The effect of *Funneliformis mosseae* fungus and *Acidithiobacillus* application on some biochemical metabolites of maize (*Zea mays.* L) under salinity stress

Introduction

Saline soils resulting from natural and/or anthropogenic processes are very diverse and widely distributed in all climates. Soil salinity as a serious environmental problem has negatively effects on plant growth and development in arid and semi-arid as well as humid regions. Since increasing global food security is a fundamental goal to feed the growing world population, it is necessary to develop suitable and efficient techniques for the rehabilitation of salt-affected soils and their exploitation. Chemical fertilizers are usually used to provide nutrients required for plant growth in order to increase crop yield, but application of these chemical compounents has negative environmental effects and reduces the quality of soils and agricultural products. The use of beneficial microorganisms (bacteria and fungi) as fertilizers and biological amendments has a high potential to improve productivity in saline soils. The aim of this study was to investigate the effect of using *Acidithiobacillus* bacteria along with mycorrhiza on the production of some photosynthetic and biochemical metabolites in maize under salt stress and comparing it with control conditions.

Materials and Methods

To perform this experiment, a surface soil sample was collected from a depth of 30 cm from the campus of Ferdowsi University of Mashhad, and some physical and chemical properties of the soil were measured by usual laboratory methods. To prepare saline soil a mixture of four compounds $MgSO_4.7H_2O$, Na_2SO_4, NaCl, and $CaCl_2.2H_2O$ was used. The mycorrhizal fungus (*Funneliformis mosseae)* and mesophilic *Acidithiobacillus* bacteria species two types of bacteria, *Acidithiobacillus thiooxidans* PTCC No: 1692 (DSM 504) and *Acidithiobacillus ferrooxidans* PTCC No: 1646 (DSM 583), were purchased from Turan Biotechnology Company (Semnan Science and Technology Park) and Iran Microbial Scientific and Industrial Research Center (PTCC), respactively. In this research, the effect of biological treatments including: two levels of mycorrhiza (inoculation and non-inoculation), two levels of salinity (0.96 and 6 d/m) and four levels of *Acidithiobacillus* control (C), *Acidithiobacillus thiooxidans* (T), *Acidithiobacillus Ferrooxidans* (F), *Acidithiobacillus thiooxidans and Ferrooxidans* (T+F) were compared with each other on some photosynthetic and biochemical characteristics of Zea mais under greenhouse conditions in the form of a completely randomized design with factorial arrangement with three replications. 10 gr of salt mixture (this amount of salt was obtained to reach electrical conductivity of 6 in the pre-experiment) was added to 5 kg of soil and the soil moisture of the pots was kept for one month in the field capacity. Bacterial treatments were inoculated with 30 mL of cell suspension per pot (approximately 10^7 CFU mL^{-1}). In the simultaneous use of two bacteria, 15 ml of each bacterial cell suspension (15+15) was added to each pot. Singel cross 704 variety of maize was grown in pots and soil moisture was maintained during the growth period in the field capacity by weighing. Chlorophyll a, b and carotenoid, concentrations of flavonoids, anthocyanins and proline and electrical leakage were measured in fresh leaf samples (third leaf on the stem).

Results and Discussion

The results showed that salinity decreased the percentage of root colonization and chlorophyll a and b content in leaves. Salinity decreased chlorophyll a, b and carotenoid in leaves by 27.9, 68.42% and 50%, respectively. Salinity increased proline concentration (42.62%), electrolyte leakage (33.30%), anthocyanins concentration (96.36%) and leaf flavonoids (84.73%) compared to control soil. Inoculation with mycorrhiza compared to no inoculation had a remarkable and significant effect on all investigated parameters in both saline and control soils. In saline soil, mycorrhizal inoculation reduces electrolyte leakage (56.75%) and increases chlorophyll a (2.3 times), chlorophyll b (6.6 times), carotenoid (1.3 times), proline concentration (24.39%), anthocyanins amount (24.07) and flavonoids (20.4%) in the plant. The effect of bacterial treatments on the investigated parameters in plants inoculated with mycorrhiza was greater than non-inoculated treatments. The effectiveness of the simultaneous application of both bacteria was greater than the effect of each of them alone. In saline soil, simultaneous inoculation of mycorrhizae with both bacteria species reduces electrolyte leakage (14.72%) and increases chlorophyll a (39.80%), chlorophyll b (106%), carotenoid (50%), proline concentration (10.12%), the amount of anthocyanins (14.17%) and flavonoids (4.06%) compared to mycorrhiza treatment alone. The results showed that these bacteria can probably be considered as helping mycorrhizal bacteria.

Conclusion

This study was conducted with the aim of investigating the effect of simultaneous inoculation of mycorrhizae and *Acidithiobacillus* bacteria on some photosynthetic and biochemical metabolites of maize under salinity stress conditions. Confirming the results of other studies, the results of this research also showed the clear and distinct effect of mycorrhiza on increasing chlorophyll and producing metabolites effective in increasing plant resistance against salt stress. In addition, the results showed that although the use of each species of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* alone was effective on the measured parameters in both saline and control soils, the simultaneous inoculation of both *Acidithiobacillus* bacteria species and mycorrhizal had the greatest effect on increasing chlorophyll, production of proline, anthocyanins and flavinoids and reducing electrolyte leakage and as a result, increasing tolerance to salt stress. In other words, these bacteria can be considered as mycorrhiza helper bacteria, whose activity can improve the function of mycorrhizal. On the other hand, mycorrhizal symbiosis may have increased the efficiency of these bacteria by changing the soil conditions and the environment around the roots. However, further greenhouse and field experiments with other plant species are necessary to confirm these findings.

Keywords: Mycorrhizal helping bacteria, mycorrhizal symbiosis, biofertilizer, proline, salt affected soils

تأثیر قارچ *فانلی فورمیس موسه* و *اسیدی تیوباسیلوس* بر برخی متابولیت‌های بیوشیمیایی ذرت (*Zea mays.L*) تحت تنش شوری

جمعه الجمعه- اکرم حلاج نیا*- امیر لکزیان- علیرضا آستارایی

گروه علوم خاک، دانشگده کشاورزی،دانشگاه فردوسی مشهد،مشهد ، ایران

*-halajnia@um.ac.ir

چکیده

دستیابی به امنیت غذایی یک هدف بسیار ضروری برای تغذیه جمعیت رو به رشد جهان است، توسعه تکنیک‌های مناسب و کارآمد برای احیای خاک‌های متاثر از نمک بسیار ضروری است. استفاده از روش‌های بیولوژیکی مانند کاربرد ریزجانداران مفید به‌عنوان اصلاح‌کننده‌های زیستی پتانسیل زیادی در بهبود شرایط رشد گیاه در خاک‌های شور دارد. هدف این مطالعه بررسی تاثیر کاربرد همزمان باکتری‌های *اسیدی‌تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزی *فانلی فورمیس موسه* بر برخی متابولیت‌های فتوسنتزی و بیوشیمیایی ذرت بود. برای این منظور یک آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل انجام شد. در این تحقیق اثر تیمارهای بیولوژیکی شامل: دو سطح قارچ میکوریزا (تلقیح و عدم تلقیح)، دو سطح شوری (۰/۹۶ و ۶ دسی زیمنس بر متر) و چهار سطح تلقیح باکتری‌های *اسیدی تیوباسیلوس* شامل شاهد (C)، *تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، *تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، *تیوباسیلوس تیواکسیدانس* و *تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (T+F) در یک خاک بررسی شد. نتایج نشان داد که شوری غلظت کلروفیل a، b و کارتنوئید برگ را به ترتیب۶۸/۲۷،۴۲/۹۰ و ۵۰ درصد در مقایسه با شاهد کاهش داد. شوری باعث افزایش، غلظت پرولین (۴۲/۶۲ درصد)، نشت الکترولیت (۳۳/۳۰ درصد)، غلظت آنتوسیانین‌ها (۹۶/۳۶ درصد) و فلاونوئیدهای برگ (۸۴/۷۳ درصد) در مقایسه با خاک شاهد شد. تلقیح با قارچ میکوریزا در مقایسه با عدم تلقیح اثر قابل توجه و معنی داری بر همه پارامترهای مورد بررسی در هر دو خاک شور و شاهد داشت. در خاک شور تلقیح قارچ میکوریزا موجب کاهش نشت الکترولیت (۵۶/۷۵ درصد) و افزایش کلروفیل a (۳/۲ برابر)، کلروفیل b (۶/۶ برابر) کارتنوئید (۱/۳ برابر)، غلظت پرولین (۲۴/۳۹ درصد)، مقدار آنتوسیانین‌ها (۲۴/۰۷ درصد) و فلاونوئیدها (۲۰/۴۰ در صد) در گیاه شد. تاثیر تیمارهای باکتریایی بر پارامترهای مورد بررسی در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود. اثرگذاری بر مقدار پرولین، کلروفیل‌ها، آنتوسیانین و فلاونوئیدها در کاربرد توام هر دو گونه باکتری بیشتر از تاثیر هر کدام به تنهایی بود. در خاک شور تلقیح همزمان قارچ میکوریزا با هر دو گونه باکتری موجب کاهش نشت الکترولیت (۱۴/۷۲ درصد) و افزایش کلروفیل a (۳۹/۸۰ درصد)، کلروفیل b (۱۰۶ درصد)، کارتنوئید (۵۰ درصد)، غلظت پرولین (۱۰/۱۲ درصد)، مقدار آنتوسیانین ها (۱۴/۱۷ درصد) و فلاونوئیدها (۴/۰۶ درصد) در گیاه در مقایسه با تیمار قارچ میکوریزا به تنهایی شد. نتایج نشان داد که این باکتری‌ها احتمالا می‌توانند به‌عنوان باکتری‌های کمک کننده میکوریزا در نظر گرفته شوند.

کلید واژه ها: باکتری‌های کمک کننده میکوریزا، همزیستی میکوریزی، کود زیستی، پرولین، خاک‌های متاثر از نمک

مقدمه

کاهش کیفیت خاک در نتیجه دخالت انسان و به دنبال آن شوری و آلودگی خاک و بیابان زایی به یک معضل مهم در تولید محصولات کشاورزی تبدیل شده است (Li *et al*., 2015). شور شدن خاک یک اتفاق رایج در مناطق خشک و نیمه خشک است که بارندگی برای حذف نمک از ناحیه ریشه کافی نیست (Abbas *et al*., 2013). تصور می‌شود که روند شور شدن خاکها که به سرعت در حال تشدید است عمدتاً ناشی از عدم درک علمی کشاورزان از فرآیندهایی است که منجر به توسعه شوری و مکانیسم‌های مقابله مؤثر می‌شود. با توجه به این شرایط، کشاورزان مجبور به کشت حبوبات و گیاهان علوفه ای مقاوم به نمک به جای کشت غلات متعارف هستند که بر امنیت غذایی خانوار تأثیر می گذارد (Asad *et al*., 2018). کشاورزانی که از شوری آگاه هستند ممکن است از تکنیک‌های کاهش و سازگاری منطقه‌ای مانند مدیریت بهتر زمین و آب، کاشت محصولات مقاوم به نمک، تنوع در الگوی کشت و تغییر گزینه‌های سرمایه‌گذاری خود (Mamba *et al*., 2016) استفاده کنند.

اصلاح کننده های آلی مانند کود گاوی، بقایای گیاهی، ضایعات و کودهای زیستی روش‌های مناسبی برای احیای خاک‌های شور هستند زیرا با کاهش شوری و افزایش حاصلخیزی خاک رشد محصول را تقویت می‌کنند (Chen *et al*. 2021b; Cui *et al*., 2021). کودهای شیمیایی معمولاً برای تأمین عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد گیاه به منظور افزایش عملکرد محصول استفاده می شوند. اگرچه آنها رشد گیاه را تسریع می کنند، اما در رشد طبیعی و سلامت گیاه اختلال ایجاد کرده و کیفیت خاک را کاهش می دهند (Kandpal, 2021).

استفاده از گونه‌های میکروبی تقویت‌کننده رشد گیاهان رویکردی امیدوارکننده برای افزایش تولیدات کشاورزی در خاک‌های شور است (Chu *et al*., 2019). قارچ های میکوریزا می توانند رشد گیاه، فتوسنتز و ذخیره مواد مغذی، متابولیت ها و ترکیبات شیمیایی مفید را افزایش دهند و با مهار پاتوژن های قارچی، بیماری های گیاهی ناشی از خاک را کاهش دهند (Ratti *et al*., 2010; Oliveira *et al*., 2013). گیاهان می توانند از همزیستی با قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار (AMF[1]) سود ببرند زیرا این همزیستی موجب بهبود وضعیت تغذیه، افزایش فراهمی و اثربخشی مصرف آب و در نتیجه کاهش اثرات تنش شوری می شود (Mohamed *et al*., 2014; Pirzad and Mohammadzadeh

[1] Arbuscular mycorrhizal fungi

2018). برخی از مطالعات، رابطه بین قارچ‌های میکوریزا و ریزجانداران ریزوسفری که تصور می‌شود یکی از عوامل کلیدی تعیین‌کننده کلونیزاسیون و اثربخشی قارچ‌های میکوریزی هستند، را مورد بررسی قرار دادند. گاربای اولین کسی بود که در مورد ایده باکتری کمک کننده میکوریز (*MHB*[1]) بحث کرد (Garbaye, 1994). بخش مهمی از اثرات همزیستی میکوریزا، که رشد گیاه و جذب مواد مغذی را افزایش می‌دهد، ناشی از کارکرد باکتری‌های کمکی میکوریز (*MHB*) است. *MHB* همزیستی گیاه و قارچ را بهبود می بخشند و تأثیر مثبتی بر تعامل بین گیاهان و قارچ های میکوریز دارند (Frey-Klett *et al*., 2007). در مطالعه بورلز و همکاران تلقیح همزمان باکتری (MHB) *Curtobacterium citreum BE* و میکوریزا رشد گیاه *Cyperaceous* و تغذیه معدنی آن را در یک خاک اولترامافیک همگام با افزایش کلونیزاسیون ریشه افزایش داد (Bourles *et al*., 2020). *MHB* تشکیل و رشد ریشه های ثانویه گیاه میزبان و احتمال تماس قارچ میکوریزا با ریشه را افزایش می دهد (Labbé *et al*., 2014; Armada *et al*., 2016).

سولفات توسط باکتریهای تیوباسیلوس از طریق تشکیل تیوسولفات و تتراتیونات در طی فرآیند اکسیداسیون در دسترس قرار می گیرد، این باکتری ها رشد میکروارگانیسمهای مفید خاک را تحریک کرده و اکسیداسیون بیولوژیکی گوگرد و آهن را در خاک تقویت می کنند که در نهایت موجب افزایش جذب مواد مغذی و عملکرد گیاه بین ۳۰ تا ۶۰ درصد می شود (Pokorna and Zabranska, 2015). باکتری‌ها تیوباسیلوس می‌تواند با اکسید کردن گوگرد فراهمی عناصر غذایی را در خاک افزایش دهند. همچنین این باکتری‌ها قادر هستند سرعت تبادل کاتیونی خاک را افزایش دهند. این عمل با فعال سازی باکتری‌های مفید و تسهیل اکسید شدن زیستی در خاک انجام می‌شوند که این امر منجر به جذب بهتر عناصر غذایی و افزایش عملکرد می‌شود (Mohamed *et al*., 2014; Rahimzadeh *et al*., 2016) . همچنین تولید اسید سولفوریک در نتیجه فعالیت این باکتری‌ها pH خاک را کاهش می دهد. هیدروژن تولید شده در تبادل با سدیم از سطح ذرات رس، شستشوی بعدی سدیم را تسهیل می کند و در نهایت موجب کاهش شوری خاک می شود (Garcia Junior, 1992). در خاک‌های شور، برهمکنش *تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزا ممکن است باعث افزایش همزیستی ریشه گیاه با قارچ میکوریزا شده که این امر باعث افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود رشد گیاه شود

[1] Mycorrhiza helper bacteria

(Mostafavian *et al.*, 2008). تلقیح همزمان *AMF* و باکتری‌های *تیوباسیلوس* اثرات مثبتی بر عملکرد گیاه پیاز داشتند (Mohamed *et al.*, 2014). در مطالعه دیگر نشان داده شد که در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح، تلقیح میکوریزا و *تیوباسیلوس* عملکرد گیاه *Lallemantia iberica* را افزایش داد و شاخص‌های مورفولوژیکی آن را بهبود بخشید (Heydari and Pirzad 2021a). کاربرد همزمان میکوریزا و باکتری‌های *تیوباسیلوس* می توانند عملکرد و کیفیت متابولیت های ثانویه را افزایش دهند و در نتیجه بخشی از کاهش عملکرد گیاه را که در شرایط خاک شور رخ می دهد، جبران کنند (Heydari and Pirzad 2021b).

در مطالعه انجام شده توسط ارن، از *اسیدی‌تیوباسیلوس تیواکسدانس* به عنوان یکی از باکتری های محرک رشد نام برده شده است (Eren, 2022). در مطالعه انجام شده توسط دلیران و همکاران نیز اثر دو گونه *باکتری اسیدی-تیوباسیلوس* بر حل کردن آهن از منابع مختلف و رشد گیاه سویا بررسی شد. نتایج نشان داده که در کاربرد این دو گونه باکتری به تنهایی، وزن خشک اندام هوایی گیاه افزایش داشت که البته این افزایش در مقایسه با شاهد معنی دار نبوده ولی با این حال کاربرد این دو باکتری به صورت همزمان توانسته افزایش معنی داری در وزن خشک اندام هوایی گیاه در مقایسه با شاهد ایجاد کند (Daliran *et al.*, 2022). این محققین همچنین افزایش غلظت آهن اندام هوایی گیاه سویا در تیمار باکتری‌ها *اسیدی‌تیوباسیلوس* (*تیواکسیدانس + فرواکسیدانس*) را گزارش دادند.

ذرت پرمحصول ترین غله جهان است و بعد از گندم و برنج مهمترین نقش را در تغذیه بشر دارد (Ai and Jane, 2016). علاوه بر این یکی از مهمترین گیاهان در تغذیه دام می باشد (FAO, 1947). از طرفی همزیستی گیاهان با قارچ *فانلی فورمیس موسه* یکی از متداولترین همزیستیهای میکوریزایی به شمار می رود. با توجه به گسترش شوری ثانویه در خاک‌های کشاورزی در این پژوهش مطالعه بر روی گیاه ذرت در همزیستی با قارچ میکوریزا در شرایط تنش شوری انجام شد. به دلیل مطالعات بسیار کم در خصوص کاربرد باکتری‌های *تیوباسیلوس* به عنوان یک *MHB* بر کارایی قارچ *فانلی فورمیس موسه* در خاک‌های شور این باکتری‌ها انتخاب شدند، هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های فتوسنتزی و بیوشیمیایی ذرت در شرایط تنش شوری در پاسخ به تلقیح همزمان باکتریهای *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* و *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* و قارچ میکوریزا و مقایسه آن با پاسخ‌های گیاهی در خاک شاهد بود.

مواد وروش‌ها

تهیه نمونه خاک، مایه تلقیحی قارچ *فانلی فورمیس موسه* و باکتری‌های *تیوباسیلوس*

نمونه خاک غیر شور سطحی ($EC=0.96\ dSm^{-1}$) از پردیس دانشگاه فردوسی مشهد جمع آوری شد. خاک بعد از هواخشک کردن برای تعیین برخی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی با استفاده از روش های آزمایشگاهی مرسوم از الک ۲ میلی متری عبور داده شد. خاک آهکی مورد مطالعه باpH برابر ۷/۶۲ و ۱۷/۷ درصد کربنات کلسیم معادل حاوی ۴۲ درصد ماسه، ۳۸ درصد سیلت و ۲۰ درصد رس بود. پتاسیم قابل دسترس خاک ۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم، فسفر قابل دسترس ۴/۲ میلی گرم بر کیلوگرم، کربن آلی (۰/۳ درصد) و نیتروژن کل ۵۳۹ میلی گرم بر کیلوگرم اندازه گیری شد. مایه تلقیح *فانلی فورمیس موسه* از شرکت زیست فناوران توران تهیه شد. مایه تلقیح میکوریزا حاوی خاک، بستر ریشه میکوریزی شبدر، اسپور قارچ (۵۰ اسپور در هر گرم مایه تلقیح) و هیف های خارجی قارچ گونه *فانلی فورمیس موسه* بود. باکتری‌های مزوفیل شامل دو نوع باکتری *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (DSM PTCC[1] No: 1692) و باکتری *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (DSM 583) PTCC No: 1646 از مرکز تحقیقات علمی و صنعتی میکروبی ایران (PTCC) تهیه شد.

اجرای آزمایش و آماده سازی تیمارها

در این تحقیق اثر تیمارهای بیولوژیکی شامل: دو سطح قارچ میکوریزا (تلقیح و عدم تلقیح)، دو سطح شوری (۰/۹۶ و ۶ دسی زیمنس بر متر) و چهار سطح تلقیح باکتریهای *اسیدی تیوباسیلوس* شامل شاهد (C)، *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* و *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (T+F) در یک خاک بر برخی ویژگیهای فتوسنتزی و فیزیولوژیکی ذرت در شرایط گلخانه ای در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل با سه تکرار با یکدیگر مقایسه شدند.

در ابتدا خاک هوا خشک و از الک ۲ میلی متری عبور داده شد. نمونه خاک در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو سترون شد. برای تهیه خاک شور ($EC=6\ dSm^{-1}$)، از مخلوط نمک های حاوی

[1] Persian Type Culture Collection

۴/۱۸۲ گرم $MgSO_4\ 7H_2O$، ۳/۶۹۱ گرم $CaCl_2\ 2H_2O$، ۰/۰۹۱ گرم NaCl و ۲/۰۳۶ گرم Na_2SO_4 استفاده شد (Barin et al. 2006). مقدار لازم از مخلوط نمکها در یک پیش آزمایش برای دستیابی به قابلیت هدایت الکتریکی ۶ دسی زیمنس بر متر در گل اشباع (Carter and Gregorich 2007) بدست آمد. به طوری که مقدار ۱/۶ گرم از مخلوط نمکها به هر کیلوگرم خاک غیر شور اضافه شد. علاوه بر این جهت افزایش فعالیت باکتری *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* به خاک شور و شاهد ۰/۲ گرم گوگرد عنصری به هر کیلوگرم خاک اضافه شد. در مجموع ۴۸ گلدان تهیه شد. قبل از کاشت، گلدان های پلاستیکی ۵ کیلوگرمی با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شدند. هر گلدان با ۳۰۰ گرم ماسه درشت سترون (اتوکلاو شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد) و سپس با ۵ کیلوگرم خاک سترون پر شد. برای به تعادل رسیدن خاک با نمک‌های اضافه شده همه گلدانها به مدت یک ماه در شرایط رطوبتی ظرفیت مزرعه در گلخانه (شدت نور: ۳۵۰ $\mu mol.m^{-1}.s^{-1}$، دما بین ۲۰ تا ۲۷ سانتی گراد و رطوبت بین ۵۵ تا ۶۵ درصد) نگهداری شدند.

پس از مخلوط کردن کامل خاک هر گلدان، تیمارهای تلقیح انجام شد. برای تهیه تلقیح باکتریایی، باکتری ها در محیطی که توسط مرکز PTCC پیشنهاد شده بود، رشد داده شدند. باکتری *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* در یک لیتر محیط مایع حاوی K_2HPO_4 (۰/۴ گرم)، $MgSO_4.7H_2O$ (۰/۴ گرم)، $(NH_4)_2SO_4$ (۰/۴ گرم) و $FeSO_4.7H_2O$ (۳۳/۳ گرم) کشت شد. pH محیط با استفاده از محلول ۰/۱ نرمال H_2SO_4 روی pH=۱/۴ تنظیم شد.

محیط کشت باکتری *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* شامل K_2HPO_4 (۳ گرم)، $MgCl_2.6H_2O$ (۰/۱ گرم)، NH_4Cl (۰/۱ گرم)، $CaCl_2.2H_2O$ (۰/۱۴ گرم) و ۱۰ گرم پودر گوگرد در یک لیتر بود. pH محلول روی ۴/۲ تنظیم شد. کشت باکتری ها به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در انکوباتور شیکردار با ۱۵۰ دور در دقیقه انجام شد. پس از رشد، سلولهای باکتری با استفاده از سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور در دقیقه) جداسازی و سپس در آب مقطر سترون معلق شدند. ۳۰ میلی لیتر از سوسپانسیون سلولی باکتری (معادل 10^7 CFU mL^{-1}) به هر گلدان بر اساس نوع تیمار اضافه شد. برای تلقیح همزمان دو گونه باکتری، از هر سوسپانسیون سلولی باکتری، ۱۵ میلی لیتر (۱۵+۱۵) به گلدان

اضافه شد. تعداد سلول در هر میلی لیتر با استفاده از روش مک فارلند (Mcfarland, 1907) محاسبه شد. سوسپانسیون های باکتریایی بر اساس استاندارد ۰/۵ مک فارلند ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ CFU mL^{-1}) تهیه و سپس ده برابر (معادل $۱۰^{۷}$ CFU mL^{-1}) رقیق شدند. ۱۰۰ گرم مایه تلقیح قارچ میکوریزا به ناحیه رشد ریشه (در ۱۰ سانتی متری زیر سطح خاک) در هر گلدان اضافه شد. برای تیمارهای بدون مایه تلقیح قارچ میکوریزا، ۱۰۰ گرم مایه تلقیح قارچ میکوریزای سترون شده اضافه شد. علاوه بر این، ۱۰ میلی لیتر از مایه تلقیح *فانلی فورمیس موسه* فیلتر شده بدون اتوکلاو (<۱۰ میکرومتر) به هر تیمار اضافه شد تا اطمینان حاصل شود که جامعه میکروبی قابل مقایسه در همه گلدان ها وجود دارد (Duc et al. 2018). قبل از کاشت، بذور ذرت (*Single Cross 704*) با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد سترون شد. پس از شستشو با آب مقطر، در هر گلدان ۵ عدد بذر در عمق ۵ سانتی متری کاشته شد. پس از ۱۴ روز در هر گلدان ۲ بوته متعارف و سالم نگهداری شد. رطوبت خاک در سطح ظرفیت مزرعه با توزین منظم گلدان ها در طول دوره رشد حفظ شد. کود اوره در طی ۳ مرحله (۱۰، ۲۰ و ۴۵ روز) به مقدار کل ۴۰۰ کیلو گرم بر هکتار در طول دوره رشد و کود سولفات پتاسیم به مقدار ۲۰۰ کیلو گرم بر هکتار قبل از کشت به گلدان‌ها اضافه شدند. پس از ۶۰ روز، گیاهان برداشت شدند و ریشه ها با آب مقطر شسته شدند. از هر گلدان چهار بخش از ریشه‌ها به قطعات ۱ سانتیمتری تقسیم گردیدند و در محلول FAA (Formalin Acetic Acid Alcohol)برای مطالعه میکروسکوپی نگهداری شدند. برای رنگ‌آمیزی ریشه قطعات ریشه با ۱۰٪ KOH به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد تیمار شدند و متعاقباً مطابق روش فیلیپس و هایمن با ۵٪ اسید لاکتیک گلیسرول–تریپان بلو رنگ آمیزی شدند (Phillips and Hayman 1970). برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه از روش (Giovannetti and Mosse 1980) استفاده شد. مربعی به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر به مربعات کوچک‌تر به ابعاد ۰/۵ × ۰/۵ سانتی‌متر شبکه‌بندی و در زیر یک پتری دیش قرار داده شد. با استفاده از رابطه زیر درصد کلونیزه شدن ریشه محاسبه شد. این عمل برای هر تیمار در چهار بخش جداشده تکرار شد و میانگین اعداد حاصل، به‌عنوان درصد کلونیزاسیون در هر تیمار در نظر گرفته‌شد.

$$A = B/C \times 100 \quad (۱)$$

A: درصد کلونیزاسیون ریشه، B: مکان‌های تلاقی اندام‌های میکوریزا با شبکه، C: مکان‌های تلاقی ریشه با شبکه (قسمت‌های میکوریزایی و قسمت‌های غیرمایکوریزایی).

برای اندازه‌گیری پارامترهای فتوسنتزی و بیوشیمیایی، نمونه‌های برگ تازه (برگ سوم روی ساقه) بعد از ۶۰ روز از هر گلدان جمع‌آوری شد.

کلروفیل a و b وکارتنوئید

برای اندازه گیری مقدار کلروفیل از روش (Arnon, 1967) استفاده شد. ابتدا ۰/۱۲۵ گرم برگ تر گیاهی در هاون چینی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد کاملا کوبیده و سپس با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. به طور جداگانه مقدار جذب نور در طول موجهای ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کارتنوئید در عصاره سانتریفیوژ شده قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول های زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b وکارتنوئید برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد.

$$\text{Chl a} = \frac{(19.3\times A663 - 0.86\times A645)V}{100W} \quad (۲)$$

$$\text{Chl b} = \frac{(19.3\times A645 - 3.6\times A663)V}{100W} \quad (۳)$$

$$\text{Carotenoids} = \frac{100(A470) - 3.27(\text{mg chl.A}) - 104(\text{mg chl.B})}{227} \quad (۴)$$

V= حجم محلول صاف شده W=وزن تر نمونه بر حسب گرم

A= جذب نوردر طول موجهای ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

نشت الکترولیت

نشت الکترولیت (EL[1]) از برگ ها بر اساس روش کامبوس و همکاران تعیین شد (Campos *et al.*, 2003). به طور خلاصه، ۱۵ قطعه برگ تازه (تقریباً ۰/۵ سانتی متر مربع) در یک لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه قرار داده شد و هدایت الکتریکی اولیه در محلول (Li) پس از ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. سپس محتویات لوله آزمایش در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد و رسانایی الکتریکی نهایی (Lf) پس از سرد شدن اندازه گیری شد. درصد نشت الکترولیت (EL) به صورت زیر محاسبه شد.

[1] Electrical leakage

$$EL = (Li - L\ water) / (Lf - L\ water) \times 100 \quad (۵)$$

که در آن L water رسانایی (dS/m) آب دیونیزه مورد استفاده برای انجام آزمایش بود.

غلظت پرولین برگ

مقدار پرولین با استفاده از روش توصیف شده توسط لیشتاینر و همکاران اندازه گیری شد (Bates *et al*., 1973). برگ های تازه به وزن ۰/۱۲۵ گرم در ۴ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیک ۰/۰۳ درصد در هاون خرد و عصاره حاصل تا زمان سانتریفیوژ روی یخ قرار داده شد. نمونه ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و عصاره به دست آمده فیلتر شد. مخلوطی از ۲ میلی لیتر اسید استیک و ۲ میلی لیتر محلول اسید نین هیدرین به ۲ میلی لیتر عصاره صاف شده اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس به بستر یخ منتقل شد تا به دمای محیط برسد. پس از آن، ۴ میلی لیتر تولوئن به هر عصاره اضافه و تکان داده شد تا پرولین در تولوئن حل شود و لایه بالایی قرمز را تشکیل دهد. غلظت پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد.

اندازه گیری غلظت آنتوسیانین

۰/۱ گرم برگ تازه گیاه در هاون چینی به همراه ۱۰ میلی لیتر متانول اسید (متانول خالص به اسید کلریدریک غلیظ با نسبت حجمی به ترتیب ۹۹ به ۱) کاملا سائیده شد و بعد از انتقال عصاره به لوله آزمایش، به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و یخچال قرار گرفت. سپس بدون تکان خوردن محلول، قسمت رویی آن جدا و جذب نور در محلول رویی در طول موج ۵۱۲ نانو متر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. غلظت با استفاده از فرمول زیر و با در نظر گرفتن ضریب خاموشی ε= ۳۳۰۰۰ سانتی متر بر مول محاسبه شد (Wagner, 1979).

$$\mathbf{A = \varepsilon\ b\ c} \quad (۶)$$

A= جذب b= عرض سل (سانتی متر) C= غلظت محلول (مولار)

اندازه گیری فلاونوئیدها

۰/۱ گرم برگ تازه گیاه در هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر اتانول اسیدی (الکل اتیلیک و اسید استیک گلاسیال با نسبت حجمی به ترتیب ۹۹ به ۱) سابیده شد و پس از سانتریفیوژ عصاره با دور ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه، نمونه‌ها در حمام

آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. شدت جذب در طول موج ۳۳۰ نانو متر قرائت شد. در نهایت نتایج بر اساس غلطت گزارش شد (Krizek *et al*., 1998).

تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار JMP انجام شد. برای تجزیه و تحلیل تفاوت های معنی دار بین تیمارها از ANOVA سه طرفه استفاده شد. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون LSD در $p \leq ۰/۰۵$ مقایسه شد.

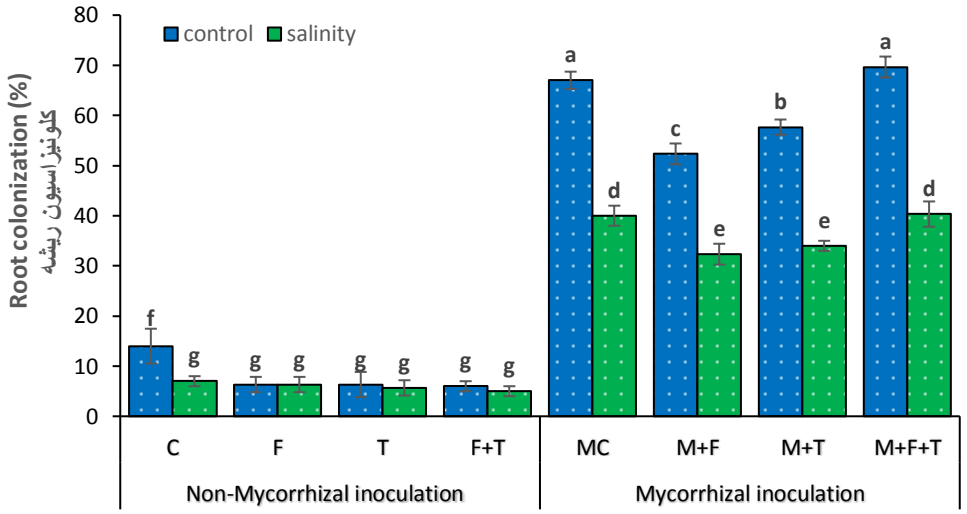
نتایج و بحث

کلونیزاسیون ریشه:

شکل ۱ اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی بر درصد کلونیزاسیون ریشه را نشان می‌دهد. درصد کلونیزاسیون ریشه در تیمارهای تلقیح شده با قارچ میکوریزا نشان دهنده موفقیت آمیز بودن تلقیح بود. با این حال شوری موجب کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه شد. میانگین درصد کلونیزاسیون ریشه در خاک غیر شور بین ۵۲/۳ تا ۶۹/۶ درصد و در خاک شور بین ۳۲/۳ تا ۴۰/۳ متغییر بود. در تیمارهای غیرمیکوریزی به دلیل شرایط غیر استریل در حین آماده سازی تیمارها و رشد گیاه، ۵ تا ۱۴ درصد کلونیزاسیون مشاهده شد (شکل ۱). شوری درصد کلونیزاسیون را در تیمارهای میکوریز کاهش داد. حیدری و پیرزاد (Heydari and Pirzad 2020) نیز کاهش کلونیزاسیون ریشه را تحت تنش شوری گزارش کردند. اثرات مخرب تنش شوری بر جوانه زنی اسپور خاک، توسعه هیف و تکثیر در نهایت می تواند منجر به کاهش کلونیزاسیون میکوریزا شود. کاهش درصد کلونیزاسیون تحت تنش شوری ممکن است به طور غیرمستقیم ناشی از سرکوب رشد آربوسکول ها و کاهش در دسترس بودن مواد فتوسنتزی باشد (Bothe, 2012). نشان داده شده است که شوری رشد هیف را مهار می کند و باعث کاهش سرعت گسترش شبکه هیف میکوریزا می شود (Abdel Latef and Chaoxing 2014). تاخیر در جوانه زنی اسپور در مواجهه با NaCl نیز توسط حاجی بلند گزارش شده است (Hajiboland, 2013).

تلقیح همزمان قارچ میکوریزا با هر یک از باکتری های *اسیدی تیوباسیلوس* باعث کاهش درصد کلونیزاسیون در هر دو خاک شور و غیر شور شد، تلقیح همزمان قارچ میکوریزا با هر دو باکتری تأثیر معنی داری بر درصد کلونیزاسیون

ریشه نداشت (شکل ۱). اعتقاد بر این است که MHB می تواند با تولید هورمون های گیاهی بر استقرار AMF، جوانه زنی هاگ و رشد هیف تأثیر بگذارد. نشان داده شده است که این فیتوهورمون ها با افزایش تولید ترشحات ریشه و فعال کردن رشد هیف، سرعت کلونیزاسیون ریشه را افزایش می دهند (Barea *et al*., 2005) . حیدری و پیرزاد (Heydari and Pirzad 2020) نشان دادند که تلقیح *تیوباسیلوس* و AMF تأثیر مثبتی بر کلونیزاسیون ریشه داشت. اما در این مطالعه تلقیح قارچ میکوریزا با باکتریهای *اسیدی تیوباسیلوس* در خاک شور باعث کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه شد. این کاهش درصد کلونیزاسیون ممکن است به دلیل افزایش رشد ریشه در این تیمارها باشد (نتایج گزارش نشده است) که در نتیجه درصد کلونیزاسیون در واحد سطح ریشه را کاهش داده است.



شکل ۱. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر درصد کلونیزاسیون ریشه بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F))

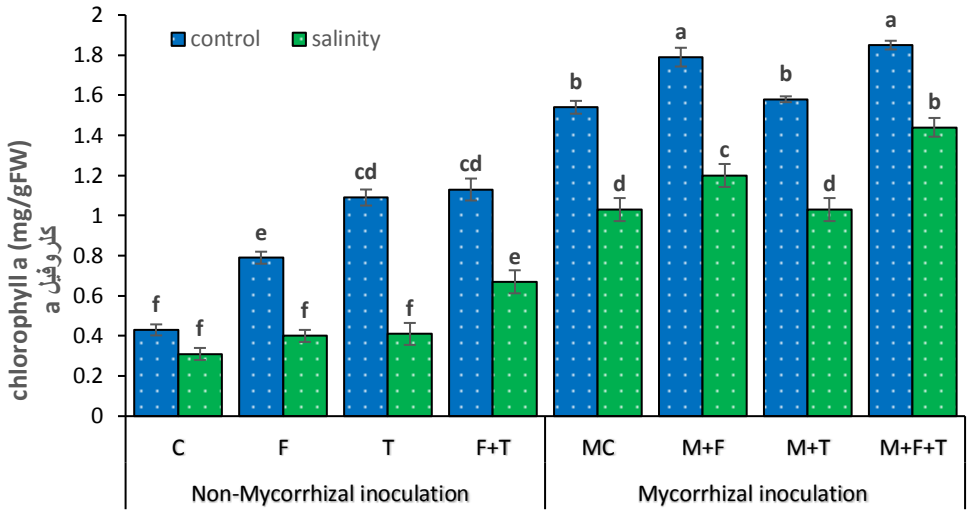
Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on presentage of root colonization (non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inocoulation of both bacteria species (T+F))

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$)

Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

کلروفیل a: شوری اثر معنی داری بر غلظت کلروفیل a داشت، بطوری که در همه تیمارهای زیستی غلظت کلروفیل a در گیاهان رشد یافته در خاک شور به طور معنی داری کمتر از گیاهان کشت شده در خاک غیر شور بود. در تیمار

شاهد بدون تلقیح (C)، شوری غلظت کلروفیل a را ۲۷/۹ درصد کاهش داد هرچند که این کاهش نسبت به خاک شاهد معنی دار نبود. در خاک شاهد در همه تیمارهای ذرت همزیست با قارچ میکوریزا غلظت کلروفیل a به طور معنی داری بیشتر از خاک تلقیح نشده بود. تلقیح با قارچ میکوریزا در خاک شور و شاهد (C)موجب افزایش معنی دار کلروفیل a شد. درمقایسه با خاک شاهد (C) وشور تلقیح با قارچ میکوریزا به تنهایی (M) در خاک شاهد ((C و شور به ترتیب موجب افزایش ۳/۵۸ و ۳/۳۲ برابری کلروفیل a شد. در خاک شور، تلقیح خاک با باکتری‌های *اسیدی تیوباسیلوس* (تیمارهای F و T) اثر معنی داری بر کلروفیل a نداشتند. کاربرد باکتری‌های *اسیدی تیوباسیلوس* در خاک شاهد میکوریزی نشده اثر مثبت معنی دار بر مقدار کلروفیل a داشت. در حالی که در خاک شور غیر میکوریزی تنها اثر کاربرد همزمان دو باکتری (F+T) بر مقدار کلروفیل a معنی دار بود، با توجه به این که باکتریهای تیوباسیلوس با اکسیداسیون گوگرد و تبدیل آن به سولفات موجب افزایش دسترسی به گوگرد و سایر عناصر غذای وابسته به pH مانند فسفر و آهن می شوند می توانند بر تشکیل کلروفیل موثر باشند. در تیمارهای میکوریزی در هر دو خاک شور و شاهد اثر تلقیح با باکتری *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (M+F) و کاربرد همزمان دو گونه باکتری *اسیدی تیوباسیلوس* (M+F+T) بر کلروفیل a مثبت و معنی دار بود. بیشترین مقدار کلروفیل a در هر دو خاک شاهد ((Cو شور به ترتیب با ۲۰/۱ و ۳۹/۸۰ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد (M) در تیمار تلقیح شده با قارچ میکوریزا و هردو گونه باکتری (M+F+T) مشاهده شد (شکل ۲). نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش غلظت کلروفیل a در گیاه شد و اثر قارچ میکوریزا بر این افزایش معنی دار بود. این کاهش ناشی از تنش شوری بر روی اجزای رنگدانه های فتوسنتزی را می توان به تأثیر منفی نمک بر بیوسنتز و یا افزایش تخریب آنها (Kumar, 2012) یا آسیب جدی به تیلاکوئیدهای کلروپلاست (Camejo *et al*., 2006) نسبت داد. احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (متلاشی کننده ساختار کلروپلاست) در اثر افزایش غلظت یونهای سدیم و کلر مقدار کلروفیل کاهش می یابد (Jaleel *et al*., 2007). افزایش محتوای کلروفیل به دنبال کاربرد *F. Mosseae* در گیاهان تحت تنش شوری بوسیله ژانگ و همکاران نیز گزارش شده است (Zhang *et al*., 2018).



شکل ۲. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر کلروفیل a بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F))

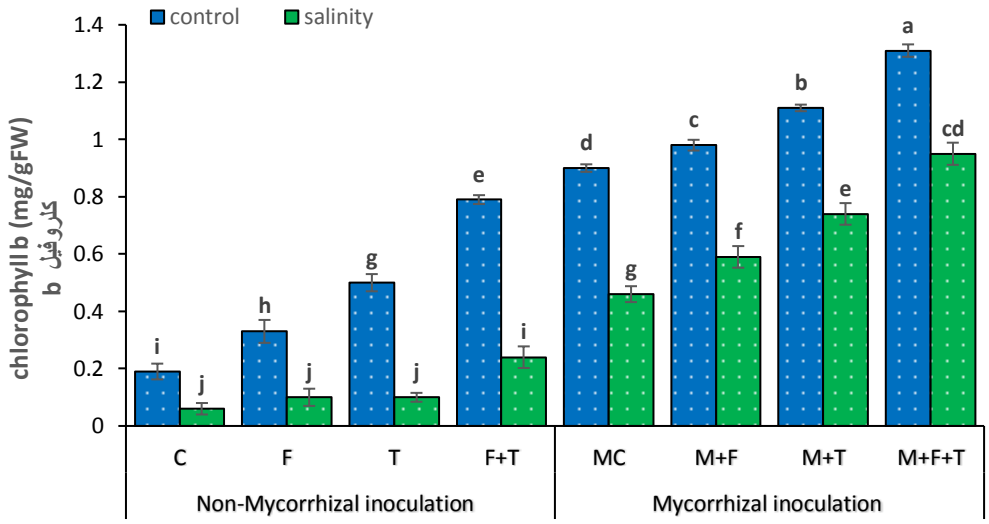
Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on chlorophyll a (non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inoculation of both bacteria species (T+F))

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$)

Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

کلروفیل b: شوری اثر معنی داری بر غلظت کلروفیل b برگ داشت، بطوری که غلظت کلروفیل b در خاک شور به طور معنی داری کمتر از خاک شاهد (C)در تمامی تیمارها بود. در تیمار شاهد (C)، شوری خاک غلظت کلروفیل b برگ را ۶۸/۴۲ درصد کاهش داد؛ به عبارت دیگر تاثیر پذیری کلروفیل b از شوری خاک بیشتر از کلروفیل a بود. در خاک شاهد ((C، همه تیمارهای بیولوژیکی یعنی تلقیح با باکتری های *اسیدی تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزا در مقایسه با تیمار شاهد ((M تأثیر معنی‌داری بر غلظت کلروفیل b داشتند. در خاک شور، کلروفیل b به طور قابل توجهی با تلقیح قارچ میکوریز افزایش یافت. در تیمارهای غیر میکوریزی در خاک شور، تنها اثر تلقیح همزمان با هر دو گونه باکتری (F+T) بر کلروفیل b معنی دار بود و کاربرد هر یک از گونه های باکتری به تنهایی (F و T) تاثیر معنی دار بر کلروفیل b نداشتند. در حالی که در خاک شاهد ((C، تلقیح باکتریایی در همه تیمارها اثر مثبت و معنی در بر کلروفیل b در مقایسه با عدم تلقیح داشت. بیشترین افزایش غلظت کلروفیل b در تیمارهای میکوریزی شده و در تلقیح همزمان با دو گونه باکتری (M+F+T) اندازه گیری شد. افزایش کلروفیل b در این تیمار در دو خاک شاهد

((C و شور در مقایسه با شاهد میکوریزی شده به ترتیب ۱/۴۵ و ۲/۰۶ برابر و در مقایسه با شاهد غیر میکوریزی ۶/۸۹ و ۱۵/۸۳ برابر بود (شکل ۳). به طور کلی نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش و تلقیح قارچ میکوریزا موجب افزایش غلظت کلروفیل b در گیاه شد تلقیح همزمان باکتریهای *اسیدی تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزا بر افزایش غلظت کلروفیل b تأثیر مثبت داشت. نتایج نشان داد مقدار کلروفیل b بیشتر از کلروفیل a تحت تاثیر شوری کاهش یافت. کاهش کلروفیل b تحت تنش شوری را می‌توان به تشکیل ROS و در نتیجه مهار نوری و همچنین به کاهش گسترش سطح برگ و از این رو به جذب کمتر نور نسبت داد (Mostafa Heidari, 2011). بسیاری از دانشمندان نقش همزیستی میکوریزا را در بهبود کل رنگدانه های کلروفیلی گزارش کردند (Augé 2001).



شکل ۳. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر کلروفیل b بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F))

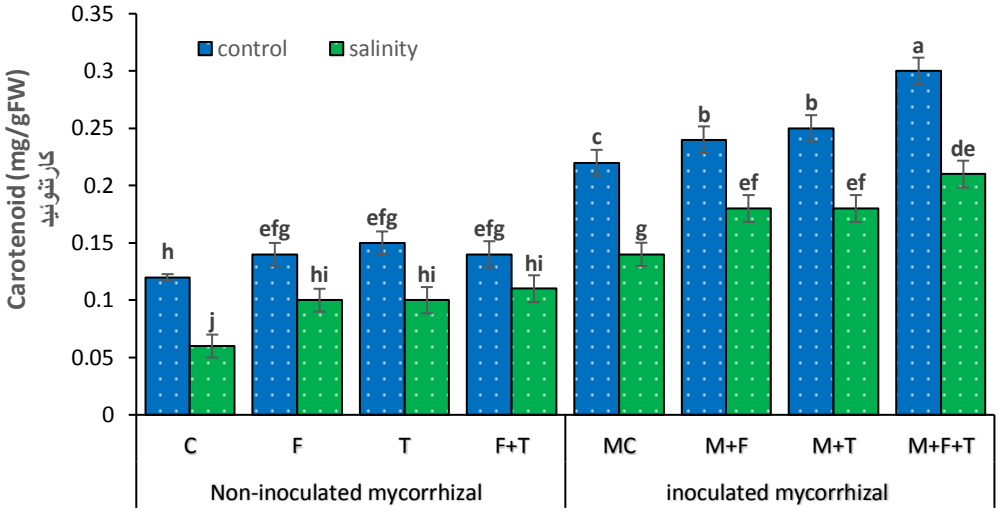
Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on chlorophyll b (non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inoculation of both bacteria species (T+F))

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$)

Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

کارتنوئید برگ گیاه: شوری اثر معنی داری برمحتوای کارتنوئید برگ داشت، بطوری که محتوای کارتنوئید برگ در خاک شور به طور معنی داری کمتر از خاک شاهد ((Cدر تمامی تیمارها بود. در تیمار شاهد (C)، شوری خاک

محتوای کارتنوئید برگ را ۵۰ درصد کاهش داد. در هر دو خاک شور و شاهد (C) حضور قارچ میکوریزا و باکتری موجب افزایش معنی دار محتوای کارتنوئید برگ در مقایسه به شاهد (C) شدند. تلقیح با قارچ میکوریزا اثر قابل توجه و معنی داری بر افزایش کارتنوئید در هر دو خاک شور و شاهد داشت و محتوای کارتنوئید در همه تیمارهای میکوریزی بیشتر از تیمارهای غیر میکوریزی بود. در تیمارهای تلقیح نشده با قارچ میکوریزا اثر نوع *باکتری اسیدی تیوباسیلوس* و کاربرد همزمان آنها بر مقدار کارتنوئید در هر دو خاک شور و شاهد معنی دار نبود. در خاک شور تلقیح شده با قارچ میکوریزا نیز نوع باکتری و کاربرد همزمان آنها از نظر تاثیر بر مقدار کارتنوئید تفاوت معنی دار با هم نداشتند. در حالی که در خاک شاهد تلقیح شده با قارچ میکوریزا کاربرد همزمان دو باکتری (M+F+T) موجب افزایش معنی دار مقدار کارتنوئید در مقایسه با کاربرد هر یک از باکتری‌های *اسیدی تیوباسیلوس* به تنهایی شد. بیشترین مقدار کارتنوئید در این تیمار اندازه گیری شد (شکل ۴). نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش محتوای کارتنوئید در گیاه شد و اثر قارچ میکوریز بر این افزایش معنی دار بود. تلقیح همزمان باکتری *اسیدی تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزا باعث افزایش غلظت کارتنوئید شد. کاروتنوئیدها با حذف رادیکال‌های اکسیژن به دفاع آنتی اکسیدانی در سلول‌های گیاهی کمک می‌کنند و در اتلاف انرژی اضافی فتوسیستم‌ها در حضور عوامل استرس‌زا نقش دارند (Singh and Thakur, 2018). تجمع کاروتنوئید در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا تحت تنش شوری در شیرین بیان *Glycyrrhiza glabra*) وگندم (*Triticum aestivum*) توسط (Amanifar *et al*., 2019; Eroğlu *et al*., 2020) گزارش شده است.



شکل ۴. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر کارتنوئید بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F))

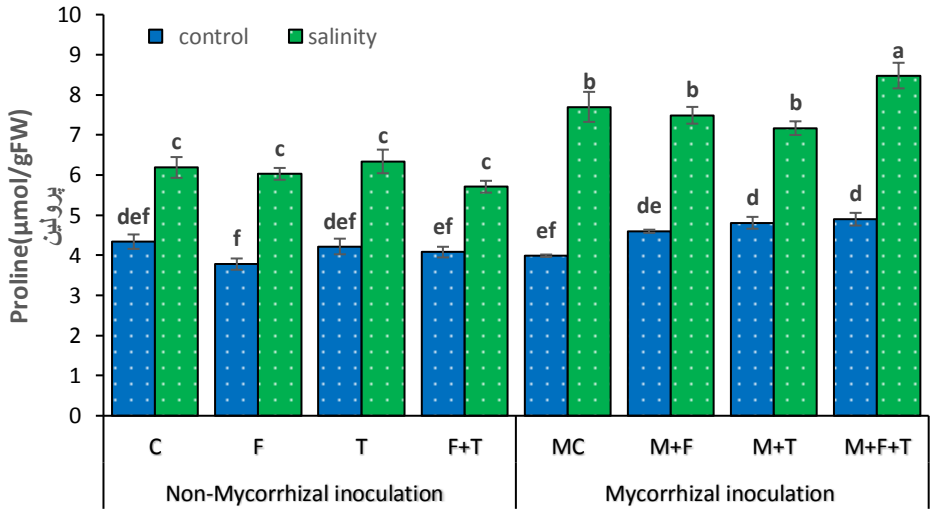
Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on Carotenoid non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inocoulation of both bacteria species (T+F)

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$).

Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

پرولین برگ گیاه: شوری اثر معنی داری بر غلظت پرولین برگ داشت، بطوری که غلظت پرولین برگ در خاک شور به طور معنی داری بیشتر از خاک غیر شور در تمامی تیمارها بود. در تیمار شاهد (C)، شوری خاک غلظت پرولین برگ را ۴۲/۶۲ درصد افزایش داد. در خاک شاهد، تلقیح با باکتری های *اسیدی تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزا در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر قابل توجهی بر غلظت پرولین برگ نداشت. در خاک شور سطح پرولین در برگ گیاه به طور قابل توجهی با تلقیح قارچ میکوریزا افزایش یافت. در تیمارهای میکوریزا در خاک شور، اثر تلقیح باکتری تنها در کاربرد همزمان هر دو گونه باکتری (M+F+T) معنی دار بود و بیشترین افزایش غلظت پرولین با ۱۰/۱۲ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد میکوریزی و ۳۶/۹۹ درصد نسبت به تیمار شاهد غیر میکوریزی در این تیمار اندازه گیری شد (شکل ۵). به طور کلی نتایج نشان داد که تنش شوری باعث افزایش غلظت پرولین در گیاه شد و اثر قارچ میکوریزا بر این افزایش معنی دار بود. تلقیح همزمان هر دو گونه باکتری *اسیدی تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزا بر افزایش غلظت پرولین تأثیر مثبت داشت. در شرایط تنش، گیاهان ممکن است به دلیل فعال شدن ژن های تنش، سطوح پرولین برگ

را افزایش دهند (Bharti and Barnawal, 2019). تجمع پرولین در اکثر گونه های گیاهی تحت تنش شوری گزارش شده است (Hameed *et al*., 2014). پرولین به حفظ رطوبت کمک می کند و تنظیم فشار اسمزی اثرات مخرب تنش شوری را کاهش می دهد (Lei *et al*., 2016). پرولین نقش مهمی در حفظ پایداری پروتئین ها و غشاهای سلولی در محیط های شور دارد. برخی مطالعات گزارش کردند که پرولین به جای اینکه صرفاً به عنوان تنظیم کننده اسمزی مطرح باشد، می تواند به عنوان یک حسگر تنش ناشی از آسیب نمکی عمل کند (Abdel Latef *et al*., 2009). در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی، چندین مطالعه گزارش کرده اند که گیاهان میکوریزی سطوح بالاتری از پرولین را نشان دادند (Heydari and Pirzad 2020; Liu *et al*., 2022). تجمع پرولین در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزی به عنوان یک شاخص اثربخشی میکوریزا در نظر گرفته می شود، زیرا یک پاسخ متابولیکی خاص و یکی از مواد سازگار مهم در گیاهانی است که تحت تنش شوری رشد می کنند (Santander *et al*., 2019).



شکل ۵. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر پرولین بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F)

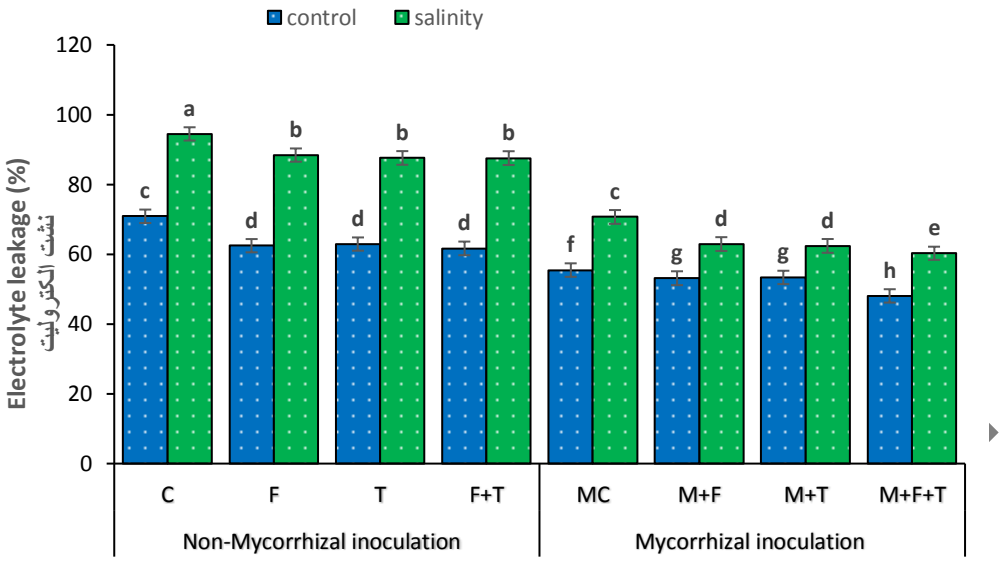
Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on proline non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inocoulation of both bacteria species (T+F)

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$).

Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

نشت الکترولیت: تنش شوری باعث افزایش قابل توجه و معنی داری نشت الکترولیت در مقایسه با گیاهان بدون تنش شد (شکل ۵). در تیمار شاهد(C) ، شوری خاک نشت الکترولیت برگ را ۳۳/۳۰ درصد افزایش داد. نشت الکترولیت در همه تیمارهای بیولوژیکی (باکتریایی و میکوریزی) در مقایسه با شاهد بدون تلقیح (C) در هر دو خاک شور و شاهد کاهش معنی دار نشان داد. در هر دو خاک شور و شاهد تلقیح نشده با قارچ میکوریزا اثر تیمارهای باکتریایی در مقایسه با شاهد (C) بر کاهش نشت الکترولیت معنی دار و مثبت بود ولی بین این تیمارها تفاوت معنی دار وجود نداشت. در خاک‌های تلقیح شده با قارچ میکوریزا نیز اثر تلقح باکتریایی در مقایسه با تیمار تلقیح نشده (M) مثبت و معنی دار بود. بیشترین کاهش معنی دار در نشت الکترولیت در تلقیح همزمان قارچ میکوریزا با هر دو گونه باکتری مشاهده شد که نسبت به کاربرد جداگانه هر یک از گونه های باکتری (تیمارهای M+F و M+T) معنی دار بود (شکل ۶). نشت الکترولیت (EL) القا شده با نمک به عنوان یک مشخصه پاسخ به تنش در سلول های دست نخورده گیاهی مطرح است. نشت الکترولیت در گونه های مختلف گیاهی، اندام ها و انواع سلول هایی که تحت تنش شوری، گرما و خشکی رشد کرده اند گزارش شده است (Demidchik *et al*., 2014). مشخص شده است که تنش شوری از طریق جابجایی Ca^{+2} مرتبط با غشای سلولی توسط Na^{+} از پلاسمای سلول ریشه، جریان K^{+} را القا می‌کند که منجر به آسیب به نفوذپذیری غشاء و EL بالاتر می‌شود (Demidchik *et al*., 2014). نشان داده شده است که گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش نمک تلقیح شده با قارچ میکوریزا، نفوذپذیری غشایی کمتری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی داشتند (He *et al*., 2007). گزارش شده است که باکتری مفید مقاوم به نمک *Pseudomonas sp.* اثرات نامطلوب تنش شوری را با کاهش EL از طریق تولید فیتوهورمون‌ها (ایندول استیک اسید و سیتوکینین) و بهبود پایداری غشاء کاهش داد (Fazal and Bano, 2016).

نسخه پیش انتشار



شکل ٦. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر درصد نشت الکترولیت بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F))

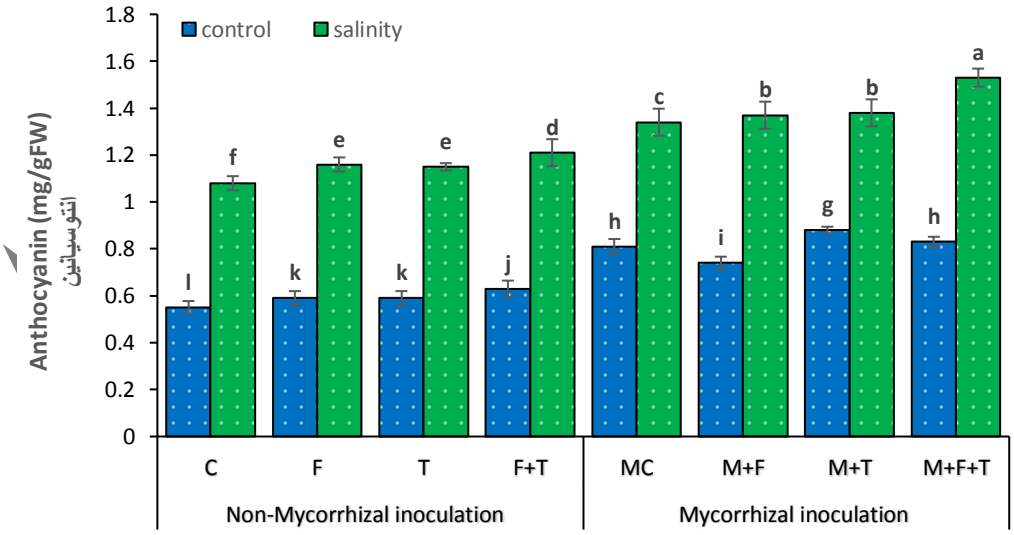
Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on Electrolyte leakage Non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inocoulation of both bacteria species (T+F)

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$).

Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

آنتوسیانین برگ: آنتوسیانین ها ترکیبات طبیعی هستند که در پاسخ به تنش های محیطی مختلف (اعم از غیر زنده و زنده مانند دماهای پایین، نمک و خشکی، کمبود تغذیه ای، آفات و بیماریها و فلزات سنگین) سنتز می شوند و رنگ های مختلفی (مانند بنفش، قرمز و آبی) به بافت ها و اندام های گیاهی می دهند (Kaur *et al*., 2023). آنتوسیانین به عنوان مولکول‌های آنتی اکسیدانی از گیاهان در برابر ROS محافظت می‌کنند (Sarker *et al*., 2019) . نتایج نشان داد که محتوای آنتوسیانین در نتیجه تنش شوری در همه تیمارهای آزمایش در مقایسه با خاک شاهد (C) افزایش معنی دار داشت. در تیمار شاهد (C)، شوری خاک غلظت آنتوسیانین برگ را ۹۶/۳۶ درصد افزایش داد. در عدم کاربرد قارچ میکوریزا در هر دو خاک شور و شاهد اثر تلقیح باکتریایی بر افزایش غلظت آنتوسیانین مثبت و معنی دار بود و بیشترین تاثیر بر افزایش غلظت آنتوسیانین در تلقیح همزمان هر دو گونه باکتری مشاهده شد. تلقیح با قارچ میکوریزا در هر دو خاک شور و شاهد موجب افزایش معنی دار غلظت آنتوسیانین شد. کاربرد *باکتریهای اسیدی تیوباسیلوس* در تیمارهای تلقیح شده با قارچ میکوریزا در خاک شاهد تاثیر مشخصی بر غلظت آنتوسیانین نداشت در

حالی که در خاک شور موجب افزایش غلظت آنتوسیانین شد. بیشترین غلظت آنتوسیانین در تلقیح همزمان قارچ میکوریزا و هر دو گونه باکتری در خاک شور اندازه گیری شد (شکل۷). در تنش شوری ظرفیت سیستم آنتی اکسیدانی برای کاهش تولید ROS ناشی از تنش ارتقا یافته و محتوای پرولین، فنل و آنتوسیانین در تیمارهای تحت تنش شوری به طور قابل توجهی افزایش می یابد (Jahantigh *et al*., 2016). در مطالعه ای گزارش شده است که مقدار آنتوسیانین در زعفران با افزایش سطح شوری در گیاهان تلقیح شده توسط با قارچ میکوریزا افزایش یافت. بیشترین مقدار مربوط به تیمار AM^{+} تحت تنش ۱۲۵ میلی‌مولار نمک بود که به‌طور معنی‌داری بیشتر از تمام سطوح تنش بود (Hamidian *et al*., 2023). به طور کلی تنش شوری تولید متابولیت های ثانویه مانند فنل ها و آنتوسیانین ها را با تحریک مسیرهای فنیل پروپانوئید افزایش می دهد (Chon *et al*., 2012). تاثیر مثبت کاربرد باکتری *rhizobacteria* (PGPR)در کشت توت فرنگی در مواجهه با اثرات منفی تنش شوری با افزایش سطح پرولین و آنتوسیانین بوسیله (Koç *et al*., 2016) گزارش شده است.



شکل ۷. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر آنتوسیانین بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F))

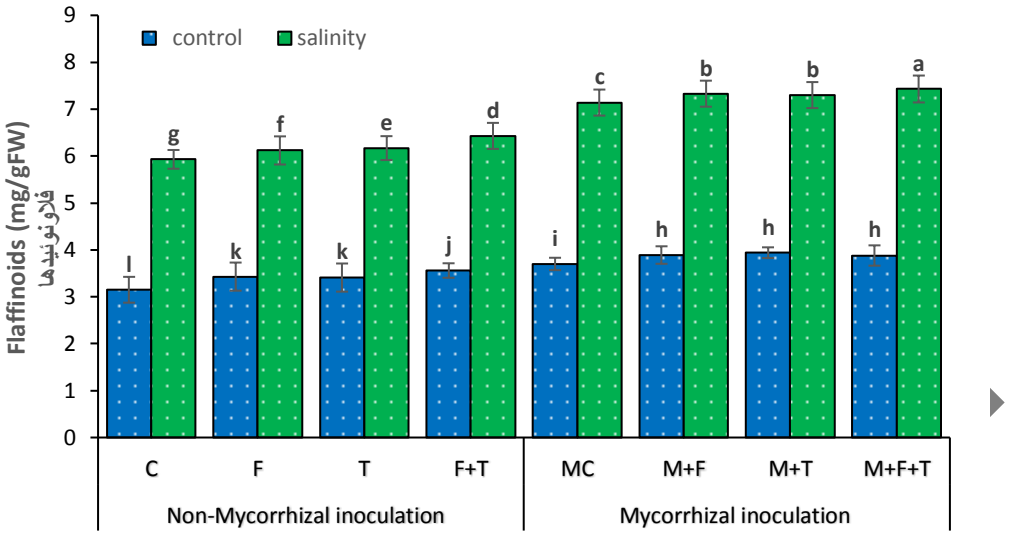
Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on Anthocyanin Non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inoculation of both bacteria species (T+F)

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$).

Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

فلاونوئیدها برگ گیاه: فلاونوئیدها گروهی از متابولیت های ثانویه پلی فنلی گیاه مشتق از مسیر فنیل پروپانوئید می باشند که نقش مهمی را در پاسخ های گیاه به شرایط محیطی به خصوص تنش های زیستی و غیرزیستی بازی می کنند. نتایج نشان داد که محتوای فلاونوئیدها در نتیجه تنش شوری در همه تیمارهای آزمایشی به طور معنی داری افزایش یافت. در تیمار شاهد (C)، شوری خاک غلظت فلاونوئیدها برگ را ۱/۹ برابر افزایش داد. در تیمارهای غیر میکوریزی تلقیح باکتریایی در هر دو خاک شور و شاهد غلظت فلاونوئیدها را به طور معنی داری افزایش داد و تلقیح همزمان با هر دو گونه باکتری حداکثر افزایش را در غلظت فلاونوئیدها موجب شد. در خاک شاهد بین کاربرد باکتری‌های *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* و *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* تفاوت معنی داری مشاهده نشد در حالی که در خاک شور اثر باکتری *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* بیشتر از باکتری *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* بود. تلقیح با قارچ میکوریزا موجب افزایش معنی دار غلظت فلاونوئیدها در همه تیمارها شد. در تیمارهای میکوریزی نیز تلقیح باکتریایی اثر مثبت و معنی دار بر افزایش غلظت فلاونوئیدها داشت. از این نظر در خاک شاهد تیمارهای باکتریایی تفاوت معنی دار با هم نداشتند و در خاک شور بیشترین اثر در تیمار کاربرد همزمان دو باکتری مشاهده شد (شکل ۸). این یافته ها نشان می دهد که باکتری‌های *اسیدی تیوباسیلوس* می‌تواند به عنوان فعال کننده سنتز متابولیت های ثانویه (فلاونوئیدها) در نظر گرفته شود.

سطوح بالاتر فلاونوئید می تواند نشان دهنده یک مکانیسم دفاعی در برابر تنش شوری باشد (Geetha *et al*., 2003). به خوبی مشخص شده است که وقتی گیاهان در وضعیت سالم هستند، محتوای کلروفیل آنها زیاد است و پلی فنول ها (فلاونوئیدها) نسبتا کمی در این زمان تولید می شوند. هنگامی که گیاهان در معرض شوری قرار می گیرند، سنتز کلروفیل مهار می شود و تعداد زیادی پلی فنل (مانند فلاونوئیدها، فنولیک اسید و پلی فنولیک امید) تولید می شود که باعث عدم تعادل مواد مغذی در گیاهان می شود (Chen *et al*., 2021a).



شکل ۸. برهمکنش شوری، تلقیح میکوریزی (M) و نوع تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر فلاونوئیدها بدون تلقیح باکتری (C)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* (T)، تلقیح با *اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس* (F)، تلقیح همزمان دو گونه باکتری (T+F))

Figure 1. Interaction of salinity, mycorrhizal inoculation and bacteria species on Flaffinoids
Non bacteria inoculation (C), inoculation with *Acidithiobacillous thiooxidans* (T), inoculation with *Acidithiobacillous ferrooxidans* (F) and co-inocoulation of both bacteria species (T+F)
حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P < ۰/۰۵$).
Means with the same letters are not significantly different at 5% probability

نتیجه گیری کلی

نتایج این تحقیق نیز نشان دهنده اثر بارز و مشخص قارچ میکوریزا بر افزایش کلروفیل و تولید متابولیت‌های موثر بر افزایش تحمل گیاه در برابر تنش شوری بود. علاوه بر این نتایج نشان داد که اگرچه کاربرد هر یک از گونه های *باکتری اسیدی تیوباسیلوس فرواکسیدانس واسیدی تیوباسیلوس تیواکسیدانس* به تنهایی بر پارامترهای مورد اندازه گیری در خاک شور و شاهد موثر بود، تلقیح توام هر دو گونه باکتری‌های *اسیدی تیوباسیلوس* و قارچ میکوریزا بیشترین تاثیر را بر افزایش کلروفیل، افزایش تولید پرولین، آنتوسیانین ها و فلاونوئیدها و کاهش نشت الکترولیت و در نتیجه افزایش تحمل به تنش شوری داشت؛ به عبارت دیگر این باکتری‌ها را می‌توان به عنوان باکتری‌های همیار میکوریزا در نظر گرفت که فعالیت آنها می تواند عملکرد قارچ میکوریزا را بهبود بخشد. از طرف دیگر همزیستی قارچ میکوریزا ممکن است با تغییر شرایط خاک و محیط پیرامون ریشه، بویژه احتمالا کاهش pH کارایی این باکتری‌ها را افزایش داده باشد. با این حال، آزمایش های بیشتر در محیط های گلخانه ای و مزرعه با سایر گونه های گیاهی برای تأیید این یافته ها ضروری است.

منابع

Abbas A, Khan S, Hussain N, et al (2013) Characterizing soil salinity in irrigated agriculture using a remote sensing approach. Phys Chem Earth 55–57:43–52. https://doi.org/10.1016/j.pce.2010.12.004

Abdel Latef AA, Shaddad MAK, Ismail AM, Abu Alhmad MFA (2009) Benzyladenine can alleviate saline injury of two roselle (Hibiscus sabdariffa) Cultivars via equilibration of cytosolutes including anthocyanins. Int J Agric Biol 11:151–157

Abdel Latef AAH, Chaoxing H (2014) Does Inoculation with Glomus mosseae Improve Salt Tolerance in Pepper Plants? J Plant Growth Regul 33:644–653. https://doi.org/10.1007/s00344-014-9414-4

Ai Y, Jane JL (2016) Macronutrients in Corn and Human Nutrition. Compr Rev Food Sci Food Saf 15:581–598. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12192

Amanifar S, Khodabandeloo M, Mohseni Fard E, et al (2019) Alleviation of salt stress and changes in glycyrrhizin accumulation by arbuscular mycorrhiza in liquorice (Glycyrrhiza glabra) grown under salinity stress. Environ Exp Bot 160:25–34. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.01.001

Armada E, Probanza A, Roldán A, Azcón R (2016) Native plant growth promoting bacteria Bacillus thuringiensis and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in Lavandula dentata plants. J Plant Physiol 192:1–12. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.007

Arnon AN (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron J 23:112–121

Asad SQ, Tesfaye E, Melese M (2018) Prospects of alternative copping systems for salt-affected soils in Ethiopia. J Soil Sci Environ Manag 9:98–107. https://doi.org/10.5897/jssem2018.0686

Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11:3–42. https://doi.org/10.1007/s005720100097

Barea J-M, Pozo MJ, Azcon R, Azcon-Aguilar C (2005) Microbial co-operation in the rhizosphere. J Exp Bot 56:1761–1778

Barin M, ALI AN, Samadi A (2006) Effects of NaCl-induced and salts mixture salinity on leaf proline and growth of tomato in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi

Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil 39:205–207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Bharti N, Barnawal D (2019) Amelioration of Salinity Stress by PGPR. In: PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture. Elsevier, pp 85–106

Bothe H (2012) Arbuscular mycorrhiza and salt tolerance of plants. Symbiosis 58:7–16. https://doi.org/10.1007/s13199-012-0196-9

Bourles A, Guentas L, Charvis C, et al (2020) Co-inoculation with a bacterium and arbuscular

mycorrhizal fungi improves root colonization, plant mineral nutrition, and plant growth of a Cyperaceae plant in an ultramafic soil. Mycorrhiza 30:121–131. https://doi.org/10.1007/s00572-019-00929-8

Camejo D, Jiménez A, Alarcón JJ, et al (2006) Changes in photosynthetic parameters and antioxidant activities following heat-shock treatment in tomato plants. Funct Plant Biol 33:177–187. https://doi.org/10.1071/FP05067

Campos PS, Quartin V, Ramalho JC, Nunes MA (2003) Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. plants. J Plant Physiol 160:283–292. https://doi.org/10.1078/0176-1617-00833

Carter MR, Gregorich EG (2007) Soil sampling and methods of analysis. CRC press

Chen M, Wang Y, Chen G, et al (2021a) Effects of nitrogen fertilizer levels on nitrogen balance index and yield of hybrid super rice. Soils 53:700–706

Chen M, Zhang S, Liu L, et al (2021b) Combined organic amendments and mineral fertilizer application increase rice yield by improving soil structure, P availability and root growth in saline-alkaline soil. Soil Tillage Res 212:105060. https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105060

Chon SU, Boo HO, Heo BG, Gorinstein S (2012) Anthocyanin content and the activities of polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in lettuce cultivars. Int J Food Sci Nutr 63:45–48. https://doi.org/10.3109/09637486.2011.595704

Chu TN, Tran BTH, Van Bui L, Hoang MTT (2019) Plant growth-promoting rhizobacterium Pseudomonas PS01 induces salt tolerance in Arabidopsis thaliana. BMC Res Notes 12:1–7. https://doi.org/10.1186/s13104-019-4046-1

Csonka LN (1989) Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. Microbiol Rev 53:121–147. https://doi.org/10.1128/mmbr.53.1.121-147.1989

Cui Q, Xia J, Yang H, et al (2021) Biochar and effective microorganisms promote Sesbania cannabina growth and soil quality in the coastal saline-alkali soil of the Yellow River Delta, China. Sci Total Environ 756:143801. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143801

Daliran T, Halajnia A, Lakzian A (2022) Thiobacillus Bacteria-Enhanced Iron Biofortification of Soybean in a Calcareous Soil Enriched with Ferrous Sulfate, Mill Scale, and Pyrite. J Soil Sci Plant Nutr 22:2221–2234. https://doi.org/10.1007/s42729-022-00804-0

Demidchik V, Straltsova D, Medvedev SS, et al (2014) Stress-induced electrolyte leakage: The role of K+-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. J Exp Bot 65:1259–1270. https://doi.org/10.1093/jxb/eru004

Duc NH, Csintalan Z, Posta K (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants. Plant Physiol Biochem 132:297–307. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.011

Eren E (2022) The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs) on Yield and Some Quality Parameters during Shelf Life in White Button Mushroom (Agaricus bisporus L.). J. Fungi 8

Eroğlu G, Cabral C, Ravnskov S, et al (2020) Arbuscular mycorrhiza influences carbon-use efficiency and grain yield of wheat grown under pre- and post-anthesis salinity stress. Plant Biol 22:863–871. https://doi.org/10.1111/plb.13123

FAO F (1947) Food and agriculture organization of the United Nations. Int Organ 1:350–353. https://doi.org/10.1017/S0020818300006160

Fazal A, Bano A (2016) Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), Biochar, and Chemical Fertilizer under Salinity Stress. Commun Soil Sci Plant Anal 47:1985–1993. https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1216562

Frey-Klett P, Garbaye J, Tarkka M (2007) The mycorrhiza helper bacteria revisited. New Phytol 176:22–36. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02191.x

GARBAYE J (1994) Tansley Review No. 76 Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. New Phytol 128:197–210. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb04003.x

Garcia Junior O (1992) O enxofre e suas transformações microbianas. Microbiol do solo 319–329

Geetha S, Ram MS, Mongia SS, et al (2003) Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (Hippophae rhamnoides L.) on chromium(VI) induced oxidative stress in albino rats. J Ethnopharmacol 87:247–251. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00154-5

GIOVANNETTI M, MOSSE B (1980) an Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. New Phytol 84:489–500. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x

Hajiboland R (2013) Role of arbuscular mycorrhiza in amelioration of salinity. Salt Stress Plants Signalling, Omi Adapt 9781461461:301–354. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6108-1_13

Hameed A, Dilfuza E, Abd-Allah EF, et al (2014) Salinity stress and arbuscular mycorrhizal symbiosis in plants. Beyond Danc Floor 139–159. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9466-9_7

Hamidian M, Movahhedi-Dehnavi M, Sayyed RZ, et al (2023) Author Correction: Co-application of Mycorrhiza and methyl jasmonate regulates morpho-physiological and antioxidant responses of Crocus sativus (Saffron) under salinity stress conditions (Scientific Reports, (2023), 13, 1, (7378), 10.1038/s41598-023-34359. Sci Rep 13:7378. https://doi.org/10.1038/s41598-023-35118-3

He ZQ, He CX, Zhang Z Bin, et al (2007) Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. Colloids Surfaces B Biointerfaces 59:128–133. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.04.023

Heydari S, Pirzad A (2021a) Improvement of the yield-related response of mycorrhized Lallemantia iberica to salinity through sulfur-oxidizing bacteria. J Sci Food Agric 101:3758–3766. https://doi.org/10.1002/jsfa.11007

Heydari S, Pirzad A (2021b) Efficiency of Funneliformis mosseae and Thiobacillus sp. on the

secondary metabolites (essential oil, seed oil and mucilage) of Lallemantia iberica under salinity stress. J Hortic Sci Biotechnol 96:249–259. https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1833764

Heydari S, Pirzad A (2020) Mycorrhizal Fungi and Thiobacillus Co-inoculation Improve the Physiological Indices of Lallemantia iberica Under Salinity Stress. Curr Microbiol 77:2523–2534. https://doi.org/10.1007/s00284-020-02034-y

Jahantigh O, Najafi F, Badi HN, et al (2016) Changes in antioxidant enzymes activities and proline, total phenol and anthocyanine contents in Hyssopus officinalis L. plants under salt stress. Acta Biol Hung 67:195–204. https://doi.org/10.1556/018.67.2016.2.7

Jaleel CA, Manivannan P, Lakshmanan GMA, et al (2007) NaCl as a physiological modulator of proline metabolism and antioxidant potential in Phyllanthus amarus. Comptes Rendus - Biol 330:806–813. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2007.08.009

Kandpal G (2021) Review on Impact of Chemical Fertilizers on Environment. Int J Mod Agric 10:758–763

Karlidag H, Yildirim E, Turan M, et al (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (Fragaria × ananassa)Karlidag H, Yildirim E, Turan M, et al (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on st. HortScience 48:563–567. https://doi.org/10.21273/hortsci.48.5.563

Kaur S, Tiwari V, Kumari A, et al (2023) Protective and defensive role of anthocyanins under plant abiotic and biotic stresses: An emerging application in sustainable agriculture. J Biotechnol 361:12–29. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.11.009

Koç A, Balcı G, Ertürk Y, et al (2016) Influence of arbuscular mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria on proline content, membrane permeability and growth of strawberry (Fragaria x ananassa Duch.) under salt stress

Krizek DT, Britz SJ, Mirecki RM (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. Physiol Plant 103:1–7. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030101.x

Kumar S (2012) Assay Guided Comparison for Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Activities with Special Reference to Medicinal Plants. Antioxid Enzym 14:382–400. https://doi.org/10.5772/50782

Labbé JL, Weston DJ, Dunkirk N, et al (2014) Newly identified helper bacteria stimulate ectomycorrhizal formation in Populus. Front Plant Sci 5:579. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00579

Lei P, Xu Z, Liang J, et al (2016) Poly(γ-glutamic acid) enhanced tolerance to salt stress by promoting proline accumulation in Brassica napus L. Plant Growth Regul 78:233–241. https://doi.org/10.1007/s10725-015-0088-0

Li P, Qian H, Howard KWF, Wu J (2015) Building a new and sustainable '"Silk Road economic belt."' Environ Earth Sci 74:7267–7270. https://doi.org/10.1007/s12665-015-4739-2

Liu H, Tang H, Ni X, et al (2022) Impact of an arbuscular mycorrhizal fungal inoculum and exogenous methyl jasmonate on the performance of tall fescue under saline-alkali condition. Front Microbiol 13:902667. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.902667

Mamba SF, Salam A, Peter G (2016) Farmers' Perception of Climate Change a Case Study in Swaziland. J Food Secur Vol 3, 2016, Pages 47-61 3:47–61

Mcfarland J (1907) The nephelometer: An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J Am Med Assoc XLIX:1176–1178. https://doi.org/10.1001/jama.1907.25320140022001f

Mohamed AA, Eweda WEE, Heggo AM, Hassan EA (2014) Effect of dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and sulphur-oxidising bacteria on onion (Allium cepa L.) and maize (Zea mays L.) grown in sandy soil under green house conditions. Ann Agric Sci 59:109–118. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.06.015

Mostafa Heidari (2011) Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (Ocimum basilicum L.) genotypes. African J Biotechnol 11:379–384. https://doi.org/10.5897/ajb11.2572

Mostafavian SR, Pirdashti H, Ramzanpour MR, et al (2008) Effect of mycorrhizae, Thiobacillus and sulfur nutrition on the chemical composition of soybean [Glycine max (L.)] Merr. seed. Pakistan J Biol Sci 11:826–835. https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.826.835

Oliveira M de S, da Silva Campos MA, de Albuquerque UP, da Silva FSB (2013) Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) affects biomolecules content in Myracrodruon urundeuva seedlings. Ind Crops Prod 50:244–247. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.041

Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans Br Mycol Soc 55:158-IN18. https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3

Pirzad A, Mohammadzadeh S (2018) Water use efficiency of three mycorrhizal Lamiaceae species (Lavandula officinalis, Rosmarinus officinalis and Thymus vulgaris). Agric Water Manag 204:1–10. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.03.020

Pokorna D, Zabranska J (2015) Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. Biotechnol Adv 33:1246–1259. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.007

Rahimzadeh S, Sohrabi Y, Heidari G, et al (2016) Effect of Bio-fertilizers on the Essential Oil Yield and Components Isolated from Dracocephalum moldavica L. Using Nanoscale Injection Method. J Essent Oil Bear Plants 19:529–541. https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935057

Ratti N, Verma HN, Gautam SP (2010) Effect of Glomus species on physiology and biochemistry of Catharanthus roseus. Indian J Microbiol 50:355–360. https://doi.org/10.1007/s12088-010-0012-2

Santander C, Sanhueza M, Olave J, et al (2019) Arbuscular Mycorrhizal Colonization Promotes the Tolerance to Salt Stress in Lettuce Plants through an Efficient Modification of Ionic Balance. J Soil Sci Plant Nutr 19:321–331. https://doi.org/10.1007/s42729-019-00032-z

Sarker U, Islam MT, Oba S (2019) Salinity stress accelerates nutrients, dietary fiber, minerals, phytochemicals and antioxidant activity in Amaranthus tricolor leaves. PLoS One 13:e0206388. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206388

Singh J, Thakur JK (2018) Photosynthesis and abiotic stress in plants. Biot Abiotic Stress Toler Plants 27–46. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9029-5_2

Wagner GJ (1979) Content and Vacuole/Extravacuole Distribution of Neutral Sugars, Free Amino Acids, and Anthocyanin in Protoplasts. Plant Physiol 64:88–93. https://doi.org/10.1104/pp.64.1.88

Wang YF, Wang SP, Cui XY, et al (2003) Effects of sulphur supply on the morphology of shoots and roots of alfalfa (Medicago sativa L.). Grass Forage Sci 58:160–167. https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2003.00366.x

Zhang T, Hu Y, Zhang K, et al (2018) Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of Ricinus communis by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress. Ind Crops Prod 117:13–19. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.087

نسخه پیش انتشار

نسخه پیش انتشار