Research Article

Agricultural Engineering., 46(1) (2023) 1-20
DOI: 10.22055/AGEN.2023.43656.1666

ISSN (E): 2588-526X
ISSN (P): 2588-5944

The effect of native salinity-resistant PGPRS on the physiological and biochemical characteristics of alfalfa plants under salinity stress

M. Abolhasani Zeraatkar[1] * and A. Tajabadi Pour[2]

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
2. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-asr University of Rafsanjan, Kerman, Iran.

Received: 12 May 2023 Accepted: 12 June 2023

Abstract

Introduction: Plants are usually exposed to a wide variety of abiotic stresses which can seriously inhibit plant growth and development. To address this, numerous strategies have been proposed and used by researchers, including increased irrigation rounds, cultivation of salinity- and drought-resistant genetically modified crops (GMO crops), and application of plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPRs). PGPRs can act as an efficacious, long-lasting, and crucial option to ameliorate the negative impacts of abiotic stresses in crops. Plant growth promoting rhizobacteria can serve as key in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance, crop productivity, and maintaining a balanced nutrient cycling. Consequently, search for new strains of PGPR for biofertilizer and development of microbial diversity map for any region is helpful. Hence, the present study investigates the effect of native salinity-resistant PGPRs on the physiological and biochemical characteristics and productivity of alfalfa plants in soil under salinity stress.

Materials and methods: The present study was carried out as factorial in completely randomized design at four replications. The experiments were conducted on alfalfa plants (Bami variety). Treatments were two levels of salinity (control and 200 mM sodium chloride and calcium chloride), five strains of PGPRs (SM16, SM27, SM65, SM73 and SM89) with two treatments controls [positive controls (20 mg/kg of phosphorus and 70 mg/kg of nitrogen fertilizers and no bacteria) and negative controls (no fertilizer and no bacteria)]. Growth parameters (dry weight of aerial parts, roots, and nodules), osmolytes (reducing sugars, soluble proteins, and proline), K^+ uptake, K^+/Na^+ ratio, and concentration of malondialdehyde (MDA) in alfalfa plants in non-saline and saline soils were measured at the end of 60-day experiments.

Results and discussion: The analysis of variance results revealed a significant effect of salinity on the dry weight of aerial parts and roots, the weight and number of nodes in each pot, the K^+/Na^+ ratio in roots and aerial parts, and the concentration of reducing sugars, proline, MDA, and soluble proteins in the aerial parts. The effect of PGPRs was also found to be significant on all above traits. Under no salinity stress and compared to negative control plants, the dry weight of aerial parts in plants inoculated with superior PGPRs (SM89, SM16, and SM65) was raised by 2.3, 1.9, and 1.8 folds, while this increase in plants inoculated with mild (SM73) and weak (SM21) PGPRs was 1.4 and 1.2 folds, respectively. Under salinity stress and compared to negative control plants, the dry weight of aerial parts of plants inoculated with superior PGPRs (SM89, SM16, and SM65) was

© 2023 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

increased by 4.2, 4, and 2.1 folds, while this property in plants inoculated with mild (SM73) and weak (SM21) PGPRs was raised by 1.7 and 1.2 folds, respectively. Despite a drop in the growth of aerial parts in plants under salinity, salinity-resistant PGPRs were able to significantly enhance the growth of aerial parts of plants in saline conditions compared to the controls (without fertilizer and PGPRs). Salinity stress reduced other growth parameters, the rate of K^+ uptake, and K^+/Na^+ ratio, while it contrarily increased the concentration of reducing sugars, soluble proteins, proline, Na^+, and MDA in plants. Inoculation of alfalfa plants with two superior PGPRs (SM89 and SM16) was found to significantly improve growth parameters, uptake of K^+, osmolytes, and K^+/Na^+ ratio in alfalfa plants under non-saline conditions and salt stress, compared to control plants (without PGPRs inoculation and using fertilizer). Ultimately, each inoculation of plants with all three superior PGPRs reduced the concentration of MDA and Na^+ in alfalfa plants.

Conclusion: Experiments on the biochemical and physiological plant–PGPR interactions revealed that plant responses to salinity stress are largely controlled by microbial communication. PGPRs can trigger systemic resistance in plants through their metabolites, which function as extracellular signals, thereby enabling plants to survive under abiotic stresses. In the present study, microbial inoculation was found to significantly improve the physiological functioning of the plants. The results revealed that adding native salinity-resistant PGPRs to the soil can diminish the negative effects of salinity stress on alfalfa plants. Likewise, inoculation and enrichment of the plant's rhizosphere with beneficial and resistant microbiomes were efficient for sustaining the growth of plants under salinity stress.

Key words: Abiotic stresses, malondialdehyde, osmolytes, PGPRs

مهندسی زراعی (مجله علمی کشاورزی) جلد ۴۶ شماره۱، بهار ۱۴۰۲

مقاله پژوهشی

تاثیر ریزوباکتری‌های بومی محرک رشد مقاوم به شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه یونجه تحت تنش شوری

محبوبه ابوالحسنی زراعتکار[1*] و احمد تاج‌آبادی‌پور[2]

۱- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۲

پذیرش نهایی:۱۴۰۲/۰۳/۲۲

کلمات کلیدی:

اسمولیت‌ها،

تنش‌های غیرزیستی،

ریزوباکتری‌های محرک رشد،

مالون دی آلدئید

* عهده دار مکاتبات:

Email: m.abolhasani@uk.ac.ir

چکیده

گیاهان معمولاً در معرض طیف وسیعی از تنش‌های غیرزیستی قرار دارند و این تنش‌ها می‌تواند به طور قابل‌توجهی از رشد و نمو گیاه جلوگیری کند. ریزوباکترهای محرک رشد گیاه می‌توانند به عنوان یک گزینه موثر، قابل دوام و حیاتی برای کاهش اثرات منفی تنش‌های غیرزیستی در گیاهان زراعی باشند. بنابراین یک مطالعه گلخانه‌ای برای بررسی اثر ریزوباکترهای برتر محرک رشد گیاه (PGPR) از جمله سویه‌های SM89، SM16 و SM65 از باکتری‌های *سینوریزوبیوم ملیلوتی* بر پارامترهای رشد (وزن خشک اندام هوایی، ریشه و گره)، اسمولیت‌ها (قندهای احیا کننده، پروتئین‌های محلول و پرولین)، جذب K^+ و نسبت K^+/Na^+ و غلظت مالون دی آلدئید (MDA) در گیاه یونجه در خاک‌های غیرشور و خاک‌های تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم و کلریدکلسیم انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری باعث کاهش پارامترهای رشد، میزان جذب پتاسیم و نسبت K^+/Na^+ شد. از طرف دیگر، قندهای احیا کننده، پروتئین‌های محلول، پرولین، سدیم و مالون دی آلدئید (MDA) را افزایش داد. تلقیح گیاهان یونجه با دو ریزوباکتری برتر SM89 و SM16 پارامترهای رشد، میزان جذب پتاسیم، اسمولیت‌ها، نسبت K^+/Na^+ را در گیاهان یونجه در شرایط غیر شور و تحت تنش شوری نسبت به گیاهان شاهد تلقیح نشده با باکتری و بدون کود به‌طور قابل توجهی افزایش داد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که تلقیح گیاهان با هر سه نوع باکتری برتر باعث کاهش MDA و Na^+ در گیاهان یونجه شد. بنابراین، در این مطالعه تلقیح میکروبی باعث بهبود قابل‌توجه فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه شد و توانست اثرات منفی تنش شوری را در گیاه یونجه کاهش دهد.

مقدمه

یونجه (Medicago sativa) به‌دلیل زیست توده بالا و ارزش غذایی آن برای دام یک محصول علوفه‌ای جهانی است که به‌طور گسترده کشت می‌شود (۳). با تغییرات آب و هوایی، شوری و کمبود منابع آبی کشت یونجه با چالش‌های جدی روبرو شده است. شرایط اقلیمی نامطلوب و ایجاد تنش‌های غیرزیستی از جمله عوامل محدود کننده اصلی کاهش بهره‌وری کشاورزی است (۲۳). تنش غیرزیستی غالب شامل خشکی، شوری، دمای بالا یا پایین، نور بیش از حد زیاد یا کم، سیل، شرایط اسیدی، کمبود مواد غذایی، سمیت فلزات سنگین و آلاینده های آلی می‌باشد که در این میان تنش شوری و خشکی مشکل‌سازترین تنش‌های غیرزیستی در رشد گیاهان محسوب می‌شوند. طبق گزارش فائو (۱۵)، تنها ۳/۵ درصد از مساحت جهان تحت تأثیر هیچ گونه محدودیت زیست محیطی قرار نگرفته است. کمبود آب (خشکسالی) ۶۴ درصد، سیل ۱۳ درصد، شوری ۶ درصد، کمبود مواد معدنی ۹ درصد، خاک های اسیدی ۱۵ درصد و سرما ۵۷ درصد از سطح زمین را تحت تاثیر قرار داده است (۱۱). اگرچه برآورد دقیقی از کاهش تولید محصول و سلامت خاک ناشی از تنش‌های غیرزیستی موجود نیست، اما بدیهی است که چنین تنش‌هایی به شدت بر کاهش عملکرد و کیفیت محصولات تاثیر می‌گذارند. تنش آبی بازده محصولات را ۵۰ تا ۸۰ درصد کاهش می‌دهد (۳۲).

پاسخ اولیه بیشتر گیاهان به کم‌آبی و شوری خاک مشابه است، هنگامی‌که گیاهان برای اولین بار در معرض سطوح بالای نمک در خاک قرار می‌گیرند، سرعت رشد در آن‌ها کاهش می‌یابد (۱۸ و ۳۸). گیاهان به کمک مکانیسم‌های مختلفی از جمله تجمع انتخابی نمک (در واکوئل) یا حذف یون‌های سدیم، تعدیل جذب ریشه‌ای یون‌های سدیم و تعدیل انتقال این یون‌ها به برگ‌ها، توزیع یون‌های سدیم در سطح اندامک‌های داخل سلولی، ساخت متابولیت‌های سازگار مانند ترهالوز و پرولین، ایجاد تغییرات در غشای سلولی گیاه، ساخت آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی، از جمله سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و تعدیل سطوح برخی هورمون‌های گیاهی، از جمله اکسین، سیتوکینین، و اتیلن با تنش شوری مقابله می‌کنند (۱۸ و ۴۰). علاوه بر این تحمل یک گونه گیاهی خاص در برابر مقادیر بالای نمک به عواملی از قبیل مرحله رشد گیاه، ترکیبات خاک، وضعیت سلامت گیاه، حضور و نوع ارگانیسم‌های بیماری‌زای گیاهی، حضور باکتری‌های محرک رشد گیاه مانند باکتری‌های ریزوسفری یا اندوفیت و حضور مایکوریزا نیز بستگی دارد (۲۱). بررسی‌ها نشان داده‌اند که تلقیح ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه در گونه‌های متنوعی از گیاهان در شرایط نامناسب محیطی باعث افزایش رشد گیاه در آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه خواهد شد.

میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان یک جزء زنده مهم خاک‌ها، به محض ورود بذر به خاک برای شروع چرخه زندگی خود، جزء لاینفک سیستم تولید محصول می‌شوند. میکروارگانیسم‌ها نیز همراه با رشد دانه‌ها در خاک تکثیر شده تا روابط همزیستی در سطح یا برهمکنش‌های اندوفیتی در داخل ریشه‌ها، ساقه‌ها یا برگ‌ها ایجاد کنند. میکروبیوم گیاه حمایت اساسی از گیاهان در به دست آوردن عناصر غذایی، مقاومت در برابر بیماری‌ها و تحمل تنش‌های غیرزیستی را فراهم می‌کند (۵۴). ژنتیک و قابلیت‌های متابولیکی میکروارگانیسم‌های خاک آنها را به ارگانیسم‌های مناسبی برای مبارزه با شرایط تنش محیط تبدیل می‌کند (۴۷). تعامل بین گیاهان و میکروبیوم‌های خاک که در ریزوسفر گیاه و سیستم ریشه قرار دارند عامل کلیدی در سازگاری سریع گیاهان با تنش‌های محیطی است (۴۲). واریته‌های گیاهی مقاوم به تنش آبی استراتژی‌های مختلفی را برای سازگاری با شرایط نامساعد ایجاد می‌کنند (۲۶). مطالعات متعدد نشان داده که این تفاوت در سطوح تحمل به تنش‌های غیرزیستی بین واریته‌ها (ژنوتیپ‌ها) تا حدی به دلیل تفاوت‌های میکروبی ریزوسفر آن‌ها است (۵۱). مطالعات روی نیشکر (۳۵) گوجه فرنگی (۱۹) و پنبه (۵۵) نشان داده

که تنوع جوامع میکروبی ریزوسفر ارقام مختلف گیاهان نتیجه انتخاب طولانی مدت محیط ریزوسفر گیاهان است و تفاوت در میکروب‌های ریزوسفر گیاهان یکی از عوامل مهم است که به تفاوت واریته‌های مختلف گیاهان به مقاومت به تنش و شرایط نامساعد منجر می‌شود.

در ریزوسفر گیاهان باکتری‌های محرک رشد معمولاً در گروه یا مجموعه‌هایی با یکدیگر عمل می‌کنند و مجموعه‌ای از باکتری‌های مختلف مسئول تسهیل رشد گیاه هستند، یعنی باکتری‌های درون یک مجموعه باکتریایی نیازهای مختلف یک گیاه را برآورده می‌کنند. گیاهان میزبان می‌توانند ترکیب میکروبی را با تاثیر بر ساختار و ترشحات ریشه تغییر دهند (۵۷). میکروبیوم‌های خاک نقش کلیدی در افزایش تحمل به تنش شوری در گیاهان را دارند. تلقیح گیاهان با ترکیبی از دو یا چند میکروارگانیسم غیرآنتاگونیست، از یک گونه یا گونه‌های مختلف، اغلب به تاثیرات مثبت در تحریک رشد گیاه منجر می‌شود. در واقع اگر سویه میکروبی واجد ویژگی فیزیولوژیکی خاصی باشد، گاهی اوقات ضعف گیاه در برخی از فعالیت‌های مفید گیاهی با استفاده از این سویه‌های میکروبی برطرف خواهد شد (۴۵).

گیاهان می‌توانند از میکروبیوم‌های خود برای تحمل به تنش کم‌آبی، بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در شرایط تنش بهره ببرند (۱۷). برهم‌کنش‌های گیاه یونجه و میکروبیوم بومی در تحمل به شوری چندان مشخص نیست. هدف از این مطالعه بررسی نقش میکروبیوم‌های خاک در مقاومت گیاه به تنش شوری و بررسی تاثیر ریزوباکتری‌های بومی محرک رشد گیاه یونجه بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه یونجه تحت تنش شوری بود. از طرفی این ریزوباکتری‌های بومی محرک رشد ممکن است پتانسیل خوبی داشته باشند تا به عنوان یک مایه تلقیح موثر برای خاک‌های کویری استان کرمان که تحت تنش‌های شدید زیستی قرار دارند، استفاده شوند. گرچه تنها بخش کوچکی از بازار کود جهان و ایران به ریزوباکتری‌های محرک رشد اختصاص یافته، اما استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد در مزرعه در بسیاری از کشورها قابل‌قبول‌تر از بکاربردن گیاهان تراریخته است. بنابراین انتظار می‌رود ریزوباکتری‌های محرک رشد در سال‌های آینده جایگزین بسیاری از کودهای شیمیایی مضری شوند که در حال‌حاضر در کشاورزی استفاده می‌شوند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از پنج سویه از باکتری سینوریزبیوم ملیلوتی بومی استان کرمان که برخی از ویژگی‌های محرک رشد (توانایی انحلال فسفات معدنی و آلی، تثبیت نیتروژن ملکولی، تولید سیانید هیدروژن و تولید اگزوپلی‌ساکارید خارج سلولی در شرایط شور) و تحمل آن‌ها به شوری و خشکی در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفته بود، استفاده شد (۱). بر اساس مطالعات آزمایشگاهی این پنج جدایه شامل ریزوباکتری‌های SM89، SM16 و SM65 به عنوان ریزوباکترهای محرک رشد برتر با تحمل بالا به شوری و دارای بیشترین پتانسیل تولید اگزوپلی ساکارید، تثبیت نیتروژن ملکولی، تولید سیانید هیدروژن و توانایی انحلال فسفات‌های آلی و معدنی انتخاب شدند و ریزوباکتری SM73 از نظر ویژگی‌های فوق متوسط و ریزوباکتری SM27 ضعیف ترین بود (۱).

شاهد مثبت (S0N70P20) شامل گیاهانی بودند که هیچ مایه تلقیح سینوریزوبیومی دریافت نکردند، اما به خاک آن‌ها کود فسفر (۲۰میلی‌گرم در کیلوگرم با استفاده از ترکیب شیمیایی KH_2PO_4) و کود نیتروژنی (۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم با استفاده از کود اوره) همراه آب آبیاری اضافه شد. شاهد منفی (S0N0P0) شامل گیاهانی بودند که هیچ گونه مایه تلقیح سینوریزوبیومی دریافت نکرده و همچنین کود شیمیایی فسفر و نیتروژن هم به خاک آن‌ها اضافه نشد.

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه پژوهشی اجرا شد. تیمارها شامل دو سطح شوری (شاهد و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم و کلرید کلسیم)و ۵ جدایه از باکتری سینوریزوبیوم (SM16، SM27، SM65، SM73 و SM89)

همراه دو تیمار شاهد مثبت (S0N70P20) و شاهد منفی (S0N0P0) در ۴ تکراربر روی گیاه یونجه رقم بمی انجام شد. بذر یونجه رقم بمی از مرکز تحقیقات استان کرمان تهیه و از خاک کاشت نشده با بافت لومی شنی استفاده شد. مشخصات این خاک در جدول ۱ آمده است.

برای کشت گلخانه بذرهای یونجه با اندازه یکنواخت انتخاب و با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت ۵ درصد به مدت ۴ دقیقه ضد عفونی و ده بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذرها روی محیط استریل آگار ۱/۵ درصد در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس جوانه‌دار شدند.

در این آزمایش به تعداد تیمارها و تکرارها ۵۶ گلدان پلاستیکی تهیه و سترون گردید. رطوبت گلدان‌ها به مدت یک هفته در حد ظرفیت زراعی نگه‌داری شد. تعداد ۸ بذر جوانه زده یکنواخت در هر گلدان در عمق یک سانتی‌متری کشت داده و دو میلی‌لیتر مایه تلقیح ریزوباکتری محرک رشد (SM16، SM27، SM65، SM73 و SM89) به هر بذر اضافه شد. گلدان‌ها در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۴۸ تا ۵۴ درصد، سیکل روشنایی ۱۶ و تاریکی ۸ ساعت در گلخانه تحقیقاتی نگهداری شدند. رطوبت گلدان‌ها به مدت ۱۵ روز بعد از کاشت هم در حد ظرفیت زراعی نگهداری تا گیاه کاملا مستقر شود. پیش از اعمال تیمارها، تعداد گیاهچه به ۵ عدد کاهش داده شد. در طول اولین دوره رشد ۱۵ روزه، هر گلدان یک بار در هفته با محلول غذایی فاقد نیتروژن در حد ظرفیت زراعی آبیاری شد. روی گیاهچه‌های پانزده روزه تیمار شوری به صورت آبیاری با آب شور با قابلیت هدایت الکتریکی مورد نظر اعمال شد. برای کاهش اثر سمیت کلرید سدیم و نزدیک شدن به شرایط طبیعی شوری در خاک از نمک‌های کلریدسدیم و کلریدکلسیم به نسبت وزنی ۱:۱ استفاده شد. شوری در دو سطح شاهد (قابلیت هدایت الکتریکی ۱/۹۳ دسی‌زیمنس بر متر) و سطح ۲۰۰ میلی‌مولار نمک از طریق آب آبیاری به‌تدریج اعمال گردید. از آن‌جا که اعمال تیمارهای شوری به یک بار ممکن است باعث ایجاد فشار ناگهانی به گیاهچه‌ها شود، اعمال تیمار شوری در سه مرحله به تدریج انجام شد تا غلظت تیمارهای شوری به حد ۲۰۰ میلی‌مولار نمک برسد. دوره آزمایش ۶۰ روز بود. در طول مدت رشد حذف علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام و سه مرحله آبیاری گلدان‌ها با محلول غذایی فاقد نیتروژن انجام گرفت. هر ۴ تا ۵ روز یکبار گلدان‌ها به‌طور تصادفی جابجا شدند تا اثر مکان در آزمایش از بین برود.

در پایان دوره آزمایش بخش هوایی از منطقه طوقه از ریشه جدا شد. گلدان‌ها داخل تشت آب قرار داده شدند تا بوته‌ها به راحتی همراه با خاک از درون گلدان خارج شوند و بوته‌ها روی یک غربال قرار داده و با دوش آب کاملا شسته و گره‌ها نیز با دقت کامل از ریشه جدا و تعداد آن‌ها شمارش شد. بخش هوایی، ریشه و گره‌ها داخل پاکت‌های کاغذی در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت، وزن خشک آن‌ها اندازه گیری شد. برای تعیین برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مقداری از بافت تازه برگ‌ها در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

جدول (۱) برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table(1) Selected physical and chemical properties of soil

واکنش خاک pH	قابلیت هدایت الکتریکی Electrical Conductivity	ظرفیت زراعی Field Capacity	شن Sand	سیلت Silt	رس Clay	کربن آلی Organic Carbon	نیتروژن کل Total N	فسفر قابل جذب Available P
-	$dS\ m^{-1}$			%				$mg\ kg^{-1}$
7.7	1.93	14.24	65	26	9	0.35	0.07	7.5

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های محلول از روش برادفورد استفاده شد (۸). بدین منظور به ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد (محلول اسیدی کوماسی بلو) افزوده و فوری ورتکس گردید. پس از ۵ دقیقه جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (۸).

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران (۴) استفاده شد. در این روش برای اندازه‌گیری پرولین از معرف نین هیدرین و اسید استیک گلاسیال استفاده و میزان جذب لایه رنگی فوقانی حاوی پرولین با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتراندازه‌گیری شد. برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده و نتایج برحسب میکرومول در هر گرم برگ تازه گزارش شد.

برای اندازه‌گیری غلظت قندهای احیا کننده از معرف انترون استفاده و میزان جذب عصاره در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و برای محاسبه مقدار غلظت قندهای احیا کننده از منحنی استاندارد گلوکز استفاده و نتایج برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش گردید (۵۰).

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدئید از روش هیس و پاکر (۲۵) استفاده شد. بدین منظور ۰/۲ گرم برگ تازه در هاون چینی همراه با ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۰/۱ درصد ساییده و عصاره حاصل ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و به آن ۴/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید اضافه و با دور ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد.

شکل(۱) کشت گلخانه
Figure (1) Greenhouse cultivation

سپس به مدت ۲۵ دقیقه در حمام آبی با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده و به سرعت در حمام یخ سرد شد و بعد از سانتریفیوژ، جذب محلول در طول موج ۵۳۲ با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده و از این مقدار کسر شد.

برای اندازه گیری نسبت پتاسیم به سدیم در اندام هوایی و ریشه از روش اسید استیک ۰/۱ نرمال استفاده و سپس میزان آن‌ها با دستگاه نشر شعله‌ای اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از مراحل مختلف این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری MINTAB 14 و تجزیه واریانس ANOVA در سطح ۵ درصد انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) استفاده شد و نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

در این مطالعه از برخی از باکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی جدا شده از گره‌های ریشه یونجه کشت شده در زمین‌های شور و خشک استان کرمان که ویژگی‌های فیزیولوژیکی آن‌ها از قبیل تحمل غلظت بالای نمک و تنش خشکی و همچنین برخی از خصوصیات ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) آن‌ها در مرحله آزمایشگاه بررسی شده بود، استفاده شد. مکانیسم‌های مورد استفاده سویه‌های مختلف ریزوبیا در شرایط شور با توجه به اسمولالیته فضای پری پلاسمی آن‌ها متفاوت است و به میزان املاح آلی با وزن ملکولی کم (۳۷)، میزان تولید اگزوپلی ساکارید خارج سلولی، اندازه و مورفولوژی سلول باکتری (۵۲) بستگی دارد. بنابراین جهت غربالگری باکتری‌های مقاوم به شوری در تهیه کود زیستی در ابتدا بایستی بررسی توانایی باکتری‌ها در تحمل به شوری به‌عنوان پیش غربالگری در شرایط آزمایشگاه انجام شود که در مطالعه قبلی این مهم صورت گرفته (۱) و ریزوباکتری‌های برتر برای بررسی در شرایط گلخانه استفاده شدند و در مراحل بعد در مقیاس بزرگ‌تر در مزرعه بررسی خواهند شد.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر شوری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه، وزن و تعداد گره در هر گلدان، نسبت پتاسیم به سدیم در ریشه و اندام هوایی، غلظت قندهای احیا کننده، پرولین، مالون دی آلدئید و پروتئین‌های محلول در بخش هوایی معنی‌دار شد (جدول ۲). اثر باکتری نیز بر تمام صفات ذکر شده معنی‌دار بود. هم چنین بر هم‌کنش شوری و باکتری هم بر همه صفات ذکر شده به جزء وزن خشک ریشه، پروتئین‌های محلول و نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول(۲) تجزیه واریانس (میانگین مربع‌ها) اثرهای شوری، ریزوباکترهای محرک رشد و برهم‌کنش آن‌ها بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی یونجه

Table (2) ANOVA (mean square values) for the main effects of salinity, plant growth-promoting rhizobacteria and their interaction on some physiological and biochemical of alfalfa

منبع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربع‌های mean square values			
		وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن گره‌ها Weight of nodules	تعداد گره در هر گلدان Number of nodules
ریزوباکتری‌ها Rhizobacteria	6	14.682*	6.3477*	25699*	20720*
تنش Stress	1	63.003*	55.026*	72790*	64804*
ریزوباکتری‌ها × تنش Stress×Rhizobacteria	6	1.324*	0.3022ns	9878*	5673*
خطای آزمایش Error	42	0.330	0.1751	19	91
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	11.25	14.07	24.36	21.77

منبع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربع‌های mean square values					
		قندهای احیا کننده Reducing Sugars	پروتئین محلول Soluble proteins	پرولین Proline	مالون دی آلدئید Malondialdehyde	نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی Shoot K^+/Na^+ ratio	نسبت پتاسیم به سدیم ریشه Root K^+/Na^+ ratio
ریزوباکتری Rhizobacteria	6	1870.8*	3.067*	10.447*	268.49*	0.5182*	1.0656*
تنش Stress	1	3176.1*	5.218*	6.580*	10088.08*	12.787*	4.6888*
ریزوباکتری × تنش Stress×Rhizobacteria	6	53.7*	0.188ns	0.325*	65.38*	0.123ns	0.4582*
خطای آزمایش Error	42	10.6	0.170	0.135	6.70	0.091	0.0189
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		10.05	6.6	15.27	10.25	14.20	15.42

* و ns به ترتیب معنی داری در سطح ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

*, ns Significant at P≤5%, and non significant respectively.

وزن خشک اندام هوایی

بر اساس نتایج، شوری باعث کاهش رشد اندام هوایی در گیاه شد (جدول ۳). هنگامی‌که گیاهان در معرض سطوح بالای نمک در خاک قرار می‌گیرند، سرعت رشد درآن‌ها کاهش می‌یابد. اما در این مطالعه ریزوباکتری‌های مقاوم به شوری و محرک رشد توانستند به‌طور معنی‌داری رشد اندام هوایی گیاه را نسبت به شاهد منفی بدون تلقیح باکتری افزایش دهند (شکل ۲). تنش شوری باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی حدود ۷۳/۴۷ درصد در گیاهان شاهد منفی تلقیح نشده با باکتری و کود (S0N0P0) شد. گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری‌های برتر SM89، SM16 و SM65 با اعمال تنش شوری به‌ترتیب کاهش رشد ۵۰/۸۴، ۴۵/۶۱ و ۷۰ درصدی داشتند، در گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری متوسط (SM73) و ضعیف (SM21) به ترتیب ۶۶/۴۵ و ۷۳ درصد کاهش یافت. گیاهان شاهد مثبت که بدون تلقیح باکتری فقط کود شیمیایی دریافت کرده بودند (S0N70P20)، ۴۶/۱۸ درصد کاهش رشد داشتند (جدول ۳). این نتایج نشان داد که دو ریزوباکتری برتر SM89 و SM16 از گیاه میزبان خود در برابر تنش شوری به خوبی محافظت کردند و از نظر میزان رشد اندام هوایی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند اما با گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری برتر SM65 اختلاف معنی‌داری داشتند،که احتمالا دو ریزوباکتری SM89 و SM16 نسبت به ریزوباکتری SM65 توانسته‌اند تعامل بهتری با میکروبیوم‌های موجود در خاک ایجاد کنند. بیشترین وزن خشک اندام هوایی در گیاه یونجه چه در شرایط بدون تنش و چه در شرایط تنش شوری مربوط به گیاهان تلقیح شده با ریزوباکترهای برتر (SM89 و SM16) و گیاهانی که با کودهای شیمیایی تغذیه شده بودند (S0N70P20)، مشاهده شد (جدول ۳). با توجه به نتایج جدول ۳ وزن خشک اندام هوایی در شرایط بدون تنش در گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری‌های برتر SM89، SM16 و SM65 نسبت به گیاهان شاهد (S0N0P0) به ترتیب ۲/۳، ۱/۹ و ۱/۸ برابر افزایش داشت و این افزایش در گیاهان تلقیح شده با دو ریزوباکتری متوسط (SM73) و ضعیف (SM21) به ترتیب ۱/۴ و ۱/۲ برابر بود. این افزایش در تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم، برای گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری‌های برتر SM89، SM16 و SM65 نسبت به گیاهان شاهد (S0N0P0) به ترتیب ۴/۲، ۴ و ۲/۱ برابر بود و در گیاهان تلقیح شده با دو ریزوباکتری متوسط (SM73) و ضعیف (SM21) به ترتیب ۱/۷ و ۱/۲ برابر بود. بنابراین، نتایج این پژوهش نیز مانند نتایج پژوهشگران دیگر نشان دهنده این مطلب است که گیاهان می‌توانند از میکروبیوم‌های خاک برای بهبود تحمل به تنش‌های غیرزیستی و ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بهره ببرند (۱۷). در مطالعه‌ای که پژوهشگران دیگر روی گیاه لوبیا در شرایط تنش انجام دادند نیز مشاهده کردند که گیاهان لوبیای تلقیح شده با ریزوباکتری‌های بومی مقاوم به شوری رشد اندام هوایی بهتری داشتند (۲۸). محققین دیگر گزارش کردند که اثرات مفید باکتری‌های ریزوبیومی بر رشد گیاه به گونه‌های باکتری بستگی دارد (۱۴). در مطالعه دیگر نیز پژوهشگران کاهش وزن خشک گیاه میزبان ناشی از تنش شوری را به دلیل مقدار کم نیتروژن در اندام هوایی گزارش کردند و مقدار کاهش رشد را به توانایی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن توسط باکتری‌های ریزوبیومی نسبت دادند (۱۰). در یک پژوهش دیگر فلفل قرمز را با سویه‌ای از باکتری سودوموناس تلقیح و به گیاه سه سطح شوری اعمال شد. نتایج نشان داد پارامترهای رشد (ارتفاع و زیست‌توده گیاهی) در گیاهانی که با سویه‌های باکتریایی تلقیح‌شده بودند نسبت به گروه کنترل (تلقیح‌نشده) افزایش یافت (۹). محققین دیگر گیاهان جو، شبدر و ارزن تحت شرایط شور را با سویه‌ای از باکتری سودوموناس پوتیدا تلقیح کردند. نتایج این تحقیق نیز نشان داد طول و وزن ساقه و ریشه در گیاهان تلقیح‌شده افزایش یافت. این امر نشان‌دهنده فعالیت فتوسنتزی کارآمدتر در حضور سویه‌های باکتریایی استفاده شده است. داده‌های فلورومتری این مطالعه نشان داد که کاهش فعالیت فتوسنتزی گیاه ناشی از تنش شوری پس از تلقیح ریزوباکتری بازیابی شد (۲). در مطالعه دیگر گیاه ماش را با سویه‌ای از باکتری انتروباکتر کلواکه که تولیدکننده ACC دآمیناز بود و توانایی

انحلال فسفات‌ها و تولید اکسین، سیدروفور، هیدروژن سیانید و اگزوپلی ساکارید را داشت، در شرایط شور تلقیح کردند و افزایش طول ساقه، ریشه و وزن تر و خشک گیاه را مشاهده کردند (۷). بنابراین، نتایج این تحقیق با تحقیقات سایر پژوهشگران مبنی بر اینکه تلقیح و غنی‌سازی ریزوسفر گیاهان با میکروبیوم‌های مفید و مقاوم برای حفظ رشد گیاهان تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی بسیار کارآمد می‌باشد (۶) مطابقت دارد.

زرد شدن در گیاهان تلقیح نشده در مقایسه با گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری‌ها شدیدتر بود (شکل ۲). رادی و همکاران[1] (۴۴) نشان دادند که تجمع یون‌های سدیم و کلر باعث محدودیت جذب یون‌های پتاسیم، منیزیم، کلسیم و نیترات در گیاه و در نتیجه عدم تعادل تغذیه‌ای در گیاه شده و دلیل اصلی رنگ زرد در برگ‌ها است. کاهش قابل توجه زردی برگ در گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری‌ها نشان می‌دهد که ریزوباکتری‌ها به احتمال زیاد تعادل تغذیه‌ای را در گیاه میزبان خود ایجاد کرده و با این مکانیسم تاثیر تنش اسمزی را در گیاه میزبان تحت تنش شوری کاهش می‌دهند.

شکل(۲) مقایسه تاثیر تلقیح گیاه یونجه با ریزوباکتری (SM89) و شاهد مثبت

Figure (2) Comparison of the effect of alfalfa plant inoculation with rhizobacteria (SM89) and positive control

وزن و تعداد گره در هر گلدان

بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) شوری وزن و تعداد گره‌های ریشه را در گیاه یونجه کاهش داد. نتایج نشان داد که بیشترین وزن گره در هر گلدان در شرایط تنش شوری در گیاهان تلقیح شده با ریزو باکتری‌های برتر SM89 و SM16 و به ترتیب ۴۵/۳۴ و ۵۸/۵۸ میلی‌گرم و کمترین وزن خشک گره مربوط به گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری ضعیف SM27 با مقدار ۹/۷۹ میلی‌گرم در هر گلدان بود. در پژوهشی گزارش شد که تلقیح گیاه سویا با باکتری برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم تحت شرایط تنش کم‌آبی، باعث بهبود گره‌زایی شد (۴۸). در مطالعه دیگری پژوهشگران گیاه ماش را با سویه‌ای از باکتری ریزوبیوم تلقیح کردند و گزارش دادند در شرایط تنش شوری، تلقیح گیاه ماش با سویه باکتریایی، در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده، موجب افزایش جوانه‌زنی بذر، بهبود عملکرد دانه، ارتفاع بوته، زیست‌توده، میزان کلروفیل و جذب عناصر غذایی، تعداد گره، وزن گره و مقدار لگ-هموگلوبین، فعالیت آنزیم فسفاتاز و دهیدروژناز خاک، غلظت پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو شد (۳۱)، که نتایج این مطالعات با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر تاثیر مثبت ریزوباکتری‌های برتر محرک رشد و مقاوم به شوری بر گره‌زایی و وزن زیست توده گره مطابقت داشت.

وزن خشک ریشه

نتایج نشان داد که بیشترین وزن خشک ریشه را گیاهان تلقیح شده با دو ریزوباکتری برتر SM89 و SM16 به‌ترتیب با مقادیر ۳/۳۱ و ۲/۹۶ گرم در هر گلدان و همچنین گیاهانی که کود دریافت کرده (S0N70P20) با ۳/۵۴ گرم داشتند. از طرفی کمترین وزن خشک ریشه مربوط به باکتری ضعیف (SM27) و شاهد منفی (S0N0P0) به ترتیب با مقادیر ۱/۵۷ و ۱/۲۵ بود و این دو گروه از گیاهان هم اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (شکل ۳).

1- Rady *et al.*

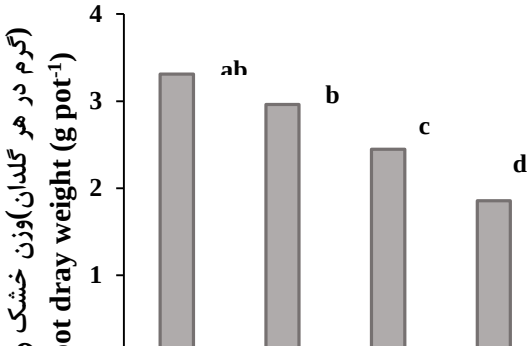
جدول (۳) مقایسه میانگین برهم‌کنش‌های ریزوباکترهای محرک رشد و شوری بر وزن خشک اندام هوایی، گره و تعداد گره در هر گلدان

Table (3) Mean comparison of the interactions of plant growth-promoting rhizobacteria and salinity on shoot dry weight, weight of nodules and number of nodules per pot

تیمار Treatment	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گلدان) Shoot dry weight (g pot^{-1})		وزن گره‌ها (میلی‌گرم در هر گلدان) Weight of nodules (mg pot^{-1})		تعداد گره در هر گلدان Number of nodules per pot	
	0 mM	200 mM	0 mM	200 mM	0 mM	200 mM
S89M	4.441^{a}	2.183^{cd}	241.9^{a}	45.34^{e}	165.8^{b}	48.00^{e}
S16M	3.847^{a}	2.092^{c}	185.3^{b}	58.58^{d}	187.3^{a}	77.75^{d}
S65M	3.764^{b}	1.129^{e}	80.09^{c}	12.14^{f}	145.5^{c}	18.75^{f}
S73M	2.781^{c}	0.933^{e}	63.75^{d}	10.443^{fg}	77.50^{d}	18.75^{f}
S27M	2.476^{cd}	0.667^{e}	58.01^{d}	9.792^{fg}	75.25^{d}	17.75^{f}
S0N80P20	4.614^{a}	2.483^{cd}	0.00^{h}	0.00^{h}	0.00^{g}	0.00^{g}
S0N0P0	1.983^{d}	0.526^{e}	0.00^{h}	0.00^{h}	0.00^{g}	0.00^{g}
LSD	0.597	0.597	6.22	6.22	13.61	13.61

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means followed by the same latter are not significantly different according to LSD-test at P≤0.05



شکل(۳) اثر ریزوباکترهای مختلف بر وزن خشک ریشه

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Figure (3) The effect of different rhizobacteria on root dry weight

Means followed by the same latter are not significantly different according to LSD-test at P≤0.05

نحوه رشد ریشه‌های گیاه، نشان‌دهنده این است که گیاه چقدر می‌تواند از منابع غذایی با توزیع نابرابر استفاده کند. ایجاد همزیستی با ریزوبیا بر چگونگی رشد ریشه گیاه تاثیر دارند. توسعه موثر سیستم ریشه‌ای باعث افزایش قابل‌توجه توانایی گیاه برای جذب آب و عناصر غذایی از خاک می‌شود. پژوهشگران گیاه گوجه‌فرنگی را با سویه‌ای از باکتری سودوموناس ازتوفورمنس تلقیح کردند و مشاهده کردند در شرایط تحت تنش شوری وزن خشک اندام هوایی و ریشه در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده افزایش یافت (۳۴)، که نتایج این مطالعات نیز با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

غلظت قندهای احیا کننده

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شوری باعث افزایش غلظت قندهای احیا کننده در برگ گیاه یونجه شد (جدول ۴). بیشترین میزان قند احیا کننده در گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری برتر SM89 با ۶۷/۸۲ و گیاهان شاهد مثبت (S0N70P20) با ۶۷/۱۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در تیمار ۲۰۰ میلی مولار نمک کلریدسدیم و کلرید کلسیم مشاهده شد. گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری‌های برتر SM16 و SM65 هم به ترتیب با مقادیر ۵۶/۴۳ و ۵۳/۹۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار در

رتبه بعدی قرار داشتند. کمترین میزان قند احیا کننده در گیاهان شاهد منفی (S0N0P0)، گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری ضعیف (SM21) و ریزوباکتری متوسط (SM73) به ترتیب با مقادیر ۱۹/۲۴، ۱۹/۲۰ و ۲۰/۳۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در شرایط بدون شوری مشاهده شد که اختلاف معنی‌دار با هم نداشتند. مطالعات دیگر هم که توسط سایر پژوهشگران صورت گرفته نتایج مشابه با پژوهش حاضر را نشان می‌دهد. گاپتا و همکاران[1] (۲۴) گیاه نخود را با سویه‌ای از باکتری *باسیلوس سرئوس* که ویژگی محرک رشدی (PGPR) داشته، در شرایط تنش شوری تلقیح کرده و مشاهده کردند که باکتری مورد استفاده زیست‌توده گیاهی، مقادیر کربوهیدرات‌های گیاهی، قندهای احیاکننده، پروتئین‌ها، کلروفیل، غلظت فنل، فلاونوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در شرایط شور بهبود بخشید. علاوه بر این، ژن‌های از بین برنده گونه‌های فعال اکسیژن گیاهی و ژن‌های دفاعی همگی در گیاهان تلقیح شده در حضور یک درصد کلریدسدیم بیان شدند (۲۴). پژوهشگران دیگر به ریشه گیاه گندم ریزوباکتری‌های محرک رشد اضافه کردند و گزارش کردند ریزوباکتری‌های محرک رشد (PGPR) مقاوم به شوری بر رشد و عملکرد گیاه گندم کاشته‌شده در خاک شور تأثیر مثبت داشته و موجب بهبود رشد گیاه در خاک شور در شرایط گلخانه شدند. همچنین طبق این گزارش تلقیح گیاهان با این باکتری‌ها باعث افزایش قابل توجه زیست‌توده گیاهی، پرولین، قندهای احیاکننده، نیتروژن، پتاسیم و فسفر در برگ گیاه گندم شد (۵۶).

غلظت پرولین

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شوری باعث افزایش غلظت پرولین در برگ گیاه یونجه شده است (جدول ۴). بیشترین غلظت پرولین در گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری‌های برتر SM89 و SM16 به ترتیب با مقادیر۳/۳۸۰ و ۳/۳۰۱ و گیاهان تیمار شده با کود (S0N70P20) با ۳/۳۰۲ میکرومول در هر گرم برگ تازه در تیمار ۲۰۰ میلی مولار نمک کلریدسدیم و کلریدکلسیم مشاهده شد و غلظت پرولین در گیاهان این سه تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). کمترین غلظت پرولین در گیاهان شاهد منفی (S0N0P0) و گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری ضعیف (SM27) و ریزوباکتری متوسط (SM73) به ترتیب با مقادیر ۰/۴۳۷، ۰/۴۶۴ و ۰/۲۱۰ میکرومول در هر گرم برگ تازه در شرایط بدون شوری مشاهده شد و گیاهان این سه تیمار نیز از نظر غلظت پرولین اختلاف معنی‌دار نداشتند (جدول ۴).

پرولین از املاح سازگاری است که گیاه در زمان تنش خشکی تولید می‌کند. این ماده موجب کاهش پتانسیل آبی سلول شده و به گیاه کمک می‌کند فشار تورژسانس خود را ثابت نگاه دارد، بنابراین روی تمامی فعالیت‌های متابولیکی و رشدی گیاه تاثیرگذار خواهد بود. در شرایط و فشار اسمزی ایده‌آل و در زمان تنش شوری مقادیر پرولین ساخته شده توسط گونه‌های مختلف گیاهان به ۲۰ تا ۸۰ درصد کل اسیدهای‌آمینه آزاد می‌رسد (۳۰). ریزوباکتری‌های محرک رشد قدرت تعدیل بیان پرولین در گیاهان را دارند. محققین گزارش دادند که رشد گیاه آرابیدوپسیس تالیانا که در معرض تنش خشکی قرار گرفته با استفاده از سویه‌ای از سودوموناس پوتیدا افزایش می‌یابد. این اتفاق با افزایش بیان ژن‌های OAT (اورنیتین Δ- آمینوترانسفراز)، P5CS1 (Δ1- پیرولین ۵ کربوکسیلات سینتاز)، P5CR (Δ1- پرولین ۵ کربوکسیلات ردوکتاز)، PHD1 (پرولین دهیدروژناز 1) و P5CDH (Δ1- پرولین ۵ کربوکسیلات دهیدروژناز) رخ داد، این نتایج را با انجام تست real-time PCR به دست آورده بودند. بهبود پارامترهای رشد (زیست توده گیاه، محتوای آب، غلظت کلروفیل) در گیاهانی که در شرایط کمبود آب کشت شده‌اند با تلقیح این سویه باکتری مشاهده شد (۲۰). در مطالعه دیگر چهارده سویه اکتینومیستی را برای بیان فعالیت‌های گیاهی مفید در شرایط شور آزمایش کردند. این جدایه‌ها وقتی در معرض غلظت‌های مختلف نمک رشد داده شدند، توانایی محلول‌کردن فسفات معدنی، ساخت اکسین،

1- Gupta *et al.*

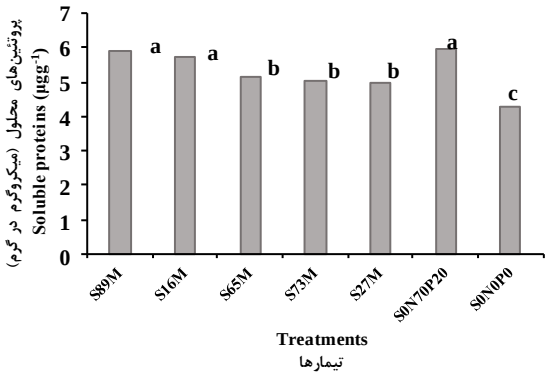
سیانید هیدروژن و آمونیاک را داشته و اکثر این سویه‌ها ACC دآمیناز تولید کردند. تلقیح گیاهان با این سویه‌ها باعث بهبود زیست‌توده شد و گیاهان تلقیح‌شده در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده، مقدار کلروفیل و پرولین بیشتری، چه در حضور و چه در عدم حضور نمک، تولید کردند (۱۳).

پروتئین‌های محلول

همان طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود شوری باعث افزایش پروتئین‌های محلول در برگ گیاه شده است. بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۴ بیشترین میزان پروتئین‌های محلول را گیاهان تلقیح شده با دو ریزوباکتری برتر SM89 و SM16 به‌ترتیب با مقادیر ۵/۹۲ و ۵/۷۵ میکروگرم در گرم و همچنین گیاهان شاهد مثبت (S0N70P20) با ۵/۹۷ میکروگرم در گرم داشتند و گیاهان این سه تیمار با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. از طرفی کمترین میزان پروتئین‌های محلول مربوط به گیاهان تیمار شاهد منفی (S0N0P0) با مقدار ۴/۲۷ میکروگرم بر گرم بود (شکل ۴). تنش شوری می‌تواند با کاهش سنتز پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده آن، میزان پروتئین را در گیاهان به میزان قابل توجهی کاهش دهد (۲۹). پروتئین‌های محلول از مواد مهم تنظیم کننده اسمز هستند و افزایش و تجمع آن‌ها باعث بهبود ظرفیت نگهداری آب در سلول‌ها می‌شود. نتایج نشان داد که میکروبیوم‌ها همچنین می‌توانند به گیاه کمک کنند تا محتوای پروتئین محلول خود را به میزان قابل توجهی در شرایط تنش افزایش دهد. از مکانیسم احتمالی این افزایش می‌تواند این باشد که تلقیح باکتری ممکن است مقدار آنزیم‌های هیدرولیزکننده پروتئین را کاهش و کارایی مولکول‌های چاپرون را در محافظت از پروتئین‌های محلول افزایش داده و در نتیجه منجر به افزایش پرونئین‌های محلول در شرایط تنش شوری شود (۵). در یک پژوهش مشابه گندم را با سویه‌ای از باکتری سراشیا مارسنس که نوعی سویه مقاوم به نمک، با توانایی تولید آنزیم ACC دآمیناز، توانایی انحلال فسفات‌ها، توانایی تولید سیدروفور و اکسین می‌باشد، تلقیح کردند. تلقیح گندم با این سویه باکتریایی باعث افزایش زیست‌توده گیاه در شرایط تحت تنش شوری شد و کاهش رشد گیاه ناشی از تنش شوری را بهبود بخشید، همچنین افزایش میزان محافظت‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین، قند و پروتئین‌های محلول در گیاهان در شرایط تنش شوری مشاهده شد (۴۹).

غلظت مالون دی آلدئید

نتایج جدول ۴ افزایش غلظت مالون دی آلدئید در گیاه با افزایش شوری را نشان می‌دهد و از طرفی در گیاهانی که با باکتری‌های برتر تلقیح شده بودند افزایش کمتر غلظت مالون دی آلدئید در شرایط شور مشاهده شد. در این پژوهش کمترین میزان مالون دی آلدئید در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم و کلریدکلسیم در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های برتر SM89 و SM16 به ترتیب به میزان ۳۹/۱۵ و ۴۰/۶۹ میکرومول بر گرم بود. بیشترین میزان مالون دی آلدئید در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم و کلریدکلسیم در گیاهان شاهد منفی (S0N0P0) و گیاهان تلقیح شده با ریزوباکتری ضعیف (SM27) به‌ترتیب به میزان ۶۰/۶۶ و ۵۸/۵۷ میکرومول بر گرم بود و با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. غلظت مالون دی آلدئید محصول اکسیداسیون سیستم‌های غشای سلولی گیاهی است و نشان‌دهنده قرار گرفتن گیاه در معرض تنش نامطلوب است. نتایج نشان داد که تنش شوری به‌طور قابل توجهی محتوای غلظت مالون دی آلدئید یونجه را افزایش داد. در مطالعه‌ای که پژوهشگران بر روی گیاه ذرت در شرایط تنش شوری انجام دادند شاهد کاهش پارامترهای رشد، رنگدانه‌ها، K^+ و نسبت K^+/Na^+ و افزایش غلظت قندهای محلول، پرولین، Na^+، مالون دی‌آلدئید، فعالیت پراکسیداز و کاتالاز بودند. تلقیح گیاهان ذرت در معرض شوری با باکتری‌های آزوسپریلوم لیپوفروم و ازتوباکتر کروکوم سبب افزایش پارامترهای رشد، رنگدانه‌ها، پتاسیم، اسمولیت‌ها، نسبت K^+/Na^+ و آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو شد. هر دو سویه باکتریایی سبب کاهش مقادیر مالون دی‌آلدئید و سدیم در گیاه ذرت شدند (۳۳).



شکل(٤) اثر ریزوباکترهای مختلف بر پروتئین‌های محلول

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Figure (4) The effect of different rhizobacteria on soluble proteins

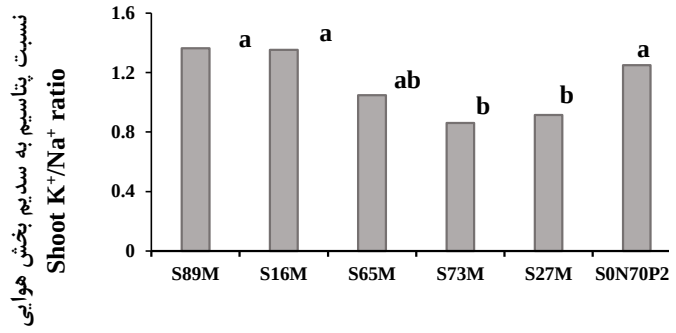
Means followed by the same latter are not significantly different according to LSD-test at P≤0.05

در مطالعه دیگرتلقیح گندم با دو سویه از باکتری آزوسپریلوم برازیلنس و استنوتروفوموناس مالتوفیلیا موجب غلبه گیاه بر اثرات منفی تنش کم‌آبی شد. تلقیح باکتریایی تغییرات منفی ناشی از کم‌آبی یعنی نشت الکترولیت‌ها، تجمع مالون دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و فعالیت کاتالاز و پراکسیداز را در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده این گیاهان کاهش داد (۲۷)، که نتایج این مطالعه با این تحقیقات مطابقت داشت. مطالعه حاضر نشان داد ریزوباکترهای برتر باعث کاهش استرس اکسیداتیو و به دنبال آن کاهش قابل توجه مالون دی آلدئید می‌شوند. این مکانیسم باعث یکپارچگی غشا و کاهش نشت یون‌های مهم می‌شود (۴۱).

نسبت پتاسیم به سدیم ریشه و اندام هوایی

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که شوری باعث کاهش پتاسیم و افزایش سدیم در ریشه و اندام هوایی شد، در نتیجه نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه در شرایط تنش کاهش پیدا می‌کند (جدول ۴). افزایش غلظت سدیم می‌تواند به دلیل بالا بودن یون‌های سدیم در محیط ریشه گیاه باشد و از طرفی سمیت یون سدیم باعث کاهش رشد گیاه شود (۴۶). در شرایط بدون تنش و یا تنش شوری، تلقیح گیاهان یونجه با باکتری‌های PGPR باعث کاهش میزان سدیم و افزایش غلظت پتاسیم و همچنین افزایش نسبت K^+/Na^+ در ریشه (جدول ۴) و اندام هوایی (شکل ۵) شد. تنش شوری باعث کاهش سطح عناصر غذایی پرمصرف (نیتروژن، فسفر، منیزیم، پتاسیم و کلسیم) و عناصر کم مصرف (مس، آهن، منگنز و مس) در نتیجه عدم تعادل شدید در نسبت‌های جذب Na^+/K^+، Na^+/Ca^{2+} و Cl^-/NO_3^- می‌شود (۱۲). این امر باعث افزایش حساسیت گیاه به تنش اسمزی، آسیب یونی، اختلالات تغذیه‌ای و کاهش عملکرد می‌شود (۲۲).

در مطالعه مشابه نیز بذر گیاه گشنیز تلقیح شده با ریزوباکترهای محرک رشد آزوسپریلوم برازیلنس و ازتوباکتر کروکوکوم در چهار غلظت مختلف نمک کلریدسدیم رشد داده و مشاهده کردند تلقیح گیاه با این ریزوباکترهای باعث افزایش محتوای کلروفیل، عملکرد دانه و زیست توده گیاه در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده با این ریزوباکتری‌ها شد. تلقیح با هر دو سویه از باکتری‌های PGPR، در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده، باعث کاهش غلظت یون سدیم و افزایش غلظت یون پتاسیم در برگ‌های گشنیز شد. حضور ریزوباکتری‌های محرک رشد باعث بهبود رشد گیاه در شرایط عدم وجود و وجود تنش شوری شد (۴۳).



شکل(۵) اثر ریزوباکترهای مختلف بر نسبت پتاسیم به سدیم بخش هوایی

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Figure (5) The effect of different rhizobacteria on shoot K^+/Na^+ ratio

Means followed by the same latter are not significantly different according to LSD-test at P≤0.05

جدول(٤) مقایسه میانگین برهم‌کنش‌های ریزوباکترهای محرک رشد و شوری بر قندهای احیا کننده، پرولین، غلظت مالون دی آلدئید و نسبت پتاسیم به سدیم ریشه در گیاه یونجه

Table (4) Mean comparison of the interactions of plant growth-promoting rhizobacteria and salinity on reducing sugars, proline, MDA and root K^+/Na^+ ratio

تیمار Treatment	قندهای احیا کننده (میلی‌گرم در گرم وزن خشک) Reducing Sugars (mg g^{-1})		پرولین (میکرومول در گرم برگ تازه) Proline (μMg^{-1})		غلظت مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر) Malondialdehyde concentration (μMg^{-1})		نسبت پتاسیم به سدیم ریشه Root K^+/Na^+ ratio	
	0 mM	200 mM	0 mM	200 mM	0 mM	200 mM	0 mM	200 mM
S89M	44.15^{c}	67.82^{a}	2.958^{ab}	3.380^{a}	17.28^{g}	39.15^{d}	1.534^{b}	1.026^{c}
S16M	40.86^{cd}	56.43^{b}	2.438^{bc}	3.301^{a}	20.55^{fg}	40.69^{d}	1.766^{a}	0.506^{def}
S65M	40.73^{cd}	53.92^{b}	1.991^{cd}	2.512^{bc}	22.27^{ef}	44.43^{c}	1.096^{c}	0.638^{de}
S73M	20.37^{g}	36.72^{de}	0.210^{f}	1.691^{de}	25.47^{e}	54.21^{b}	0.708^{d}	0.393^{f}
S27M	19.20^{g}	33.43^{e}	0.464^{f}	1.384^{e}	26.28^{e}	58.57^{a}	0.541^{def}	0.383^{f}
S0N80P20	51.85^{b}	67.13^{a}	2.924^{ab}	3.302^{a}	23.45^{ef}	50.60^{b}	1.772^{a}	0.535^{def}
S0N0P0	19.24^{g}	25.39^{f}	0.437^{f}	0.651^{f}	25.09^{e}	60.66^{a}	0.459^{ef}	0.341^{f}
LSD	4.64	4.64	0.525	0.521	3.691	3.691	0.196	0.196

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means followed by the same latter are not significantly different according to LSD-test at P≤0.05

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تنش شوری منجر به کاهش قابل توجه پارامترهای رشد از جمله وزن خشک اندام هوایی، ریشه و گره شد. اما تلقیح گیاه یونجه با ریزوباکتری‌های برتر محرک رشد و مقاوم به شوری (SM89 و SM16) علاوه بر افزایش پارامترهای رشد گیاه، اثرات نامطلوب تنش شوری را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. از طرفی نتایج این مطالعه نشان داد تنش شوری باعث کاهش میزان پروتئین‌های محلول در گیاه یونجه شد. اما تلقیح گیاه یونجه با دو ریزوباکتری برتر (SM89 و SM16) مقدار پروتئین‌های محلول را به میزان قابل توجهی افزایش داد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنش شوری باعث افزایش غلظت سدیم و مالون دی آلدئید و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و غلظت پتاسیم در گیاهان یونجه

شد. اما تلقیح گیاه یونجه با دو ریزوباکتری (SM89 و SM16) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش سطح سدیم و افزایش مقدار پتاسیم در گیاه یونجه شد، زیرا ریزوباکتری‌های سینوریزوبیوم ملیلوتی به گیاهان در گزینش‌پذیری بین یون‌های سدیم و پتاسیم در طول جذب کمک کرده و در نتیجه جذب سدیم را محدود و جذب پتاسیم را افزایش داده است. علاوه بر این، تلقیح با ریزوباکتری‌های برتر محرک رشد (SM89 و SM16) به‌طور قابل توجهی میزان مالون دی آلدئید را در گیاه یونجه کاهش داد، که نشان می‌دهد ریزوباکترهای برتر باعث کاهش استرس اکسیداتیو و به دنبال آن کاهش قابل توجه مالون دی آلدئید می‌شوند.

این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار باکتریایی می‌تواند آسیب‌های ناشی از تنش شوری را محدود کند. فعل و انفعالات میکروبی با گیاهان زراعی کلید سازگاری و بقای گیاه و باکتری در محیط با تنش‌های غیرزیستی است. کار بر روی فعل و انفعالات گیاه و میکروب در سطوح بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی نشان داد که ارتباطات میکروبی تا حد زیادی پاسخ‌های گیاه را به تنش‌ها هدایت می‌کند (۱۶). باکتری‌ها می‌توانند توسط متابولیت‌هایشان که به‌عنوان سیگنال‌های خارج سلولی عمل می‌کنند، مقاومت سیستمیک را در گیاهان ایجاد کنند تا تحت شرایط تنش غیرزیستی حفظ شوند (۳۹). در نهایت، سیگنال انتقال یافته توسط سلول‌های گیاهی دریافت شده و مکانیسم دفاعی گیاه فعال می‌شود. همچنین میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه سبب افزایش بسیاری از فعالیت‌های مفید گیاه از جمله افزایش رشد گیاه، کاهش حساسیت به بیماری‌های ناشی از خاک، افزایش عملکرد و میزان عناصر غذایی برای گیاه می‌شوند. ریزجانداران به‌عنوان دومین ژنوم گیاهان، پتانسیل بالایی برای بهبود مقاومت گیاه دارند. یکی از مسیرهای پژوهشی آینده در نظر گرفتن ریزجانداران ریزوسفر به‌عنوان یکی از پارامترهای اصلاحی و بهبود مقاومت در برابر تنش و بکارگیری میکروبیوم‌های مفید از طریق ترشحات ریشه است (۳۶ و ۵۳). هدف از این مطالعه نیز نشان دادن این موضوع بود که میکروبیوم‌های خاک می‌توانند در مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزیستی نقش داشته و باعث افزایش تحمل به شوری گیاه یونجه در مواجهه با تنش شوری شوند.

References

1. Abolhasani Zeraaatkar, M., and Tajabadi Pour, A. 2023. Isolation, Screening and Identification of Growth-Promoting Rhizobacteria Resistant to Abiotic Stresses from the Microbiome of Alfalfa (*Medicago sativa*) in Saline and Arid Soils in Kerman Province. Iranian Journal of Soil and Water Research, https://doi.10.22059/ijswr.2023.356810.669471.

2. Alkowni, R., Jodeh, S., Hamed, R., Samhan, S., and Daraghmeh, H. 2019. The impact of *Pseudomonas putida UW3* and *UW4* strains on photosynthetic activities of selected field crops under saline conditions. International Journal of Phytoremediation, 21: 944–952.

3. Annicchiarico, P., Barrett, B., Brummer, E.C., Julier, B., and Marshall, A.H. 2015. Achievements and challenges in improving temperate perennial forage legumes. Critical Reviews in Plant Sciences, 34: 327–380.

4. Bates, L., Waldren, R.P., and Teare, J.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205–207.

5. Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L.M. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. Genetics and Molecular Biology, 35: 1044–1051.

6. Bhattacharyya, A., Pablo, C.H.D., Mavrodi, O.V., Weller, D.M., Thomashow, L.S., and Mavrodi, D.V. 2021. Rhizosphere plant-microbe interactions under water stress. Advances in Applied Microbiology, 115: 65–113.

7. Bhise, K.K., Bhagwat, P.K., and Dandge, P.B. 2017. Plant growth-promoting characteristics of salt tolerant Enterobacter cloacae strain KBPD and its efficacy in amelioration of salt stress in *Vigna radiata L.* Journal of Plant Growth Regulation, 36: 215–226.

8. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. Analytical Biochemistry, 72: 248–254.

9. Chatterjee, P., Samaddar, S., Anandham, R., Kang, Y., Kim, K., Selvakumar, G., and Sa, T. 2017. Beneficial soil bacterium *Pseudomonas frederiksbergensis* OS261 augments salt tolerance and promotes red pepper plant growth. Frontiers in Plant Science, 8: 705.

10. Cordovilla, M., Ocana, A., Ligero, F., and Lluch, C. 1995. Salinity effects on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes-rhizobium symbiosis. Journal of Plant Nutrition, 18: 1595–1609.

11. Cramer, G.R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., and Shinozaki, K. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. BMC Plant Biology, 11: 163.

12. Dey, G., Banerjee, P., Sharma, R.K., Maity, J.P., Etesami, H., Shaw, A.K., Huang, Y.H., Huang, H.B., and Chen, C.Y. 2021. Management of phosphorus in salinity-stressed agriculture for sustainable crop production by salt-tolerant phosphate-solubilizing bacteria. Agronomy, 11: 1552.

13. Djebaili, R., Pellegrini, M., Rossi, M., Forni, C., Smati, M., Del Gallo, M., and Kitouni, M. 2021. Characterization of Plant Growth-Promoting traits and inoculation effects on *Triticum durum* of Actinomycetes isolates under salt stress conditions. Soil Systems, 5: 26.

14. Estevez, J., Dardanelli, M., Megias, M., and Rodriguez-Navarro, D. 2009. Symbiotic performance of common bean and soybean co-inoculated with rhizobia and *Chryseobacterium balustinum* Aur9 under moderate saline conditions. Symbiosis, 49: 29–36.

15. FAO, 2007. http://www.fao.org/docrep/010/a1075e/a1075e00.htm

16. Farrar, K., Bryant, D., and Cope-Selby, N. 2014. Understanding and engineering beneficial plant–microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. Plant Biotechnology Journal, 12: 1193–1206.

17. Fitzpatrick, C.R., Mustafa, Z., and Viliunas, J. 2019. Soil microbes alter plant fitness under competition and drought. Journal of Evolutionary Biology, 32: 438–450.

18. Forni, C., Duca, D., and Glick, B.R. 2017. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. Plant and Soil, 410: 335–356.

19. Gaete, A., Pulgar, R., Hodar, C., Maldonado, J., Pavez, L., and Zamorano, D. 2021. Tomato cultivars with variable tolerances to water deficit differentially modulate the composition and interaction patterns of their rhizosphere microbial communities. Frontiers in Plant Science, 12: 688533.

20. Ghosh, D., Sen, S., and Mohapatra, S. 2017. Modulation of proline metabolic gene expression in *Arabidopsis thaliana* under water-stressed conditions by a drought-mitigating *Pseudomonas putida* strain. Annals of Microbiology, 67: 655–668.

21. Glick, B.R. 2020. Beneficial Plant-Bacterial Interactions; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2020; 383p.

22. Grattan, S., and Grieve, C. 1998. Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. Scientia Horticulturae, 78: 127–157.

23. Grayson, M. 2013. Agriculture and drought. Nature, 501: S1.

24. Gupta, A., Bano, A., Rai, S., Kumar, M., Ali, J., Sharma, S., and Pathak, N. 2021. ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in *Pisum sativum*. 3 Biotechnology, 11: 514.

25. Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics and stechiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry Biophysics, 125: 189-198.

26. Hilker, M., Schwachtje, J., Baier, M., Balazadeh, S., Baurle, I., and Geiselhardt, S. 2016. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 91: 1118–1133.

27. Hone, H., Mann, R., Yang, G., Kaur, J., Tannenbaum, I., Li, T., Spangenberg, G., and Sawbridge, T. 2017. Profiling, isolation and characterization of beneficial microbes from the seed microbiomes of drought tolerant wheat. Scientific Reports, 7: 11916.

28. Jebara, M., Drevon, J.J., and Aouani, M. 2001. Effects of hydroponic culture system and NaCl on interactions between common bean lines and native rhizobia from Tunisian soils. Agronomie, 21: 601–605.

29. Kosova, K, Prasil, I.T., Vitamvas, P. 2013. Protein contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. International Journal of Molecular Sciences, 14: 6757–6789.

30. Kumar, M., Patel, M.K., Kumar, N., Bajpai, A.B., and Siddique, K.H.M. 2021. Metabolomics and molecular approaches reveal drought stress tolerance in plants. International Journal of Molecular Sciences, 22: 9108.

31. Kumawat, K.C., Sharma, P., Nagpal, S., Gupta, R.K., Sirari, A., Nair, R.M., Bindumadhava, H., and Singh, S. 2021. Dual microbial inoculation, a game changer Bacterial biostimulants with multifunctional growth promoting traits to mitigate salinity stress in spring mungbean. Frontiers in Microbiology, 11: 600576.

32. Lamaoui, M., Jemo, M., Datla, R., and Bekkaoui, F. 2018. Heat and drought stresses in crops and approaches for their mitigation. Frontiers in Chemistry, 6: 26.

33. Latef, A.A.H., Abu Alhmad, M.F., Kordrostami, M., Abo-Baker, A.B.A.E., and Zakir, A. 2020. Inoculation with *Azospirillum lipoferum* or *Azotobacter chroococcum* reinforces maize growth by improving physiological activities under saline conditions. Journal of Plant Growth Regulation, 39: 1293–1306.

34. Liu, C.H., Siew, W., Hung, Y.T., Jiang, Y.T., and Huang, C.H. 2021a. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene in *Pseudomonas azotoformans* is associated with the amelioration of salinity stress in tomato. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 69: 913–921.

35. Liu, Q., Xie, S., Zhao, X., Liu, Y., Xing, Y., and Dao, J. 2021b. Drought sensitivity of sugarcane cultivars shapes rhizosphere bacterial community patterns in response to water stress. Frontiers in Microbiology, 12: 732989.

36. Mavrodi, O.V., McWilliams, J.R., Peter, J.O., Berim, A., Hassan, K.A., and Elbourne, L.D.H. 2021. Root exudates alter the expression of diverse metabolic, transport, regulatory, and stress response genes in rhizosphere pseudomonas. Frontiers in Microbiology, 12: 651282.

37. Miller, K.J., Wood, J.M. 1996. Osmoadaptation by rhizosphere bacteria. Annual Review of Microbiology, 50: 101–137.

38. Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59: 651–681.

39. Nguyen, D., Rieu, I., Mariani, C., and van Dam, N.M. 2016. How plants handle multiple stresses: hormonal interactions underlying responses to abiotic stress and insect herbivory. Plant Molecular Biology, 91: 727–740.

40. Orozco-Mosqueda, M.C., Glick, B.R., and Santoyo, G. 2020. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt in crops. Microbiological Research, 235: 126439.

41. Pan, J., Peng, F., Xue, X., You, Q., Zhang, W., Wang. T., and Huang, C. 2019. The growth promotion of two salt-tolerant plant groups with PGPR inoculation: a meta-analysis. Sustainability, 11: 378.

42. Pascale, A., Proietti, S., Pantelides, I.S., and Stringlis, I.A. 2019. Modulation of the root microbiome by plant molecules: the basis for targeted disease suppression and plant growth promotion. Frontiers in Plant Science, 10: 1741.

43. Rabiei, Z., Hosseini, S.J., Pirdashti, H., and Hazrati, S. 2020. Physiological and biochemical traits in coriander affected by plant growth promoting rhizobacteria under salt stress. Heliyon, 6: e05321.

44. Rady, M.M., El-Shewy, A.A., Seif El-Yazal, M., and Abdelaal, K.E. 2018. Response of salt-stressed common bean plant performances to foliar application of phosphorus (MAP). International Letters of Natural Science, 72.

45. Santoyo, G., Gamalero, E., and Glick, B.R. 2021. Mycorrhizal-bacterial amelioration of plant abiotic and biotic stress. Front. Sustain. Food Systems, 5: 672881.

46. Saraf, R., Saingar, S., Chaudhary, S., Chakraborty, D. 2018. Response of plants to salinity stress and the role of salicylic acid in modulating tolerance mechanisms: physiological and proteomic Approach. In: Vats S (ed) Biotic and abiotic stress tolerance in plants. Springer, Singapore, pp 103–136.

47. Sessitsch, A., Hardoim, P., Doring, J., Weilharter, A., Krause, A., and Woyke, T. 2012. Functional characteristics of an endophyte community colonizing roots as revealed by metagenomic analysis. Molecular Plant Microbe Interactions, 25: 28–36.

48. Silva, E.R., Zoz, J., Oliveira, C.E.S., Zuffo, A.M., Steiner, F., Zoz, T., and Vendruscolo, E.P. 2019. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean *(Glycine max L*. Merrill.). Archives of Microbiology, 201: 325–335.

49. Singh, R.P., and Jha, P.N. 2016. The Multifarious PGPR Serratia marcescens CDP-13 Augments induced systemic resistance and enhanced salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum L*.). PLOS ONE, 11: e0155026.

50. Somogyi-Nelson, M. 1952. Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry, 195: 19-23.

51. Song, Y., Wilson, A.J., Zhang, X.C., Thoms, D., Sohrabi, R., and Song, S. 2021. FERONIA restricts pseudomonas in the rhizosphere microbiome via regulation of reactive oxygen species. Nature Plants, 7: 644–654.

52. Soussi, M.; Santamaria, M.; Ocana, A.; Lluch, C. 2001. Effects of salinity on protein and lipopolysaccharide pattern in a salt-tolerant strain of *Mesorhizobium ciceri*. Journal of Applied Microbiology, 90: 476–481.

53. Sun, H., Jiang, S., Jiang, C., Wu, C., Gao, M., and Wang, Q. 2021. A review of root exudates and rhizosphere microbiome for crop production. Environmental Science Pollution Research International, 28: 54497–54510.

54. Turner, T.R., James, E.K., and Poole, P.S. 2013. The plant microbiome. Genome Biology, 14: 209.

55. Ullah, A., Akbar, A., Luo, Q., Khan, A.H., Manghwar, H., and Shaban, M. 2019. Microbiome diversity in cotton rhizosphere under normal and drought conditions. Microbial Ecology, 77: 429–439.

56. 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 Biology, 17: 288–293.

57. Wen, T., Zhao, M., Liu, T., Huang, Q., Yuan, J., and Shen, Q. 2020. High abundance of *Ralstonia solanacearum* changed tomato rhizosphere microbiome and metabolome. BMC Plant Biology, 20: 166.