



دانشگاه گندی درمان بی کنگا

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و هشتم، شماره سوم، ۱۴۰۰

۱۶۵-۱۸۲

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/JOPP.2021.18604.2744

مقاله کامل علمی-پژوهشی

اثر باکتری‌های ریزوسفری جداسازی شده از گیاهان شورپسند بر برخی ویژگی‌های رویشی و محتوای یونی رقم گندم نارین

علیرضا امینی حاجی‌آبادی^۱، اصغر مصلح آرانی^{۲*}، سمیه قاسمی^۳ و محمد هادی راد^۴

^۱ اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان یزد، یزد، ایران،

^۲ گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران،

^۳ گروه علوم خاک، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران،

^۴ استادیار پژوهشی بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: افزایش روزافزون جمعیت جهان در کنار تغییرات اقلیمی و تنش‌های محیطی، تامین غذای کافی را با چالش جدی مواجه نموده است. شوری از جمله مهم‌ترین تنش‌های مؤثر بر کاهش محصولات کشاورزی می‌باشد. در سال‌های اخیر، استفاده از راهکارهای نوین برای تولید پایدار محصولات غذایی در شرایط تنش شوری مورد توجه قرار گرفته که باکتری‌های محرک رشد ریزوسفری از جمله این راهکارها می‌باشد. با توجه به اهمیت راهبردی گندم در تامین امنیت غذایی، این پژوهش با هدف افزایش مقاومت به شوری گندم رقم نارین با استفاده از باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری جداسازی شده از ریزوسفر چند گیاه شورپسند خودروی استان یزد طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: ویژگی‌های محرک رشد گیاه از جمله توان تولید اکسین، سیدروفور، سیانید هیدروژن، توان انحلال فسفات و مقاومت به شوری جدایه باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان شورپسند آتریپلکس، اشنان، سنبله نمکی و شور گز از رویشگاه آن‌ها در منطقه چاه‌افضل یزد بررسی گردید. در ادامه، بذر گندم نارین با سه باکتری برتر از لحاظ ویژگی‌های محرک رشد گیاه و مقاومت به شوری تلقیح و پس از کشت گلدانی با آب با شوری‌های ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر آبیاری گردید. پس از تکمیل دوره رشد رویشی، محتوای یونی سدیم، پتاسیم، کلسیم و فسفر در برگ و نیز برخی شاخص‌های رشد رویشی شامل طول ساقه، وزن خشک ساقه و ریشه و زیست‌توده کل اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: باکتری‌های شناسایی شده شامل *Bacillus pumilus*، *Bacillus safensis* و *Zhihengliuella halotolerance* دارای توان تولید اکسین، سیدروفور، سیانید هیدروژن، ۱- آمینو سیکلوپروپان -۱- کربوکسیلیک اسید دامیناز (ACC دامیناز) و توان انحلال فسفات بودند. بیش‌ترین مقدار تولید اکسین در باکتری *B. safensis* معادل ۲۹/۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بیش‌ترین مقدار تولید سیانید هیدروژن در باکتری *Z. halotolerans* بیش‌ترین مقدار ACC دامیناز در جدایه باکتری *B. pumilus* به مقدار

* مسئول مکاتبه: amoleh@yazd.ac.ir

۸ میکرومول آلفا-کتوتیرات بر ساعت بر میلی‌گرم پروتئین و توانایی انحلال فسفات *Z. halotolerans* بیش‌تر از دو باکتری دیگر بود. نتیجه تجزیه برگ گندم نشان داد در سطوح مختلف تنش شوری، محتوای سدیم افزایش و سایر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده نسبت به شاهد کاهش یافت. استفاده از باکتری‌ها باعث کاهش محتوای سدیم تا ۱۴۲ درصد و افزایش محتوای پتاسیم، کلسیم و فسفر در برگ گندم تحت تنش شوری به ترتیب تا ۷۰، ۹۲ و ۲۹۵ درصد نسبت به شاهد شد. هم‌چنین طول و وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه و بیومس کل در تیمارهای تحت تنش شوری تلقیح شده با جدایه باکتری‌ها به ترتیب تا ۴۴، ۵۶، ۱۱۷ و ۶۱ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: باکتری‌های محرک رشد گیاه در این آزمایش باعث بهبود معنی‌دار مقاومت گندم رقم نارین به تنش شوری شد. *B. safensis* بیش از دو جدایه باکتری دیگر موجب ارتقاء شاخص‌های رشد رویشی گندم در شرایط تنش شوری گردید. این نتایج هم‌چنین نشان داد که ریزوسفر گیاهان مرتعی شورپسند می‌تواند منبع مناسبی برای جداسازی باکتری‌های مقاوم به شوری جهت بهبود مقاومت گندم به شوری باشد.

واژه‌های کلیدی: آتریپلکس، اکسین، باکتری، ریزوسفر، شوری

مقدمه

گیاهان مهم زراعی تحت تنش شوری وجود داشته که در این بین، استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به‌عنوان روشی برآمده از طبیعت، توجه پژوهشگران را بخود جلب نموده است (۱۵). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه، با استفاده از سازوکارهای مستقیم و غیر مستقیم از جمله تعدیل سطح هورمون‌های محرک رشد مانند اکسین، ACC دامیناز، سانید هیدروژن، انحلال مواد مغذی (مانند پتاسیم و فسفر) و قابل دسترس نمودن آن برای گیاه از طریق تولید ترکیبات اسیدی آلی، تولید سیدروفور (مؤثر در جذب ریزمغذی آهن به گیاه) و سیانید هیدروژن (مقابله با عوامل بیماری‌زای گیاهی) باعث افزایش بردباری گیاهان از جمله گندم به تنش شوری و در نتیجه بهبود رشد و عملکرد آن می‌شوند. در این میان، باکتری‌هایی که از زیستگاه‌های تحت شرایط تنش محیطی مانند شوری یا خشکی انتخاب گردد به‌دلیل سازگاری با این شرایط از کارایی بیش‌تری در افزایش مقاومت گیاه برخوردار خواهد بود (۸). اثرات تنش اسمزی و سمیت یونی (عدم تعادل محتوای یونی) ناشی از تنش شوری در

بر اساس نتایج پژوهش‌ها پیش‌بینی می‌شود جمعیت جهان در سال ۲۰۵۰ به ۱۰ میلیارد نفر برسد که این جمعیت، نیازمند ۵۶ درصد غذای بیش‌تر نسبت به سال ۲۰۱۰ خواهند بود. با این حال، عوامل متعددی مانند تغییرات اقلیمی و تنش‌های محیطی باعث محدودیت در دستیابی به تولید غذای کافی می‌شود (۴۰). شوری آب و خاک از جمله عوامل تنش‌زا بر تولیدات زراعی بوده که پیش‌بینی می‌شود به‌دلیل تغییرات اقلیمی و بهره‌برداری نادرست بشر از منابع خاک و آب، روند رو به رشد داشته به‌طوری‌که حدود ۵۰ درصد اراضی زراعی جهان به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک را تا سال ۲۰۵۰ تحت‌تأثیر قرار دهد (۵۰). تنش شوری، عامل کاهش ۲۰ تا ۵۰ درصد محصول گیاهان زراعی مهم از جمله گندم، برنج و ذرت بوده (۵۴) که در این میان، گندم به‌عنوان منبع غذایی اصلی برای ۴۰ درصد مردم جهان از اهمیت راهبردی برخوردار است (۱۲). بر این اساس، در کنار روش‌های مرسوم شورورزی، نیاز مبرمی به استفاده از راهکارهای نوین برای افزایش پایدار

(*Atriplex lentiformis* (Torr.) S. Watson)، شور گز (*Tamarix ramosissima* Ledeb)، اشنان (*Seidlitzia rosmarinus* Ehrenb. ex Bois) و سنبله نمکی (*Halostachys belangeriana* (Moq.) Botsch.) رشد کرده در منطقه چاه‌افضل اردکان در ۷۰ کیلومتری شهر یزد در سال ۱۳۹۷ جداسازی و خالص‌سازی شدند (۵۵). نمونه‌برداری خاک ریزوسفری (خاک ۱ تا ۲ میلی‌متری ریشه) از ریشه‌های باریک که در عمق حدود یک متری سطح زمین قرار داشتند از گونه‌های درختچه‌ای شورزی بیابانی مورد نظر صورت گرفت. برای جداسازی باکتری‌ها ۱۰ گرم از خاک ریزوسفری به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد) منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه به‌وسیله شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند. سپس سری‌های رقت خاک تهیه و یک‌دهم میلی‌لیتر از آن روی ظروف پتری‌دیش حاوی محیط کشت آگار مغذی پخش گردید. گونه‌های باکتری مشابه بر اساس خصوصیات فنوتیپی (شکل، تحرک، رنگ، سرعت رشد، مورفولوژی کلنی) و رنگ‌آمیزی گرم گروه‌بندی شدند و در یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس برای مطالعه بعدی ذخیره شدند.

به منظور ارزیابی میزان تحمل این جدایه‌ها به شوری، جدایه‌ها روی محیط‌های کشت نوترینت آگار با غلظت‌های شوری صفر (شاهد)، ۴۰، ۱۶۰، ۳۲۰، ۶۴۰، ۱۲۰۰، ۱۶۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در سه تکرار کشت و سپس پلیت‌ها به مدت یک هفته در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته، مقاومت باکتری‌ها به شوری بررسی شد. تولید اسید ایندول ۳-استیک (۹)، برآورد انحلال فسفات نامحلول (۲۸)، ارزیابی تولید سیدروفور (۳)، توان تولید سیانید هیدروژن (۱۴) و سنجش میزان تولید ACC دامیناز (۲۲) جدایه

زمینه‌های مختلف مانند کاهش محتوای کلروفیل، بسته شدن روزنه‌ها، اختلال در تولید آنزیم‌ها، تخریب پروتئین‌های دیواره سلولی و دی‌ان‌آ (DNA)، تنش اکسایش بروز می‌کند. این اثرات منفی بخوبی در قالب تغییرات محتوای یونی و ویژگی‌های مرتبط با رشد رویشی گیاهان قابل تشخیص است (۳۰).

مطالعات نشان داده است که تنش شوری با افزایش تولید هورمون اتیلن موجب کاهش رشد ریشه‌های گندم شده و کاربرد باکتری‌های محرک رشد با افزایش رشد ریشه گیاه و فراهم نمودن ریزمغذی‌ها از طریق سیدروفور و تولید ACC دامیناز اثر اتیلن را کاهش می‌دهد (۴۷). باکتری‌های مورد بررسی با تولید اکسین و ACC دامیناز باعث افزایش نسبت ریشه به ساقه در گندم شدند. نقش مثبت باکتری‌های تولیدکننده ACC دامیناز در افزایش وزن خشک ریشه و ساقه تأیید شده است (۵۲). باکتری‌های محرک رشد با تأثیر بر پتاسیم معدنی، شکل قابل جذب آن را برای گندم در محیط ریزوسفر افزایش داده (۱۷، ۳۴) و این فرصت را برای گیاه فراهم می‌نمایند تا تعادل یونی را از طریق افزایش جریان پتاسیم به بخش هوایی و راندن سدیم به ریشه‌ها برقرار نماید (۶۲).

از آن‌جا که رقم نارین، حاصل عملیات به‌نژادی و مناسب برای کشت در مناطق متأثر از شوری کشور می‌باشد، بنابراین این پژوهش با هدف هم‌افزایی تأثیرات باکتری‌های محرک رشد گیاهان مورد نظر بر افزایش مقاومت به شوری ژنتیکی رقم گندم نارین در قالب شاخص‌های مذکور، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های منتخب و تعیین ویژگی‌های آن‌ها: جدایه‌های باکتریایی مورد استفاده در این پژوهش از خاک ریزوسفری چهار گونه شورپسند آتریپلکس

عناصر سدیم، پتاسیم، فسفر، کلسیم و نسبت پتاسیم به سدیم و ویژگی‌های رویشی شامل طول ساقه، وزن خشک بخش هوایی و ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی و بیوماس کل گیاه اندازه‌گیری شد.

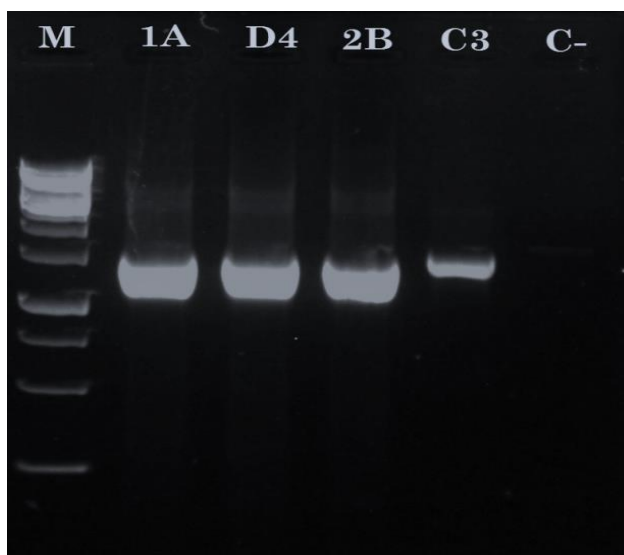
غلظت سدیم و پتاسیم (۵۹) و فسفر (۳۷) برگ گندم اندازه‌گیری شدند. برای سنجش وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نمونه‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

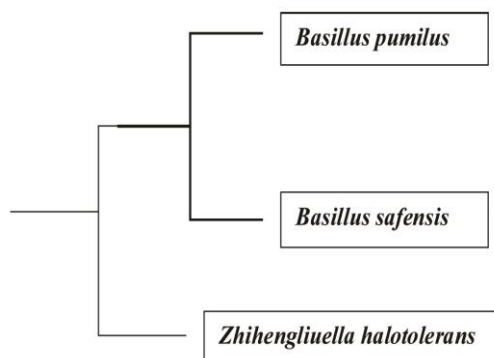
جدایه‌ها و شناسایی مولکولی و ویژگی‌های محرک رشد گیاه آن‌ها: پس از جداسازی باکتری‌های ریزوسفری از چهار گونه شورپسند، تعداد چهار جدایه مقاوم به شوری با بهترین ویژگی‌های محرک رشد انتخاب گردید. با انجام شناسایی مولکولی، دو جدایه مشابه تشخیص داده شد و بنابراین در نهایت، سه جدایه باکتری (*B. safensis* (MW295355) (از ریزوسفر آتریپلکس لتی فورمیس)، *B. pumilus* (MW295357) (از ریزوسفر سنبله نمکی و کوره‌گز) و *Z. halotolerans* (MW295355) (از ریزوسفر اشنان) شناسایی گردید. در جدول ۱، برخی ویژگی‌های محرک رشد باکتری‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. شکل ۱ محصول PCR به همراه کنترل منفی روی ژل آکار ۱ درصد را نشان می‌دهد. درخت فیلوژنی حاصل از توالی‌های 16S rRNA سویه‌ها نشان داد که سه باکتری متعلق به سه گونه متفاوت طبقه‌بندی شدند (شکل ۲).

باکتری‌ها اندازه‌گیری شد. شناسایی جدایه‌های باکتریایی بر اساس تعیین توالی ژن 16S rRNA (۶۳) انجام شد. تمام مراحل شناسایی جدایه باکتری‌ها توسط شرکت سلول کاوشگر ژن پژوه (شماره ثبت ۳۴۳۸۱) انجام شد.

آزمایش گلخانه‌ای: بذر گندم رقم نارین از بخش تحقیقات غلات مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد تهیه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با دو عامل شامل جدایه باکتری در چهار سطح (یک سطح بدون باکتری به عنوان شاهد و ۳ جدایه باکتری متحمل به شوری از گیاهان شورپسند منطقه شامل اشنان، آتریپلکس، گز و سنبله نمکی، تنش شوری در چهار سطح شوری آب آبیاری (آب آبیاری با شوری ۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر به عنوان شاهد و شوری‌های ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر از طریق اضافه کردن کلرید سدیم به آب شاهد تهیه شد) و در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. بذرها با جدایه‌های باکتریایی مورد نظر با تراکم جمعیت 3×10^8 در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون، به مدت ۲۴ ساعت تلقیح شد. علاوه بر این بعد از کشت بذرها در گلدان، به هر بذر ۳ میلی‌لیتر مایع تلقیح اضافه شد. ۲ کیلوگرم خاک در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۱ و قطر دهانه ۱۶ سانتی‌متر ریخته شده و در هر گلدان ۸ بذر جوانه زده در عمق ۲ سانتی‌متری کاشته شدند. برای جلوگیری از وارد شدن شوک به گیاهان، تیمارهای شوری به صورت تدریجی اعمال شد. هم‌چنین به منظور اطمینان از رسیدن به شوری مورد نظر، هر هفته یک بار قابلیت هدایت الکتریکی زه‌آب گلدان‌ها اندازه‌گیری شده و در صورت افزایش بیش از شوری تیمار، آبشویی با آب شاهد انجام گردید. در مرحله رسیدگی بذر، محتوای یونی برگ گندم شامل غلظت



شکل ۱- باندهای محصول PCR به همراه کنترل منفی روی ژل آگار ۱ درصد.
Fig. 1. PCR product bands with negative control on 1% agar gel.



شکل ۲- درخت فیلوژنیک گونه‌ها.
Fig. 2. Phylogenetic tree species.

جدول ۱- میانگین تولید اسید ایندول ۳ استیک، سیانید هیدروژن، سیدروفور، ACC دامیناز و توان انحلال فسفات باکتری‌های

Zhihengliuella halotolerance و *Bacillus pumilus*، *Bacillus safensis*

Table 1. Average production of indole- 3- acetic acid, hydrogen cyanide, siderophore, ACC-deaminase and phosphate solubilization ability by studied bacteria; *Bacillus safensis*، *Bacillus pumilus*، *Zhihengliuella halotolerance*.

انحلال فسفات Phosphate solubilization ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	ACC دامیناز ACC deaminase ($\mu\text{mol of } \alpha\text{-ketobutyrate h}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	سیدروفور Siderophore (halo diameter, cm)	سیانید هیدروژن Hydrogen cyanide (colour degree)	اسید ایندول تری استیک Indole 3 acetic acid ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	باکتری Bacteria
70.33	6	1.50	3	29.72	<i>B. safensis</i>
116.33	8	0.50	3	22.57	<i>B. pumilus</i>
162.08	6	0.14	5	26.82	<i>Z. halotolerans</i>

B. pumilus به مقدار ۸ میکرومول آلفا-کتوتیرات بر ساعت بر میلی‌گرم پروتئین اندازه‌گیری شد. ارزیابی انحلال تری کلسیم فسفات در محیط مایع توسط باکتری‌ها نشان داد که هر سه باکتری قادر به انحلال فسفات معدنی بودند. توانایی انحلال فسفات *Z. halotolerans* بیش‌تر از دو برابر باکتری *B. safensis* بود.

اثر تلقیح جدایه‌های باکتریایی بر رشد رویشی و محتوای یونی گندم: نتایج تجربه واریانس نشان داد که اثر شوری آب آبیاری، اثر باکتری و اثر متقابل شوری × باکتری بر کلیه ویژگی‌های مورد نظر معنی‌دار بود (جدول‌های ۲ و ۳).

نتایج نشان داد که هر سه باکتری مورد بررسی قادر به تولید اکسین بودند. بیش‌ترین مقدار تولید اکسین در باکتری *B. safensis* معادل ۲۹/۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. هر سه باکتری قادر به تولید سیانید هیدروژن بودند و بیش‌ترین مقدار تولید سیانید هیدروژن بر اساس تغییر رنگ کاغذ صافی در باکتری *Z. halotolerans* با درجه ۵ (بسیار بالا) مشاهده شد. مقدار تولید سیدروفور با اندازه‌گیری قطر هاله نارنجی رنگ اطراف کلونی جدایه‌ها ارزیابی شد. نتایج حاصل از بررسی توانایی تولید سیدروفور نشان داد هر سه باکتری قادر به تولید سیدروفور بودند. تولید ACC دآمیناز در هر سه باکتری مشاهده شد و بیش‌ترین مقدار آن در باکتری

جدول ۲- میانگین مربعات ویژگی‌های رویشی گندم تیمار شده با جدایه‌های مختلف باکتری در سطوح مختلف شوری.

Table 2. Mean square selected vegetative traits of wheat treated with different strains of bacteria at different levels of salinity.

زی توده کل Total Biomass (gr)	وزن ریشه/ ساقه Root/Shoot Weigth	وزن خشک ریشه Root Dry Weigth (gr)	وزن خشک ساقه Stem Dry Weigth (gr)	طول ساقه Stem Length (cm)	درجه آزادی df	منبع تغییر Source of variation
0.44**	0.06**	0.090**	0.15**	379.3**	3	شوری Salinity
0.15**	0.02**	0.025**	0.05**	287.2**	3	باکتری Bacteria
0.05**	0.02**	0.008**	0.03**	19.3*	9	شوری × باکتری Salinity×Bacteria
0.005	0.004	0.001	0.004	7.9	32	خطا Error

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد و غیرمعنی‌دار

**، *، ns Significant at $P \leq 0.01$, Significant at $P \leq 0.05$, non significant respectively

جدول ۳- میانگین مربعات ویژگی‌های محتوای یونی گندم تیمار شده با جدایه‌های مختلف باکتری در سطوح مختلف شوری.

Table 3. Mean square selected ionic content traits of wheat treated with different strains of bacteria at different levels of salinity.

فسفر P (mgrkg ⁻¹)	کلسیم Ca (meql ⁻¹)	پتاسیم/سدیم K/Na	پتاسیم K (mgrkg ⁻¹)	سدیم Na (mgrkg ⁻¹)	درجه آزادی df	منبع تغییر Source of variation
7.26E6**	16.84**	121.66**	3.93E8**	2.70E9**	3	شوری Salinity
1.19E6**	12.40**	3.50**	1.06E8**	8.59E8**	3	باکتری Bacteria
6.77E5**	1.35**	1.96**	2.12E7**	1.58E8**	9	شوری × باکتری Salinity×Bacteria
3409.4	0.19	0.015	1.06E6	3.12E5	32	خطا Error

افزایش ۳۷/۵، ۲۱ و ۲/۵ درصد وزن ساقه نسبت به شاهد شدند.

با افزایش شوری، وزن ریشه کم شد به طوری که در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر با کاهش معنی‌دار ۱۵۰ درصدی نسبت به شاهد روبرو شد (شکل ۳-۳). هر سه جدایه باکتری باعث برتری وزن ریشه نسبت به شاهد شوری شده که بیشینه آن مربوط به *B. safensis* با ۱۱۷ درصد افزایش در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر بود. در مجموع سطوح تنش شوری، *B. safensis*، *Z. halotolerans* و *B. pumilus* باعث افزایش به ترتیب ۸۳، ۴۹ و ۴۳ درصد وزن ریشه نسبت به شاهد شدند.

با افزایش شوری، نسبت وزن ریشه به ساقه روند نزولی داشت، به طوری که مقدار آن در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد، کاهش معنی‌دار ۷۴ درصدی داشت (شکل ۳-۳). جدایه‌های باکتری در همه سطوح تنش شوری باعث افزایش نسبت وزن ریشه به وزن ساقه شد که بیشینه آن مربوط به باکتری *Z. halotolerans* با ۷۱ درصد افزایش معنی‌دار

نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۳-۳) نشان داد با افزایش شوری به ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر، طول ساقه نسبت به شاهد ۳۰ درصد کاهش معنی‌دار یافت. باکتری‌ها در هر سه تیمار تنش شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش طول ساقه نسبت به شاهد شوری شد. بیشینه این افزایش مربوط به باکتری *B. safensis* در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر به میزان معنی‌دار ۴۴ درصد بود. در مجموع سطوح تنش شوری، *B. safensis*، *Z. halotolerans* و *B. pumilus* باعث افزایش متوسط به ترتیب ۳۸، ۱۹ و ۱۷ درصد نسبت به شاهد شدند.

وزن ساقه با افزایش شوری روند نزولی داشته (شکل ۳-۳) به طوری که در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد، کاهش معنی‌دار ۴۳/۷ درصد داشت. در تیمارهای شوری هر سه باکتری باعث افزایش وزن ساقه شد که بیشینه آن مربوط به *B. safensis* به میزان معنی‌دار ۵۶ درصد (در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر) بود. در مجموع *B. safensis*، *B. pumilus* و *Z. halotolerans* به ترتیب باعث

۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر نه تنها نتوانست کاهش معنی‌دار در وزن ساقه، ریشه و ریست توده کل در تیمارهای باکتری *B. pumilus* و *B. safensis* نسبت به شاهد ایجاد نماید، بلکه دو باکتری مذکور حتی باعث افزایش شاخص‌های رشد در برخی سطوح شوری نسبت به شاهد شدند. این افزایش می‌تواند ناشی از بیش‌تر شدن فعالیت باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری در شرایط تنش شوری (۴۲) بر مبنای مفهوم «واکنش متناسب به مقدار» (Hormetic Dose-Response Relationship) باشد. بر مبنای این اصل، مقادیر کم از عامل تنش، اثر محرک و مقادیر زیاد، اثر بازدارندگی بر فعالیت موجود زنده دارد (۱).

افزایش وزن خشک بخش هوایی و ریشه در این آزمایش را می‌توان از جمله نتایج عملکرد باکتری‌ها در بهبود کارایی فتوسنتز قلمداد نمود. کاهش کارایی فتوسنتز، یک دلیل مهم برای ممانعت از رشد گیاه بوده که در شوری بالا رخ می‌دهد (۱۰). تنش اسمزی، باعث افت فشار سلول‌های محافظ روزنه‌ها و بسته شدن سریع آن‌ها شده که منجر به کاهش جذب دی‌اکسید کربن و فتوسنتز می‌شود. تجمع یون پتاسیم در سلول‌های محافظ، نقش اصلی را در ایجاد تعادل اسمزی و جذب آب و افزایش تورم و باز شدن روزنه‌ها دارد. علاوه بر این، نقش پتاسیم در فعالیت آنزیمی و تولید ATP در تنظیم سرعت فتوسنتز مهم‌تر از نقش آن در فعالیت روزنه‌ای است. وقتی انرژی خورشیدی به ترکیب CO_2 و H_2O و در نتیجه تشکیل قند منجر می‌شود، اولین محصول پر انرژی ATP است که به‌عنوان منبع انرژی در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی مصرف می‌شود. بار الکتریکی لازم برای تولید ATP با یون K^+ تامین می‌شود. با

نسبت به شاهد در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر بود. در مجموع باکتری‌های *Z. halotolerans*، *B. safensis* و *B. pumilus* باعث افزایش به ترتیب ۴۶، ۳۴ و ۱۸ درصد نسبت وزن ریشه به ساقه در مقایسه با شاهد شدند.

میزان زیست توده کل با افزایش شوری روند نزولی داشته، به طوری که در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر ۶۷ درصد کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۳-E). جدایه‌های باکتری در همه سطوح تنش شوری باعث افزایش بیومس کل نسبت به شاهد شوری شد که بیشینه آن به میزان ۶۱ درصد مربوط به *B. safensis* در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر بود. در مجموع باکتری‌های *B. safensis*، *B. pumilus* و *Z. halotolerans* باعث افزایش به ترتیب ۴۸، ۲۶ و ۱۳ درصد بیومس کل در مقایسه با شاهد شدند.

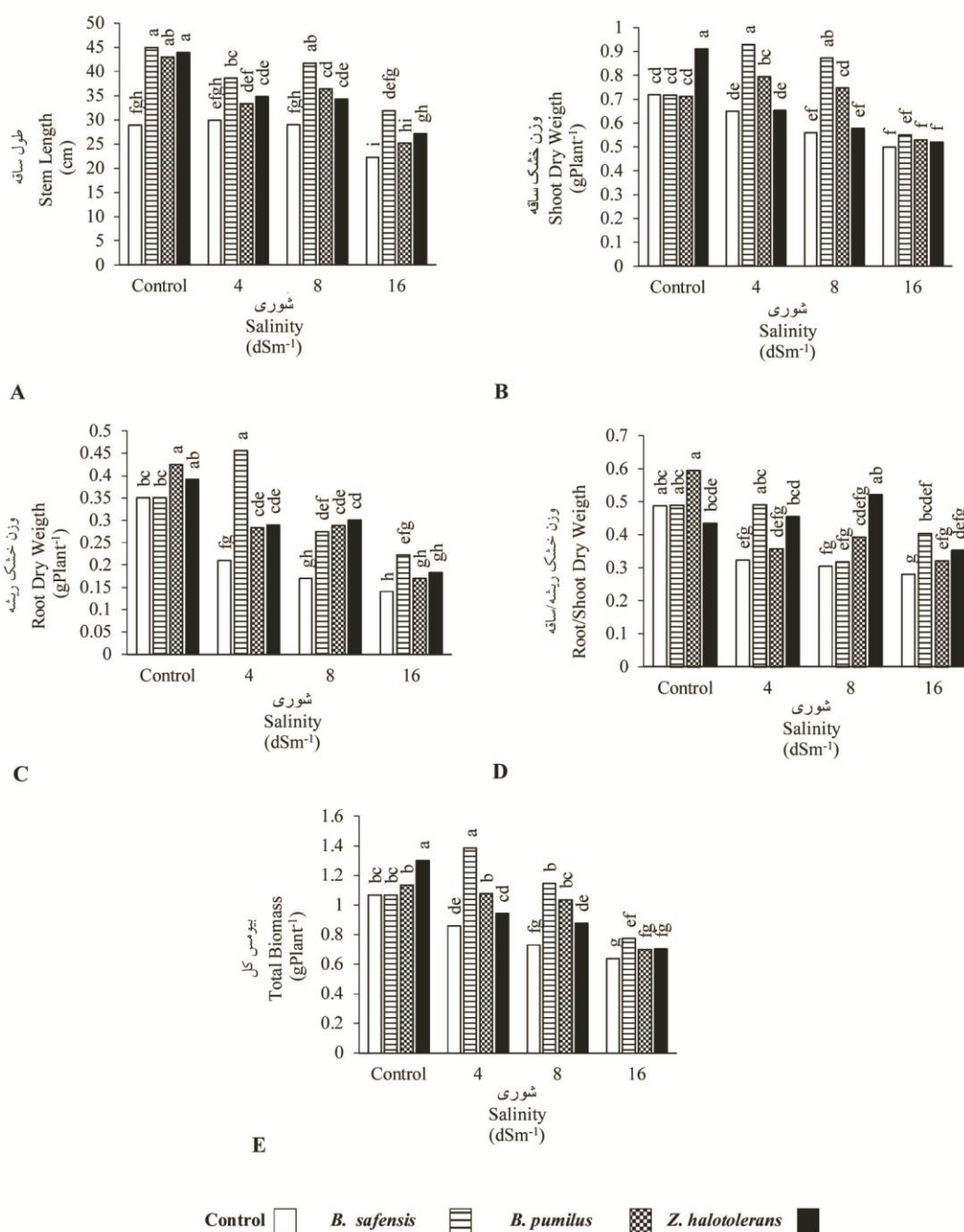
با افزایش سطوح شوری، طول ساقه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه و بیومس کل کاهش داشت. از نخستین آثار تنش اسمزی، کاهش فشار تورگر سلولی بوده که در سطح میکروسکوپی منجر به کاهش توسعه و اندازه سلول‌های ساقه و ریشه و در نتیجه کوتاهی آن می‌شود. در مقابله با این پدیده، گیاه با کمک باکتری‌های محرک رشد، فشار اسمزی خود را با جذب یون‌های معدنی به‌ویژه پتاسیم تنظیم نموده و رشد خود را هر چند با سرعت کم‌تری ادامه می‌دهد (۱۱). در پژوهش حاضر، میزان رشد طولی ساقه، وزن خشک بخش هوایی و ریشه و زیست توده کل تیمارهای تلقیحی با همه باکتری‌ها در هر یک از سطوح شوری نسبت به شاهد شوری افزایش یافت که مطابق مطالعات مشابه در این زمینه (۷، ۴۴) می‌باشد. نکته قابل توجه این‌که روند افزایش شوری به

اثر اتیلن را کاهش داد (۴۷). نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه با افزایش شوری کاهش یافت که این کاهش می‌تواند ناشی از تجمع اتیلن در ریشه باشد (۴۷). در مقابل، باکتری‌های مورد بررسی با تولید اکسین و ACC دآمیناز باعث افزایش نسبت ریشه به ساقه شدند. نقش مثبت باکتری‌های تولیدکننده ACC دآمیناز در افزایش وزن خشک ریشه و ساقه تأیید شده است (۵۲). به نظر می‌رسد برای گیاه در شرایط تنش شوری، تامین آب و یونها چه به عنوان ماده مغذی و چه به عنوان تنظیم‌اسمزی و تعادل یونی نسبت به افزایش بخش هوایی و تبدیل کربن طی فتوسنتز از اولویت برخوردار است (۲۳). در بین ویژگی‌های محرک رشد باکتریایی، هورمون ACC دآمیناز نقش کلیدی در تسهیل رشد گیاهی در شرایط تنش دارد بدین صورت که در پاسخ به تنش از جمله شوری و زیاد شدن میزان اکسین در گیاه (مجموع اکسین باکتریایی و اکسین گیاهی)، بخشی از اکسین صرف رشد گیاه و بخشی موجب تولید ACC به‌عنوان پیش ماده تولید اتیلن می‌شود. در این مرحله چنانچه باکتری محرک رشد قادر به تولید ACC دآمیناز باشد این مقدار ACC دآمیناز اضافی ناشی از اکسین را خنثی نموده که در غیر این صورت به اتیلن تبدیل و موجب کاهش رشد گیاه می‌شود. بنابراین، باکتری‌های دارای توان تولید مشترک اکسین و ACC دآمیناز از عملکرد بهینه در افزایش رشد گیاهی در شرایط تنش برخوردار هستند (۲۰). بر این اساس، برتری باکتری *B. safensis* در افزایش شاخص‌های رشد رویشی گندم نارین در این پژوهش را می‌توان ناشی از بیش‌تر بودن توان تولید اکسین آن نسبت به دو باکتری دیگر در کنار داشتن توان تولید ACC دآمیناز دانست.

کاهش میزان K^+ در اثر شوری، میزان فتوسنتز و تولید ATP نیز کم شده و همه فرایندهای وابسته به ATP کاهش می‌یابد. در مقابل، تنفس سلولی افزایش یافته که باعث کاهش رشد و نمو گیاه می‌شود (۶۴). بنابراین باکتری‌های مورد بررسی با افزایش نسبت پتاسیم به سدیم و از سوی دیگر تامین آهن مورد نیاز در ساخت کلروفیل، باعث افزایش محتوا و کارایی فتوسنتز و در نتیجه افزایش شاخص‌های رشد رویشی مورد بررسی شدند.

هورمون اکسین (اسید ایندول ۳ استیک) تولیدی توسط باکتری‌ها از نقش مستقیم در افزایش رشد اعم از ریشه و بخش هوایی گندم برخوردار بود. این هورمون، اثرات قوی بر رشد ریشه (۲۶) و ساختار آن به لحاظ گسترش تعداد و طول ریشه‌های فرعی (۵۹) داشته که منجر به افزایش جذب مواد مغذی از ریزوسفر می‌شود. اکسین هم‌چنین بر تقسیم، تمایز و طویل شدن سلول، افزایش جریان شیره خام، تشکیل رنگدانه‌های گیاهی و فتوسنتز و مقاومت به تنش‌های محیطی تأثیر دارد (۱۹). بر اساس نتایج این پژوهش، بیش‌ترین میزان افزایش طول و وزن ساقه و وزن ریشه مربوط به باکتری *B. safensis* بوده که دارای بیش‌ترین میزان توان تولید اکسین می‌باشد. نتایج مشابهی از تأثیر اکسین تولیدی باکتری‌های محرک رشد بر افزایش وزن بخش هوایی و ریشه گندم تحت تنش شوری در مطالعات دیگر گزارش شده است (۲۴، ۴۴).

یکی از عوامل کاهش رشد گندم، افزایش میزان هورمون اتیلن و تجمع آن در ریشه می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد تنش شوری با افزایش اتیلن موجب کاهش رشد ریشه‌های گندم شده و کاربرد باکتری‌های محرک رشد با افزایش رشد ریشه گیاه و فراهم نمودن ریزمغذی‌ها از طریق سیدروفور و تولید ACC دآمیناز



شکل ۳- اثرات متقابل شوری × باکتری بر طول ساقه (A)، وزن خشک ساقه (B)، وزن خشک ریشه (C)، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه (D) و بیومس کل (E) میانگین‌های با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Fig. 3. Interaction Salinity × Bacteria effects on shoot length (A), Shoot dry weight (B), Root dry weight (C), Root/shoot dry weight (D) and Total biomass (E). (Means with the same letters, dont have significant difference at 0.05 probability level).

به ترتیب باعث متوسط افزایش ۲۲۶، ۱۵۳ و ۱۱۵ درصدی نسبت پتاسیم به سدیم در سطوح تنش شوری گردید.

عموماً شوری، باعث تنش اسمزی و تنش سمیت یونی (عدم تعادل یونی) در گیاهان می‌شود. اگرچه برای تنظیم اسمزی، گیاه می‌تواند به‌جای ساخت ترکیبات آلی که کربن زیادی برای آن مصرف می‌شود از یون‌های سدیم و پتاسیم استفاده کند (۳۵) اما تحت تنش شوری، فراوانی یون‌های سدیم مشکل‌ساز می‌شود. یون‌های سدیم و پتاسیم به‌دلیل شباهت‌های فیزیکی-شیمیایی بر سر انتقال به داخل سلول رقابت داشته و بنابراین در شرایط تنش شوری که غلظت سدیم در ریزوسفر بسیار بالاست جذب پتاسیم با مشکل روبرو شده و در نهایت، نسبت پتاسیم به سدیم در مایع سلولی کاهش می‌یابد. چنین شرایطی در محتوای سدیم، پتاسیم و نسبت این دو یون در برگ گندم مورد بررسی مشاهده شد. از آن‌جا که سدیم به‌غیر از تامین فشار تورگر، قادر به انجام سایر کارکردهای فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی پتاسیم نیست بنابراین با بهم خوردن تعادل بین این دو عنصر، ساخت پروتئین‌ها، انتقال انرژی، فعالیت‌های آنزیمی، تحرک سلول‌های محافظ روزنه و فتوسنتز که نیازمند پتاسیم است با اختلال مواجه شده که منجر به کاهش رشد گیاه می‌شود (۴۳). بازدارندگی سدیم بر انتقال پتاسیم، در مرحله جذب پتاسیم از محیط خاک مهم‌تر از مرحله انتقال در آوند چوبی بوده (۳۹) و غلظت پتاسیم در محیط رشد، میزان جذب خالص آن را مشخص می‌کند (۵). در چنین شرایطی، باکتری‌های محرک رشد با تأثیر بر پتاسیم معدنی، شکل قابل جذب آن را برای گیاه در

تنش شوری، *Bacillus safensis*، *Bacillus pumilus* و *Z. halotolerans* باعث افزایش متوسط به ترتیب ۴۸، ۲۶ و ۱۳ درصد بیومس کل در مقایسه با شاهد بدون باکتری شدند. تیمار باکتری *Bacillus safensis* در شوری‌های ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد بدون شوری نیز به ترتیب برتری معنی‌دار ۳۰ و غیرمعنی‌دار ۷ درصدی داشت.

با افزایش شوری، میزان سدیم برگ افزایش یافت (شکل ۴-۸). هر سه باکتری در همه سطوح تنش شوری باعث کاهش میزان سدیم برگ شده که بیشینه آن مربوط به *B. safensis* در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر بود. در مجموع سطوح تنش شوری، *B. pumilus*، *B. safensis* و *Z. halotolerans* کاهش متوسط به ترتیب ۱۱۶، ۸۲ و ۳۱ درصد میزان سدیم نسبت به شاهد را باعث شدند.

محتوای پتاسیم برگ با افزایش شوری کاهش داشت (شکل ۴-۸). بیشینه افزایش پتاسیم در سطوح شوری، مربوط به *B. pumilus* در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر به میزان ۷۰ درصد بود. در مجموع سطوح تنش شوری، *B. pumilus*، *B. safensis* و *Z. halotolerans* به ترتیب ۶۰، ۵۱ و ۱۶ درصد محتوای پتاسیم را نسبت به شاهد بدون باکتری افزایش دادند.

نسبت پتاسیم به سدیم با افزایش شوری کاهش یافت (شکل ۴-۸). باکتری‌ها باعث افزایش این نسبت شدند، به‌طوری‌که بیش‌ترین افزایش مربوط به باکتری *B. safensis* در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر بود. در مجموع، باکتری‌های *Z. halotolerans*، *B. pumilus* و *B. safensis*

تنش شوری عمل نموده که ضمن فعال نمودن مکانیزم‌های هشدار در مورد کمبود سایر عناصر مغذی در گیاه تحت تنش شوری، باعث خروج سدیم از طریق ناقل H^+/Na^+ موجود در غشای پلاسمایی سلول موسوم به SOS1 (Salt Overly Sensitive) می‌شود (۲۹، ۴۸). در پژوهش حاضر، میزان کلسیم برگ گندم در تیمارهای تنش شوری تلقیحی با هر سه باکتری افزایش یافت که مشابه نتیجه مطالعات دیگر (۳۶، ۵۱) درباره تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر افزایش کلسیم برگ گندم تحت تنش شوری می‌باشد. از آن‌جا که در شرایط شوری، کلسیم و فسفر می‌توانند در پیوندهای شیمیایی با یکدیگر تثبیت شوند (۴۵) افزایش میزان کلسیم برگ در این پژوهش ممکن است ناشی از اثر اسیدهای آلی مترشح از باکتری‌ها و آزادسازی یون کلسیم از ترکیب با عناصری چون فسفر باشد. در این مورد باکتری *Z. halotolerans* که دارای بیش‌ترین توان انحلال فسفات و تولید سیانید هیدروژن را داشت میزان کلسیم بیش‌تر در برگ را باعث شد. در این پژوهش، افزایش کلسیم برگ توسط باکتری‌ها نیز در افزایش طول و رشد ساقه نقش داشت. پکتین، بیش‌ترین کمپلکس پلی ساکاریدی ساختاری و عملکردی در دیواره سلولی بوده که در ساختار خود از یون کلسیم به‌عنوان پیوند بین سلولی استفاده می‌کند. در شرایط شوری، سدیم جمع شده در فضای بین سلولی با قرارگیری به‌جای کلسیم، باعث کاهش گسترش سلول و در نتیجه کاهش رشد و بیومس گیاه می‌شود (۱۰).

میزان فسفر برگ با افزایش شوری کاهش یافت (شکل ۴-E). هر سه باکتری در سه سطح تنش

محیط ریزوسفر افزایش داده (۱۷، ۳۴) و این فرصت را برای گیاه فراهم می‌نمایند تا تعادل یونی را از طریق افزایش جریان پتاسیم به بخش هوایی و راندن سدیم به ریشه‌ها برقرار نماید (۶۲). در پژوهش حاضر، باکتری‌ها باعث کاهش میزان سدیم و افزایش پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در برگ گندم شده که با نتایج مطالعات دیگر در این زمینه (۲، ۱۶) مطابقت دارد.

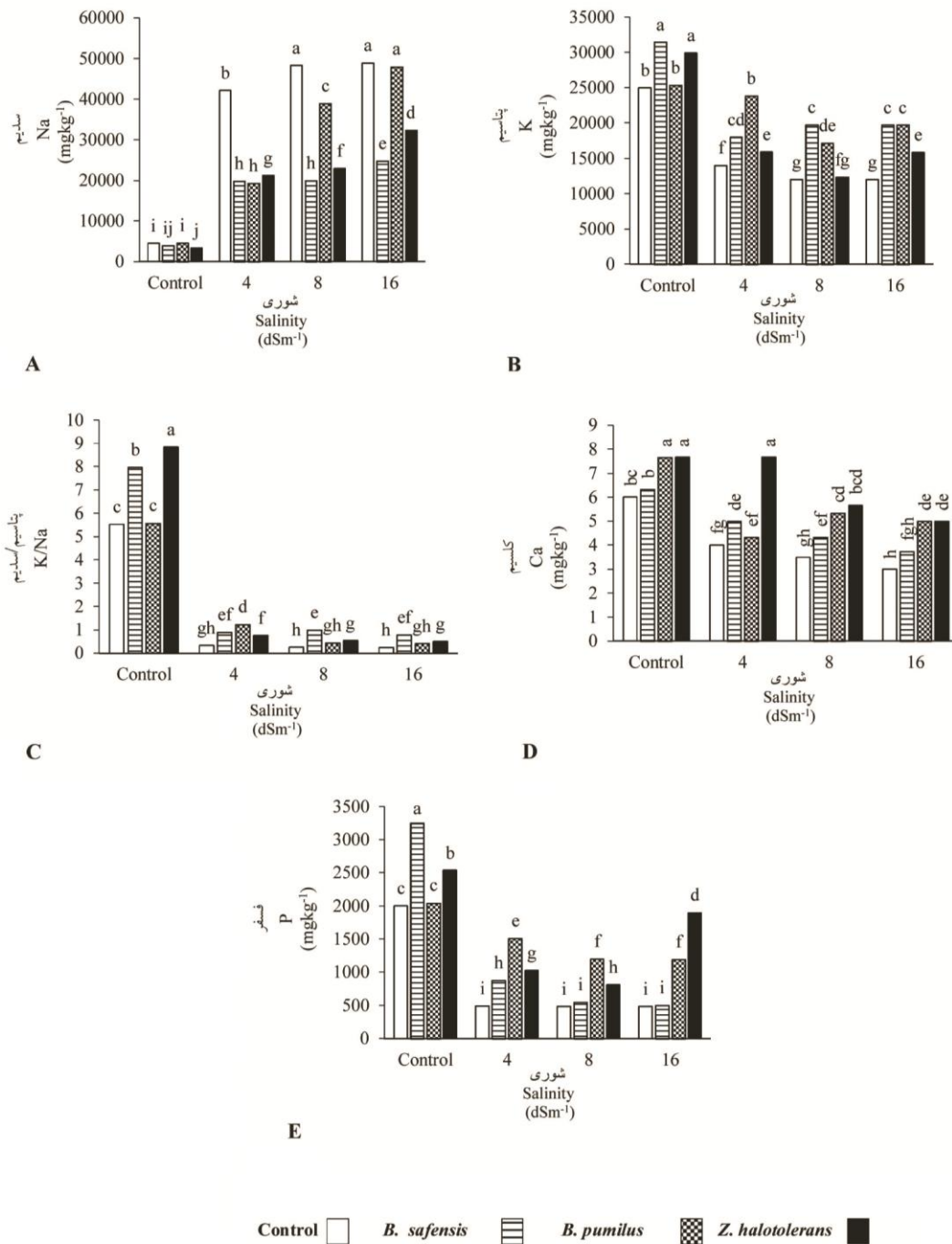
میزان کلسیم برگ با افزایش شوری کاهش یافت (شکل ۴-D). هر سه باکتری در همه سطوح تنش شوری باعث افزایش محتوای کلسیم برگ نسبت به شاهد بدون باکتری شده که بیشینه آن مربوط به باکتری *Z. halotolerans* در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر به میزان ۹۲ درصد بود. در مجموع سطوح تنش شوری، *Z. halotolerans* *B. pumilus* و *B. safensis* باعث افزایش متوسط میزان کلسیم به ترتیب ۷۵، ۴۰ و ۲۴ درصد شدند.

میزان کلسیم برگ گندم با افزایش شوری کاهش یافت. کلسیم، دارای نقش حیاتی در حفظ یکپارچگی و عملکرد غشاء و دیواره سلولی گیاهان از طریق تشکیل پیوندهای بین مولکولی، فعال نمودن برخی آنزیم‌ها و هماهنگی بین بعضی فعالیت‌های سلولی بوده (۵۴) و کمبود آن در گیاه، شاخص عمومی سمیت سدیم است (۱۳). در شرایط تنش شوری، سدیم از طریق ممانعت از انتقال کلسیم توسط ریشه‌ها و اشغال مکان‌های اتصال کلسیم در غشاهای پلاسمایی از میزان کلسیم برگ گیاه می‌کاهد (۲۱، ۳۱). غلظت مناسب کلسیم در برگ در شرایط تنش شوری از اهمیت خاصی برخوردار است، چرا که کلسیم به‌عنوان یک پیام‌رسان ثانویه در شرایط

شرایط شوری بوده که در نتیجه کاهش رشد گیاه را به دنبال دارد (۴۹). بنابراین، معدنی کردن فسفر آلی و انحلال فسفر معدنی به ترتیب از طریق ساخت آنزیم‌های فسفاتاز و فیتاز (۱۸) و اسیدهای آلی مانند اسید گلونیک و اسید سیتریک (۲۷) از جمله ویژگی‌های محرک رشد بسیار مهم بوده که هر دو می‌تواند در یک باکتری وجود داشته باشد (۳۲). علاوه بر این، تولید سیانید هیدروژن توسط باکتری‌ها که گمان می‌شد صرفاً با محدود نمودن عوامل بیماری‌زا باعث رشد گیاه می‌شود می‌تواند باعث افزایش غیرمستقیم فراهمی فسفر از طریق کلات با عناصر فلزی ترکیب شده با فسفر و رهاسازی فسفر در ریزوسفر گردد (۴۱). در پژوهش حاضر، هر سه باکتری مورد استفاده باعث افزایش معنی‌دار میزان فسفر برگ در سطوح تنش شوری شدند. افزایش فسفر برگ گندم در تنش شوری توسط باکتری‌های محرک رشد در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (۴، ۵۷، ۶۱). علاوه بر فراهمی فسفر محلول قابل جذب در محیط ریزوسفر، رشد ریشه‌ها نیز در جذب فسفر به گیاه نقش داشته (۲۵) که همبستگی مثبت میزان فسفر برگ با وزن ریشه در پژوهش حاضر، بیانگر این رابطه است.

شوری باعث افزایش فسفر نسبت به شاهد شوری شدند، به طوری که در مجموع سطوح تنش شوری، باکتری‌های *Z. halotolerans* *B. pumilus* و *B. safensis* میزان متوسط فسفر را به ترتیب ۱۷۰، ۱۵۸ و ۳۳ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. بیش‌ترین افزایش فسفر برگ در بین سطوح تنش شوری در باکتری *Z.* در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر اندازه‌گیری شد.

میزان فسفر برگ گندم مورد بررسی، با افزایش سطوح شوری کاهش یافت. فسفر از جمله عناصر مهم جهت رشد و ترمیم گیاه بوده که اغلب به عنوان ماده انرژی‌زا تعریف می‌شود، زیرا این عنصر به ذخیره و انتقال انرژی در طی فتوسنتز کمک کرده و برای تقسیم سلولی و تشکیل RNA و DNA ضروری است. متوسط فسفر خاک ۰/۰۵ درصد وزنی بوده که ۰/۱ درصد از این مقدار در اشکال محلول $H_2PO_4^-$ و HPO_4^{2-} قابل جذب توسط گیاه است (۶). با این وجود در صورت تنش شوری، باز هم امکان استفاده از فسفر برای گیاه کاهش یافته که این ناشی از رقابت بین یون‌های $H_2PO_4^-$ و Cl^- در جذب به ریشه (۳۳)، تثبیت در ترکیب $Ca_3(PO_4)_2$ (۵۳) و نیز مشکل انتقال فسفر از ریشه به بخش هوایی گیاه در



شکل ۴- اثرات متقابل شوری × باکتری بر محتوای سدیم (A)، پتاسیم (B)، نسبت پتاسیم/سدیم (C)، کلسیم (D) و فسفر (E) در برگ (میانگین‌های با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند).

Fig. 4. Interaction Salinity × Bacteria effects on Na (A), K (B), Ca (C) and P (E) content in the leaf. (Means with the same letters, dont have significant difference at 0.05 probability level).

استفاده از این باکتری‌ها در شرایط کشت مزرعه‌ای پیشنهاد می‌شود. در بین سه باکتری مورد استفاده، *B. safensis* از کارایی بیش‌تری در بهبود شاخص‌های رشد رویشی گندم نارین برخوردار بود.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری نمود که علی‌رغم مقاومت ژنتیکی گندم رقم نارین به شوری، باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش با مجموعه ویژگی‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش معنی‌دار مقاومت به شوری رقم مذکور شده و بنابراین

منابع

1. Agathokleous, E., Belz, E., Kitao, R.G., Koike, T. and Calabrese, E. 2019. Does the root to shoot ratio show a hormetic response to stress? An ecological and environmental perspective. *J. F. Res.* 30: 5. 1569-1580.
2. Akbari, A., Gharanjik, S., Koobaz, P. and Sadeghi, A. 2020. Plant growth promoting *Streptomyces* strains are selectively interacting with the Wheat cultivars especially in saline conditions. *J. Heliyon.* 6. 2: 34-45.
3. Alexander, D.B. and Zuberer, D.A. 1991. Use of Chrome Azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biol. Fertil. Soils.* 12: 39-45.
4. Alikhani, H.A., Etesami, H. and Mohammadi, L. 2018. Evaluation of the effect of rhizospheric and non-rhizospheric phosphate solubilizing bacteria on improving the growth indices of wheat under salinity and drought stress. *J. Soil Biol.* 6. 1: 1-15. (In Persian)
5. Al-Karaki, G.N. 2000. Growth, sodium and potassium uptake and translocation in salt stressed tomato. *J. Plant Nutr.* 23. 3: 369-379.
6. Alori, E.T., Glick, B.R. and Babalola, O.O. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* 8: 971-984.
7. Amna, U., Sarfraz, S., Xia, Y., Kamran, M.A., Javed, M.A., Sultan, T., Hussain Munis, M.F. and Chaudhary, H.J. 2019. Mechanistic elucidation of germination potential and growth of wheat inoculated with exopolysaccharide and ACC-deaminase producing *Bacillus* strains under induced salinity stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* Available from: <https://europepmc.org/article/med/31408821> [accessed 13 October 2019].
8. Ansari, F.A., Ahmad, I. and Pichtel, J. 2019. Growth stimulation and alleviation of salinity stress to wheat by the biofilm forming *Bacillus pumilus* strain FAB10. *Appl. Soil Ecol.* 143: 45-54.
9. Bent, E., Tvzun, S., Chanway, C.P. and Enebak, S. 2001. Alterations in plant growth and root hormone levels of lodge pole pines inoculated with rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 47: 793-800.
10. Bose, J., Munns, R., Shabala, S., Gilliam, M., Pogson, B. and Tyerman, S.D. 2017. Chloroplast function and ion regulation in plants growing on saline soils: lessons from halophytes. *J. Exp. Bot.* 68: 3129-3143.
11. Byrt, C.S., Munns, R., Burton, R.A., Gilliam, M. and Wege, S. 2018. Root cell wall solutions for crop plants in saline soils. *Plant Sci.* 269: 47-55.
12. Curtis, B.C. 2019. Wheat in the world. Available from: <http://www.fao.org/3/y4011e/y4011e04.htm> [accessed 28 March 2019].
13. Davenport, R.J., Reid, R.J. and Smith, F.A. 1997. Sodium-calcium interactions in two wheat species differing in salinity tolerance. *Physiol. Plant.* 99: 323-327.
14. Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M. and Perez-Galdona, R. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (*tagasaste*), a forage tree shrub legume endemic to the Canary Island. *Plant Soil.* 266. 1: 261-272.

15. Egamberdieva, D., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S.D., Mishra, J. and Arora, N.K. 2019. Salt-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for enhancing crop productivity of saline soils. *Front. Microbiol.* 10: 1-18.
16. El-Nahrawy, S. and Yassin, M. 2020. Response of different cultivars of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to inoculation by *Azotobacter* sp. under salinity stress conditions. *J. Adv. Microbiol.* 20: 1. 59-79.
17. Etesami, H., Emami, S. and Alikhani, H.A. 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB): mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects, A review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 17: 897-911.
18. Ghassemi, F., Jakeman, A.J. and Nix, H.A. 1995. Salinization of land and water resources: Human causes, extent, management and case studies. Wallingford: CABI Publishing, 526p.
19. Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Hindawi Publishing Corporation Scientifica, 15p.
20. Glick, B.R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* 169. 1: 30-39.
21. Hadi, M.R. and Karimi, N. 2012. The role of calcium in plants' salt tolerance. *J. Plant. Nutr.* 35. 13: 2037-2054.
22. Honma, M. and Shimomura, T. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agric. Biol. Chem.* 42: 1825-1831.
23. Hu, L., Zehui, H., Shuqian, L. and Fu, J. 2012. Growth response and gene expression in antioxidant-related enzymes in two bermudagrass genotypes differing in salt tolerance. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 137: 134-143.
24. Ilyas, N., Mazhar, R., Yasmin, H., Khan, W., Iqbal, S., Enshasy, H.E. and Dailin, D.J. 2020. Rhizobacteria isolated from saline soil induce systemic tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) against salinity stress. *Agron. J.* 10: 989-1009.
25. Iqbal Hussain, M., Naeem Asghar, H., Javed Akhtar, M. and Arshad, M. 2013. Impact of phosphate solubilizing bacteria on growth and yield of maize. *Soil. Environ.* 32. 1: 71-78.
26. Jha, C.K. and Saraf, M. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *J. Agric. Res.* 5. 2: 108-119.
27. Jamil, A., Riaz, S., Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2011. Gene expression profiling of plants under salt stress. *Crit Rev. Plant Sci.* 30. 5: 435-458.
28. Jeon, J.S., Lee, S.S., Kim, H.Y., Ahn, T.S. and Song, H.G. 2003. Plant growth promoting in soil by some inoculated microorganism. *J. Microbiol.* 4. 4: 271-276.
29. Kudla, J., Becker, D., Grill, E., Hedrich, R., Hippler, M. and Kummer, U. 2018. Advances and current challenges in calcium signaling. *New Phytol.* 218: 414-431.
30. Kumar, A. and Verma, J.P. 2018. Does plant-microbe interaction confer stress tolerance in plants: A review? *Microbiol. Res.* 207: 41-52.
31. Lynch, J. and Lauchli, A. 1988. Salinity affects intracellular calcium in corn root protoplasts. *Plant Physiol.* 87: 351-356.
32. Machado, R.M.A. and Serralheiro, R.P. 2017. Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*. Available from: <https://10.3390/horticulturae3020030>. [accessed 11 November 2020].
33. Maksimovic, I. and Ilin, Z. 2012. Effects of salinity on vegetable growth and nutrients uptake. P 169-190, In: Lee, T.S. (ed.), *Irrigation systems and practices in challenging environments*, IntechOpen, London, UK.
34. Mukherjee, A., Gaurav, A.K., Singh, S., Chouhan, G.K., Kumar, A. and Das, S. 2019. Role of potassium (K) solubilising microbes (KSM) in growth and induction of resistance against biotic and abiotic stress in plant. *ESCC.* 7: 212-214.

35. Munns, R., Day, D.A. and Fricke, W. 2020. Energy costs of salt tolerance in crop plants. *New Phytol.* 225: 1072-1090.
36. Nawaz, A., Shahbaz, M., Asadullah Imran, A., Marghoob, M.U., Imtiaz, M. and Mubeen, F. 2020. Potential of salt tolerant PGPR in growth and yield augmentation of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline conditions. *Front Microbiol.* 11: 201-213.
37. Olsen, S.R. and Sommers, L.E. 1982. Phosphorous. – In: *Methods of soil analysis.* Soil Sci. Soc. Am. J. Madison, WI, pp. 423-424.
38. Patel, S.T. and Minocheherhomji, F.P. 2018. Review: plant growth promoting rhizobacteria: blessing to agriculture. *Int. J. Pure Appl. Biosci.* 6: 481-492.
39. Qi, Z. and Spalding, E.P. 2004. Protection of plasma membrane K⁺ transport by the salt overly sensitive Na⁺/H⁺ antiporter during salinity stress. *Plant Physiol.* 136: 2548-2555.
40. Ranganathan, J., Waite, R., Searchinger, T. and Hanson, C. 2018. How to sustainably feed 10 billion people by 2050, in 21 charts. World Resources Institute. Available from: <https://www.wri.org/blog/2018/12/how-sustainably-feed-10-billion-people-2050-21-charts>. [accessed 10 November 2019].
41. Rijavec, T. and Lapanje, A. 2016. Hydrogen cyanide in the rhizosphere: not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate. *Front Microbiol.* Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01785>. [accessed 20 October 2020].
42. Rubin, R.L., Van Groenigen, K.J. and Hungate, B.A. 2017. Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. *Plant Soil.* 416: 309-323.
43. Rubio, F., Nieves-Cordones, M., Horie, T. and Shabala, S. 2020. Doing 'business as usual' comes with a cost: Evaluating energy cost of maintaining plant intracellular K⁺ homeostasis under saline conditions. *New Phytol.* 225: 1097-1104.
44. Safdarian, M., Askari, H. and Shariati, J. 2019. Transcriptional responses of wheat roots inoculated with *Arthrobacter nitroguajacolicus* to salt stress. *Scientific Reports.* Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38398-2>. [accessed 25 November 2020].
45. Sashidhar, B. and Podile, A.R. 2010. Mineral phosphate solubilization by rhizosphere bacteria and scope for manipulation of the direct oxidation pathway involving glucose dehydrogenase. *J. Appl. Microbiol.* 109: 1-12.
46. Seed and Plant Research Improvement Institute. 2016. *Crop Cultivars Report (Food Security and Health-1).* Agricultural Research, Education and Extension Organization Press, Tehran, 231p. (In Persian)
47. Sadat, A.A.V. and Savaghebi Firouzabadi, G.R. 2010. Effects of some arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria on the growth and yield indices of two wheat varieties in a saline soil. *J. Agric. Sci. Tech.* 24: 53-62.
48. Seifikalhor, M., Aliniaefard, S., Shomali, A., Azad, N., Hassani, B., Lastochkina, O. and Li, T. 2019. Calcium signaling and salt tolerance are diversely entwined in plants, *Plant Signaling & Behavior.* Available from: <https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1665455>. [Accessed 18 October 2020].
49. Shahriaripour, R., Pour, A.T. and Mozaffari, V. 2011. Effects of salinity and soil phosphorus application on growth and chemical composition of pistachio seedlings. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* 42: 144-158.
50. Shi-Ying, Z., Cong, F., Yong-xia, W., Yun-sheng, X., Wei, X. and Xiao-Long, C. 2018. Salt-tolerant and plant growth-promoting bacteria isolated from high-yield paddy soil. *Can. J. Microbiol.* 64: 968-978.
51. Singh, R.P. and Jha, P.N. 2017. The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments Resistance against biotic and abiotic stress in wheat plants.

- Front Microbiol. Available from <https://8:1945.doi:10.3389/fmicb.2017.01945>. [accessed 10 March 2019].
52. Souza, R.D., Ambrosini, A. and Passaglia, L.M.P. 2015. Plant growth promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet. Mol. Biol.* 38: 401-419.
 53. Stephen, J. and Jisha, M.S. 2009. Buffering reduces phosphate solubilizing ability of selected strains of bacteria. *World. J. Agric. Sci.* 5: 135-137.
 54. Subiramani, S., Ramalingam, S., Muthu, T., Nile, S.H. and Venkidasamy, B. 2020. Development of abiotic stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). P 125-145, In: M. Kumar, H. Etesami, and V. Kumar (eds), *Phyto-microbiome in stress regulation*, Springer, Cham.
 55. Szymańska, S., Płociniczak, T., Piotrowska-Seget, Z. and Hryniewicz, K. 2016. Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L. – community structure and metabolic potential. *Microbiol. Res.* 192: 37-51.
 56. Tuna, A.L., Kaya, C., Ashraf, M., Altunlu, H., Yokas, I. and Yagmur, B. 2007. The effects of calcium sulfate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 52: 2: 173-178.
 57. Upadhyay, S.K. and Singh, D.P. 2015. Effect of salt tolerant plant growth promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. *Plant. Biol.* 17: 288-293.
 58. Upadhyay, S.K. and Singh, D.P. 2019. Impact of native ST-PGPR (*Bacillus pumilus*; EU927414) on PGP traits, antioxidants activities, wheat plant growth and yield under salinity. *J. Clim. Env. Sus.* 72: 157-168.
 59. Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F. and Prigent-Combaret, C. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*. Available from: <https://10.3389/fpls.2013.00356>. [accessed 20 November 2020].
 60. Waling, I., Van Vark, W., Houba, V.J.G. and Van der Lee, J.J. 1980. Soil and plant analysis, a series of syllabi. Part 7, plant analysis procedures. Wageningen Agriculture University.
 61. Wang, J., Li, R. and Zhang, H. 2020. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC Microbiol.* Available from: <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1708-z>. [accessed 13 November 2020].
 62. Wang, Q., Dodd, I.C., Belimov, A.A. and Jiang, F. 2016. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase growth and photosynthesis of pea plants under salt stress by limiting Na⁺ accumulation. *Funct. Plant Biol.* 43: 161-172.
 63. Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A. and Lane, D.J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173: 2. 697-703.
 64. Wu, H.H., Zhang, X.C., Giraldo, J.P. and Shabala, S. 2018. It is not all about sodium: revealing tissue specificity and signalling roles of potassium in plant responses to salt stress. *Plant Soil.* 431: 1-17.