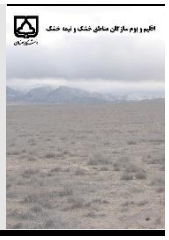
Semnan University

Climate and Ecosystem
of Arid and Semi-arid Regions
https://ceasr.semnan.ac.ir



Research Article

Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Extracted Humic Substances from Biochar of *Platanus orientalis* Tree on the Germination and Growth Indices of *Sesbania rostrata*

Mina Aqel Khajedad [a], Ahmad Gholamalizadeh Ahangar [b], Ebrahim Shirmohammadi [c,*] and Fatemeh Khosravi [d]

[a] *M.Sc. Student, Department of Soil Science, Faculty of Soil and Water Engineering, University of Zabol, Zabol, Iran*
[b] *Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Soil and Water Engineering, University of Zabol, Zabol, Iran*
[c] *Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Soil and Water Engineering, University of Zabol, Zabol, Iran*
[d] *Laboratory Expert (Ph.D.), Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran*

ARTICLEINFO

Article type:
Research full paper

Article history:
Received: 16 october 2022
Revised: 24 october 2023
Accepted: 31 october 2023

Keywords:
Fulvic acid, Humic acid, Medicinal plants, PGPR, Priming.

EXTENDED ABSTRACT

Background and Objectives: Difficulties in seed germination for many medicinal plants have led to significant limitations in cultivating these plants in managed ecosystems, such as agricultural lands, where they are grown in large areas with a uniform green surface. Given the necessity for medicine production, the raw materials used should possess superior quality and minimum pollution. It seems that investigating the effectiveness of *Sesbania rostrata* seed priming techniques with biological fertilizers, such as plant growth promoting rhizobacteria, and organic fertilizers, such as humic acid and fulvic acid, is essential, because these fertilizers are compatible with natural ecosystems and align with sustainable agricultural policies. Hence, this research was conducted to investigate the effect of *Sesbania rostrata* seeds priming with plant growth promoting rhizobacteria as well as fulvic and humic acid (extracted from Oriental plane tree biochar) on the indices of seed germination and seedling growth.

Materials and Methods: In-vitro cultivation was carried out in a factorial and completely randomized design (CRD) with four replications in a total of 36 experimental units. The first factor, which was implemented at three levels, included seed priming with distilled water (control), humic acid, and fulvic acid; and the second factor, which was implemented at three levels, included seed priming with physiological serum (control), as well as *Staphylococcus* sp. R38N2 and *Pseudomonas* sp. R27N7 bacteria strains. Ten surface-sterilized seeds were placed on a filter paper inside each petri dish. Then, the treatments were added to the experimental units and placed in the germinator at a temperature of 25±2 degrees Celsius. Germinated seeds were counted daily from 13 to 30 days after the start of the experiment.

Results: Results showed that fulvic acid- physiological serum was the best treatment compared to the control in terms of improvement of all measured traits. This treatment increased the seed germination indices, including seed germination percentage, germination rate, mean daily germination, peak value, germination value and seedling vigor I and II by 2, 4.5, 2, 3.19, 7.13, 5.66, and 18.96 times, respectively. In addition, it reduced mean germination time by 24.46%. Additionally, seedling growth indices including seedling height, shoot height, root length, and seedling dry weight were increased by 7.44, 20.32, 4.74, and 9.5 times, respectively.

Conclusion: Fulvic acid-physiological serum treatment was found to be the most effective in enhancing all indicators of seed germination and seedling growth in *Sesbania rostrata*, when compared to the control. Furthermore, the following treatments were ranked right after each other for their ability to enhance seed germination and seedling growth in *Sesbania rostrata*: fulvic acid-*Pseudomonas* sp. R27N7, distilled water-*Staphylococcus* sp. R38N2, humic acid-*Staphylococcus* sp. R38N2, and fulvic acid-*Staphylococcus* sp. R38N2.

Cite this article as: Aqel Khajedad, M., Gholamalizadeh Ahangar, A., Shirmohammadi, E., & Khosravi, F. 2023. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and extracted humic substances from biochar of Platanus orientalis tree on the germination and growth indices of Sesbania rostrata. Climate and Ecosystem of Arid and Semi-arid Regions, 1(1), 119-138.
© 2024 Published by Semnan University Press.
https://doi.org/10.22075/ceasr.2023.28707.1011

مقاله پژوهشی

تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه و مواد هیومیک استخراج شده از بیوچار درخت *Platanus orientalis* بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد *Sesbania rostrata*

مینا عاقل خواجه داد[۱]، احمد غلامعلی‌زاده آهنگر[۲]، ابراهیم شیرمحمدی[۳]* و فاطمه خسروی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه زابل، زابل، ایران

٤- کارشناس آزمایشگاه گروه شیمی (PhD)، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران

*: **نویسنده مسئول**، eshirmohammadi@uoz.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی
تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۰۷/۲٤
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰۸/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۸/۰۹

واژه‌های کلیدی:
پرایمینگ، فولویک اسید، گیاه دارویی، هیومیک اسید، PGPR

چکیده مبسوط

سابقه و هدف: مشکلات موجود در جوانه‌زنی اغلب بذور گیاهان دارویی سبب شده تا کشت این گیاهان در وسعت بیشتر و با سطح سبز یکنواخت در زیست‌بوم‌سازگان مدیریت شده مانند اراضی کشاورزی با محدودیت‌های جدی روبرو شود. با توجه به ضرورت تولید دارو، مواد اولیه مصرفی باید دارای کیفیت برتر و حداقل آلودگی باشند. به نظر می‌رسد بررسی اثربخشی تکنیک‌های پرایمینگ بذر *Sesbania rostrata* با کودهای بیولوژیک مانند ریزوباکترهای محرک رشد گیاه و کودهای آلی مانند اسید هیومیک و اسید فولویک ضروری باشد. زیرا این کودها با اکوسیستم‌های طبیعی سازگار بوده و با سیاست‌های کشاورزی پایدار همسو هستند. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر پرایمینگ بذور *Sesbania rostrata* با باکتری‌های محرک رشد گیاه همراه با فولویک و هیومیک اسید (استخراج شده از بیوچار درخت چنار) بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه آن انجام شد.

مواد و روش‌ها: کشت در محیط پتری‌دیش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار، مجموعاً در ۳٦ واحد آزمایشی اجرا شد. فاکتور اول در سه سطح شامل: پرایمینگ بذور با آب مقطر (شاهد)، هیومیک اسید و فولویک اسید؛ فاکتور دوم در سه سطح شامل: پرایمینگ بذور با سرم فیزیولوژیک (شاهد)، سویه‌های باکتری *Staphylococcus* sp. R38N2 و *Pseudomonas* sp. R27N7 بود. تعداد ۱۰ بذر ضدعفونی سطحی شده روی کاغذ صافی در درون هر پتری‌دیش قرار داده شدند. سپس تیمارها به واحدهای آزمایشی اضافه گردید و در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس در ژرمیناتور گرماگذاری شدند. شمارش روزانه تعداد بذرهای جوانه‌زده نیز از ۱۳ تا ۳۰ روز پس از شروع آزمایش ادامه یافت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک از نظر بهبود تمامی صفات اندازه‌گیری شده بهترین تیمار نسبت به شاهد بود. به‌طوری که این تیمار شاخص‌های رشد گیاهچه شامل ارتفاع گیاهچه و اندام هوایی، طول ریشه‌چه و وزن خشک گیاهچه را به ترتیب ۷/۲۰، ٤٤/۳۲، ٤/۷٤ و ۹/۵ برابر نمود. همچنین، شاخص‌های جوانه‌زنی بذر شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه، ارزش انتخاب و جوانه‌زنی، شاخص بنیه I و II را به ترتیب ۲، ٤/۵، ۲، ۳/۱۹، ۷/۱۳، ۵/٦٦ و ۱۸/۹٦ برابر افزایش داد. علاوه بر این، متوسط زمان جوانه‌زنی را نیز ۲٤/٤٦ درصد کاهش داد.

نتیجه‌گیری: در مقایسه با تیمار شاهد، تیمار سرم فیزیولوژیک-فولویک اسید در افزایش همه شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه *Sesbania rostrata* موثرترین بود. همچنین، تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید-

Staphylococcus sp. R38N2 و نیز تیمار فولویک اسید-*Staphylococcus* sp. R38N2 به ترتیب در رتبه‌های بعدی از نظر بهبود دهندگی شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه *Sesbania rostrata* قرار گرفتند.

استناد: عاقل خواجه‌داد، م.، غلامعلی‌زاده آهنگر ، ا.، شیرمحمدی، ا. و خسروی، ف. (۱۴۰۲). تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه و مواد هیومیک استخراج شده از بیوچار درخت *Platanus orientalis* بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد *Sesbania rostrata*. اقلیم و بوم‌سازگان مناطق خشک و نیمه‌خشک، ۱(۱)، ۱۳۸-۱۱۹.

Doi: https://doi.org/10.22075/ceasr.2023.28707.1011 **ناشر: دانشگاه سمنان**

۱- مقدمه

مشکلات موجود در جوانه‌زنی اغلب بذور گیاهان دارویی سبب شده تا کشت این گیاهان در وسعت بیشتر و با سطح سبز یکنواخت در زیست‌بوم‌سازگان مدیریت‌شده، مانند اراضی کشاورزی، با محدودیت‌های جدی روبرو شود (Huang et al., 2021; Yeom et al., 2021).

گیاهان جنس *Sesbania* متعلق به خانواده لگوم‌ها هستند و شامل گونه‌های مختلف علفی، درختچه‌ای و درختی می‌باشند، که تولید ۲۲ گونه از آن‌ها مخصوصاً در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری از نظر اقتصادی بسیار حائز اهمیت است. این گیاهان عمدتاً در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری پراکنده هستند که حدود ۳۰ گونه در آفریقا و ماداگاسکار، ۹ گونه در آسیا و منطقه اقیانوس آرام، ۱۰-۷ گونه در استرالیا، ۱۳ گونه در قاره آمریکا و برخی از گونه‌های آن در قسمت‌های مختلفی از جهان پراکنده هستند (Lewis et al., 2005; Farruggia, 2009). گونه‌های مختلف *Sesbania* در مناطقی با آب‌وهوای گرمسیری خشک فصلی و نیمه‌گرمسیری رشد می‌کنند. با این وجود، زیستگاه اصلی این گیاهان مناطق مرطوب در حاشیه دریاچه‌ها، رودخانه‌ها، باتلاق‌ها، جنگل‌های رودخانه‌ای و گاهی اوقات جنگل‌ها و علفزارها است (Lewis et al., 2005). با توجه به خواص تثبیت نیتروژن در گره‌های ریشه و ساقه *Sesbania* به‌وسیله باکتری‌ها، این گیاهان به طور گسترده‌ای در دارکشت‌ورزی[1] و برای اصلاح خاک به عنوان کود زیستی کشت می‌شوند (Kalidurai and Kannaiyan, 1991). همچنین، از *Sesbania* به عنوان گیاهان زینتی، غذای انسان و حیوانات، سوخت و فیبر استفاده می‌شود (Gillett, 1963). برخی از گونه‌های این گیاه نیز به دلیل ظرفیت زیاد در انباشت فلزات سنگین، در تصفیه فاضلاب‌ها اهمیت دارند (Eller and Brix, 2016). علاوه بر این، از دیگر کاربردهای مهم این گیاه استفاده از آنها در صنایع دارویی می‌باشد. به‌عنوان مثال، *Sesbania bispinosa* دارای خاصیت ضد التهاب (Boddawar *et al*., 2016)، *Sesbania grandiflora* دارای خاصیت ضد دیابت (Kumar et al., 2015) و ضد سرطان است (Roy et al., 2013). در این میان، *Sesbania rostrata* به‌علت خواص دارویی متعدد آن، از قبیل ادرارآور بودن و درمان تهوع، تب، سردرد، کم‌خونی، برونشیت، التهاب، جذام، نقرس، روماتیسم، اضطراب، تشنج و همچنین محافظت از کبد، بیش از سایر گونه‌های این گیاه مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Kadam et al., 2013). در ۱۰۰ گرم بذر خشک این گونه از *Sesbania* ۳۲ گرم پروتئین خام، ٤/٧ گرم لیپید خام، ۱۱/۸ گرم فیبر خام، ۲۰ گرم نشاسته کل با ۸/٦ گرم نشاسته قابل هضم، ۲/۹٦ گرم فنل کل، ۱/۹۹ گرم تانن، ۲/۵۲ گرم تانن تغلیظ شده، ۱/۸۹ گرم فیتات و ۰/۵ گرم ساپونین وجود دارد (Hossain and Becker, 2001). پژوهش Shahjalal و Topps (۲۰۰۰) نیز نشان داد که تغذیه احشام از برگ‌های *Sesbania rostrata* باعث افزایش میانگین وزن زنده روزانه دام شد، که اهمیت این گیاه را در صنعت تغذیه دام پُررنگ‌تر می-

1- Agroforestry

کند. در پژوهش Kalidurai و Kannaiyan (۱۹۹۱) با بررسی اثر سه گونه از *Sesbania* به‌عنوان کود زیستی گزارش شد که میزان نیتروژن *Sesbania rostrata* حدود دو برابر نیتروژن موجود در *Sesbania bispinosa* و *Sesbania speciosa* است. علاوه بر این، *Sesbania rostrata* بیشترین میزان منگنز، روی و مس را نسبت به دو گونه دیگر داشت؛ که این ویژگی‌ها باعث می‌شود تا استفاده از *Sesbania rostrata* به‌عنوان کود زیستی نیز اهمیت ویژه پیدا کند. به‌طور کلی، *Sesbania rostrata* را می‌توان گیاهی با کاربری‌های مختلف، مخصوصاً با اهمیت از نظر دارویی، معرفی کرد. بنابراین، با رشد فزاینده جمعیت جهان و بهبود معیارهای بهداشتی و سلامت جوامع، افزایش تولید گیاهان دارویی مانند *Sesbania rostrata* ضرورت می‌یابد. این در حالی است که جوانه‌زنی بذور *Sesbania rostrata* نیز مانند اغلب بذور گیاهان دارویی مشکلاتی دارد، که امکان کشت این گیاهان در وسعت بیشتر با سطح سبز یکنواخت را محدود می‌سازد و در نهایت از راندمان تولید و نیز از تمایل کشاورزان به تولید این محصول می‌کاهد (Veasey and Freitas, 2002; Takahashi, 2003; Chanda et al., 2018).

امروزه، پژوهشگران در اغلب موارد برای بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهان، پرایمینگ بذور را پیشنهاد می‌دهند. این راهکار به اندازه‌ای حائز اهمیت است که از قرن شانزدهم تا به امروز پژوهش در زمینه سازوکارهای مختلف آن در حال انجام است (Lutts et al., 2016; Devika et al., 2021). پژوهش‌های انجام شده روی شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهان با استفاده از روش‌های مختلف پرایمینگ مانند: پرایمینگ با آب (Adhikari et al., 2021)، نمک‌ها (El-Sanatawy et al., 2021)، مغناطیس، هورمون و عناصر مغذی (Johnson and Puthur, 2021)، نانوذرات (Song and He, 2021)، مواد زیستی (Li et al., 2021) و مواد آلی (Cristofano et al., 2021)، مؤید این موضوع است. گیاه *Sesbania rostrata* نیز از این امر مستثنی نبوده و با بررسی اثر پرایمینگ عوامل مختلف فیزیکی و شیمیایی گزارش شده است که تیمار بذور با اسید سولفوریک به مدت ٤٠ دقیقه، خراش بذور با سمباده‌زنی (Veasey and Freitas, 2002)؛ غوطه‌ور کردن بذور در آب ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۸ دقیقه (Takahashi, 2003)؛ همچنین، تیمار بذور با اسید سولفوریک غلیظ به مدت ۲۰ دقیقه، اتانول ۱۰۰ درصد به مدت ۵ دقیقه، خیساندن با نیترات پتاسیم ۰/٤ درصد، خیساندن با آب مقطر و تیمار حرارتی ۵۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت (Singh et al., 2020)، باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذور *Sesbania rostrata* (به ترتیب از بیشترین به کمترین) شدند. با این وجود، روش‌های دیگر پرایمینگ بذور *Sesbania rostrata* کمتر مورد توجه پژوهشگران بوده است.

بیوچار یک محصول غنی از کربن است که در اثر سوختن بقایای آلی در شرایط اکسیژن محدود حاصل می‌شود (Mohanty et al., 2018). سطح ویژه، تخلخل، گروه‌های عاملی و ظرفیت تبادل کاتیونی زیاد بیوچار، قابلیت استفاده از این ماده را در صنایع مختلف مقدور می‌سازد. علاوه بر این، آماده سازی سریع و آسان، سازگار بودن با محیط-زیست، قابلیت استفاده مجدد و مقرون به صرفه بودن تنها بخشی از مزایای بیوچار است (Yaashikaa et al., 2020). بیوچار تولید شده از ضایعات درخت *Platanus orientalis* نیز کاربردهای متنوعی دارد. مواد هیومیک یکی از مهمترین محصولات مشتق شده از این نوع بیوچار است که باعث بهبود عملکرد و اجزای عملکرد محصولات کشاورزی می‌شود.

باکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR) غالباً گروه نامتجانسی از باکتری‌های خاک‌زی هستند که با تولید یک‌سری متابولیت‌ها به‌صورت مستقیم (از طریق بهبود تغذیه و تولید هورمون‌های محرک رشد) و غیرمستقیم (از طریق حذف یا کاهش جمعیت و یا اثر بیمارگرها) رشد و نمو گیاهان را بهبود می‌بخشند. این میکروارگانیسم‌ها را می‌توان به‌صورت محلول‌پاشی، همراه با آب آبیاری، تلقیح ریشه نشاءها و غالباً نیز به‌صورت تلقیح بذور گیاهان برای بهبود

جوانه‌زنی، رشد و تولید محصولات استفاده کرد (Goswami et al., 2016; Etesami and Maheshwari, 2018; Shirmohammadi et al., 2020a,b).

با توجه به اینکه مواد اولیه مورد استفاده در تولید دارو باید کیفیت بهتر و آلایندگی کمتری داشته باشد، به‌نظر می‌رسد که بررسی کارآیی استفاده از تکنیک‌های پرایمینگ بذور گیاه *Sesbania rostrata* با کودهای زیستی مانند باکتری‌های محرک رشد گیاه و نیز با کودهای آلی مانند هیومیک اسید و فولویک اسید که سازگار با زیست‌بوم‌سازگان طبیعی و هم‌راستا با سیاست‌های کشاورزی پایدار می‌باشند، ضروری باشد.

۲- مواد و روش تحقیق

۲-۱ طرح و تیمارهای آزمایش

به‌منظور بررسی تأثیر تیمارهای باکتری‌های محرک رشد گیاه، هیومیک اسید و فولویک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور *Sesbania rostrata* پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در شرایط درون‌شیشه‌ای با چهار تکرار، مجموعاً در ۳۶ واحد آزمایشی انجام شد. بدین ترتیب که فاکتور اول (مواد هیومیک) در سه سطح شامل: پرایمینگ بذور با آب مقطر (شاهد)، هیومیک اسید و فولویک اسید؛ فاکتور دوم (باکتری‌های محرک رشد گیاه) در سه سطح شامل: پرایمینگ بذور با سرم فیزیولوژیک (شاهد)، سویه‌های باکتری *Staphylococcus* sp. R38N2 و *Pseudomonas* sp. R27N7 بود.

۲-۱-۱ تهیه و تیمارهای مایه تلقیح باکتری

در این پژوهش، از سویه‌های باکتری‌های محرک رشد گیاه *Staphylococcus* sp. R38N2 به شماره دسترسی MT255039 در سایت NCBI، مقاوم به تنش‌های شوری و خشکی، با توان انحلال تری‌کلسیم فسفات و خاک فسفات، تولید سیدروفور، فعالیت ACC- دآمیناز[1] و *Pseudomonas* sp. R27N7 به شماره دسترسی MT255037 مقاوم به تنش‌های شوری و خشکی با توان انحلال تری‌کلسیم فسفات و خاک فسفات، تولید سیدروفور، فعالیت ACC- دآمیناز، تولید ایندول-۳- استیک اسید و سیانید هیدروژن، استفاده گردید (Shirmohammadi et al., 2020a). سویه‌های باکتری‌های مذکور از بخش بیولوژی و بیوتکنولوژی گروه علوم خاک دانشگاه زابل تهیه شد. مایه تلقیح این باکتری در محیط کشت NB با جمعیت حدود ۵×۱۰^{۸} CFU/ml تهیه شد. در نهایت، به هر واحد آزمایشی ٤ میلی‌لیتر از مایه تلقیح باکتری‌ها و شاهد (سرم فیزیولوژیک) با سمپلر به صورت جداگانه و طبق طرح آزمایشی اضافه گردید (Oksinska et al., 2011).

۲-۱-۲ تهیه و تیمارهای هیومیک و فولویک اسید

هیومیک اسید از بیوچار ضایعات درخت چنار (*Platanus orientalis*) تولید شده در دمای ٤۰۰ درجه سلسیوس و عدم حضور اکسیژن در مدت ۸ ساعت استخراج گردید (Qi et al., 2004). بر اساس پژوهش‌های Ievins و همکاران (۲۰۱۷)، از غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید به مقدار ٤ میلی‌لیتر در هر واحد آزمایشی برای تیمار بذور استفاده شد. همچنین، فولویک اسید مورد استفاده در این پژوهش از بیوچار ضایعات درخت چنار تولید شده در دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس و عدم حضور اکسیژن در مدت ۸ ساعت، به روش عصاره‌گیری با اسید نیتریک در شرایط رفلاکس (Trompowsky et al., 2005) و روش استاندارد انجمن بین‌المللی مواد هیومیک (IHSS) استخراج شد (Kuwatsuka et al., 1992). در نهایت، ترکیب فولویک اسید استخراج شده از دو روش مذکور در این پژوهش

1- 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase

استفاده شد. بر اساس پژوهش‌های Zhang و همکاران (۲۰۲۱) از غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولویک اسید به مقدار ٤ میلی‌لیتر در هر واحد آزمایشی برای تیمار بذور استفاده شد.

۲-۱-۳ آماده سازی بذور و اعمال تیمارها

بذور *Sesbania rostrata* از بانک ژن گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل تهیه شد. بذرهای سالم و هم‌اندازه در اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه غوطه‌ور و با سرم فیزیولوژیک استریل شستشو شدند. سپس، در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور و با سرم فیزیولوژیک استریل ۸ بار شستشو شدند (Salem et al., 2018). در هر واحد آزمایشی (پتری‌دیش ۸۰ میلی‌متری با بستر کاغذ واتمن نمره ٤۲ دولایه استریل) تعداد ۱۰ بذر قرار داده شد. به هر پتری‌دیش با سمپلر ۲ میلی‌لیتر آب مقطر، همچنین، طبق طرح آزمایشی، ٤ میلی‌لیتر از تیمارهای مواد هیومیک و ٤ میلی‌لیتر نیز از تیمارهای باکتری اضافه گردید. در تیمارهای شاهد مواد هیومیک و شاهد باکتری نیز به ترتیب از ٤ میلی‌لیتر آب مقطر و سرم فیزیولوژیک استفاده شد. سپس، واحدهای آزمایشی در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس در ژرمیناتور قرار داده شدند و در طول اجرای آزمایش رطوبت آن‌ها به‌صورت وزنی با استفاده از آب مقطر ثابت نگه داشته شد. شمارش روزانه تعداد بذرهای جوانه‌زده نیز ۱۳ روز پس از شروع آزمایش (مشاهده اولین بذرهای جوانه زده) آغاز گردید و تا ۱۷ روز پس از آن (سه روز متوالی که تعداد بذرهای جوانه زده ثابت شد به‌عنوان پایان آزمایش در نظر گرفته شد) ادامه یافت. بذرهایی که طول ریشه‌چه آن‌ها حداقل ۲ میلی‌متر بود، به‌عنوان بذرهای جوانه‌زده شمارش شدند (Seyed Sharifi and Khavazi, 2011).

۲-۱-٤ اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و جوانه‌زنی

سی روز پس از کشت و اعمال تیمارها، طول ریشه‌چه و اندام هوایی با کولیس، وزن خشک این اندام‌ها نیز پس از خشک شدن در دمای ۲±۷۰ درجه سلسیوس به مدت ٤۸ ساعت با ترازوی دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد (Shirmohammadi et al., 2020a). سپس، شاخص‌های: درصد جوانه‌زنی طبق رابطه (۱)، سرعت جوانه‌زنی طبق رابطه (۲)، میانگین جوانه‌زنی روزانه طبق رابطه (۳)، متوسط زمان جوانه‌زنی طبق رابطه (٤)، شاخص بنیه بذر I طبق رابطه (۵)، شاخص بنیه بذر II طبق رابطه (٦)، ارزش انتخاب طبق رابطه (۷) و ارزش جوانه‌زنی طبق رابطه (۸)، محاسبه شدند (Feizi et al., 2013).

درصد جوانه‌زنی:

$$GP = \frac{TGS}{TS} \times 100 \quad (۱)$$

که GP درصد جوانه‌زنی، TGS مجموع بذرهای جوانه‌زده در هر واحد آزمایشی و TS مجموع بذرهای کشت شده در هر واحد آزمایشی است.

سرعت جوانه‌زنی:

$$GR = \sum \frac{GSn}{Dn} \quad (۲)$$

که GR سرعت جوانه‌زنی، GSn تعداد بذرهای تازه جوانه‌زده در هر واحد آزمایشی در روز n ام و Dn روز n ام پس از کشت است.

میانگین جوانه‌زنی روزانه:

$$MDG = \frac{GP}{TED} \quad (۳)$$

که MDG میانگین جوانه‌زنی روزانه، GP درصد جوانه‌زنی و TED مجموع روزهای بعد از کشت است.

متوسط زمان جوانه‌زنی:

$$MGT = \frac{\sum(GSn \times Dn)}{TGS} \quad (٤)$$

که MGT متوسط زمان جوانه‌زنی، GSn تعداد بذرهای تازه جوانه‌زده در هر واحد آزمایشی در روز n ام، Dn روز n ام پس از کشت و TGS مجموع بذرهای جوانه‌زده در هر واحد آزمایشی است.

شاخص بنیه بذر I:

$$Vigor\ index\ I = GP \times SL \quad (٥)$$

که Vigor index I شاخص بنیه بذر I، GP درصد جوانه‌زنی و SL طول گیاهچه (mm) است.

شاخص بنیه بذر II:

$$Vigor\ index\ II = GP \times SW \quad (٦)$$

که Vigor index II شاخص بنیه بذر II، GP درصد جوانه‌زنی و SW وزن گیاهچه (mg) است.

ارزش انتخاب:

$$PV = \frac{MGS}{Dn} \quad (٧)$$

که PV ارزش انتخاب، MGS بیشترین تعداد بذور جوانه‌زده در یک روز و Dn روز n ام پس از کشت است.

ارزش جوانه‌زنی:

$$GV = PV \times MDG \quad (٨)$$

که GV ارزش جوانه‌زنی، PV ارزش انتخاب و MDG میانگین جوانه‌زنی روزانه است.

۲-۱-۵ آنالیز آماری داده‌ها

تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

۳- نتایج

۳-۱ تجزیه واریانس داده‌ها

اثر اصلی مواد هیومیک بر صفات ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه‌چه، ارتفاع گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر I و II در سطح احتمال یک در هزار ($P\leq0.001$)، سرعت جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه، متوسط زمان جوانه‌زنی، ارزش انتخاب و ارزش جوانه‌زنی در سطح احتمال پنج درصد ($P\leq0.05$)، معنی‌دار است. با این وجود، اثر اصلی باکتری تنها بر صفات درصد جوانه‌زنی ($P\leq0.001$)، میانگین جوانه‌زنی روزانه و شاخص بنیه بذر I و II ($P\leq0.05$) معنی‌دار بود. اثر فاکتوریل مواد هیومیک × باکتری نیز بر صفات ارتفاع اندام هوایی، طول ریشه‌چه، متوسط زمان جوانه‌زنی، ارزش انتخاب و ارزش جوانه‌زنی ($P\leq0.05$)، ارتفاع گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین جوانه‌زنی روزانه و شاخص بنیه بذر I و II ($P\leq0.001$)، معنی-دار شد (جدول ۱).

۳-۲ مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با ٤٥/٨٣ درصد بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 و آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک

نیز با ۱٤/۵۹ درصد کمترین درصد جوانه‌زنی را داشت، که در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، آب مقطر-*Staphylococcus* sp. R38N2 ، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 و فولویک اسید-*Pseudomonas* sp. R27N7 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ۲، ۱/۸۱، ۱/۷۲ و ۱/٥٤ برابری درصد جوانه‌زنی بذور شدند (جدول ۲).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثرات مواد هیومیک و PGPR بر برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی و رشدگیاهچه *Sesbania rostrata*

Table 1. ANOVA of humic substances and PGPR effects on some of the germination and growth indices of *Sesbania rostrata* seedlings

صفات Traits	میانگین مربعات منابع تغییر Mean square of variation sources (MS)				ضریب تغییرات CV%
	مواد هیومیک Humic substances (H) (df=2)	باکتری‌ها Bacteria (B) (df=2)	مواد هیومیک × باکتری‌ها H×B (df=4)	خطا Error (df=27)	
Shoot height (mm) ارتفاع اندام هوایی	0.258***	0.054ns	0.120*	0.037	16.27
Root length (mm) طول ریشه‌چه	0.447***	0.121ns	0.180*	0.047	18.66
Seedling height (mm) ارتفاع گیاهچه	0.326***	0.049ns	0.140***	0.026	10.89
Seedling weight (mg) وزن گیاهچه	0.029***	0.003ns	0.015***	0.003	4.95
Germination (%) جوانه‌زنی	0.055***	0.066***	0.051***	0.009	6.07
Germination rate (seed/day) سرعت جوانه‌زنی	0.001*	0.000ns	0.001***	0.000	1.29
Mean daily germination (seed) میانگین جوانه‌زنی روزانه	0.002*	0.002*	0.002***	0.000	1.99
Mean germination time (day) متوسط زمان جوانه‌زنی	3.461*	2.203ns	3.465*	0.991	12.12
Vigor index I (mm) شاخص بنیه بذر I	0.549***	0.208*	0.289***	0.054	10.45
Vigor index II (mg) شاخص بنیه بذر II	1.026***	0.324*	0.522***	0.088	16.70
Pick value (seed) ارزش انتخاب	0.000*	0.000ns	0.000*	0.000	0.92
Germination value (seed) ارزش جوانه‌زنی	0.005*	0.002ns	0.004*	0.001	3.64

ns: غیر معنی‌دار؛ * و ***: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ و ۹۹/۹ درصد

ns: Non-significant; * and ***: significant at p≤0.05 and P≤0.001, respectively

۳-۳ مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با شاخص ۱/۳۵ بذر جوانه‌زده در روز، بیشترین سرعت جوانه‌زنی را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمار آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با شاخص ۰/۲٦ بذر جوانه‌زده در روز کمترین سرعت جوانه‌زنی را داشت، که در مقایسه با تیمارهای فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 و فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ٤/۵، ۲/۸ و ۲/٦ برابری سرعت جوانه‌زنی بذور شدند (جدول ۲).

۳-٤ مقایسه میانگین جوانه‌زنی روزانه

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با مقدار ۲/۵۵ بیشترین شاخص میانگین جوانه‌زنی روزانه را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 و فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با مقدار ۰/۸۱ کمترین شاخص میانگین جوانه‌زنی روزانه را داشت، که در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 و هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ۲، ۱/۸۰ و ۱/۷۱ برابری شاخص میانگین جوانه‌زنی روزانه بذور شدند (جدول ۲).

۳-۵ مقایسه میانگین متوسط زمان جوانه‌زنی

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمار شاهد با ۹/۸۱ روز بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی را داشت. با این وجود، تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 و هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 نیز با ۷/۲۹ روز کمترین متوسط زمان جوانه‌زنی را داشت، که در مقایسه با تیمارهای هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید-*Pseudomonas* sp. R27N7، فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک و هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک و آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث کاهش ۱۷/۱۳، ۱۸/٤۵، ۱۸/۹٦، ۲٤/٤٦، ۲٤/۷۷ و ۲۵/٦۹ درصدی متوسط زمان جوانه‌زنی بذور شدند (جدول ۲).

۳-٦ مقایسه میانگین شاخص بنیه بذر I

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با مقدار ۵۱۹/۳۷ بیشترین شاخص بنیه بذر I را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید-*Staphylococcus* sp. R38N2 و آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با مقدار ۵٦/۷۵ کمترین شاخص بنیه بذر I را داشت، که در مقایسه با تیمارهای هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 و فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش معنی‌دار ۵/٦٦، ۳/۳۵، ۳/۱٤، ۲/۷۸ و ۲/۱۸ برابری شاخص بنیه بذر I شدند (جدول ۲).

۳-۷ مقایسه میانگین شاخص بنیه بذر II

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با مقدار ۳۹۲/۸٦ بیشترین شاخص بنیه بذر II را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 و هیومیک

اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با مقدار ۸/۲۰ کمترین شاخص بنیه بذر II را داشت، که در مقایسه با تیمارهای هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 و فولویک اسید-*Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ۱۸/۹٦، ٦/۰۲، ٥/۲۲، ٤/۹٤ و ۳/٤۹ برابری شاخص بنیه بذر II شدند (جدول ۲).

۳-۸ مقایسه میانگین ارزش انتخاب

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با مقدار ۰/۹۹ بیشترین شاخص ارزش انتخاب را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 و فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با مقدار ۰/۲۷ کمترین شاخص ارزش انتخاب را داشت، که در مقایسه با تیمارهای فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 و هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ۳/۱۹، ۲/۲۹، ۲/۰۹ و ۲ برابری شاخص ارزش انتخاب شدند (جدول ۲).

۳-۹ مقایسه میانگین ارزش جوانه‌زنی

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک بیشترین شاخص ارزش جوانه‌زنی، با مقدار ۳/۰۷، را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید-*Staphylococcus* sp. R38N2 و فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با مقدار ۰/۲۳ کمترین شاخص ارزش جوانه‌زنی را داشت، که در مقایسه با تیمارهای هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر-*Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمار فولویک اسید-سرم فیزیولوژیک نسبت به شاهد باعث افزایش ۷/۱۳ برابری شاخص ارزش جوانه‌زنی شد (جدول ۲).

۳-۱۰ مقایسه میانگین طول اندام هوایی

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، با ۳۳/۱۳ میلی‌متر، بیشترین طول اندام هوایی را داشت. تیمارهای هیومیک اسید-*Pseudomonas* sp. R27N7 و هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز به‌طور مشترک با صفر میلی‌متر، کمترین طول اندام هوایی را داشتند، که در مقایسه با تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد (آب مقطر- سرم فیزیولوژیک) تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشتند. به‌طور کلی، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک نسبت به شاهد باعث افزایش ۲۰/۳۲ برابری طول اندام هوایی جوانه‌های گیاه *Sesbania rostrata* شد (جدول ۳).

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات اصلی و دوجانبه مواد هیومیک و PGPR بر برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی بذور *Sesbania rostrata*

Table 2. Comparison of the means of single and interactive effects of humic substances and PGPR on some germination indices of *Sesbania rostrata* seeds

تیمارهای پرایمینگ Priming treatments		جوانه‌زنی Germination (%)	سرعت جوانه‌زنی Germination rate (seed/day)	میانگین جوانه‌زنی روزانه Mean daily germination (seed)	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time (day)	شاخص بنیه بذر I Vigor index I (mm)	شاخص بنیه بذر II Vigor index II (mg)	ارزش انتخاب Peak value (seed)	ارزش جوانه‌زنی Germination value ($seed^2$)
مواد هیومیک Humic substances	W	27.78±3.45 b	0.53±0.08 b	1.54±0.19 b	8.81±0.45 a	141.54±32.58 b	46.13±15.85 b	0.47±0.06 b	0.84±0.21 b
	FA	38.19±4.41 a	0.93±0.16 a	2.12±0.24 a	7.79±0.30 b	342.15±69.96 a	191.01±75.06 a	0.75±0.10 a	1.83±0.58 a
	HA	27.08±3.72 b	0.51±0.08 b	1.51±0.21 b	8.03±0.21 ab	161.82±39.65 b	56.40±20.68 b	0.47±0.06 b	0.84±0.20 b
باکتری‌ها Bacteria	S	27.78±5.74 b	0.63±0.20 a	1.54±0.32 b	8.20±0.40 a	222.62±79.45 b	140.59±81.12 a	0.52±0.13 a	1.24±0.64 a
	R27	27.08±2.54 b	0.60±0.07 a	1.51±0.14 b	7.79±0.36 a	174.91±46.03 b	53.16±15.25 b	0.52±0.05 a	0.85±0.15 a
	R38	38.20±2.40 a	0.73±0.06 a	2.12±0.13 a	8.65±0.26 a	247.98±32.63 a	99.79±18.45 b	0.64±0.04 a	1.42±0.17 a
مواد هیومیک × باکتری‌ها Humic substances × Bacteria	W×S	22.92±3.99 cde	0.30±0.07 de	1.28±0.22 cd	9.81±0.12 a	91.75±35.15 c	20.72±12.96 d	0.31±0.06 d	0.43±0.16 bc
	W×R27	18.75±2.08 de	0.45±0.07 cde	1.05±0.12 cd	7.29±0.96 c	77.21±10.15 c	15.35±2.52 d	0.39±0.04 cd	0.40±0.04 bc
	W×R38	41.67±3.40 a	0.84±0.12 ab	2.31±0.19 ab	9.34±0.32 ab	255.67±61.58 ab	102.33±31.72 bc	0.71±0.08 ab	1.69±0.32 ab
	FA×S	45.83±12.95 a	1.35±0.41 a	2.55±0.72 a	7.41±0.57 c	519.37±154.14 a	392.86±200.92 a	0.99±0.27 a	3.07±1.68 a
	FA×R27	35.42±2.09 ab	0.77±0.11 bc	1.97±0.12 abc	7.95±0.57 bc	307.40±108.49 ab	107.88±27.51 ab	0.65±0.07 abc	1.30±0.21 abc
	FA×R38	33.33±3.40 abc	0.68±0.09 bcde	1.85±0.19 abc	8.00±0.54 bc	199.69±25.99 b	72.29±16.39 bc	0.60±0.07 bcd	1.14±0.22 bc
	HA×S	14.58±2.09 e	0.26±0.07 e	0.81±0.12 d	7.38±0.31 c	56.75±14.20 c	8.20±2.46 d	0.27±0.05 d	0.23±0.06 c
	HA×R27	27.08±3.99 bcd	0.60±0.15 bcde	1.51±0.22 bcd	8.13±0.30 bc	140.13±44.74 bc	36.25±14.94 cd	0.51±0.11 bcd	0.84±0.25 bc
	HA×R38	39.59±5.24 ab	0.68±0.10 bcd	2.20±0.29 ab	8.60±0.24 abc	288.58±76.79 ab	124.75±44.80 ab	0.62±0.08 abc	1.44±0.33 abc

S: سرم فیزیولوژیک، R27: *Pseudomonas* sp.R27N7، R38: *Staphylococcus* sp. R38N2، W: آب مقطر، HA: هیومیک اسید، FA: فولویک اسید؛ *میانگین±خطای استاندارد، حروف مشترک در هر بخش از ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD با سطح احتمال ۹۵ درصد است

S: Physiological serum, R27: *Pseudomonas* sp. R27N7, R38: *Staphylococcus* sp. R38N2, W: Distilled water, HA: Humic acid, FA: Fulvic acid, *Mean±standard error, Same letters are not significantly different according to LSD test ($p \leq 0.05$) in each section of the column

۳-۱۱ مقایسه میانگین طول ریشه‌چه

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با ۳٦/۷۵ میلی‌متر بیشترین طول ریشه‌چه را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با هر یک از تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 و آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمارهای هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک و شاهد نیز به‌طور مشترک با ۷/۷۵ میلی‌متر کمترین طول ریشه‌چه را داشتند، که در مقایسه با تیمار آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشتند. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 و هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ٤/۷٤، ۳/٦۰، ۲/۸۲، ۲/۳٤، ۲/۳۱ و ۲/۲۹ برابری طول ریشه‌چه شدند (جدول ۳).

۳-۱۲ مقایسه میانگین ارتفاع گیاهچه

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با ٦۹/۸۸ میلی‌متر بیشترین ارتفاع گیاهچه را داشت. با این وجود، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک در مقایسه با تیمار فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با ۷/۷۵ میلی‌متر کمترین ارتفاع گیاهچه را داشت، که در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی-داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 و فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به شاهد به‌ترتیب باعث افزایش ۷/٤٤، ۳/۹۵، ۳/۵۵، ۲/۸۷ و ۲/۷۵ برابری ارتفاع گیاهچه شدند (جدول ۳).

۳-۱۳ مقایسه میانگین وزن گیاهچه

تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک با ۷/۰۷ میلی‌گرم بیشترین وزن گیاهچه را داشت. تیمار هیومیک اسید- سرم فیزیولوژیک نیز با ۰/۵۲ میلی‌گرم کمترین وزن گیاهچه را داشت، که در مقایسه با تیمارهای آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت نداشت. به‌طور کلی، تیمارهای فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 و هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به شاهد باعث افزایش ۹/۵، ٤/۲٤ و ۳/۹۳ برابری وزن گیاهچه شدند (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرات اصلی و دوجانبه مواد هیومیک و PGPR بر برخی از شاخص‌های رشد گیاهچه *Sesbania rostrata*

Table 3. Comparison of the means of single and interactive effects of humic substances and PGPR on some growth indices of *Sesbania rostrata* seedling

تیمارهای پرایمینگ Priming treatments		ارتفاع اندام هوایی Shoot height (mm)	طول ریشه‌چه Root length (mm)	ارتفاع گیاهچه Seedling height (mm)	وزن گیاهچه Seedling weight (mg)
مواد هیومیک Humic substances	W	4.04±2.01 b	11.67±1.74 b	15.71±3.24 b	1.33±0.35 b
	FA	16.79±4.87 a	27.50±4.61 a	44.29±8.71 a	4.16±0.92 a
	HA	3.83±2.72 b	15.79±2.86 b	19.63±4.60 b	1.54±0.44 b
باکتری‌ها Bacteria	S	11.58±5.46 a	17.42±5.08 a	29.00±10.49 a	2.77±1.10 a
	R27	3.63±1.70 a	18.25±4.03 a	21.88±4.93 a	1.72±0.42 a
	R38	9.46±3.06 a	19.29±1.61 a	28.75±3.72 a	2.54±0.42 a
مواد هیومیک × باکتری‌ها Humic substances × Bacteria	S×W	1.63±1.62 b	7.75±2.05 d	9.38±3.61 d	0.74±0.35 c
	R27×W	1.63±1.62 b	9.13±1.55 cd	10.75±1.05 cd	0.84±0.17 bc
	R38×W	8.88±5.25 b	18.13±2.38 abc	27.00±6.14 bc	2.42±0.76 bc
	S×FA	33.13±9.63 a	36.75±9.44 a	69.88±18.92 a	7.07±1.99 a
	R27×FA	9.25±3.59 b	27.88±9.04 ab	37.13±10.34 ab	3.14±0.88 b
	R38×FA	8.00±4.62 b	17.88±1.90 abc	25.88±4.65 bc	2.29±0.62 bc
	S×HA	0.00±0.00 b	7.75±1.89 d	7.75±1.89 d	0.52±0.13 c
	R27×HA	0.00±0.00 b	17.75±5.96 bc	17.75±5.96 bcd	1.18±0.40 bc
	R38×HA	11.50±7.23 b	21.88±3.98 ab	33.38±9.06 b	2.91±0.96 b

S: سرم فیزیولوژیک، R27: *Pseudomonas* sp.R27N7، R38: *Staphylococcus* sp. R38N2 ، W: آب مقطر، HA: هیومیک اسید، FA: فولویک اسید؛ *میانگین±خطای استاندارد، حروف مشترک در هر بخش از ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD با سطح احتمال ۹۵ درصد است

S: Physiological serum, R27: *Pseudomonas* sp. R27N7, R38: *Staphylococcus* sp. R38N2, W: Distilled water, HA: Humic acid, FA: Fulvic acid, *Mean ± standard error, Same letters are not significantly different according to LSD test ($p \leq 0.05$) in each section of column

٤- بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک از نظر بهبود تمامی صفات اندازه‌گیری شده (شامل ۸ شاخص جوانه‌زنی و ٤ شاخص رشد گیاهچه بذور گیاه *Sesbania rostrata*)، بهترین تیمار نسبت به شاهد بود. با این وجود، تیمار هیومیک اسید- سرم فیزولوژیک فاقد چنین اثرات مفیدی بود و در تمامی شاخص‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت و فقط شاخص متوسط زمان جوانه‌زنی را کاهش داد. پژوهش‌ها نیز نشان می‌دهد که تیمارهای مواد هیومیک باعث کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی و نیز افزایش درصد جوانه‌زنی (Amiri et al., 2021; Braziene et al., 2021)، سرعت جوانه‌زنی (Ebrahimi and Miri, 2016; Azad et al., 2017; Amiri et al., 2021; Braziene et al., 2021; Zhang et al., 2021)، شاخص بنیه بذر I و II (Ebrahimi and Miri, 2016; Azad et al., 2017; Zhang et al., 2021)، طول ریشه و اندام هوایی و همچنین وزن گیاهچه (Ebrahimi and Miri, 2016; Amiri et al., 2021) می‌شود. به‌عبارت دیگر، پرایمینگ بذور با مواد هیومیک، مخصوصاً اسید فولویک، در اغلب موارد باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌شود (Braziene et al., 2021; Zhang et al., 2021). با این وجود، همیشه و در همه شرایط مواد هیومیک اثرات مثبت بر تمامی شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاه *Sesbania* و نیز دیگر گونه‌های گیاهی ندارند (Galbán-Méndez et al., 2021)، زیرا مواد هیومیک استخراج شده از منابع مختلف با روش‌های مختلف، ویژگی‌های

متفاوتی دارند. علاوه بر این، به‌نظر می‌رسد که تفاوت‌های ژنتیکی موجود در گونه‌های مختلف گیاهی و نیز عوامل محیطی باعث می‌شود تا پاسخ‌های این گیاهان به تیمارهای هیومیک اسید و فولویک اسید متفاوت باشد (Khaef et al., 2013; Ebrahimi and Miri, 2016; Braziene et al., 2021; Zhang et al., 2021).

در مورد برتری نسبی تیمارهای فولویک اسید نسبت به تیمارهای هیومیک اسید در بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه *Sesbania* می‌توان گفت که فولویک اسید به‌علت وزن مولکولی کم خود، نسبت به هیومیک اسید، به راحتی می‌تواند جذب بذور شود و به تبع آن جذب آب (Ebrahimi and Miri, 2016) و نیز فراهمی عناصر غذایی مانند نیتروژن و فسفر را سریعتر برای جنین بذر فراهم سازد (Gerke, 2021). از طرفی، مواد هیومیک خاصیت شبه‌هورمون گیاهی (مانند اکسین و جیبرلین) دارند (Trevisan et al., 2010; Savy et al., 2017; Gerke, 2021). علاوه بر این، باعث تحریک گیاهان به افزایش تولید اکسین درون‌زاد گیاهان نیز می‌شوند (Nardi et al., 1994). لازم به ذکر است که فرایند جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه با جذب آب و ایجاد تغییرات هورمونی (مانند افزایش سطح هورمون اکسین) در بذر شروع می‌شود (Larcher, 2003; Basahi, 2021). به نظر می‌رسد که برتری نسبی فولویک اسید از نظر مجموعه عوامل ذکر شده باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه *Sesbania rostrata* شده است.

از نظر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه *Sesbania rostrata* بعد از تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک، به ترتیب تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 (با بهبود ٦ شاخص جوانه‌زنی بذور و ٣ شاخص رشدی)، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2 (با بهبود ٧ شاخص جوانه‌زنی بذور و ٢ شاخص رشدی)، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 (با بهبود ٥ شاخص جوانه‌زنی بذور و ٣ شاخص رشدی)، فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 (با بهبود ٣ شاخص جوانه‌زنی بذور و ٢ شاخص رشدی)، هیومیک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7 (با بهبود ١ شاخص جوانه‌زنی بذور و ١ شاخص رشدی) و آب مقطر- *Pseudomonas* sp. R27N7 (تنها با بهبود شاخص متوسط زمان جوانه‌زنی)، قرار داشتند، که هر یک از این تیمارها دارای یک سویه باکتری محرک رشد بودند. ولی آنچه حائز اهمیت است این است که باکتری *Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به *Pseudomonas* sp. R27N7 در هر ترکیبی، به استثناء ترکیب با فولویک اسید (تیمار فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2)، از نظر بهبود شاخص‌های اندازه‌گیری شده به مراتب بهتر از *Pseudomonas* sp. R27N7 بود. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تیمارهای باکتری‌های محرک رشد مانند *Bacillus*، *Azospirillum*، *Azotobacter*، *Pseudomonas* و *Staphylococcus* در اغلب موارد باعث کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی (Sharma et al., 2018) و نیز افزایش درصد جوانه‌زنی (Sharma et al., 2018; Ali et al., 2021; Amiri et al., 2021)، سرعت جوانه‌زنی (Sharma et al., 2018; Amiri et al., 2021)، میانگین جوانه‌زنی روزانه، شاخص بنیه بذر، ارزش انتخاب، ارزش جوانه‌زنی (Sharma et al., 2018)، طول ریشه (Sharma et al., 2018; Ali et al., 2021; Amiri et al., 2021; Zeynab et al., 2021) اندام هوایی (Sharma et al., 2018; Ali et al., 2021; Amiri et al., 2021) و همچنین وزن گیاهچه (Ali et al., 2021; Amiri et al., 2021; Zeynab et al., 2021) می‌شوند. احتمالاً باکتری‌های محرک رشد گیاه با تولید هورمون‌های رشد و افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (عامل هیدرولیز نشاسته) سبب می‌شوند تا نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی و هدایت مینرال‌ها به سمت جنین بذر بیشتر گردد (Zahir et al., 2004). همچنین، این میکروارگانیسم‌ها با کمک به افزایش جذب آب و تحریک به بیان ژن‌های مرتبط با تولید هورمون IAA می‌توانند سطح این هورمون را در گیاهچه افزایش دهند (Etesami et al., 2015; Tsukanova et al., 2017). علاوه بر این، با افزایش غلظت کلروفیل، کارتنوئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، و

همچنین کاهش نشت الکترولیت و غلظت مالون دی آلدئید شرایط مناسب و بدون تنش را برای فعالیت و رشد جنین و گیاهچه *Sesbania* فراهم می‌کنند (Ali et al., 2021, Zeynab et al., 2021) که در نهایت باعث تسریع در فرایند جوانه-زنی بذور و رشد گیاهچه‌ها می‌شود. با این وجود، پتانسیل سویه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد در داشتن توانایی‌های مذکور متفاوت است (Shirmohammadi et al., 2020a). علاوه بر این، اعمال این توانایی‌ها به‌وسیله باکتری‌های محرک رشد گیاه به شرایط محیطی و گونه گیاه میزبان نیز وابسته است. به‌طوری که این عوامل باعث شده تا باکتری *Staphylococcus* sp. R38N2 نسبت به *Pseudomonas* sp. R27N7 در اغلب تیمارها بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه *Sesbania* مفیدتر واقع شود. البته بعضی مواقع، باکتری‌های محرک رشد بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اثرات معنی‌داری ندارند؛ حتی ممکن است اثرات منفی نیز بر برخی از این شاخص‌ها داشته باشند (Ahmad *et al*., 2005; Sabeti *et al*., 2019; Amiri *et al*., 2021; Shirmohammadi *et al*., 2020a). به نظر می‌رسد که عدم سازگاری گیاه میزبان با باکتری‌های محرک رشد گیاهان و همچنین اختلال در فعالیت‌های هر دو موجود، مخصوصاً گیاه (به‌علت تولید یک سری متابولیت‌های بازدارنده یا مضر به‌وسیله این باکتری‌ها)، در بروز چنین نتایجی بسیار مؤثر است. این موضوع نیز به نوبه خود تحت تأثیر ژنتیک گیاه میزبان و باکتری محرک رشد قرار دارد.

در کل، با توجه به نتایج پژوهش‌های انجام شده می‌توان گفت که هم مواد هیومیک و هم باکتری محرک رشد در بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهان، کارایی زیادی دارند. با این وجود، مواد هیومیک نسبت به باکتری محرک رشد از این نظر تواناتر هستند. نتایج پژوهش Amiri و همکاران (۲۰۲۱) مؤید این موضوع می‌باشد.

۵- نتیجه‌گیری

از نظر بهبود تمامی شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه *Sesbania rostrata*، تیمار فولویک اسید- سرم فیزیولوژیک بهترین تیمار نسبت به شاهد بود. همچنین، تیمارهای فولویک اسید- *Pseudomonas* sp. R27N7، آب مقطر- *Staphylococcus* sp. R38N2، هیومیک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 و نیز تیمار فولویک اسید- *Staphylococcus* sp. R38N2 به ترتیب در رتبه‌های بعدی از نظر بهبود دهندگی شاخص‌های جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه *Sesbania rostrata* قرار گرفتند.

٦- سپاسگزاری

بدین وسیله، از حمایت‌های مالی معاونت محترم پژوهش و فن‌آوری دانشگاه زابل در اجرای این پژوهش با منبع پژوهانه پژوهشی به شماره IR-UOZ-GR-2742 سپاسگزاری می‌گردد.

۷- داده‌ها و اطلاعات

مبنای داده‌ها و اطلاعات مقاله حاضر، رساله کارشناسی ارشد نویسنده اول است.

۸- تعارض منافع

در این مقاله، تعارض منافعی وجود ندارد و این مسأله مورد تأیید همه نویسندگان است.

۹- مشارکت نویسندگان

مشارکت نویسندگان در این مقاله به شرح زیر است:

مشارکت مینا عاقل خواجه داد: کشت در محیط پتری‌دیش، داده‌برداری، آماده‌سازی داده‌ها و نگارش مقاله می‌باشد.

مشارکت احمد غلامعلی‌زاده آهنگر: مشارکت در آماده‌سازی مواد هیومیک، طرح پژوهش، نظارت بر اجرای پژوهش، تحلیل و تفسیر نتایج، نگارش و ویرایش نهایی مقاله می‌باشد.

مشارکت ابراهیم شیرمحمدی: تهیه مایه تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه، طرح پژوهش، نظارت بر اجرای پژوهش، آنالیز آماری، تحلیل و تفسیر نتایج، نگارش و ویرایش نهایی مقاله می‌باشد.

مشارکت فاطمه خسروی: آماده‌سازی مواد هیومیک، مشارکت در کشت، داده‌برداری و آماده‌سازی داده‌ها می‌باشد.

۱۰- اصول اخلاقی

نویسندگان، اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این اثر علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آنها می‌باشد.

۱۱- حمایت مالی

این مقاله حاصل نتایج بخشی از رساله دوره کارشناسی ارشد می‌باشد که تحت حمایت مالی دانشگاه زابل در قالب پژوهانه استاد راهنما انجام گردیده است.

۱۲- مراجع

[1] Adhikari, B., Dhital, P. R., Ranabhat, S., & Poudel, H. (2021). Effect of seed hydro-priming durations on germination and seedling growth of bitter gourd (*Momordica charantia*). *PLOS ONE*, 16(8), e0255258. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255258

[2] Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2005). Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turkish Journal of Biology*, 29, 29-34. https://aj.tubitak.gov.tr/biology/issues/biy-05-29-1/biy-29-1-5-0410-1.pdf

[3] Ali, J., Ali, F., Ahmad, I. Rafique, M., Munis, M. F. H., Hassan, S. W. H., Sultan, T., Iftikhar, M., & Chaudhary, H. G. (2021). Mechanistic elucidation of germination potential and growth of *Sesbania sesban* seedlings with *Bacillus anthracis* PM21 under heavy metals stress: An in-vitro study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111769. https://doi.org/10.1016/ j.ecoenv.2020.111 769

[4] Amiri, M. B., Rezvani Moghaddam, P., & Jahan, M. (2021). Effect of organic acid, biofertilizers, and two mycorrhiza species in the rootstock on some germination characteristics and seedling growth of Iranian ox-tongue (*Echium amoenum* Fisch & Mey.). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 10(4), 19-32. doi: 10.22092/ijsst.2021.351414.1356

[5] Azad, H., Fazeli Nasab, B., & Sobhanizade, A. (2017). A study into the effect of jasmonic and humic acids on some germination characteristics of Rosselle (*Hibiscus sabdariffa*) seed under salinity stress. *Iranian Journal of Seed Research*, 4(1), 1-18. doi: 10.22092/ijsst. 2021.351414.1356. [In Persian]

[6] Basahi, M. (2021). Humic acid improved germination rate, seedling growth and antioxidant system of pea (*Pisum sativum* L. var. Alicia) grown in water polluted with $CdCl_2$. *AIMS Environmental Science*, 8(4), 358-370. doi: 10.3934/environsci.2021023

[7] Boddawar, G. D., Dhawale, S. C., & Shaikh, S. S. (2016). Assessment of anti-inflammatory potential of *Sesbania bispinosa* Linn. leaf extracts and fractions by acute and chronic models. *Alexandria Journal of Medicine*, 52, 289-293. https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.10.004

[8] Braziene, Z., Paltanavicius, V., & Avizienyte, D. (2021). The influence of fulvic acid on spring cereals and sugar beets seed germination and plant productivity. *Environmental Research*, 195, 110824. https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110824

[9] Chanda, S. C., Islam, N., Tinne, F. J., & Sarwar, A. K. M. G. (2018). Screening of *Sesbania accessions* based on seed germination and seedling biomass. *Archives of Agriculture and Environmental Science*, 3(2), 137-142. https://doi.org/10.26832/24566632.2018.030206

[10] Cristofano, F., El-Nakhel, C., & Rouphael, Y. (2021). Biostimulant substances for sustainable agriculture: Origin, operating mechanisms and effects on cucurbits, leafy greens, and nightshade vegetables species. *Biomolecules*, 11, 1103. https://doi.org/10.3390/biom11081103

[11] Devika, O. S., Singh, S., Sarkar, D., Barnwal, P., Suman, J., & Rakshit, A. (2021). Seed priming: A potential supplement in integrated resource management under fragile intensive ecosystems. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 654001. https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.654001

[12] Ebrahimi, M., & Miri, E. (2016). Effect of humic acid on seed germination and seedling growth of *Borago officinalis* and *Cichorium intybus*. *ECOPERSIA*, 4(1), 1239-1249. doi: 10.18869/ modares. Ecopersia .4.1.1239

[13] Eller, F., & Brix, H. (2016). Influence of low calcium availability on cadmium uptake and translocation in a fast-growing shrub and a metal-accumulating herb. *AoB PLANTS*, 8, plv143. doi: 10.1093/ aobpla/plv143

[14] El-Sanatawy, A. M., Ash-Shormillesy, S. M. A. I., Qabil, N., Awad, M. F., & Mansour, E. (2021). Seed halo-priming improves seedling vigor, grain yield, and water use efficiency of maize under varying irrigation regimes. *Water*, 13, 2115. https://doi.org/10.3390/w13152115

[15] Etesami, H., & Maheshwari, D. K. (2018). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 225-246. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv .2018.03.013

[16] Etesami, H., Alikhani, H. A., & Mirseyed Hosseini, H. (2015). Indole-3-acetic acid and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase: Bacterial traits required in rhizosphere, rhizoplane and/or endophytic competence by beneficial bacteria. *MethodsX*, 2, 72-78. doi: 10.1016/j.mex.2015 .02.008

[17] Farruggia, F. T. (2009). Phylogenetic and monographic studies of the pantropical genus *Sesbania* Adanson (Leguminosae). Arizona State University.

[18] Feizi, H., Kamali, M., Jafari, L., & Rezvani Moghaddam, P. (2013). Phytotoxicity and stimulatory impacts of nano-sized and bulk titanium dioxide on fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Chemosphere*, 91, 506-511. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.012

[19] Galbán-Méndez, J. M., Martínez-Balmori, D., & González-Viera, D. (2021). Effect of extracts of humic substances on germination and growth of rice plant (*Oryza sativa* L.), cv. INCA LP-5. *Cultivos Tropicales*, 42(1), e05. http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v42n1/en_1819-4087-ctr-42-01-e05.pdf

[20] Gerke, J. (2021). The effect of humic substances on phosphate and iron acquisition by higher plants: Qualitative and quantitative aspects. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 184(3), 329-338. https://doi.org/10.1002/jpln.202000525

[21] Gillett, J. (1963). *Sesbania* in Africa (excluding Madagascar) and southern Arabia. *Kew Bulletin*, 17, 91-159. doi: 10.2307/4118710

[22] Goswami, S. P., Maurya, B. R., Dubey A. N., & Singh, N. K. (2019). Role of phosphorus solubilizing microorganisms and dissolution of insoluble phosphorus in soil. *International Journal of Chemical Studies*, 7(3), 3905-3913. https://www.researchgate.net/publication/336

[23] Hossain, M. A., & Becker, K. (2001). Nutritive value and antinutritional factors in different varieties of *Sesbania* seeds and their morphological fractions. *Food Chemistry*, 73, 421-431. https://doi.org/10. 1016/S0308-8146(00)00317-4

[24] Huang, X., Tian, T., Chen, J., Wang, D. Tong, B. & Liu, J. (2021). Transcriptome analysis of *Cinnamomum migao* seed germination in medicinal plants of Southwest China. *BMC Plant Biology*, 21, 270. doi: 10.1186/s12870-021-03020-7

[25] Ievins, G., Vikmane, M., Kirse, A., & Karlsons, A. (2017). Effect of vermicompost extract and vermicompost derived humic acids on seed germination and seedling growth of hemp. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences*, 71(4), 286-292. https://doi.org/10.1515/prolas-2017-0048

[26] Johnson, R., & Puthur, J. T. (2021). Seed priming as a cost effective technique for developing plants with cross tolerance to salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 247-257. https://doi.org/ 10.1016/j.plaphy.2021.02.034

[27] Kadam, V. B., Mali, M. V., Kadam, U. B., & Gaikwad, V. B. (2013). Determination of alkaloid and lipid content in some medicinal plants of Genus *Sesbania*. *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 1, 187-192. https://updatepublishing.com/journal/index.php/jebt/article /view/108.

[28] Kalidurai, M., & Kannaiyan, S. (1991). *Sesbania* as a biofertilizer for rice. *Bioresource Technology*, 36, 141-145. https://doi.org/10.1016/0960-8524(91)90171-F

[29] Khaef, N., Enjavie Mosavie, F., & Alsadat Badihie, R. A. (2013). The effects of salt stress on germination of *Calotropis procera* L. seeds. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 6(1), 91-95. https://doi.org /10.22077/escs.2013.141 [In Persian]

[30] Kumar, R., Janadri, S., Kumar, D. D. R., & Swamy, S. (2015). Evaluation of antidiabetic activity of alcoholic extract of *Sesbania grandiflora* flower in alloxan induced diabetic rats. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1, 21-26. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:202624588

[31] Kuwatsuka, S., Watanabe, A., Itoh, K., & Arai, S. (1992). Comparison of two methods of preparation of humic and fulvic acids, IHSS method and NAGOYA method. *Soil Science and Plant Nutrition*, 38(1), 23-30. https://doi.org/10.1080/00380768.1992.10416948

[32] Larcher, W. (2003). *Physiological Plant Ecology*. 4th Ed., Berlin: Springer.

[33] Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., & Lock, M. (2005). *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond.

[34] Li, H., Yue, H., Li, L., Liu, Y., Zhang, H., Wang, J., & Jiang, X. (2021). Seed biostimulant *Bacillus* sp. MGW9 improves the salt tolerance of maize during seed germination. *AMB Express*, 11, 74. doi: 10.1186/s13568-021-01237-1

[35] Lutts, S., Benincasa, P., Wojtyla, L., Kubala S, S., Pace, R., Lechowska, K., Quinet, M., & Garnczarska, M. (2016). Seed priming: New comprehensive approaches for an old empirical technique. INTECH. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:55815543

[36] Mohanty, S. K., Valenca, R., Berger, A. W., Yu, I. K. M., Xiong, X., Saunders, T. M. & Tsang, D. C. W. (2018). Plenty of room for carbon on the ground: Potential applications of biochar for stormwater treatment, *Science of The Total Environment*, 625, 1644-1658. doi: 10.5772/64420

[37] Nardi, S., Panuccio, M. R., Abenavoli, M. R., & Muscolo, A. (1994). Auxin-like effect of humic substances extracted from faeces of *Allolobophora caliginosa* and *A. rosea*. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 1341-1346. https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90215-1

[38] Oksinska, M. P., Wright, S. A. I., & Pietr, S. J. (2011). Colonization of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) by strains of *Pseudomonas* spp. with respect to their nutrient utilization

profiles. *European Journal of Soil Biology*, 47(6), 364-373. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.08.005

[39] Qi, B. C., Aldrich, C., & Lorenzen, L. (2004). Effect of ultrasonication on the humic acids extracted from lignocellulose substrate decomposed by anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*, 98, 153-163. https://doi.org/10.1016/j.cej.2003.07.002

[40] Roy, R., Kumar, D., Chakraborty, B., Chowdhury, C., & Das, P. (2013). Apoptotic and autophagic effects of *Sesbania grandiflora* flowers in human leukemic cells. *PLoS One*, 8, e71672. doi: 10.1371/ journal.pone.0071672

[41] Sabeti, M., Tahmasebi, P., Ardestani, E. G., & Nikookhah, F. (2019). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on the seed germination, seedling growth and photosynthetic pigments of *Astragalus caragana* under drought stress. *Journal of Rangeland Science*, 9(4), 364-377. https://jour nals.iau.ir/article_663655_be131560e61ed5e0b2ab1d009034ed34.pdf

[42] Salem, G., Stromberger, M. E., Byrne, P. F., Manter, D. K., El-Fekid, W., & Weir, T. L. (2018). Genotype-specific response of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) to irrigation and inoculation with ACC deaminase bacteria. *Rhizosphere*, 8, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.08.001

[43] Savy, D., Canellas, L., Vinci, G., Cozzolino, V., & Piccolo, A. (2017). Humic-like water-soluble lignins from Giant reed (*Arundo donax* L.) display hormone-like activity on plant growth. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36, 995-1001. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:26106241

[44] Seyed Sharifi, R., & Khavazi, K. (2011). Effect of seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination components and seedling growth of corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agroecology*, 3(4), 506-513. doi: 10.22067/jag.v3i4.14908 [In Persian]

[45] Shahjalal, M., & Topps, J. (2000). Feeding *Sesbania* leaves as a sole feed on growth and nutrient utilization in goats. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 13, 487-489. https://doi.org/10.5 713/ajas.2000.487

[46] Sharma, T., Kumar, N., & Rai, N. (2018). Inoculation effect of nitrogen-fixing and phosphate-solubilising bacteria on seed germination of Brinjal (*Solanum melongena* L.). *Journal of Graphic Era University*, 6(1), 7-19. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:204828157

[47] Shirmohammadi, A. (2020). Study of genetical and functional diversity of insoluble phosphates solubilizing bacterial superior strains and to obtain the technical knowledge of phosphorus fertilizer formulation suitable for wheat (*Triticum aestivum* L.) dry-land farming (Case study of Qazvin and Zanjan provinces dry farming). Ph.D. Dissertation, University of Tehran.

[48] Shirmohammadi, E., Alikhani, H., Pourbabaee, A., & Etesami, H. (2020)a. Study of colonization ability and effect of phosphate solubilizing bacteria isolated from dry-land farming on wheat growth indices under stresses of water deficit and salinity. *Journal of Agricultural Engineering Soil Science and Agricultural Mechanization,* (*Scientific Journal of Agriculture*), 42(4), 41-53. doi: 10.22055/agen.2 020.31487.1516 [In Persian]

[49] Shirmohammadi, E., Alikhani, H.A. Pourbabaei, A. A. & Etesami, H. (2020)b. Improved phosphorus (P) uptake and yield of rainfed wheat fed with P fertilizer by drought-tolerant phosphate solubilizing fluorescent *Pseudomonads* strains: A field study in drylands. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 2195-2211. https://doi.org/10.1007/s42729-020-00287-x

[50] Singh, K., Sharma, R., Gera, R., Parshad, J., & Padder, S. A. (2020). Effect of different chemical treatments for breaking seed dormancy in *Sesbania* spp. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(10), 2640-2647. https://doi.org/ 10.20546/ijcmas.2020.9 10.318

[51] Song, K. & He, X. (2021). How to improve seed germination with green nanopriming. *Seed Science and Technology*, 49(2), 81-92. https://doi.org/10.15258/sst.2021.49.2.01

[52] Takahashi, C. (2003). Hot water treatment for the breakdown of hard seeds in *Sesbania rostrata*. *Tohoku Journal of Crop Science*, 46, 87-88. https://doi.org/10.20725/tjcs.46.0_87

[53] Trevisan, S., Pizzeghello, D., Ruperti, B., Francioso, O., Sassi, A., Palme, K., Quaggiotti, S., & Nardi, S. (2010). Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin-responsive IAA 19 gene and DR 5 synthetic element in Arabi-dopsis. *Plant Biology*, 12, 604-614. doi: 10.1111/j.1438-8677.2009.00248.x

[54] Trompowsky, P. M., Benites, V. M., Madari, B. E., Pimenta, A. S., Hockaday, W. C., & Hatcher, P. G. (2005). Characterization of humic like substances obtained by chemical oxidation of eucalyptus charcoal. *Organic Geochemistry*, 36, 1480-1489. https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2005.08.001

[55] Tsukanova, K. A., Meyer, J. J. M., & Bibikova, T. N. (2017). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African Journal of Botany*, 113: 91-102. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.007

[56] Veasey, E. A., & Freitas, T. J. C. (2002). Breaking seed dormancy in *Sesbania sesban*, *S. rostrata* and *S. virgata*. *Seed Science and Technology*, 30, 211-217. https://api.semanticscholar.org/CorpusI D:88679557

[57] Yaashikaa, P. R., Kumar, P. S., Varjani, S. & Saravanan, A. (2020). A critical review on the biochar production techniques, characterization, stability and applications for circular bioeconomy. *Biotechnology Reports*, 28: e00570. doi: 10.1016/j.btre.2020.e00570

[58] Yeom, M. S., Nguyen, T. K. L., Cho, J. S. & Oh, M. M. (2021). Improving germination rate of coastal glehnia by cold stratification and pericarp removal. Agronomy, 11: 944. https://doi.org/10.3390/a gronomy 11050944

[59] Zahir, Z. A., Arshad, M., & Frankenberger, W. T. (2004). Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 98-169. https://api.semanti cscholar.org/CorpusID:83509292

[60] Zainab, N. A., Khan, A. A., Azeem, M. A., Ali, B., Wang, T., Shi, F., Alghanem, S. M., Hussain Munis, M. F., Hashem, M., Alamri, S., Abdel Latef, A. A. H., Ali, O. M., Soliman, M. H., & Chaudhary, H. J. (2021). PGPR-mediated plant growth attributes and metal extraction ability of *Sesbania sesban* L. in industrially contaminated soils. *Agronomy*, 11, 1820. https://doi.org/10.3390 /agronomy11091820

[61] Zhang, P., Zhang, H., Wu, G., Chen, X., Gruda, N., Li, X., Dong, J., & Duan, Z. (2021). Dose-dependent application of straw-derived fulvic acid on yield and quality of tomato plants grown in a greenhouse. *Frontiers in Plant Science*, 12, 736613. https://doi.org/10.3389/ fpls.2021.736613