

Role of *Pseudomonas fluorescens* in mitigating salinity stress in safflower (*Carthamus tinctorius*) through physio-biochemical responses

Seyed Esmaeil Razavi*

Corresponding Author, Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
E-mail: razavi@gau.ac.ir

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 05.01.2020

Revised: 09.18.2020

Accepted: 09.21.2020

Keywords:

Glycine betaine,
Proline,
Promoting growth bacterium,
Safflower,
Salt stress

ABSTRACT

Background and Objectives: Salinity is an agricultural problem of great concern, at which, about one-third of the world's irrigated land is not in use. Several microorganisms such as *Pseudomonas fluorescens*, known to have the ability to tolerate high salt concentrations. Among these microorganisms, *Pseudomonas fluorescens* is plant growth-promoting rhizobacterium and lives in the plant rhizosphere. This study was executed to evaluate the impact of *Pseudomonas fluorescens* on growth parameters and some biochemical constituents related to salinity in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Arak 12811 cultivar under salt stress.

Materials and Methods: Treatments, four levels salinity stress factor with sodium chloride salt (0, 5, 25, 50 and 150 mM) and two-level inoculation factor (control and bacterium) as a factorial experiment in a completely randomized design with four replications were designed. Safflower seeds coated with growth-promoting bacteria with 5% cellulose carboxymethyl and the plants grow in pots under different salt levels. After 40 days, root and shoot dry weight and relative water content measured under salt levels and bacterial inoculations. Also changes of chlorophyll a and b, carotenoids, proline, soluble sugars, glycine betaine and malondialdehyde contents were measured by chlorometric analysis.

Results: The results showed that an increase in NaCl concentration in the nutrient solution reduced the height, shoot and root dry weight and chlorophyll a and b content in plants while the amount of proline, soluble sugars, glycine betaine, and malondialdehyde, increased. Safflower plants inoculated with *P. fluorescens* gave the highest significant increment in plant height, stem and root dry weights, chlorophyll a and b, carotenoids and relative water content under saline and non-saline conditions. The negative correlation between relative water content and total soluble sugars, glycine betaine and proline, show osmolytes accumulation for continued water uptake and reduced osmotic stress. The highest significant activity of proline, total soluble sugars, and glycine betaine was recorded with inoculated plants irrigated with a 150 mM NaCl solution. The bacterium inhibited malondialdehyde accumulation and decreased lipid peroxidation. Overall, this research revealed that seedlings inoculated with promoting growth bacterium until 50 mM salinity has provided the most optimal performance and efficiency.

Conclusion: The present results revealed increases in safflower plant growth and biochemical constituents related to salinity by using *P. fluorescens*, which could be suggested to improve plant salinity stress resistance.

Cite this article: Razavi, Seyed Esmail. 2022. Role of *Pseudomonas fluorescens* in mitigating salinity stress in safflower (*Carthamus tinctorius*) through physio-biochemical responses. *Journal of Plant Production Research*, 28 (4), 25-41.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2021.17185.2584

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر باکتری‌های سودوموناس فلورسنس بر کاهش تنش شوری در گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) از طریق پاسخ‌های فیزیوشیمیایی

سید اسماعیل رضوی*

نویسنده مسئول، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. رایانامه: razavi@gau.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۲ تاریخ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۳۱</p>	<p>سابقه و هدف: شوری یکی مشکلات کشاورزی است که مورد توجه زیادی قرار گرفته است، زیرا حدود یک سوم از زمین‌های تحت آبیاری به دلیل شوری بدون استفاده می‌باشند. قابلیت تحمل شوری زیاد در ریزجانداران مختلف از جمله سودوموناس فلورسنس شناخته شده است. در بین این باکتری‌ها، <i>Pseudomonas fluorescens</i> از رایزوباکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه می‌باشد که در ریزوسفر گیاه زیست می‌نماید. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مایه‌زنی باکتری <i>P. fluorescens</i> بر صفات رشد و برخی ویژگی‌های زیست شیمیایی مرتبط با شوری در گیاه گلرنگ (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) رقم اراک- ۱۲۸۱۱ تحت تنش شوری انجام شده است.</p> <p>مواد و روش‌ها: آزمایش با چهار سطح مختلف شوری (۰، ۲۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و دو سطح تیمار مایه‌زنی (شاهد و باکتری) به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و با چهار تکرار طراحی شد. بذره‌های گلرنگ پس از پوشش دادن با سوسپانسیون اسپور باکتری محرک رشد توسط کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد در گلدان کشت شدند و تحت سطح‌های مختلف شوری به رشد ادامه دادند. پس از ۴۰ روز از کاشت بذرها، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه و محتوای نسبی آب برگ در سطح‌های مختلف شوری و مایه‌زنی توسط باکتری اندازه‌گیری گردید. هم‌چنین تأثیر شوری بر میزان کلروفیل a و b، کاروتنوئید، پرولین، قندهای محلول، گلیسین بتائین و مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از روش‌های مبتنی بر رنگ‌سنجی بررسی شد.</p> <p>یافته‌ها: نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت NaCl، وزن خشک اندام هوایی و ریشه و میزان کلروفیل a و b کاهش می‌یابد، در حالی که میزان پرولین، قندهای محلول، گلیسین بتائین و مالون‌دی‌آلدئید افزایش داشته است. گیاهان گلرنگ مایه‌زنی شده با <i>P. fluorescens</i> بیش‌ترین وزن خشک ساقه و ریشه، کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها و محتوای نسبی آب برگ را در شرایط شوری و غیرشوری داشتند. همبستگی منفی بین محتوای نسبی آب برگ و قند محلول، گلیسین بتائین و پرولین، تأثیر انباشتگی اسمولیت‌ها برای تداوم جذب آب و کاهش تنش اسمزی را نشان می‌داد. بالاترین فعالیت پرولین، قندهای محلول کل و گلیسین بتائین در گیاهان</p>

تلقیح شده به باکتری و آبیاری شده با محلول ۱۵۰ میلی مولار NaCl مربوط بود. باکتری از تجمع مالوندی آلدئید ممانعت می کرد و پراکسیداسیون لیپید را کاهش می داد. بر اساس نتایج این پژوهش، باکتری محرک رشد عملکرد مطلوبی را برای گیاهان گلرنگ رشد یافته تا شوری ۵۰ میلی مولار فراهم می کرد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این پژوهش، استفاده از باکتری *P. fluorescens* با افزایش در رشد گیاه گلرنگ و تحریک تغییرات مرتبط با تحمل به شوری می تواند به عنوان یک عامل زیستی برای بهبود مقاومت به تنش شوری پیشنهاد شود.

استناد: رضوی، سید اسماعیل (۱۴۰۰). تأثیر باکتری های سودوموناس فلورسنس بر کاهش تنش شوری در گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) از طریق پاسخ های فیزیوبوشیمیایی. نشریه پژوهش های تولید گیاهی، ۲۸ (۴)، ۲۵-۴۱.

DOI: 10.22069/JOPP.2021.17185.2584



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

شوری یک عامل محیطی محدودکننده تولید محصول در گیاهان است و امروزه به عنوان یک مشکل روزافزون در کشاورزی مطرح می‌باشد. در دنیا حدود ۱۰۰ میلیون هکتار (یا حدود ۵ درصد) از زمین‌های قابل کشت تحت تأثیر غلظت‌های بالای نمک هستند که کاهش رشد و تولید محصول را به همراه دارد (۲۶). شوری ناشی از کلرید سدیم از رایج‌ترین انواع شوری در خاک‌های زراعی ایران است که قابلیت تولید بسیاری از گیاهان زراعی مهم را دچار محدودیت می‌کند. بر طبق آمار موجود سطح کل خاک‌های شور در ایران حدود ۴۴ میلیون هکتار تخمین زده شده که حدود ۳۰ درصد مساحت دشت‌ها و متجاوز از ۵۰ درصد اراضی زراعی تحت کشت آبی کشور است (۱۹).

شوری نه تنها رشد و نمو گیاهان را کاهش می‌دهد، بلکه موجب تغییر در مسیر برخی از فرآیندهای متابولیسمی نیز می‌گردد (۹، ۲۷). گیاهان برای مقابله با شوری از روش‌های متنوعی استفاده می‌کنند تا تأثیرات ناشی از تنش را تخفیف دهند. افزایش سنتز و انباشتگی اسمولیت‌ها یکی از روش‌هایی است که موجب تداوم جذب آب می‌شود تا تنش اسمزی را تخفیف دهد (۳۵). از جمله اسمولیت‌های با وزن مولکولی کم می‌توان به پرولین، گلیسین بتائین و پلی‌آمین‌ها اشاره کرد (۲۶). تجمع قندهای محلول شامل: ساکارز، فروکتوز، گلوکز و ترهالوز از راه‌کارهای دیگر گیاهان در مقاومت در برابر تنش شوری است. انباشت قندهای محلول واکنش سریعی نسبت به تغییرات میزان محتوای نسبی آب و پتانسیل آب برگ‌ها می‌باشد (۱۳). پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را می‌توان به عنوان نشانه‌ای از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفت که اغلب از آن برای تعیین میزان آسیب وارده به غشا تحت تنش

استفاده می‌شود (۲۵). در این رابطه، سنجش مالون‌دی‌آلدئید به عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته می‌باشد (۳۲). امروزه به‌کارگیری جانداران سودمند خاک‌زی همانند کودهای زیستی به عنوان کارآمدترین راه‌کار برای فعال نگه‌داشتن نظام زیستی خاک در زمین‌های کشاورزی مطرح می‌باشد (۲۳). همزیستی تعدادی از این ریزموجودات خاک قادرند علائم تنش را کاهش دهند (۲۴، ۳۳، ۳۷). در این رابطه، استفاده از باکتری‌ها و قارچ‌های محرک رشد جهت حفظ و نگهداشت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی از جمله شوری پیشنهاد شده است (۱۲، ۴۱). از جمله مهم‌ترین سازوکار جانداران سودمند خاک‌زی افزایش رشد ریشه، بهبود جذب مواد معدنی از خاک، تحریک سیستم دفاعی گیاه علیه آسیب اکسیداتیو است که نوعی مقاومت سیستمیک میزبان را در مقابل تنش موجب می‌شود (۱۰، ۳۰، ۳۸). در بین عوامل زیستی تحریک‌کننده مقاومت، ریزوباکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه مدل مناسبی برای مهار زیستی عوامل بیماری‌زا به شمار می‌روند (۲). این عوامل که از گروه ریزجانداران متنوع مرتبط با گیاه و تحریک‌کننده پاسخ‌های دفاعی گیاهان هستند (۷)، دامنه وسیعی از باکتری‌های تسخیرکننده ریشه با سازوکارهای مختلف در توان افزایش رشد گیاه را در برمی‌گیرند (۴۰). در بیش‌تر موارد گونه‌های *Pseudomonas* علاوه بر تحریک مقاومت سیستمیک، رشد گیاه را نیز افزایش می‌دهند. باکتری‌های محرک رشد هم‌چنین می‌توانند عوامل بیماری‌زا را به‌طور مستقیم یا با آثار غیرمستقیم تحت تأثیر قرار دهند. در این رابطه، استقرار برخی از باکتری‌ها روی ریشه در تحریک مقاومت سیستمیک در برابر عوامل بیماری‌زای قارچی، باکتریایی، ویروسی و نماتدی مؤثر بوده است (۳).

تحریک‌کننده رشد و درک بهتر پاسخ‌های فیزیولوژیک در شرایط تنش شوری می‌تواند برای شناسایی و غربال کردن ژنوتیپ‌های متحمل و حساس استفاده شود. هدف از اجرای این آزمایش، تأثیر *P. fluorescence* بر برخی خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی و زیست شیمیایی گلرنگ تحت تنش شوری است.

مواد و روش‌ها

جدایه *P. fluorescens*: جدایه *P. fluorescens* از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد. این جدایه از ناحیه ریزوسفر گیاه لوبیا چشم‌بلبلی از کرج جداسازی شده بود. نگه‌داری باکتری روی محیط کشت نوترینت آگار^۲ (NA) و در دمای ۷-۵ درجه سلسیوس بوده است.

تهیه سوسپانسیون باکتری *P. fluorescens*: باکتری به فلاسک‌های حاوی محیط کشت Nutrient broth ماه‌زنی شد و ظرف‌ها به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس محتویات هر فلاسک به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. باکتری‌های ته‌نشین شده با آب مقطر سترون رقیق شده و عدد جذب سوسپانسیون حاصل به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید. برای تهیه سوسپانسیون باکتری با غلظت مورد نظر در این مطالعه (۱۰^۹ CFU/ml) از طول موج ۵۹۰ نانومتر از OD= 0.06 استفاده شد (۳۹).

کشت گیاه: بذرهاى گلرنگ رقم اراک-۲۸۱۱ برای ۲ دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی و شش بار با آب مقطر به خوبی شسته شد. به منظور پوشش بذرها با سوسپانسیون اسپور باکتری محرک رشد از کربوکسی‌متیل سلولز ۰/۵ درصد استفاده گردید. بذرها به تناوب چندین بار در سوسپانسیون

کاهش رشد ریشه تحت تنش‌های مختلف در ارتباط با کاهش سطح هورمون‌های گیاهی از جمله اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، اسید جازمونیک و اسید سالیسیلیک همراه است (۴، ۱۱). اسید ایندول استیک^۱ (IAA) فراوان‌ترین اکسین طبیعی است که قابلیت آن در رابطه با تنظیم بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو گیاه از جمله تمایز بافت‌های آوندی، رشد طولی، جوانه‌زنی بذر و غده، تحریک ایجاد ریشه‌های جانبی، بیوستز متابولیت‌های مختلف و مقاومت به شرایط تنش به خوبی شناخته شده است (۱۶، ۳۴). در این رابطه، به نظر می‌رسد قابلیت یک گونه گیاهی برای سازگاری با شرایط تنش به همراهی آن‌ها با برخی از ریزجانداران تولیدکننده هورمون‌های گیاهی بستگی دارد (۲۹).

باکتری *Pseudomonas fluorescens* از باکتری‌های محرک رشد، معمولاً به صورت هوازی رشد می‌کند و تنوع تغذیه‌ای و بوم‌شناختی زیادی دارد (۲۳). این باکتری‌ها که به‌طور معمول در آب و خاک زیست می‌کنند، از ریشه تعداد زیادی از گیاهان جدا شده‌اند و به‌عنوان عوامل مهار زیستی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۱۱). جدایه‌های مختلف *P. fluorescens* می‌توانند عوامل بیماری‌زا را به‌طور مستقیم با تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیک، سیدروفورها، سیانیدیدروژن و آنزیم پروتئاز یا با آثار غیرمستقیم با تحریک مقاومت سیستمیک تحت تأثیر قرار دهند (۲۲). گونه‌های جنس *Pseudomonas* علاوه بر مهار عوامل بیماری‌زا، رشد گیاه را نیز افزایش می‌دهند (۳۱). تأثیر مثبت این باکتری‌ها روی سایر ریزجانداران مفید خاک و قارچ‌های میکوریز و تولید بعضی از تنظیم‌کننده‌های رشد به ویژه اسید ایندول استیک از سازوکارهای مؤثر در افزایش رشد گیاه می‌باشد (۱۶).

به‌دلیل روند روزافزون خسارت‌های ناشی از تنش‌ها، به‌ویژه شوری به محصولات زراعی، استفاده از عوامل

مزرعه (جدول ۱)، در شرایط گلخانه با دمای روزانه ۲۸ تا ۳۰ و شبانه ۱۸ تا ۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. آزمایش با چهار سطح مختلف شوری (۰، ۲۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و دو سطح تیمار مایه‌زنی (شاهد و باکتری) طراحی شد.

مذکور قرار گرفتند و زیر هود لامینار خشک شدند (۱۱). میانگین اسپور پوشش داده شده روی بذرها به‌طور میانگین 6×10^{12} CFU/ml بوده است. برای تیمار شاهد، بذرها با محلول کربوکسی‌متیل سلولز ۰/۵ درصد تیمار شدند. بذرها پس از کشت در گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد 20×15 سانتی‌متر محتوی خاک

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش.

Table 1. Physical and chemical properties of used soil.

بافت خاک Texture	نیتروژن (درصد) N (%)	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	فسفر (پی‌پی‌ام) P (ppm)	پتاسیم (پی‌پی‌ام) K (ppm)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC ($dS \cdot m^{-1}$)
رسی لومی Silty loam	0.21	2.39	14.7	275	7.55	1.24

اندازه‌گیری فندهای محلول: اندازه‌گیری مقدار کل قند به ازای وزن تر بافت برگ به روش Kochert (۱۹۷۸) با استفاده از اسیدسولفوریک غلیظ و خواندن جذب نوری آن‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر صورت گرفت (۱۸). رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلوکز و تعیین مقدار قند بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه‌ها محاسبه شد.

اندازه‌گیری پرولین: اندازه‌گیری پرولین از بافت برگ با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) و معرف نین‌هیدرین صورت گرفت (۸). در این روش پس از همگن‌سازی ۰/۱ گرم بافت مورد نظر در ۲ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳ درصد، مخلوط حاصل با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس از عصاره به‌دست آمده برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد. میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از پرولین و محاسبه میزان بر حسب میلی‌گرم در هر گرم بافت تر گیاه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری صفات رشدی: پس از ۴۰ روز از کاشت بذرها در گلدان، وزن خشک گیاه محاسبه گردید. به‌منظور محاسبه وزن خشک گیاه، بوته‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سلسیوس خشک شدند و وزن آن‌ها به وسیله ترازو با دقت یک‌هزارم اندازه‌گیری گردید.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگ‌ریز شده پس از همگن‌سازی در ۱۵ میلی‌لیتر استون سانتریفیوژ گردید. سپس میزان جذب بخش رویی در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ قرائت شد و میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید (۲۱).

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ: اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ با استفاده از برگ تازه گیاه و رابطه زیر بوده است (۲۵):

$$RWC (\%) = \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}}{\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس}} \times 100$$

نتایج و بحث

صفات رشدی: جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که برهمکنش تنش شوری و حضور باکتری محرک رشد بر وزن خشک ساقه و ریشه در سطح پنج درصد معنی‌دار است (جدول ۲). با افزایش شوری، وزن خشک اندام هوایی و ریشه کاهش یافت. بالاترین میزان وزن خشک اندام هوایی در تیمار شاهد (شوری صفر میلی‌مولار) و در حضور باکتری محرک رشد مشاهده شد (جدول ۲). حضور *P. fluorescens* با کاهش تنش، کاهش وزن خشک را به حداقل رساند (جدول ۳). تاثیر حضور باکتری *P. fluorescens* بر وزن خشک ساقه و ریشه در گیاهان گلرنگ مورد آزمایش تحت شرایط تنش شوری ۲۵-۳۱ درصد بود (شکل ۱).

کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در شرایط تنش شوری در گیاهان مختلف توسط بسیاری از پژوهش‌گران گزارش شده است (۹). بهبود صفات رشد با کاربرد باکتری‌ها محرک رشد با یافته‌های بهاری و همکاران (۱۳۹۱) در گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری پشتیبانی می‌شود (۶). همچنین مایه‌زنی ریشه‌های یونجه با جدایه‌هایی از جنس *Bacillus* با افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش شوری همراه بود (۵). Manaf و همکاران (۲۰۱۵) نیز در پژوهش‌های خود گزارش کردند که کاربرد باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد به طور معنی‌داری رشد ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان لوبیا چشم‌بلبلی را در شرایط گلخانه بهبود بخشید (۲۳). کاهش میزان رشد در شرایط تنش شوری می‌تواند به دلیل دخالت در فرایندهای درگیر در تولید انرژی مثل فتوسنتز و تنفس باشد. تغییر در تعادل هورمونی نیز یکی دیگر از دلایل کاهش رشد در شرایط تنش شوری می‌باشد (۲۸).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که برهمکنش تنش شوری و حضور باکتری

سنجش گلیسین‌بتائین: برای اندازه‌گیری میزان گلیسین‌بتائین از روش گراتان و گرایو (۱۹۹۲) و از ۰/۵ گرم از بافت برگ و معرف یدیدپتاسیم و اسید سولفوریک دو نرمال و ۲۰۱- دی‌کلرواتان استفاده شد. میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۶۵ نانومتر قرائت شد. میزان گلیسین‌بتائین بر حسب میکروگرم در هر گرم بافت گیاه محاسبه گردید (۱۴).
سنجش مالون‌دی‌الدهید: برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌الدهید ۰/۲ گرم بافت برگ در ۵ میلی‌لیتر از اسید تری‌کلرواستیک^۱ (TCA) ۱ درصد همگن شد. پس از سانتریفوژ همگن به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ g به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر از محلول محتوی TCA ۲۰ درصد و اسید تیوباربیتوریک^۲ ۰/۵ درصد اضافه گردید. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سلسیوس و سرد شدن آن‌ها در آب یخ، به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و میزان مالون‌دی‌الدهید بر حسب نانومول در گرم برگ به دست آمد (۳۲).

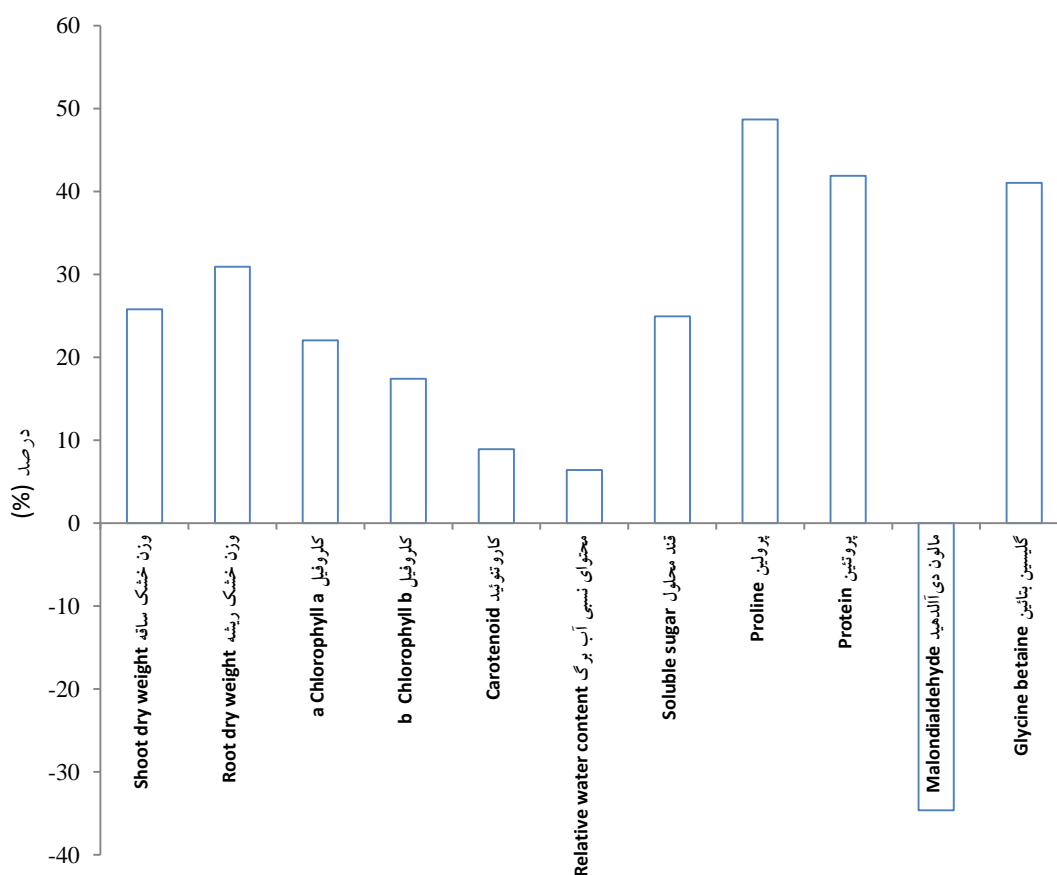
تجزیه و تحلیل آماری: این مطالعه با چهار تکرار در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تیمار باکتری محرک رشد و تیمار شوری بود. میانگین داده‌ها با بهره‌گیری از آزمون کم‌ترین تفاوت معنی‌دار (LSD) و با در نظر گرفتن سطح اطمینان $P \leq 0/05$ مورد تجزیه واریانس یک عاملی (One way ANOVA) قرار گرفتند. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R 3.5.0 انجام شد و ترسیم شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excel 2007 صورت گرفت.

1- Trichloroacetic acid
2- Thiobarbituric acid

آن بهبود پارامترهای رشد می باشد (شکل ۱). در این رابطه، همبستگی بالایی بین رنگیزه های کلروفیل a و b و صفات رشدی مشاهده شد (به ترتیب ۸۹/۵ و ۸۷، جدول ۴ و شکل ۲).

بهبود فتوسنتز و مؤلفه های آن با کاربرد باکتری ها محرک رشد با یافته های بهاری و همکاران (۲۰۱۸) در گیاهچه های ریحان تحت تنش شوری پشتیبانی می شود (۶). عمواقایی و نیک اندیش (۱۳۹۴) نیز تأثیر مایه زنی ریشه های یونجه با جدایه هایی از جنس *Bacillus* را بر مقدار کلروفیل گیاه در شرایط تحت تنش شوری نشان دادند (۵).

محرک رشد بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی در سطح یک یا پنج درصد (بسته به نوع رنگیزه) معنی دار است (جدول ۲). محتوای کلروفیل در برگ گیاهان تحت تنش به شوری کاهش می یافت. در این رابطه، دامنه تغییرات کلروفیل a نسبت به کلروفیل b بیش تر بوده است (جدول ۳). تیمار با باکتری محرک رشد موجب افزایش کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در شرایط تنش شوری و غیرشوری گردید. پیش تیمار بذر با *P. fluorescens* افزایش رنگیزه های a و b (به عنوان یکی از اجزای تأثیرگذار بر تولید زی توده) و مقدار کاروتنوئیدها (به عنوان یکی از اجزای سامانه دفاع آنتی اکسیدانی) را به همراه داشته است که نتیجه



شکل ۱- تأثیر (درصد) حضور باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی و زیست شیمیایی گیاه گلرنگ رقم اراک-۲۸۱۱ تحت شرایط تنش شوری (۰، ۲۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار).

Fig. 1. Effect (%) of growth and physiochemical traits of safflower plant Arak-2811 cultivar under different of salinity levels (0, 25, 75 and 150 mM) and presence of *Pseudomonas fluorescens*.

جدول ۲ - تجزیه واریانس (میانگین مربعات) حضور باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر صفات رشدی و فیزیوشیمیایی گیاه گل‌رنگ رقم اراک-۲۸۱۱ در شرایط تنش ناشی از سطوح مختلف شوری.
 Table 2. Analysis of variance (mean squares) of growth and physiochemical traits of safflower plant Arak-2811 cultivar under different of salinity levels and presence of *Pseudomonas fluorescens*.

منابع تغییرات Sources of variation	رنگ‌رده‌های فتوسنتزی Photosynthetic pigments			صفات رشدی Growth traits		وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	منابع تغییرات Sources of variation
	کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight		
Glycine betaine	3.777 **	279.22 **	485.30 **	320.2 **	0.00124 **	1.670 **	0.9352 **
مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde	2.200 **	96.71 **	280.40 **	223.1 **	0.000236 **	0.717 **	0.7345 **
گلیسین بتائین Glycine betaine	9.03 *	22.47 **	24.40 *	24.40 *	0.000108 **	0.0051 *	0.0585 *
	8.83	5.45	9.83	5.25	5.86	7.37	11.35
							7.16
							0.137 *
							3.388 **
							Salinity
							<i>P. fluorescens</i>
							<i>P. fluorescens</i> × Salinity
							ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

*** معنی دار در سطح ۱ درصد، * معنی دار در سطح ۵ درصد.

^a ** significant at the 0.01 level, * significant at the 0.05 level.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات رشدی و فیزیوشیمیایی گیاه گلرنگ رقم اراک-۲۸۱۱ در شرایط تنش ناشی از سطوح مختلف شوری و حضور باکتری *Pseudomonas fluorescens*.

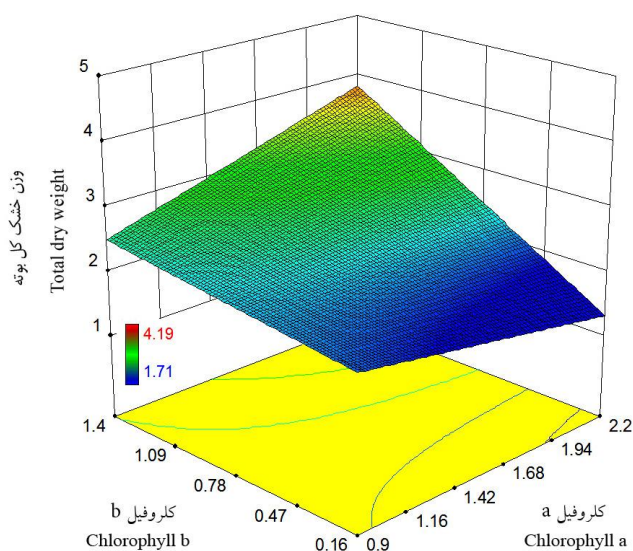
گلیسین بتائین (میکروگرم بر وزن گیاه خشک برگی) Glycine betaine (mg/g leaf dry weight)	محتوای نسبی				رنگین‌های فتوسنتزی				صفات رشدی		تیمار Treatment
	مالون دی‌آلدهید (نانومول/ گرم وزن تر برگ)	پرولین (میلی گرم/ گرم وزن تر برگ)	قند محلول (میلی گرم/ گرم وزن تر برگ)	آب برگ (درصد) Relative water content (%)	کاروتنوئید (میلی گرم/ گرم وزن تر برگ)	کلروفیل b (میلی گرم/ گرم وزن تر برگ)	کلروفیل a (میلی گرم/ گرم وزن تر برگ)	ریشه خشک (گرم/ گیاه) Root dry weight (gr per plant)	وزن خشک (گرم/ گیاه) Shoot dry weight (gr per plant)	اندام هوایی (گرم/ گیاه) Shoot dry weight (gr per plant)	
1.36 ^e	1.55 ^d	3.25 ^g	17.45 ^f	91.11 ^a	0.042 ^d	1.41 ^a	1.96 ^b	1.37 ^{bc}	2.97 ^{bc}	3.40 ^a	- <i>Pseudomonas fluorescens</i> Salinity 0 mM
1.36 ^e	1.35 ^d	4.05 ^f	21.90 ^e	91.18 ^a	0.044 ^d	1.43 ^a	2.20 ^a	1.60 ^a	3.40 ^a	3.40 ^a	+ <i>Pseudomonas fluorescens</i> شوری ۲۵ میلی مولار Salinity 25 mM
2.86 ^d	1.55 ^e	4.11 ^{ef}	22.67 ^{de}	84.25 ^e	0.057 ^e	1.39 ^a	1.48 ^c	1.26 ^{bc}	2.72 ^{cd}	3.00 ^b	- <i>Pseudomonas fluorescens</i> شوری ۷۵ میلی مولار Salinity 75 mM
3.10 ^d	1.24 ^d	4.78 ^e	26.15 ^d	91.22 ^a	0.054 ^c	1.34 ^a	1.84 ^b	1.38 ^b	3.00 ^b	3.00 ^b	+ <i>Pseudomonas fluorescens</i>
5.45 ^c	2.38 ^b	9.15 ^d	30.83 ^c	79.25 ^d	0.058 ^c	0.75 ^c	1.09 ^d	0.68 ^e	1.76 ^f	2.64 ^d	- <i>Pseudomonas fluorescens</i> شوری ۱۵۰ میلی مولار Salinity 150 mM
8.16 ^b	1.54 ^c	14.04 ^b	36.76 ^b	87.16 ^b	0.067 ^b	0.89 ^b	1.41 ^c	1.19 ^c	1.76 ^f	2.64 ^d	+ <i>Pseudomonas fluorescens</i>
8.16 ^b	3.16 ^a	12.90 ^c	31.39 ^c	73.23 ^e	0.066 ^b	0.16 ^d	0.93 ^e	0.56 ^e	1.41 ^g	2.07 ^e	- <i>Pseudomonas fluorescens</i> شوری ۱۵۰ میلی مولار Salinity 150 mM
12.55 ^a	2.23 ^b	19.75 ^a	43.25 ^a	80.08 ^d	0.08 ^a	0.65 ^c	1.19 ^d	0.92 ^d	1.41 ^g	2.07 ^e	+ <i>Pseudomonas fluorescens</i>

* Treatments at each column having at least one similar letter do not show a significant difference at $P \leq 0.05$.

جدول ۴- ضرایب همبستگی پی‌سون بین صفات رشدی و فیزیوشیمیایی گیاه کلرنگ رقم اراک-۲۸۱۱ در شرایط تنش ناشی از سطح مختلف شوری و حضور باکتری *Pseudomonas fluorescens*.

Table 4. Pearson correlation between growth and physiochemical traits of safflower plant Arak-2811 cultivar under different of salinity levels and presence of *Pseudomonas fluorescens*.

متغیر Variable	وزن خشک Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	محتوای نسبی آب برگ Relative water content	قند محلول Soluble sugar	پرولین Proline	مالون دی‌آلدهید Malondialdehyde	گلیسین بتائین Glycine betaine
وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	1									
وزن خشک ریشه Root dry weight	0.98	1								
کلروفیل a Chlorophyll a	0.90	0.89	1							
کلروفیل b Chlorophyll b	0.89	0.85	0.86	1						
کاروتنوئید Carotenoid	-0.62	-0.59	-0.73	-0.69	1					
محتوای نسبی آب برگ Relative water content	0.94	0.91	0.89	0.89	-0.63	1				
قند محلول Soluble sugar	-0.52	-0.48	-0.66	-0.67	0.84	-0.53	1			
پرولین Proline	0.59	0.55	-0.67	-0.75	0.91	-0.60	0.93	1		
مالون دی‌آلدهید Malondialdehyde	-0.65	-0.62	-0.74	0.78	0.93	-0.66	0.92	0.98	1	
گلیسین بتائین Glycine betaine	-0.93	-0.90	-0.86	-0.92	0.61	-0.94	0.51	0.59	0.64	1



شکل ۲- ارتباط بین تغییرات کلروفیل a و b بر وزن خشک کل بوته در گیاهان گلرنگ رقم اراک-۲۸۱۱ مورد آزمایش تحت شرایط تنش شوری (۰، ۲۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و حضور باکتری *Pseudomonas fluorescens*

Fig. 2. The relationship between chlorophyll a and b and total dry weight in safflower plant Arak-2811 cultivar under different of salinity levels (0, 25, 75 and 150 mM) and presence of *Pseudomonas fluorescens*.

برهمکنش تنش شوری و حضور باکتری محرک رشد بر کل قند محلول در بافت برگ گلرنگ معنی‌دار شد (جدول ۲). جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان می‌دهد که با افزایش شدت تنش شوری تجمع قندهای محلول در برگ افزایش می‌یابد. تأثیر حضور باکتری *P. fluorescens* بر افزایش قندهای محلول در گیاهان گلرنگ مورد آزمایش تحت شرایط تنش شوری ۲۴/۹۴ درصد بوده است (شکل ۱).

افزایش در غلظت قندهای محلول می‌تواند یک پاسخ نسبت به تغییرات میزان محتوای نسبی آب ارزیابی شود، زیرا افزایش در غلظت قندهای محلول تحت شرایط تنش شوری می‌تواند نقش مهمی در بهبود وضعیت آب برگ در القای تحمل به تنش شوری ایفا نماید (۴). بررسی‌های مختلف در زمینه نقش کربوهیدرات‌های محلول و افزایش آن‌ها تحت شرایط تنش‌های گوناگون صورت پذیرفته است که همگی بر نقش ترکیبات مذکور در تنظیم اسمزی

محتوای نسبی آب برگ: محتوای نسبی آب برگ به‌عنوان معیاری قابل اعتماد برای اندازه‌گیری وضعیت آب در بافت‌های گیاهی محسوب می‌شود (۳۶). در این آزمایش، بین سطوح مختلف تنش شوری از نظر محتوای نسبی آب برگ تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شد (جدول ۲). با افزایش تنش شوری به تدریج محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یافت (جدول ۳). همبستگی منفی بین محتوای نسبی آب برگ و قند محلول و پرولین (جدول ۴)، تأثیر انباشتگی اسمولیت‌ها برای تداوم جذب آب و کاهش تنش اسمزی را نشان می‌دهد. تأثیر حضور باکتری *P. fluorescens* بر بهبود محتوای نسبی آب برگ در گیاهان گلرنگ مورد آزمایش تحت شرایط تنش شوری ۶/۴۲ درصد بوده است (شکل ۱).

قندهای محلول: بین سطوح مختلف تنش شوری از نظر کل قندهای محلول تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده شد (جدول ۲). همچنین

سلول دلالت دارد. در این رابطه، قندهای محلول به‌عنوان محافظت‌کننده‌های اسمزی در تنظیم اسمز سلول نقش دارند و در پاسخ به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابند (۲). به این ترتیب، سنجش میزان قندهای محلول ممکن است روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به تنش‌های مختلف محیطی به ویژه گونه‌های مقام به شوری و خشکی باشد (۱۲). افزایش قندها در طی تنش ممکن است به تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول، سنتز از مسیرهای غیرفتوسنتزی و متوقف شدن رشد مربوط باشد (۱).

پرولین: جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که برهمکنش تنش شوری و حضور باکتری محرک رشد بر محتوای پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۲). افزایش شدت تنش شوری با تجمع پرولین در برگ همراه بود (جدول ۳). تأثیر حضور باکتری *P. fluorescens* بر افزایش قندهای محلول در گیاهان گلرنگ مورد آزمایش تحت شرایط تنش شوری ۴۸/۸۷ درصد بوده است (شکل ۱). محتوای پرولین برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری با وزن خشک داشته است (جدول ۴) که اهمیت این اسیدآمین را به عنوان عاملی مؤثر در افزایش عملکرد نشان می‌دهد، زیرا پرولین سبب تنظیم فشار اسمزی، حفظ آماس سلولی و کاهش هدررفت آب سلول می‌شود (۱۳). از طرفی، همبستگی منفی و معنی‌داری بین محتوای پرولین و محتوای نسبی آب برگ مشاهده می‌شود (جدول ۳). این موضوع بیان‌کننده کاهش محتوای نسبی آب برگ هنگام افزایش محتوای پرولین می‌باشد.

مالون دی‌آلدئید: تجزیه واریانس نشان داد که غلظت مالون دی‌آلدئید تحت‌تأثیر شوری، باکتری *P. fluorescens* و تأثیر متقابل آن قرار می‌گیرد (جدول ۲). مقایسه میانگین تأثیر شوری بر غلظت مالون دی‌آلدئید نشان داد که در تمام سطوح شوری

مورد آزمایش کم‌ترین غلظت مالون دی‌آلدئید در حضور باکتری محرک رشد بوده است (جدول ۳). کاهش روند تجمع مالون دی‌آلدئید در حضور باکتری *P. fluorescens* بیانگر کم‌ترین تخریب غشای سلولی در گیاهان تیمار شده با باکتری محرک رشد می‌باشد. گیاهان گلرنگ در سطح بدون تنش شوری کم‌ترین میزان مالون دی‌آلدئید (۱/۳۵ الی ۱/۵۵ نانومول/ گرم وزن تر برگ) داشتند و بیش‌ترین میزان مالون دی‌آلدئید (۳/۱۶ نانومول/ گرم وزن تر برگ) در بالاترین سطح شوری مشاهده شد. تأثیر حضور باکتری *P. fluorescens* در کاهش مالون دی‌آلدئید در گیاهان گلرنگ مورد آزمایش تحت شرایط تنش شوری ۳۴/۶۴ درصد بوده است (شکل ۱).

تغییر غلظت مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش شوری در این بررسی با نتایج گزارش‌های دیگر در گیاهان پنبه (۱۱) و گوجه‌فرنگی (۲۰) پشتیبانی می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را می‌توان به عنوان نشانه‌ای از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفت و اغلب از آن برای تعیین میزان آسیب وارده به غشا تحت تنش استفاده می‌شود. در این رابطه، سنجش مالون دی‌آلدئید به عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته می‌شود (۳۲). حضور قارچ‌ها و باکتری‌های محرک رشد با کاهش تنش‌های زنده و غیرزنده و کاهش آسیب اکسیداتیو (عدم افزایش مالون دی‌آلدئید) در کلزا توسط Ahmad و همکاران (۲۰۱۵) گزارش است (۲).

گلیسین بتائین: برهمکنش تنش شوری و باکتری *P. fluorescens* بر میزان گلیسین بتائین موجود در بافت برگ گلرنگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). گیاهان گلرنگ در سطح بدون تنش شوری کم‌ترین میزان گلیسین بتائین (۱/۳۱ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک) داشتند و بیش‌ترین میزان گلیسین بتائین (۲/۸۴ میکروگرم بر

گیاهی با کاهش عملکرد گیاه گلرنگ همراه است. تأثیر منفی تنش شوری به ویژه در غلظت‌های بیش‌تر شوری مشخص‌تر می‌باشد. در این رابطه، پیش‌تیمار زیستی توسط باکتری *P. fluorescens* با تغییر فیزیولوژی گیاه باعث بهبود تحمل به شوری ناشی از کلرید سدیم می‌شود. به همین دلیل شاخص تحمل این گیاهان در مقابل سطوح مختلف شوری بیش‌تر از گیاهان شاهد (بدون حضور باکتری) می‌باشد. از این‌رو، استفاده از باکتری *P. fluorescens* به عنوان یک رهیافت زیست فناوری می‌تواند برای بهبود مقاومت به تنش شوری پیشنهاد شود.

سپاسگزاری

نگارنده از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و شرکت شیمیایی ایمن بهدار هیرکان به خاطر فراهم آوردن امکانات و منابع مالی صمیمانه تشکر می‌نماید. هزینه این پژوهش از محل قرارداد ۴/۹۸۰۲۹۶۴۱ مورخه ۱۳۹۹/۷/۹ شرکت فوق تامین شده است.

میلی‌گرم وزن خشک) در بالاترین سطح شوری مشاهده شد. به طور کلی با افزایش سطوح شوری، میزان گلیسین بتائین افزایش یافت. گلیسین بتائین با قند محلول و محتوای پروتئین همبستگی مثبت داشت (شکل ۳). تأثیر حضور باکتری *P. fluorescens* بر افزایش گلیسین بتائین در گیاهان گلرنگ مورد آزمایش تحت شرایط تنش شوری ۴۱/۰۳ درصد بوده است (شکل ۱).

گلیسین بتائین به عنوان یک عامل تنظیم اسمزی مؤثر در گیاهان محسوب می‌شود و با رشد گیاهان در محیط‌های خشک و شور همبستگی بالایی دارد (۱۵). طبق گزارش Khan و همکاران (۲۰۰۰) غلظت گلیسین بتائین در آتریپلکس با افزایش غلظت شوری افزایش یافت (۱۷).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج ارایه شده در این پژوهش نشان داد که تنش شوری ناشی از کلرید سدیم با آسیب به رنگیزه‌های فتوسنتزی، غشای سلولی و وضعیت آب در بافت‌های

منابع

- Ahmad, P., Ozturk, M., Sharma, S. and Gucl, S. 2014. Effect of sodium carbonate-induced salinity-alkalinity on some key smoprotectants, protein profile, antioxidant enzymes, and lipid peroxidation in two mulberry (*Morus alba* l.) cultivars. J. Plant Interact. 9: 460-467.
- Ahmad, P., Hashem, A., Abd-Allah, E.F., Alqarawi, A.A., John, R., Egamberdieva, D. and Gucl, S. 2015. Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L) through antioxidative defense system. Front. Plant Sci. 6: 1-15.
- Akram, W., Anjum, T. and Ali, B. 2016. Phenylacetic acid is ISR determinant produced by *Bacillus fortis* IAGS162, which involves extensive re-modulation in metabolomics of tomato to protect against *Fusarium* wilt. Front. Plant Sci. 19: 1-12.
- Alqarawi, A.A., Abd Allah, E.F., Hashem, A., Al Huqail Asma, A., Abdulaziz, A. and Al-Sahli, A.A. 2014. Impact of abiotic salt stress on some metabolic activities of *Ephedra alata* Decne. J. Food Agric. Environ. 12: 620-625.
- Amooaghaie, R. and Nikandish, F. 2015. Effect of root inoculation of two alfalfa cultivars with strains of *Bacillus* and *Sinorhizobium* species on growth, chlorophyll content and cell membrane stability under salinity stress. J. Plant Res. 28: 140-152.
- Bahary, H., Pirdashty, H.A. and Yaghobian, Y. 2018. Response of chlorophyll fluorescence and physiological parameters

- of basil (*Ocimum basilicum* L.) to plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under salinity stress. *J. Plant Process Func.* 6: 89-104.
7. Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J. and van Loon, L.C. 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology.* 97: 239-243.
 8. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil.* 39: 205-207.
 9. Cha-um, S., Batin, C.B., Samphumphung, T. and Kidmanee, C. 2013. Physio-morphological changes of cowpea (*Vigna unguiculata* Walp.) and jack bean (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) in responses to soil salinity. *Aust. J. Crop Sci.* 7: 2128-2135.
 10. Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C. and LópezBucio, J. 2009. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 149: 1579-1592.
 11. Egamberdieva, D., Jabborova, D. and Hashem, A. 2015. *Pseudomonas* induces salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) and resistance to Fusarium root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. *Saudi J. Biol. Sci.* 22: 773-779.
 12. Egamberdieva, D., Berg, G., Lindström, K. and Räsänen, L.A. 2013. Alleviation of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (goat's rue) by co-inoculation of rhizobium with root colonising *Pseudomonas*. *Plant Soil.* 369: 453-465.
 13. Geholt, H.S., Purohit, A. and Shekhawat, N.S. 2005. Metabolic changes and protein patterns associated with adaptation to salinity in *Sesamun indicum* cultivars. *J. Cell Mol. Biol.* 4: 31-39.
 14. Grattan, S.R. and Grieve, C.M. 1992. Mineral element acquisition and growth response of plants grown in saline environments. *Agric. Ecol. Environ.* 38: 275-300.
 15. Hanson, A.D., May, A., Grumet, M.R., Bode, J., Jamieson, G.C. and Rhods, D. 2007. Betaine synthesis in chenopods: Localization in chloroplasts. *Proceedings of the National Academic of Science USA.* 82: 3678-3682.
 16. Javid, M.G., Sorooshzadeh, A., Moradi, F. and Allahdadi, I. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Aust. J. Crop Sci.* 5: 726-734.
 17. Khan, M.A., Ungar, I.A. and Showalters, A.M. 2000. The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.). *Forssk. J. Arid Environ.* 45: 73-84.
 18. Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. P 56-97, In: J.A. Helebusst and J.S. Craig, (ed.), *Handbook of Phycological Method.*, Cambridge Univ. Press. Cambridge.
 19. Koushfar, M., Khoshgoftarmanesh, A.H., Moezzi, A.A. and Mobli, M. 2011. Effect of dynamic unequal distribution of salts in the root environment on performance and crop per drop (CPD) of hydroponic-grown tomato. *Sci. Hort.* 131: 1-5.
 20. Li, Y. 2009. Physiological responses of tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*) to salt stress. *Mod. Appl. Sci.* 3: 171-176.
 21. Lichtenthaler, H.K. 1994. Chlorophylls and carotenoid pigments of photosynthetic Biol. Membrane. *Method Enzymol.* 148: 350-382.
 22. Ludwig-Müller J. 2011. Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants. *J. Exp. Bot.* 62: 1757-1773.
 23. Manaf, H.H. and Zayed, M.N. 2015. Productivity of cowpea as affected by salt stress in presence of endomycorrhizae and *Pseudomonas fluorescens*. *Ann. Agric. Sci.* 60: 219-226.
 24. Mastouri, F., Bjorkman, T. and Harman, G.E. 2012. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. *Mol. Plant Microbiol. Interac.* 25: 1264-1271.

25. Mishra, A. and Choudhuri, M.A. 1999. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biol. Plant.* 42: 409-415.
26. Munns, R., James, R.A. and Läuchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57: 1025-1043.
27. Nakano, Y. and Asada, K. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *J. Plant Cell Physiol.* 28: 131-140.
28. Pandey, D.M., Goswami, C.L. and Kumar, B. 2004. Physiological effects of plant hormones in cotton under drought. *Biol. Plant.* 47(4): 535-540.
29. Patten, C.L. and Glick, B.R. 2002. Role of *pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3795-3801.
30. Peltzer, D., Dreyer, E. and Polle, A. 2002. Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 141-150.
31. Petti, C., Reiber, K., Ali, S.S., Berney, M. and Doohan, F.M. 2012. Auxin as a player in the biocontrol of *Fusarium* head blight disease of barley and its potential as a disease control agent. *BMC Plant Biol.* 12: 224.
32. Popham, P.L. and Novacky, A. 1990. Use of dimethylsulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria-induced hypersensitive reaction. *Plant Physiology.* 96: 1157-1160.
33. Pusztahelyi, T., Holb, I.J. and Pocs, I. 2015. Secondary metabolites in fungus-plant interactions. *Front. Plant Sci.* 6: 1-23.
34. Ramalingam, R. and In-Jung, L. 2013. Ameliorative effects of spermine against osmotic stress through antioxidants and abscisic acid changes in soybean pods and seeds. *Acta Physiol. Plant.* 35: 263-269.
35. Rezaei-Chiyaneh, E., Jamali, M., Pirzad, A. and Tofiq, S. 2015. Effect of mycorrhizal fungi on some morphophysiological characters and yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.) in salt stress conditions. *J. Plant Process Func.* 5: 15-29.
36. Schonfield, M.P., Richard, J.C., Carver, B.P. and Mornhi, N.W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sci.* 28: 526-531.
37. Sharaf, E.F. and Farrag, A.A. 2004. Induced resistance in tomato plants by IAA against *Fusarium oxysporum lycopersici*. *Pol. J. Microbiol.* 53: 111-116.
38. Shores, M., Mastouri, F. and Harman, G. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Ann. Rev. Phytopathol.* 48: 21-43.
39. Thompson, D.C., Clarke, B.B. and Kobayashi, D.Y. 1996. Evaluation of bacterial antagonists for reduction of summer patch symptoms in Kentucky bluegrass. *Plant Dis.* 80: 856-862.
40. van Dam, N.M. 2009. How plants cope with biotic interactions. *Plant Biol.* 11: 1-5.
41. Yao, L., Zhan, W. and Zheng, Y. 2010. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs198 on cotton. *Eur. J. Soil Biol.* 46: 49-54.

