورها، تولید آنزیم های تخریب کننده دیواره سلولی و رقابت با ریزجانداران مضر و زیان آور در ناحیه ریشه گیاه میزبان موجب بهبود رشد آن می شوند (Ahemad and Kibret, 2014).

تأمین عناصر غذایی برای گیاه دارویی می تواند نقش مهمی در افزایش کیفیت و کمیّت عملکرد و ماده ی مؤثره آن ها داشته باشد، که در این میان اهمیت عناصر

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر باکتری افزایش‌دهنده رشد و عنصر روی بر برخی صفات سبزشدن، رویشی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی گشنیز دو آزمایش به صورت مجزا در شرایط گلخانه‌ای، در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. آزمایش اول به منظور ارزیابی روش‌های مختلف تلقیح (بدون تلقیح به عنوان شاهد، بذرمال و خاک مصرف) با باکتری *Burkholderia cepacia* (باکتری حل‌کننده عنصر روی) به صورت طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. در حالی‌که، آزمایش دوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل حضور باکتری (روش بذرمال منتخب از آزمایش اول) و عدم حضور باکتری (شاهد) بود و فاکتور دوم نیز پنج تیمار کاربرد سولفات روی (۹۰ درصد آزمایشگاهی) شامل دو سطح محلول‌پاشی برگی (۱/۵ و ۳ گرم در لیتر) به صورت اسپری روی برگ در زمان چهار برگی، دو سطح خاک مصرف (۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) به صورت محلول در آب بلافاصله بعد از کشت و شاهد عدم کاربرد سولفات روی بودند. این مقادیر بر اساس مطالعات محققین قبل بر روی گیاه گشنیز تعیین شدند (Riyazi, et al., 2016; Panahyan Kivi, 2019). برای یکسان کردن شرایط آزمایشگاهی در زمان کشت، گلدان‌های مربوط به تیمار محلول‌پاشی نیز با مقدار برابر آب استفاده شده در تیمار خاک مصرف بلافاصله بعد از کشت آبیاری شدند. همچنین، در زمان محلول‌پاشی (چهار برگی) نیز گلدان‌های مربوط به تیمارهای خاک مصرف با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. در مطالعه حاضر از گلدان‌هایی با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۲ سانتی‌متر استفاده گردید. میزان خاک مصرفی در هر گلدان حدود یک کیلوگرم و ترکیبی از خاک مزرعه، کود دامی پوسیده و پرلیت با نسبت‌های ۱:۱:۲ بود که نتایج آنالیز خاک در جداول شماره ۱ ارائه شده است.

پرمصرف از قبل مشخص بوده اما نقش عناصر کم‌مصرف تا حدی ناشناخته باقی مانده و کاربرد آن‌ها کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است (Heidari et al., 2008). عناصر کم‌مصرف با مقادیر کم مورد استفاده قرار می‌گیرند اما آثار معناداری بر رشد گیاه برجای می‌گذارند. در مجموع در صورت کمبود، این عناصر می‌توانند به عنوان عامل محدودکننده جذب سایر عناصر غذایی و رشد عمل کنند و همین امر لزوم توجه به کاربرد آن‌ها را مشخص می‌نماید (Mikula et al., 2020). در بین این عناصر، عنصر روی در بسیاری از فعالیت‌های آنزیمی و مسیرهای مهم بیوشیمیایی مرتبط با متابولیسم کربوهیدرات‌ها شامل فتوسنتز و تبدیل قندها به نشاسته، متابولیسم پروتئین، متابولیسم اکسین، تشکیل دانه گرده، حفظ یکپارچگی غشای‌های سلولی و همچنین مقاومت به عوامل بیماری‌زا مؤثر می‌باشد (Moradi Telavat et al., 2015). از این رو کاربرد این عنصر می‌تواند تأثیر بسزایی در کیفیت و کمی تولید محصولات داشته باشد.

پیش تیمار بذر به عنوان یک راهکار آسان، کم‌هزینه و سریع جهت بهبود رشد و نمو گیاهان پیشنهاد شده است. پیش تیمار زیستی بذر روشی است که در آن به جای تیمار شیمیایی، از ریزجانداران مفید و عوامل زیستی مانند قارچ‌ها و باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد استفاده می‌شود (Bennett and Whipps, 2008). با وجود مطالعات متعدد انجام‌شده روی گیاه گشنیز، تاکنون گزارشی در خصوص بررسی اثر هم‌زمان عنصر روی و باکتری حل‌کننده روی بر رشد این گیاه ارائه نشده است. بنابراین پژوهش حاضر جهت معرفی روش تلقیح مناسب به همراه بررسی کاربرد سولفات روی به صورت مستقل و همچنین به همراه باکتری حل‌کننده روی در بهبود صفات سبزشدن، رویشی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی گشنیز در شرایط کشت گلخانه‌ای انجام شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک گلدان.

Table 1- Physiochemical analysis of the pot soil.

Soil texture	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)	Organic carbon (%)	pH	EC (dS m <sup>-1</sup> )	TNV (%)
Loam	17	34	49	3.25	7.36	1.22	14.5
Cu Available (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn Available (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn Available (mg kg <sup>-1</sup> )	Fe Available (mg kg <sup>-1</sup> )	Mg Available (mg kg <sup>-1</sup> )	K Available (mg kg <sup>-1</sup> )	P Available (mg kg <sup>-1</sup> )	Total nitrogen (%)
1.10	0.87	7.28	8.26	160	345	16.1	0.32

شد. در نهایت، پس از شش برگی شدن گیاهان داخل گلدان برداشت شده و صفات سبزشدن، رویشی و فیتوشیمیایی گیاه گشیز در هر دو آزمایش به صورت زیر اندازه گیری گردید.

### اندازه گیری صفات

#### اندازه گیری صفات سبز شدن

بعد از کشت بذرها، گیاهچه های سبز شده به صورت روزانه در ساعت ۱۰ صبح شمارش شدند. شمارش تا زمانی ادامه یافت که حداقل سه روز متوالی به تعداد گیاهچه های سبز شده در هر گلدان اضافه نشود. در آخر، درصد و سرعت سبزشدن در هر یک از تیمارها با استفاده از برنامه جرمین محاسبه گردید (Soltani and Maddah, 2010).

#### اندازه گیری رنگدانه های فتوسنتزی

جهت اندازه گیری رنگدانه های فتوسنتزی از روش استون ۸۰ درصد استفاده شد (Aron, 1949). به طور خلاصه، بعد از آماده سازی نمونه ها، عصاره هر نمونه در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید و براساس روابط ۱-۴ محاسبه رنگدانه های فتوسنتزی انجام شد.

(رابطه ۱):

$$\text{Chla mg/g FW} = [12.7(\text{A663}) - 2.69(\text{A645})] \times \text{V}/1000 \times \text{FW}$$

(رابطه ۲):

$$\text{Chlb mg/g FW} = [22.9(\text{A645}) - 4.68(\text{A663})] \times \text{V}/1000 \times \text{FW}$$

باکتری مورد استفاده نیز از پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان (ایران، ساری) تهیه شد. این باکتری توانایی حل کنندگی ۷۸ میکرولیتر در میلی لیتر اکسید روی نامحلول در شرایط آزمایشگاهی پس از گذشت ۱۵ روز در دمای ۲۸±۱ درجه سانتی گراد را دارد. به طور خلاصه، برای مطالعه حاضر جدایه باکتری *Burkholderia cepacia* در محیط کشت مایع نیترونت برات (۸ گرم بر لیتر) و در انکوباتور شیکردار (۱۲۰ دور در دقیقه) در دمای ۲۸±۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت مطابق با روش پیشنهاد شده توسط بخشنده و همکاران (Bakhshandeh et al., 2015) رشد داده شد. سپس محیط کشت باکتری در آب مقطر استریل شده برای رساندن به جمعیت حدود ۱۰<sup>۷</sup> سلول زنده در میلی لیتر باکتری رقیق شد. از سوسپانسیون رقیق شده در روش تلقیح بذرمال استفاده شد. به این صورت که، بذرها به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰ میلی لیتر از سوسپانسیون حاوی باکتری با جمعیت حدود ۱۰<sup>۷</sup> سلول زنده در میلی لیتر غوطه ور شدند. سپس بذرها به کمک آبکش از سوسپانسیون خارج و بلافاصله به گلدان های مورد نظر انتقال یافت. در روش تلقیح خاک مصرف، ۱۶۵ میلی لیتر سوسپانسیون باکتری با جمعیت حدود ۱۰<sup>۷</sup> سلول زنده در میلی لیتر در هر گلدان استفاده شد (مقدار رطوبت لازم برای مرطوب کردن کل خاک گلدان). در هر دو روش، بذرها در عمق ۳ سانتی متر از سطح خاک به صورت دستی کشت گردید. کلیه عملیات در دوره رشد تحت شرایط مطلوب مدیریتی (درجه حرارت حدود ۱۵±۳ درجه سانتی گراد)، نور (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) آبیاری هر چهار روز یکبار) انجام

(رابطه ۳):

نانومتر قرائت شد و میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید (Chang et al, 2002).

$$\text{TotalChl mg/g FW} = [20.2(A645) + 8.02(A663)] \times V/1000 \times \text{FW}$$

(رابطه ۴):

$$\text{Carotenoides} = 1000(A470) - 3.27(\text{mg Chla}) - 104(\text{mg Chlb})/229$$

که در آن، A؛ جذب نوری نمونه‌ها، V؛ حجم نهایی استون مصرفی، FW؛ وزن بافت تر برگ می‌باشند.

### اندازه‌گیری وزن خشک برگ و ریشه

نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. سپس جهت اندازه‌گیری وزن خشک برگ و ریشه از ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد.

### اندازه‌گیری فنل

محتوی تام فنولیک طبق روش اسلینکارد و سینگلتون و با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. ابتدا به ۲۰ میکرولیتر از عصاره گیاه ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالتیو افزوده شد، سپس ۱/۶ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و ۵ دقیقه به مخلوط مورد نظر استراحت داده شد. در ادامه به هر نمونه ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۱ مولار اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان تام فنولیک بر اساس میزان معادل میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره اندازه‌گیری و گزارش گردید (Slinkard and singleton, 1977).

### اندازه‌گیری فلاونوئید

محتوی تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیم اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، به نیم میلی‌لیتر از نمونه، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول کلرید آلومینیم ۱۰ درصد حل شده در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در شرایط تاریکی، در طول موج ۴۱۵

### اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان

جهت اندازه‌گیری درصد مهار آنتی‌اکسیدانی از رادیکال آزاد DPPH (۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) استفاده شد (Ebrahimzadeh et al., 2009). به این صورت که یک میلی‌لیتر از عصاره با یک میلی‌لیتر محلول رادیکال آزاد DPPH ۱۰ میکرومولار مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی نگهداری شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد و درصد مهار از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%IP = (A \text{ control} - A \text{ sample} / A \text{ control}) \times 100$$

که در آن، %IP: درصد مهار رادیکال‌های آزاد، A: control جذب شاهد و A Sample: جذب نمونه می‌باشند.

### اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

جهت اندازه‌گیری آنزیم SOD، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) حاوی EDTA (۰/۱ mM) ۱۵۰۰ میکرولیتر، کربنات سدیم (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ۵۰ میلی‌مولار (pH=۱۰/۲) ۳۰۰ میکرولیتر، متیونین (L-Methionine) ۱۲ میلی‌مولار ۳۰۰ میکرولیتر، نیتروبلوتترازولیوم کلراید (NBT) ۷۵ میکرومولار ۳۰۰ میکرولیتر، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار ۳۰۰ میکرولیتر و عصاره آنزیمی ۳۰۰ میکرولیتر مخلوط گردید. پس از آن که مخلوط به هم زده شد، چاهک اسپکتروفتومتر به مدت ۱۰ دقیقه در زیر لامپ فلورسنت ۱۵ وات با فاصله ۳۵ سانتی‌متر در یک اتاقک و دمای کمتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. با خاموش کردن لامپ واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت آنزیم SOD برابر است با مقدار آنزیمی که می‌تواند ۵۰ درصد مانع از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید گردد (Giannopolitis and Ries, 1977).

## اندازه‌گیری آنزیم گایاکول پراکسیداز

جهت اندازه‌گیری این آنزیم از مخلوط بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7) ۱۷۰۰ میکرولیتر، گایاکول (۲۰ میلی‌مولار) ۶۰۰ میکرولیتر، عصاره آنزیمی ۶۰۰ میکرولیتر، آب اکسیژنه (۱۰ میلی‌مولار) ۱۰۰ میکرولیتر استفاده شد. جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر در دو بار با فاصله زمانی دو دقیقه قرائت گردید (ضریب خاموشی برابر است با  $2676 \text{ mMcm}^{-1}$ ) (Chance and Maehly, 1955).

در پایان نیز تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایشی به‌دست آمده با نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### آزمایش اول: ارزیابی روش‌های مختلف تلقیح

نتایج این پژوهش نشان داد که صفات کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ درصد و صفات کلروفیل b، کاروتنوئید، فلاونوئید برگ، حداکثر درصد سبزشدن، سرعت سبزشدن، وزن خشک برگ و ریشه در سطح

احتمال ۵ درصد تحت تأثیر کاربرد باکتری *B. cepacia* قرار داشتند (جدول ۲). همچنین، بین روش‌های مختلف تلقیح از نظر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). در واقع، وجود باکتری *B. cepacia* باعث بهبود وضعیت رنگیزه‌های فتوسنتزی و صفات رویشی گشنیز شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که استفاده از هر دو روش تلقیح (بذر مال و خاک مصرف) موجب افزایش معنی‌دار صفات مورد مطالعه نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳ و شکل ۱). اگرچه بین روش‌های تلقیح، اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد اما در روش خاک مصرف صفات مقادیر بالاتری رو به خود اختصاص دادند. درصد تغییرات هر یک از صفات نسبت به تیمار شاهد در جدول ۳ و شکل ۱ ارائه شده است. به هر حال، به دلیل عدم اختلاف بین روش‌های تلقیح مورد بررسی، کاربردی بودن، مقدار مصرف پایین‌تر سوسپانسیون باکتری، هزینه کمتر و اطمینان از استقرار جمعیت بالاتر باکتری در اطراف بذر از روش تلقیح بذر مال برای ادامه کار به جای روش خاک مصرف استفاده گردید.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورد مطالعه گشنیز در آزمایش اول.

Table 2- Analysis of variance of the experimental treatments on the studied traits of coriander in experiment I.

Sources of variance	df	Maximum emergence	Emergence Rate	<sup>1</sup> Chl a	Chl b	Total Chl	Carotenoid	Leaves dry weight	Root dry weight	<sup>2</sup> FCL	<sup>3</sup> FCR	Guaiacol	<sup>4</sup> SOD
Inoculation methods	2	379.1*	0.00181*	637**0	176*.0	2.385**	5.173*	0.011*	0.00040*	0.0481*	0.0020*	0.000004 <sup>ns</sup>	0.040 <sup>ns</sup>
Error	6	82.14	0.00036	0.047	0.019	0.034	1.01	0.002	0.00006	0.0070	0.0005	0.000001	0.091
CV (%)	-	12.2	16.4	6.94	10.1	4.15	14.6	12.8	16.4	11.5	13.5	10.6	14.1

Chl، کلروفیل؛ FCL، مقدار فلاونوئید در برگ؛ FCR، مقدار فلاونوئید در ریشه و SOD، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند.

\*\* و \* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns، غیرمعنی‌دار می‌باشند.

1. Chl, Chlorophyll; 2. FCL, Flavonoid content in leaves; 3. FCR, Flavonoid content in root and 4. SOD, Superoxide dismutase enzyme.

\*\* and \* significant at 1 and 5% probability level, respectively. ns: non-significant

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه تحت تأثیر روش‌های مختلف تلقیح با باکتری *Burkholderia cepacia* در گیاه گشنیز در آزمایش اول. اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد اختلاف هر یک از تیمارها نسبت به تیمار شاهد می‌باشند.

**Table 3- Mean comparison of the studied traits affected by different methods of *Burkholderia cepacia* inoculation in coriander in experiment I. Values in parentheses indicate percentage change in the respective studied traits in comparison with the control condition.**

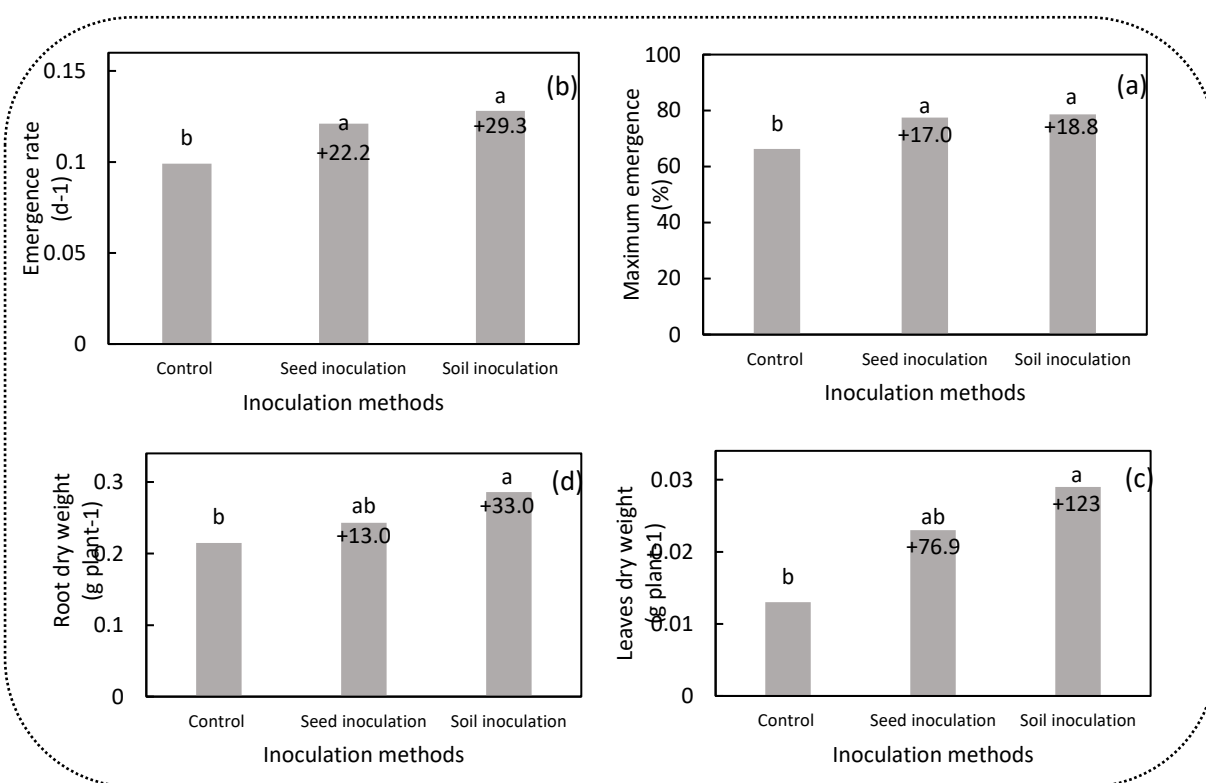
Treatments	<sup>1</sup> Chl a (mg g <sup>-1</sup> FW)	Chl b (mg g <sup>-1</sup> FW)	Total Chl (mg g <sup>-1</sup> FW)	Carotenoid (mg g <sup>-1</sup> FW)	<sup>2</sup> FCL (mg quercetin g <sup>-1</sup> DW)	<sup>3</sup> FCR (mg quercetin g <sup>-1</sup> DW)	Guaiacol (g FW)	<sup>4</sup> SOD (IC <sub>50</sub> )
Control	2.46 <sup>b</sup>	1.02 <sup>b</sup>	3.11 <sup>b</sup>	4.92 <sup>b</sup>	0.645 <sup>b</sup>	0.043 <sup>b</sup>	0.0020 <sup>a</sup>	6.64 <sup>a</sup>
Seed Inoculation	3.39 (+37.8) <sup>a</sup>	1.50 (+47.0) <sup>a</sup>	4.90 (+57.5) <sup>a</sup>	7.242 (+47.2) <sup>a</sup>	0.880 (+36.4) <sup>a</sup>	0.093 (+116.2) <sup>a</sup>	0.0042 (+110) <sup>a</sup>	6.66 (+0.30) <sup>a</sup>
Soil Inoculation	3.37 (+37.0) <sup>b</sup>	1.51 (+48.0) <sup>a</sup>	4.89 (+57.2) <sup>a</sup>	7.75 (+57.5) <sup>a</sup>	0.665 (+3.10) <sup>ab</sup>	0.063 (+46.5) <sup>ab</sup>	0.0032 (+60.0) <sup>a</sup>	6.85 (+3.16) <sup>a</sup>

Chl، کلروفیل؛ FCL، مقدار فلاونوئید در برگ؛ FCR، مقدار فلاونوئید در ریشه و SOD، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند.

میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

1. Chl, Chlorophyll; 2. FCL, Flavonoid content in leaves; 3. FCR, Flavonoid content in root and 4. SOD, Superoxide dismutase enzyme.

The columns followed by a similar letter are not significantly different according to the Duncan's Multiple Range Test at 0.05 probability level.



شکل ۱- مقایسه میانگین صفات حداکثر درصد سبز شدن (a)، سرعت سبز شدن (b)، وزن خشک برگ (c) و وزن خشک ریشه (d) تحت تأثیر روش‌های مختلف تلقیح با باکتری *Burkholderia cepacia* در گیاه گشنیز در آزمایش اول. اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد اختلاف هر یک از تیمارها نسبت به تیمار شاهد می‌باشند.

**Fig 1- Mean comparison of the maximum emergence percentage (a), emergence rate (b), leaves dry weight (c) and root dry weight (d) affected by different methods of *Burkholderia cepacia* inoculation in coriander in experiment I. Values in parentheses indicate percentage change in the respective studied traits in comparison with the control condition.**



در مطالعه خود برتری روش خاک مصرف را نسبت به بذرمال بیان کردند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. ایشان علت برتری روش خاک مصرف را به جمعیت بالاتر باکتری در خاک پس از کاربرد این روش نسبت دادند. در مقابل، دقیقان و همکاران (Daghighian et al., 2011) روش تلقیح بذر به همراه محلول دهی پای بوته (جهت اطمینان از حضور باکتری در اطراف ریشه) در مرحله گیاهچه‌ای در لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) را به عنوان بهترین روش برای رسیدن به بالاترین عملکرد دانه در این گیاه گزارش نمودند. به هر حال، انتخاب بهترین روش تلقیح بسته به نوع گیاه میزبان، شرایط منطقه و خصوصیات خاک ممکن است متفاوت باشد.

#### آزمایش دوم: ارزیابی باکتری *B. cepacia* در زمان کاربرد تیمارهای مختلف سولفات روی

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که برخی از صفات مورد مطالعه از قبیل حداکثر درصد و سرعت سبزشدن، کلروفیل a و کل، مقدار فلاونوئید در برگ و آنزیم گایاکول پراکسیداز به طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح با باکتری *B. cepacia* قرار گرفتند (جدول ۴). اثر تیمارهای سولفات روی بر صفات حداکثر درصد و سرعت سبزشدن، کلروفیل a، کاروتنوئید، مقدار فنل و فلاونوئید در برگ، آنزیم گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز معنی‌دار بود اما، اثر متقابل بین تیمارها در صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول ۴).

باتوجه به نتایج بدست آمده مقایسه میانگین داده‌های این پژوهش، تلقیح بذر با باکتری *B. cepacia* موجب افزایش درصد سبزشدن (۱۶/۵ درصد) و سرعت سبزشدن (۷/۷۳ درصد) نسبت به تیمار بدون تلقیح شد (شکل ۲). در بین تیمارهای سولفات روی مورد استفاده نیز تیمار محلول پاشی ۳ گرم در لیتر و خاک مصرف ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به ترتیب با افزایش ۲۶/۹ و ۱۹/۷ درصدی صفت درصد سبزشدن و ۴/۷۵ و ۱۵/۳ درصدی سرعت سبزشدن نسبت به تیمار شاهد (بدون مصرف کود) در جایگاه

در حقیقت، وجود باکتری *B. cepacia* چه به صورت بذرمال و چه به صورت خاک مصرف نسبت به تیمار عدم استفاده از باکتری موجب بهبود صفات گیاه گشیز شد که علت آن را می‌توان به افزایش قابلیت دسترسی این عنصر برای گیاه در زمان حضور باکتری نسبت داد. باکتری‌های حل‌کننده روی از طریق سازوکارهای مختلف از قبیل تولید اسیدهای آلی جهت کاهش pH خاک در منطقه ریزوسفر، کلات کردن عنصر روی، تغییر ساختار ریشه و تولید آگروپولی‌ساکاریدها موجب افزایش جذب این عنصر و در نهایت بهبود خصوصیات رشدی گیاه میزبان خواهند شد (Hussain et al., 2018). از رایج‌ترین روش‌های کاربرد ریزجانداران افزایش‌دهنده رشد می‌توان به تلقیح بذر (پوشش دادن دانه)، پلیت کردن، تلقیح ریشه، کاربرد مستقیم در خاک، و محلول‌پاشی برگ و یا استفاده از سوسپانسیون در آب آبیاری اشاره نمود (Mahmood et al., 2016). به عبارت دیگر، تلقیح بذر و یا ریشه برنج با باکتری‌های *Pseudomonas putida*، *Pseudomonas Rahnella aquatilis* و *Enterobacter sp. fluorescens* (Bakhshandeh et al., 2015, 2017)، تلقیح بذر شنبلیله با باکتری *Azotobacter chroococcum* و خاک با قارچ *Glomus intraradices* (Nazari et al., 2014)، تلقیح خاک با قارچ میکرووریزا در گیاه دارویی همیشه‌بهار و پروانش (Rahmatzadeh and Kazemitabar, 2013)؛ و *Moghaddasan et al., 2015*) و تلقیح بذر به همراه محلول‌پاشی برگ برنج با *Pseudomonas sp.* و *Azospirillum sp.* (Duy et al., 2016) نیز توسط سایر محققین گزارش گردیده است. هر یک از این محققین یکی از روش‌های فوق را به عنوان بهترین روش تلقیح گزارش نمودند. رحمان و همکاران (Rehman et al., 2018) بالاترین عملکرد دانه گندم (۲۷/۱ درصد) بیشتر از تیمار شاهد) و سود خالص اقتصادی را در زمان تلقیح بذر با عنصر روی به همراه باکتری *Pseudomonas sp. MN12* گزارش کردند. محمود و همکاران (Mahmood et al., )

ریزجانداران افزایشده رشد بر جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه و جذب عناصر غذایی تحت شرایط مطلوب و یا تنش در گیاهان مختلف از قبیل شوید (Faghieh Abdollahi et al., 2013)، فلفل (Mohammadi Kashka et al., 2016) و بامیه (Mukhtar, 2008) نیز گزارش گردید.

کاربرد باکتری *B. cepacia* باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید به میزان ۹/۶۳، ۱۷/۷، ۳/۹۴ و ۱۱/۱ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد باکتری شد (جدول ۵). در میان تیمارها مورد مطالعه نیز تیمار محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارهای برتری داشت و کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید در این تیمار به ترتیب ۱۴/۶، ۲۳/۵، ۱۸/۱ و ۳۰/۱ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد (جدول ۵). در واقع، عنصر روی در ساختار آنزیم کربنیک آنهیدراز وجود داشته و در تشکیل کلروفیل و نیز تنظیم غلظت مواد غذایی در سیتوپلاسم نقش دارد (Kosesakal and Unal, 2009). همچنین این عنصر از طریق افزایش تولید رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید و حفاظت از کلروپلاست موجب بهبود مکانیسم فتوسنتزی در گیاه *Ceratophyllum demersum* L. شد (Aravind and Prasad, 2004).

بهتری نسبت به سایر تیمارها قرار داشتند (شکل ۲). این نتایج بیانگر این مطلب می‌باشد که حضور باکتری *B. cepacia* یا استفاده بهینه از سولفات روی می‌تواند اثر مثبتی در سبزشدن گشنیز نسبت به تیمار شاهد داشته باشد که علت آن را می‌توان به دسترسی بیشتر گیاه به جذب عنصر روی و افزایش غلظت این عنصر در بافت‌های مختلف بذر نسبت داد. افزایش غلظت عنصر روی در کل دانه، جنین، آلورن و آندوسپرم گندم پس از کاربرد همزمان عنصر روی و باکتری *Pseudomonas sp. MN1* نیز گزارش گردید (Rehman et al., 2018). بخشنده و همکاران (Bakhshandeh et al., 2020) پس از بررسی بیست و یک ریزجاندار افزایشده رشد (باکتری و قارچ) بر روی گیاه سویا بیان نمودند که حضور این ریزجانداران به‌طور میانگین باعث افزایش معنی‌دار صفات درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه به ترتیب ۲/۱۶، ۱۰/۸، ۳۹/۵، ۹/۱۸، ۸/۷۸، ۷/۶۲ و ۶/۶۱ درصد در شرایط مطلوب، ۴/۳۰، ۲۰/۸، ۶۰/۲، ۲۳/۵، ۴۱/۳، ۱۱/۱ و ۲۵/۳ درصد در تنش خشکی و ۹/۲۵، ۲۷/۳، ۱۴/۸، ۴۵/۴، ۱۱/۶ و ۱۴/۳ درصد در تنش شوری نسبت به تیمار شاهد شدند. علاوه بر این، اثر مثبت

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورد مطالعه گشنیز در آزمایش دوم.

**Table 4- Analysis of variance of the experimental treatments on the studied traits of coriander in experiment II.**

Chl، کلروفیل؛ PCL، مقدار فنل برگ؛ PCR، مقدار فنل ریشه؛ FCL، مقدار فلاونوئید در برگ؛ FCR، مقدار فلاونوئید در ریشه و SOD، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند.

\*\* و \* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns، غیرمعنی‌دار می‌باشند.

Sources of variance	df	Maximum emergence	Emergence Rate	<sup>1</sup> Chla	Chl b	Total Chl	Carotenoid	<sup>2</sup> PCL	<sup>3</sup> PCR	<sup>4</sup> FCL	<sup>5</sup> FCR	Guaiacol	<sup>6</sup> SOD
Inoculation (I)	1	597.3*	0.00072*	0.063**	0.377 <sup>ns</sup>	2.04*	3.98 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>	0.00010 <sup>ns</sup>	0.228**	0.0005 <sup>ns</sup>	0.0000056*	3.056 <sup>ns</sup>
ZnSo <sub>4</sub> (Zns)	4	214.4**	0.00031*	0.204*	0.087 <sup>ns</sup>	0.65 <sup>ns</sup>	3.01*	0.0038*	0.00010 <sup>ns</sup>	0.090*	0.0006 <sup>ns</sup>	0.0000035**	1.730**
I × Zns	4	175.3 <sup>ns</sup>	0.00018 <sup>ns</sup>	0.124 <sup>ns</sup>	0.080 <sup>ns</sup>	0.49 <sup>ns</sup>	1.99 <sup>ns</sup>	0.0010 <sup>ns</sup>	0.00008 <sup>ns</sup>	0.009 <sup>ns</sup>	0.0008 <sup>ns</sup>	0.0000045 <sup>ns</sup>	0.669 <sup>ns</sup>
Error	20	103.4	0.00001	0.120	0.091	0.44	1.76	0.0008	0.00010	0.021	0.0010	0.0000012	1.680
CV (%)	-	13.8	9.60	10.9	11.8	14.6	15.2	10.5	16.5	13.8	11.5	16.8	14.9

1. Chl, Chlorophyll; 2. PCL, Phenol content in leaf; 3. PCR, Phenol content in root; 4. FCL, Flavonoid content in leaves; 5.FCR, Flavonoid content in root and 6. SOD, Superoxide dismutase enzyme.

\*\* and \* significant at 1 and 5% probability level, respectively. ns: non-significant

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه تحت تأثیر تلقیح با باکتری *Burkholderia cepacia* و تیمارهای مختلف سولفات روی در گیاه گشنیز در آزمایش دوم. اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد اختلاف هر یک از تیمارها نسبت به تیمار شاهد می‌باشند.

**Table 5- Mean comparison of the studied traits affected by *Burkholderia cepacia* inoculation and different treatments of zinc sulfate in coriander in experiment II. Values in parentheses indicate percentage change in the respective studied traits in comparison with the control condition.**

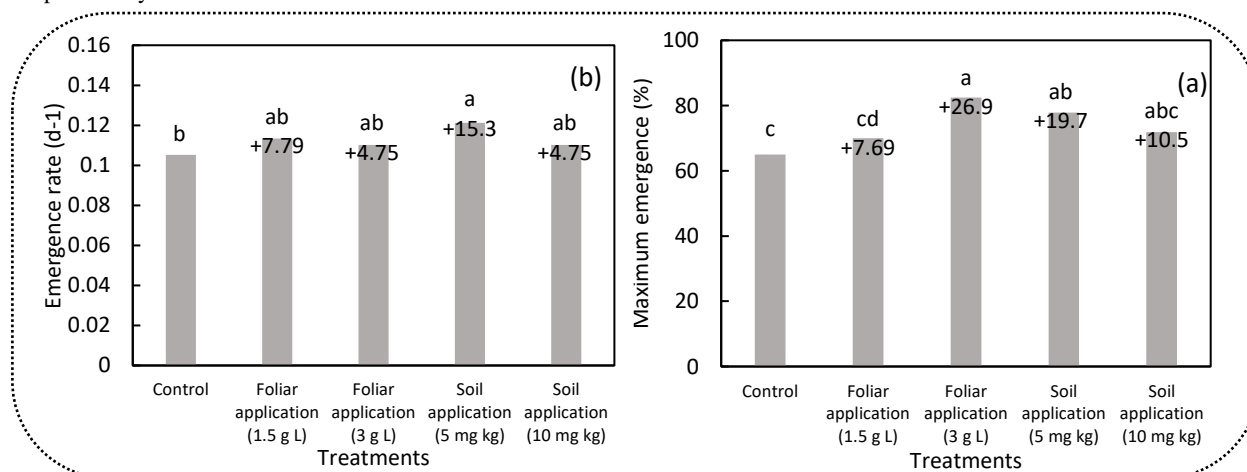
Treatment	<sup>1</sup> Chl a (mg g <sup>-1</sup> FW)	Chl b (mg g <sup>-1</sup> FW)	Total Chl (mg g <sup>-1</sup> FW)	Carotenoid (mg g <sup>-1</sup> FW)	<sup>2</sup> PCL (mg gallic acid g <sup>-1</sup> DW)	<sup>3</sup> PCR (mg gallic acid g <sup>-1</sup> DW)	<sup>4</sup> FCL (mg quercetin g <sup>-1</sup> DW)	<sup>5</sup> FCR (mg quercetin g <sup>-1</sup> DW)	Guaiacol (g FW)	<sup>6</sup> SOD (IC <sub>50</sub> )
<b>Inoculation methods</b>										
Without inoculation	3.01 <sup>b</sup>	1.30 <sup>a</sup>	4.32 <sup>b</sup>	6.54 <sup>a</sup>	0.278 <sup>a</sup>	0.028 <sup>a</sup>	0.547 <sup>b</sup>	0.051 <sup>a</sup>	0.0018 <sup>b</sup>	8.36 <sup>a</sup>
With inoculation	3.30 (+9.63) <sup>a</sup>	1.53 (+17.7) <sup>a</sup>	4.49 (+3.94) <sup>a</sup>	7.27 (+11.1) <sup>a</sup>	0.287 (+3.24) <sup>a</sup>	0.025 (-10.7) <sup>a</sup>	0.720 (+31.6) <sup>ab</sup>	0.063 (+23.5) <sup>a</sup>	0.0029 (+61.1) <sup>a</sup>	8.96 (+7.18) <sup>a</sup>
<b>ZnSO<sub>4</sub> treatments</b>										
0 (Control)	2.87 <sup>b</sup>	1.23 <sup>a</sup>	4.14 <sup>a</sup>	6.14 <sup>b</sup>	0.252 <sup>b</sup>	0.027 <sup>a</sup>	0.461 <sup>b</sup>	0.048 <sup>a</sup>	0.0022 <sup>ab</sup>	7.91 <sup>cd</sup>
1.5 g L Foliar application	3.32 (+15.6) <sup>a</sup>	1.49 (+21.1) <sup>a</sup>	4.83 (+16.7) <sup>a</sup>	7.10 (+15.6) <sup>b</sup>	0.271 (+7.54) <sup>b</sup>	0.025 (-7.41) <sup>a</sup>	0.590 (+28.0) <sup>ab</sup>	0.045 (-6.25) <sup>a</sup>	0.0023 (+4.55) <sup>ab</sup>	7.72 (-2.40) <sup>a</sup>
3 g L Foliar application	3.29 (+14.6) <sup>a</sup>	1.52 (+23.5) <sup>a</sup>	4.89 (+18.1) <sup>a</sup>	7.99 (+30.1) <sup>a</sup>	0.280 (+11.1) <sup>b</sup>	0.021 (-22.2) <sup>a</sup>	0.650 (+41.0) <sup>ab</sup>	0.066 (+37.5) <sup>a</sup>	0.0030 (+36.3) <sup>a</sup>	8.86 (+12.0) <sup>ab</sup>
5 mg kg Soil application	3.09 (+7.67) <sup>ab</sup>	1.35 (+9.76) <sup>a</sup>	4.32 (+4.35) <sup>a</sup>	6.46 (+5.21) <sup>ab</sup>	0.285 (+13.1) <sup>ab</sup>	0.036 (+33.3) <sup>a</sup>	0.875 (+89.8) <sup>a</sup>	0.068 (+41.7) <sup>a</sup>	0.0030 (+36.3) <sup>a</sup>	6.65 (-15.9) <sup>c</sup>
10 mg kg Soil application	3.22 (+12.2) <sup>a</sup>	1.48 (+20.3) <sup>a</sup>	4.73 (+14.2) <sup>a</sup>	6.82 (+11.1) <sup>ab</sup>	0.321 (+27.4) <sup>a</sup>	0.026 (-3.70) <sup>a</sup>	0.610 (+32.3) <sup>ab</sup>	0.060 (+25.0) <sup>a</sup>	0.0011 (-50.0) <sup>b</sup>	9.92 (+25.4) <sup>a</sup>

Chl، کلروفیل؛ PCL، مقدار فنل برگی؛ PCR، مقدار فنل ریشه؛ FCL، مقدار فلاونوئید در برگ؛ FCR، مقدار فلاونوئید در ریشه و SOD، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند.

میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

1. Chl, Chlorophyll; 2. PCL, Phenol content in leaf; 3. PCR, Phenol content in root; 4. FCL, Flavonoid content in leaves; 5. FCR, Flavonoid content in root and 6. SOD, Superoxide dismutase enzyme.

The columns followed by a similar letter are not significantly different according to the Duncan's Multiple Range Test at 0.05 probability level.



شکل ۲- مقایسه میانگین صفات حداکثر درصد سبزشدن (a) و سرعت سبزشدن (b) تحت تأثیر تلقیح با باکتری *Burkholderia cepacia* و تیمارهای مختلف سولفات روی در گیاه گشنیز در آزمایش دوم. اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد اختلاف هر یک از تیمارها نسبت به تیمار شاهد می‌باشند.

**Fig 2- Mean comparison of the maximum emergence percentage (a) and emergence rate (b) affected by *Burkholderia cepacia* inoculation and different treatments of zinc sulfate in coriander in experiment II. Values in parentheses indicate percentage change in the respective studied traits in comparison with the control condition.**

مصرف سولفات روی چه به صورت محلولپاشی و چه به صورت خاک مصرف، موجب افزایش فلاونوئید برگ و ریشه شد (جدول ۵). به عبارت دیگر، فلاونوئید برگ در تیمارهای محلولپاشی ۱/۵ و ۳ گرم در لیتر و خاک مصرف ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک نیز به ترتیب ۲۸/۰، ۴۱/۰، ۸۹/۸ و ۳۲/۳ درصد نسبت به تیمار بدون کاربرد سولفات روی افزایش یافت. بالاترین فلاونوئید ریشه در تیمارهای محلولپاشی ۳ گرم در لیتر و خاک مصرف ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده شد، هرچند بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری از این نظر وجود نداشت (جدول ۵). کاربرد عناصر کم‌مصرف نظیر آهن، روی و منگنز در گیاهان دارویی ترخون، نعنای فلفلی، بابونه و آنیسون (*Pimpinella anisum*) موجب بهبود وزن خشک، درصد ماده مؤثره و مقدار اسانس در این گیاهان شد (et al., 2008). پناهیان‌کیوی (Panahyan Kivi, 2019) بیان نمود که بالاترین عملکرد دانه و روغن گشنیز در زمان کاربرد تیمار محلولپاشی برگ گیاه دارویی گشنیز با استفاده از سولفات روی آزمایشگاهی (خلوص ۹۹/۵ درصد) با غلظت سه در هزار مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. در مطالعه دیگر، استفاده از سولفات روی با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک موجب افزایش عملکرد اسانس در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) گردید (Riyazi et al., 2016). کاربرد هم‌زمان *Azospirillum* و *Azotobacter* به همراه محلولپاشی عناصر روی و منگنز در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) موجب بهبود ۱۷ تا ۳۰ درصدی وزن خشک بوته گردید (Bahari Saravi et al., 2015). در تحقیقی دیگر، استفاده از سولفات روی تأثیر معناداری بر مقدار فلاونوئید در نعنای فلفلی داشت (Mohammadi et al., 2017). در گیاه دارویی پروانش (*Vinca minor* L.) نتایج نشان داد که تلقیح گیاه با قارچ *Glomus versiforme* باعث افزایش ترکیبات فنلی آن شده

در گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) تلقیح شده با باکتری *Mycobacterium* sp. بیشترین وزن خشک برگ و کلروفیل a مشاهده شد (Torfi et al., 2016). در مطالعه دیگر، تلقیح گیاه شوید با باکتری *Entrobacter cloace* R13 and R33 موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی، و اسانس این گیاه شد (Chegeni et al., 2019). کاربرد کودهای زیستی، عملکرد کمی و کیفی بابونه را نیز افزایش داده و تیمار بیوسولفور بهترین تیمار بود (Dehghani Mashkani et al., 2011). در زمان کاربرد باکتری *B. cepacia* مقدار افزایش فلاونوئید بیشتر از مقدار فنل در برگ و ریشه گیاه گشنیز بود (جدول ۵). در واقع، مقدار فلاونوئید برگ و ریشه به ترتیب ۳۱/۶ و ۲۳/۵ درصد و فنل برگ برابر ۳/۲۴ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد باکتری افزایش یافت. اما در صفت فنل ریشه این رابطه معکوس بود یعنی حضور باکتری *B. cepacia* موجب کاهش فنل ریشه به مقدار ۱۰/۷ درصد نسبت به تیمار بدون تلقیح شد که علت آن را می‌توان به تجزیه فنل توسط باکتری *B. cepacia* نسبت داد. چن و همکاران (Chen et al., 2017) گزارش کردند که در هر دو شرایط گلخانه‌ای و مزرعه بعد از گذشت ۲۰ روز از کاربرد باکتری *Burkholderia* sp. XTB-5 حدود ۹۰ درصد فنل موجود در خاک تجزیه شد. آن‌ها همچنین بیان کردند که این باکتری با توانایی حل کردن فسفات نامحلول و تولید ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات دامیناز و سیدروفور می‌تولند نماینده خوبی جهت بهبود رشد گیاه باشد (Chen et al., 2017). طبق نتایج مطالعه حاضر، حضور باکتری در منطقه ریزوسفر نیز توانست موجب کاهش شدید مقدار فنل ریشه گردد، در نتیجه بیشترین میزان فنل در برگ گشنیز و در تیمارهای خاک مصرف ۱۰ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم (۳۲۱/۰ و ۲۸۵/۰ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم ماده خشک) مشاهده شد (جدول ۵).

است (Rahmatzadeh and Kazemitabar, 2013). به طور کلی، عنصر روی دارای نقش‌های فیزیولوژیک متعددی در گیاهان می‌باشد. این عنصر به‌عنوان فعال‌کننده بسیاری از آنزیم‌ها مانند کربنیک‌آنهیدراز، دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز، فسفولپاز عمل می‌کند (Akhtar et al., 2009). همچنین، در متابولیسم پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها، فتوسنتز و تولید اکسین نقش مثبتی ایفا می‌نماید (Fang et al., 2008). مجموعه سازوکارهای فوق منجر به بهبود رشد گیاه و در نهایت افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان خواهد شد.

کاربرد باکتری *B. cepacia* موجب افزایش ۶۱/۱ و ۷/۱۸ درصدی آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۵). همچنین در بین تیمارهای سولفات روی، تیمار محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر و خاک مصرف ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بیشترین میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز را نسبت به سایر تیمارها به خود اختصاص دادند و مقدارش در هر دو تیمار برابر ۰/۰۰۳ گرم در وزن تر بود (جدول ۵). اما بالاترین مقدار سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای خاک مصرف ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر مشاهده گردید که به ترتیب ۲۵/۴ و ۱۲/۰ درصد بیشتر از تیمار شاهد بودند (جدول ۵). همچنین در تیمارهای بدون باکتری *B. cepacia* و یا در غلظت بالای سولفات روی، میزان فعالیت آنزیم‌های فوق بشدت کاهش یافت که بیان‌کننده نقش مستقیم و غیرمستقیم حضور باکتری در فعالیت این آنزیم‌ها بوده و یا اثر بازدارنده مصرف سولفات روی در غلظت‌های بالا می‌باشد (Marichali et al., 2014). کاربرد تلفیقی سولفات روی به همراه میکوریزا موجب بهبود عملکرد دانه شبلیله در شرایط آبیاری نرمال و همچنین حفظ تولید مطلوب در شرایط تنش خشکی گردید (Fallah and Nazari, 2012). کاربرد باکتری *Azotobacter* sp. تعداد چتر در بوته، وزن هزار دانه و عملکرد دانه رازبانه را در مقایسه با شاهد افزایش دارد

(Badran and Safwat, 2004). علاوه بر این، در شرایط تنش خشکی گیاه همیشه بهار تلقیح‌شده از میزان نسبی آب برگ، میزان فسفر و پتاسیم بالاتری در مقایسه با گیاه تلقیح‌نشده برخوردار بود (Moghaddasan et al., 2015). در مجموع، تا به امروز گزارشات بسیاری در مورد نقش مثبت ریزجانداران افزایش‌دهنده رشد به صورت همزیست و یا غیرهمزیست بر خصوصیات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک گیاهان مختلف به‌ویژه در مراحل اولیه رشد تحت شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای در سراسر دنیا منتشر شده است (Ahemad and Kibret, 2014). به‌عنوان مثال، کاربرد ریزجانداران افزایش‌دهنده رشد از طریق افزایش تعداد تارهای کشنده ریشه گیاه میزبان به طور مستقیم موجب افزایش جذب آب و مواد غذایی از خاک خواهند شد (Pii et al., 2015). همچنین، بعضی محققان بیان داشتند که این ریزجانداران ممکن است از طریق تولید سیدروفور و هیدروژن‌سیانید (ترکیبات تنظیم‌کننده سیستم دفاعی در برابر پاتوژن‌ها) موجب افزایش رشد گیاه میزبان شوند (Mishra et al., 2017) ایندول‌استیک‌اسید تولیدشده توسط ریزجانداران افزایش‌دهنده رشد نیز یکی دیگر از راهکارهای است که از طریق تنظیم سطوح هورمون در گیاه میزبان و یا بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهان همانند سرعت رشد، متابولیسم سلول گیاهی، سطح ریشه و مقدار جذب آب و مواد غذایی می‌توانند موجب افزایش رشد گیاه میزبان شود (Egamberdieva, 2012). در مطالعه دیگر، گزارش شده است که ترکیب آمینو-۱-سیکلو پروپان-۱-کربوکسیلات دامیناز تولیدشده توسط جدایه *Rhizobium leguminosarum* توانست تولید اتیلن در لوبیا را کاهش دهد و مقاومت به شوری و بهبود رشد اندام هوایی و ریشه را در این گیاه افزایش دهد (Ma et al., 2003). علاوه بر این، ریزجانداران افزایش‌دهنده رشد تولیدکننده آگروپلی ساکارید قادرند تا سطح یون سدیم در گیاه میزبان را کاهش دهند که نتیجه آن کاهش اثر منفی تنش شوری در گیاهان رشد یافته در شرایط شور می‌باشد

## منابع

Ahemad, M., and M. Kibret. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-science*. 26(1):1-20.

Akhtar, N., M. Abdul-Matin-Sarker, Akhtar, H. and Katrun-Nada, M., 2009. Effect of planting time and micronutrient as zinc chloride on the growth, yield and oil content of *Mentha piperita*. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 44:125-130.

Aravind, P., and Prasad, M. N. V. (2004). Zinc protects chloroplasts and associated photochemical functions in cadmium exposed *Ceratophyllum demersum* L., a freshwater macrophyte. *Plant Science*. 166(5):1321-1327.

Arnon, D. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1):1-15.

Badran, F.S., and M.S. Safwat. 2004. Response of fennel plants to organic manure and bio-fertilizers in replacement of chemical fertilization. *Egyptian Journal of Agricultural Research*. 82(2):247-256.

Bahari Saravi, H., H. Pirdashti., and Y. Yaghoobian. 2015. Effect of plant growth promoting rhizobacteria along with zinc and manganese foliar spraying on morphological and growth parameters of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Applied Research of Plant Ecophysiology*. 1(4):1-18 (in Persian with English abstract).

Bakhshandeh, E., H. Pirdashti., and K.H. Shahsavarpour Lendeh. 2017. Phosphate and potassium-solubilizing bacteria effect on the growth of rice. *Ecological Engineering*. 103:164-169.

Bakhshandeh, E., H. Rahimian., H. Pirdashti., and G.H.A. Nematzadeh. 2015. Evaluation of phosphate-solubilizing bacteria on the growth and grain yield of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in northern Iran. *Journal of Applied Microbiology*. 119:1371-1382.

Bakhshandeh, E., M. Gholamhosseini, Y. Yaghoobian., and H. Pirdashti. 2020. Plant growth promoting microorganisms can improve germination, seedling growth and potassium uptake of soybean under drought and salt stress. *Plant Growth Regulation*. 90(1):123-136.

(Upadhyay et al., 2011). به هر حال، این ریزجانداران مفید به دو صورت مستقیم و غیرمستقیم بر مکانیسم‌های رشد گیاه تأثیر می‌گذارند: در حالت مستقیم می‌توان به همزیستی برای تثبیت نیتروژن اتمسفری، حل کردن و یا قابل استفاده کردن برخی از ترکیبات معدنی از قبیل فسفر، پتاسیم، روی و تولید هورمون‌های رشدی گیاه از قبیل اکسین، جیبرلین، سیتوکنین و اتیلن و در حالت غیرمستقیم تولید اسید سیانیدریک، آنتی‌بیوتیک‌ها، سیدروفورها، تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی و رقابت با ریزجانداران مضر و زیان‌آور در نواحی ریشه گیاه را نام برد (Ahemad and Kibret, 2014).

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که می‌توان از باکتری افزایش‌دهنده رشد *B. cepacia* به هر دو روش بذرمال و خاک مصرف جهت بهبود رشد گیاه گشنیز استفاده نمود. همچنین، از میان تیمارهای سولفات روی مورد مطالعه می‌توان تیمار محلول‌پاشی ۳ گرم در لیتر و خاک مصرف ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به همراه تلقیح با باکتری *B. cepacia* را به عنوان بهترین تیمارهای برای افزایش کمیّت و کیفیت گیاه دارویی گشنیز پیشنهاد نمود.

## سپاسگزاری

این طرح به شماره ۰۲-۱۳۹۹-۰۱ با حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در پژوهشکده فناوری‌های زیستی گیاهان دارویی این دانشگاه انجام شده، که بدینوسیله مراتب قدردانی به عمل می‌آید. همچنین از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان به خاطر تأمین باکتری حل‌کننده روی نیز تشکر می‌گردد.

- Dehghani Mashkani, M., H. Naghdi Badi., M. Darzi., A. Mehrafarin., S. Rezazadeh., and Z. Kadkhoda. 2011. The effect of biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative yield of shirazian babooneh (*Matricaria recutita* L.). *Journal of Medicinal Plants*. 10 (38):35-48 (in Persian with English abstract).
- Duy M.V., Hoi N.T., Ve N.B., Thuc L.V and Trang N.Q, 2016. Influence of *Cellulomonas flavigena*, *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. on rice growth and yield grown in submerged soil amended with rice straw. *Recent Trends in PGPR Research for Sustainable Crop Productivity*. 238 pages.
- Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.F., and Nabavi S.M. 2009. Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium Caucasicum* Trautv at flowering stage. *Pharmacognoc Research*, 1(6): 435-439.
- Egamberdieva, D. 2012. *Pseudomonas chlororaphis*: a salt-tolerant bacterial inoculant for plant growth stimulation under saline soil conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*. 34(2):751-756.
- Faghih Abdollahi, L., H. Pirdashti., and Y. Yaghoobian. 2013. Effect of biological treatments on dill (*Aniethum graveolens* L.) seed germination and seedling growth under copper nitrate contamination. *Seed Research (Journal of Seed Science and Technology)*. 2(4):13-23 (in Persian with English abstract).
- Fallah, S., and M. Nazari. 2012. Application effects of biofertilizers and zinc sulfate on growth and yield of fenugreek medicinal plant under drought stress conditions in Shahrekord region. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 2(5): 147-159 (in Persian with English abstract).
- Fang, Y., L. Wang, Xin, Z., Zhao, L., An, X. and Hu, Q. 2008. Effect of foliar application of zinc, selenium, and iron fertilizers on nutrients concentration and yield of rice grain in China. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 56:2079-2084.
- Giannopolitis. C., and S. Ries. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants, *Plant Physiology*. 59:309-314.
- Bennett, A.J., and J.M. Whipps. 2008. Dual application of beneficial micro-organisms to seed during drum priming. *Applied Soil Ecology*. 38:83-89.
- Bigonah, R., P. Rezvani Moghadam., and M. Jahan. 2014. The effect of different fertilizer managements on some quantitative and qualitative characteristics of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Iranian Journal of Crop Research*. 4(12): 581-574 (in Persian with English abstract).
- Chance, B., and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidases. In: Colowick S.P., Kaplan N.O., (eds). *Methods in enzymology*. Academic Press, New York. (2) pp. 764-775.
- Chang. C.C., M.H. Yang., H.M. Wen. and J.C. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in proplis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3):178-182.
- Chegeni, Z., M. Zolfaghari., F. Sedighi Dehkordi., and M. Mahmoodi Sourestani. 2019. The effect of mycorrhizal fungi, PGPRs and chemical fertilizer on yield and essential oil content of dill (*Anethum graveolens* L.) Seed. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*. 4(28):93-104 (in Persian with English abstract).
- Chen, J., S. Li, Xu, B., Su, C., Jiang, Q., Zhou, C., Jin, Q., Zhao, Y. and Xiao, M. 2017. Characterization of *Burkholderia* sp. XTB-5 for phenol degradation and plant growth promotion and its application in bioremediation of contaminated soil. *Land Degradation & Development*. 28(3):1091-1099.
- Daghighian N., Habibi D., Madani H., and Sajedi N.A. 2011. The evaluation of effects of the best method and time application of plant growth promoting rhizobacteria on N, P, K assimilation and seed yield in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*. 3(1):94-100 (in Persian with English abstract).
- Darughe, F., M. Barzegar. and M.A. Sahari. 2012. Antioxidant and antifungal activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in cake. *International Food Research Journal*. 19(3):1253-1260.

- Moghaddasan, SH., A. Safipour., and F. Saidnematpour. 2015. The role of mycorrhizae in drought tolerance of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*. 9(36):521-532 (in Persian with English abstract).
- Mohammadi Kashka, F., H. Pirdashti., Y. Yaghoobian., and S.H. Bahari Saravi. 2016. Effect of *Trichoderma virens* and *Piriformospora indica* coexistence with *Enterobacter* sp. on the growth and photosynthetic pigments of pepper (*Capsicum annuum* L.) plant. *Journal of Plant Ecophysiology*. 8:121-133 (in Persian with English abstract).
- Mohammadi, M., N. Majnoun Hosseini., and M. Dashtaki. 2017. Effects of nano-ferric oxide and zinc sulfate on chlorophyll, anthocyanin, flavonoid and leaf mineral elements of peppermint (*Mentha piperita* L.) at Karaj climatic conditions. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants*. 5(32):770-783 (in Persian with English abstract).
- Moradi Telavat, M., F. Roshan., and S. A. Siadat. 2015. Effect of foliar application of zinc sulfate on minerals content, seed and oil yields of two safflower cultivars *Carthamus tinctorius* L. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 17(2):153-164 (in Persian with English abstract).
- Mukhtar, I. 2008. Influence of *Trichoderma* species on seed germination in okra. *Mycopath*. 6(1&2):47-50.
- Nazari, M., S. Fallah., S.h.Kiani., and J.Jalilian. 2014. Effect of chemical and biological fertilizers combination on cadmium concentration and growth parameters of fenugreek medicinal plant in cadmium polluted soil. *Electronic Journal of Soil Management and Sustainable Production*. 3(4): 215-231 (in Persian with English abstract).
- Omidi, H., H. Naghdi Badi., A. Golzad., H. M. Torabi. 2009. The effect of chemical and biofertilizer source of nitrogen on qualitative and quantitative yield of Saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Medicinal Plants*. 8 (30):98-109 (in Persian with English abstract).
- Panahyan Kivi, M. 2019. Effects of zinc sulfate foliar spray on yield, yield components and essential oil of coriander (*Coriandrum sativum* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants*. 2(35):309-322 (in Persian with English abstract).
- Heidari, F., S. Zehtab Salmasi., A. Javanshir., H. Aliari., and M.R. Dadpoor. 2008. The effects of application microelements and plant density on yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 24(1):1-9 (in Persian with English abstract).
- Hussain, A., Z.A. Zahir, Asghar, H.N., Ahmad, M., Jamil, M., Naveed, M. and Akhtar, M.F.U.Z. 2018. Zinc solubilizing bacteria for zinc biofortification in cereals: a step toward sustainable nutritional security. In *Role of rhizospheric microbes in soil*. Springer, Singapore. 203-227.
- Inanloofar, M., H. Omidi and., and A. Pazoki. 2013. Morphological, agronomical changes and oil content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) under drought stress and biological/chemical fertilizer of nitrogen. *Journal of Medicinal Plants*.12 (48):170-184 (in Persian with English abstract).
- Ma, W., F.C. Guinel., and B.R. Glick. 2003. *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase promotes nodulation of pea plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(8):4396-4402.
- Mahmood A. , Turgay O.C. , Farooq M. and Hayat R. (2016). Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria. a review. *FEMSMicrobiology Ecology*. 92(8):1-14. doi: 10.1093/femsec/fiw112
- Marichali, A., S. Dallali, Ouerghemmi, S., Sebei, H. and Hosni, K. 2014. Germination, morpho-physiological and biochemical responses of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to zinc excess. *Industrial Crops and Products*, 55:248-257.
- Mikula, K., G. Izydorczyk, Skrzypczak, D., Mironiuk, M., Moustakas, K., Witek-Krowiak, A. and Chojnacka, K. 2020. Controlled release micronutrient fertilizers for precision agriculture—A review. *Science of the Total Environment*. 712:136365. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136365>
- Mishra, J., R. Singh, and N.K. Arora. 2017. *Plant growth-promoting microbes: diverse roles in agriculture and environmental sustainability, in Probiotics and Plant Health*. Springer, Singapore. p. 71-111.



Silva, F., Domeño, C. and Domingues, F.C. 2020. *Coriandrum sativum* L.: Characterization, biological activities, and applications. In *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Academic Press. 497-519 Pages. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818553-7.00035-8>

Slinkard, K., and V. singleton. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of Enology and Viticulture*. 28:49-55.

Soltani, A., and Maddah, V. 2010. Simple applied programs for education and research in agronomy. ISSA Press, Iran, 80 Pages.

Torfi, V., A. Danesh Shahraki., and K. Saeidi. 2016. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on morphological traits and essential oil content of moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Journal of Plant Productions*. 2(39):57-70 (in Persian with English abstract).

Upadhyay, S., J. Singh, and D. Singh. 2011. Exopolysaccharide-producing plant growth-promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere*. 21(2):214-222.

Pii, Y., T. Mimmo, Tomasi, N., Terzano, R., Cesco, S., and Crecchio. C. 2015. Microbial interactions in the rhizosphere: Beneficial influences of plant growth promoting Rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. *Biology and Fertility of Soils*. 51(4):403-15.

Rahmatzadeh, S., and S.K. Kazemitabar. 2013. Biochemical and antioxidant changes in regenerated periwinkle plantlets due to mycorrhizal colonization during acclimatization. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 5(14):1535-1540.

Rehman, A., M. Farooq, Naveed, M., Nawaz, A. and Shahzad, B. 2018. Seed priming of Zn with endophytic bacteria improves the productivity and grain biofortification of bread wheat. *European Journal of Agronomy*. 94:98-107.

Riyazi, P., F. Nejatizadeh., and E. Valizadegan. 2016. Effect of irrigation and Zinc nutrition on growth and yield of essential oil (*Salvia officinalis* L.). *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. 6(22):35-40 (in Persian with English abstract).