

تأثیر تلقیح دو جانبه قارچ *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum spp.* بر برخی صفات فیزیولوژیکی، جذب عناصر و عملکرد دانه گندم تحت تنش شوری

Effect of Co-inoculation of Endophytic Fungus *Piriformospora Indica* and *Azospirillum* Strains on some Physiological Traits, Nutrient Absorption and Grain Yield of Wheat (*Triticum aestivum* cv. Sardari) Under Salt Stress Conditions

سمیه حاجی‌نیا^۱ و محمدجواد زارع^{۲*}

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۸/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۸/۱۸

چکیده

باکتری جنس *آزوسپیریلوم* (*Azospirillum*) و قارچ‌های میکوریز از جمله میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه هستند که می‌توانند باعث تحریک رشد و افزایش تحمل گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری گردند. در آزمایشی طراحی شده به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی، قابلیت باکتری‌های *آزوسپیریلوم* سویه‌های سازگار و غیرسازگار به شوری در تلقیح جداگانه و نیز در ترکیب با قارچ *Piriformospora indica* بر برخی صفات فیزیولوژیکی، جذب عناصر و عملکرد دانه گیاه گندم تحت تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفت. فاکتورهای آزمایش عبارت بودند از کاربرد پنج ریزسازواره‌های درون‌زیست شامل قارچ *پریفورموسپورا/ ایندیکا*، باکتری *آزوسپیریلوم* سویه‌های سازگار به مناطق شور و غیرشور، تلقیح توأم قارچ و باکتری و شاهد و نیز چهار سطح شوری آب آبیاری شامل ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ دسی‌زیمنس بر متر. کاربرد قارچ *پریفورموسپورا/ ایندیکا* و سویه‌های *آزوسپیریلوم* و تلقیح توأم آن‌ها، تأثیر قابل توجه و معنی‌داری بر عملکرد دانه، جذب عناصر فسفر و نیتروژن، محتوای کلروفیل و پروتئین بیشتری تحت شرایط عدم شوری داشت. تلقیح گندم با سویه سازگار به شوری باکتری جنس *آزوسپیریلوم*، تأثیر بسیار مطلوبی بر میزان‌های کلروفیل و پرولین گیاه داشت و جذب نیتروژن توسط گیاه را تحت تنش شوری زیاد افزایش داد. نتایج تحقیق نشان‌دهنده این بود که میزان تأثیر کاربرد به تنهایی و یا تلفیقی این ریزسازواره‌های درون‌زیست گیاهی بستگی به سطوح شوری اعمال شده دارد. در عدم تنش تأثیر کاربرد توأم باکتری و قارچ بر عملکرد دانه بیشتر بود. درحالی‌که در تنش شوری کم ($EC=4$) کاربرد توأم و جداگانه باکتری و قارچ تأثیری مشابه بر عملکرد داشت در تنش شدید ($EC=12$) کاربرد جداگانه آن‌ها بهتر بود.

واژه‌های کلیدی: آبیاری با آب شور، باکتری‌های محرک رشد گیاه، قارچ *Piriformospora indica*، گندم

۱. دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام

۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام

Email: mj.zarea@ilam.ac.ir

*: نویسنده مسئول

مقدمه

شوری از مهم‌ترین عوامل محدودکننده‌های تولیدات زراعی در سراسر جهان بخصوص مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌گردد. برآورد گردیده است که ۱۰ درصد اراضی کشاورزی زیرکشت گیاهان زراعی و بیش از ۲۷ درصد اراضی فاریاب به‌طور مستقیم تحت تأثیر شوری است (شانون^۱، ۱۹۹۷). در ایران، وسعت اراضی شور حدود ۳۴ میلیون هکتار گزارش گردیده است (فائو^۲، ۲۰۰۰). براساس مطالعات انجام یافته، سطح کل اراضی فاریاب ایران حدود ۸/۱ میلیون هکتار برآورد شده است، که از این مساحت تقریباً نیمی از آن یعنی ۴/۰۵ میلیون هکتار به درجات مختلف مبتلا به پدیده شوری هستند (سراجی^۳، ۲۰۰۴).

عدم تعادل در جذب عناصر، سمیت یونی و کاهش جذب آب به‌علت فشار بالای اسمزی ناشی از تجمع زیاد املاح در محلول خاک از عوامل تأثیرگذار بر رشد گیاه تحت شوری می‌باشند (گرینوی و مونس^۴، ۱۹۹۶). کاهش فعالیت فتوسنتزی ناشی از کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش جذب دی‌اکسیدکربن و ظرفیت فتوسنتزی از دیگر اثرهای شوری بر گیاه است (فرانسیسکو^۵ و همکاران، ۲۰۰۲). تحت شرایطی شوری، گیاه با محدودیت جذب عناصر مختلف به‌خصوص نیتروژن و فسفر مواجه می‌گردد. گیاهان سازوکارهای متفاوتی را جهت تحمل و کاهش اثرهای سوء شوری اتخاذ می‌نمایند. از پاسخ‌های معمول و عمومی گیاهان زراعی به تنش شوری، حفظ تعادل اسمزی است که به واسطه بیوسنتز و تجمع محلول‌های تنظیم‌کننده اسمزی امکان‌پذیر می‌گردد. پرولین به‌عنوان یکی از ترکیب‌های تنظیم‌کننده اسمزی در حفظ فشار اسمزی و پایداری غشاء سلولی، مطرح است (اشرف و هاریس^۶، ۲۰۰۴).

ماس و هافمن^۷ (۱۹۹۷) گیاهان زراعی را براساس تحمل‌پذیری آن‌ها به شوری به چهار گروه متحمل، نیمه‌متحمل، نیمه‌حساس و حساس تقسیم‌بندی کردند و گیاه گندم را با حد آستانه‌ی شوری برابر ۶ دسی‌زیمنس بر متر و شیب کاهش عملکرد برابر ۷/۱ درصد، گیاهی نیمه‌متحمل معرفی نمودند. گندم، مهم‌ترین غله تولیدی مناطق نیمه‌خشک و خشک ایران است که تولید و عملکرد آن متأثر از پدیده

شوری خاک بوده و با کاهش و محدودیت‌هایی مواجه شده است. در پی تغییرات اقلیمی، کاهش بارندگی‌ها، افزایش تبخیر و محدودیت منابع آب شیرین، روند افزایش در میزان شوری اراضی کشاورزی و یا گسترش بیشتر اراضی شور قابل‌انتظار است. یکی از چالش‌های حال حاضر و آینده کشاورزی نواحی خشک، مقابله با پدیده شوری است. جهت مقابله با تنش شوری روش‌های موفقیت‌آمیز مختلفی مانند تولید گیاهان متحمل به شوری از طریق مهندسی ژنتیک یا آب‌شویی خاک‌های شور ارائه شده است، اما روش‌های مذکور با وجود کارایی، نیاز به تکنولوژی پیچیده داشته و یا از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نبوده و در کوتاه‌مدت کاربردی نمی‌باشند (کانترو و لیندرمن^۸، ۲۰۰۱). امروزه استفاده از قابلیت ریزوباکتر و قارچ‌های محرک رشد گیاه و نیز قارچ‌های میکوریز از روش‌های نوین در جهت تقلیل اثرات شوری، نام برده می‌شوند (باسیلیو^۹ و همکاران، ۲۰۰۴؛ زارع^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۲؛ زارع و همکاران، ۲۰۱۳ الف و ب).

باکتری *آزوسپیریلوم* (*Azospirillum* spp.) از گروه باکتری‌های افزاینده رشد گیاهی است که تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی و شوری، رشد گیاه را افزایش می‌دهد (باراسی^{۱۱} و همکاران، ۲۰۰۰). توانایی این باکتری‌ها در رفع تنش خشکی (کاسانوا^{۱۲}، ۲۰۰۲) و نیز بهبود رشد گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری در آزمایش‌های انجام یافته، اثبات گردیده است (سرئوس^{۱۳} و همکاران، ۱۹۹۷؛ باشان^{۱۴} و همکاران، ۲۰۰۴؛ زارع و همکاران، ۲۰۱۲).

وجود قارچ‌های آربوسکولار میکوریز در خاک‌های شور و ایجاد همزیستی با ریشه بسیاری از گیاهان در این شرایط نشان می‌دهد که احتمالاً برخی از این قارچ‌ها در برابر تنش شوری، مقاوم و در همزیستی با گیاهان، از طریق بهبود رشد گیاه، تحمل آن‌ها را در برابر شوری افزایش می‌دهند (اکراکی^{۱۵}، ۲۰۰۰؛ زارع و همکاران، ۲۰۱۲؛ زارع و همکاران، ۲۰۱۳ الف و ب). قارچ *پریفورموسپورا ایندیکا* از قارچ‌های درون‌زیست ریشه است که در سال ۱۹۹۸ توسط *وارما* و همکاران از ریزوسفر گیاهان کهور (*Prosopis juliflora*) و گنار (*Zizyphus nummularia*) در کشور هندوستان جداسازی شد

8. Cantrell and Linderman
9. Bacilio
10. Zarea
11. Barassi
12. Casanovas
13. Creus
14. Bashan
15. Al.Karaki

1. Shanon
2. FAO
3. Cheraghi
4. Greenway and Munns
5. Francisco
6. Ashraf and Harris
7. Mass and Hoffman

شوری آب آبیاری شامل آب معمولی با هدایت الکتریکی ۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر ($ECW:0.2 \text{ dS m}^{-1}$)، شوری کم ($ECW:4$) دسی‌زیمنس بر متر ($ECW:8 \text{ dS m}^{-1}$)، شوری متوسط ($ECW:12 \text{ dS m}^{-1}$)، شوری شدید ($ECW:16 \text{ dS m}^{-1}$)، شوری بسیار شدید ($ECW:20 \text{ dS m}^{-1}$)، شوری فوق‌العاده شدید ($ECW:24 \text{ dS m}^{-1}$) و شوری بسیار فوق‌العاده شدید ($ECW:28 \text{ dS m}^{-1}$) را در نظر گرفتند. باکتری‌های موردنظر در آزمایشگاه گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام جداسازی و تکثیر شدند (زارع و همکاران، 2012) و براساس خصوصیات بیوشیمیایی و نیز تکنیک مبتنی بر 16s rDNA، شناسایی شدند که غالب سویه‌های آن‌ها *آزوسپیریوم برازیلینس* بودند. تهیه و کاربرد مایه تلقیح قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* به صورت درون‌شیشه‌ای، توصیف شده توسط زارع و همکاران (2012) آماده گردید.

جهت آماده‌سازی باکتری و تلقیح آن‌ها با بذر، ابتدا بذره‌های گندم (*Triticum aestivum* cv. sardari) در الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه غوطه‌ور گردیدند، سپس با هیپوکلریت سدیم ۰/۲ درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی شده و نهایت سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند تا اثر هیپوکلریت سدیم حذف گردد. در ادامه، بذر به محلول‌های حاوی باکتری *آزوسپیریوم سویه‌های سازگار* و غیرسازگار به مناطق شور، منتقل گردیده و به مدت یک ساعت در شیکر قرار گرفتند تا نفوذ باکتری به داخل شیارها و پوست دانه گندم امکان‌پذیر گردد. جمعیت باکتری در غلظت معادل 10^8 سلول باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بود. بذره‌های تلقیح شده یا تلقیح نشده با باکتری‌های *آزوسپیریوم* در ۶۰ گلدان (۲۱ سانتی‌متر قطر دهانه و ۲۲ سانتی‌متر ارتفاع) حاوی مخلوط رس، ماسه و کود دامی استریل در نسبت ۲:۱:۱ منتقل شدند. در هر گلدان، ۲۰ عدد بذر کشت شد که در مراحل بعدی به ده بوته تنک گردید. عمل استریل رس، ماسه و کود دامی با استفاده از آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت و در سه روز متوالی انجام گرفت.

از میسیلوم‌های رشد کرده قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* برای تلقیح ریشه‌های گندم استفاده گردید. پس از رشد گیاهچه‌ها و ظهور ریشه‌ها اقدام به تلقیح با قارچ گردید. جهت تیمار توأم (مخلوط *آزوسپیریوم* و *پیریفورموسپورا ایندیکا*) ابتدا بذرها با مایه تلقیح *آزوسپیریوم* آغشته شدند، سپس ریشه‌ها با مایه تلقیح *پیریفورموسپورا ایندیکا* تلقیح گردیدند.

آب آبیاری با سه سطح شوری ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در کل دوره رشد به‌عنوان تیمار شوری مورد استفاده قرار گرفت. از آب معمولی با شوری ۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر به‌عنوان تیمار شاهد و برای سایر تیمارها از ترکیب کلرید سدیم و کلرید کلسیم با نسبت ۲ به ۱ جهت اعمال شوری استفاده

(وارما^۱ و همکاران، 1998). این قارچ را به سبب دارا بودن وجوه مشترک با قارچ‌های میکوریز، شبه‌میکوریز معرفی می‌نمایند (وارما و همکاران، 2001). این قارچ توانایی همزیستی با ریشه گیاهان مختلف را دارد و از نظر افزایش در رشد گیاه میزبان مشابه قارچ‌های میکوریز عمل می‌کند (وارما و همکاران، 2001). همچنین پتانسیل وسیعی در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی و تنش‌های زیستی مانند بیماری‌های گیاهی دارد (والر^۲ و همکاران، 2005؛ کریمی، ۱۳۹۱). *بالتروشات*^۳ و همکاران (2008) گزارش کردند که قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* موجب افزایش رشد و تحمل گیاه جو به سطوح بالای تنش شوری می‌گردد. تحمل این قارچ به شوری، زیاد است و شوری‌های در حد ۴۰۰ میلی‌مول کلرید سدیم را تحمل می‌کند (زارع و همکاران، 2012) و از طریق اتخاذ سازوکارهای مختلف، تحمل گیاه میزبان به شوری را افزایش می‌دهد (زارع و همکاران، 2013 الف؛ زارع و همکاران، 2014).

یکی از محدودیت‌های مناطق خشک، وجود شوری آب آبیاری و خاک می‌باشد که موجب عدم تولید مطلوب گیاهان زراعی در این مناطق می‌گردد. گندم از عمده‌ترین محصولات کشاورزی این مناطق است. بنابراین به‌کارگیری روش‌های مختلفی در افزایش تحمل به تنش شوری در امر تولید این گیاه زراعی حائز اهمیت است. لذا در پژوهش حاضر، کارایی تلقیح دو مایه تلقیح باکتریایی از جنس *آزوسپیریوم* (سازگار و غیرسازگار به شوری) و قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* بر کاهش تنش شوری روی گیاه گندم، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌منظور بررسی تلقیح جداگانه و توأم باکتری‌های سازگار و غیرسازگار جنس *آزوسپیریوم* و نیز قارچ درون‌زیست *پیریفورموسپورا ایندیکا* بر عملکرد گندم رقم سرداری رشد داده شده در شوری‌های مختلف تحت شرایط گلخانه‌های به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از: کاربرد پنج سطح ریزسازواره شامل تلقیح با قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا*، باکتری *آزوسپیریوم سویه‌های سازگار* به مناطق شور و غیرشور، تلقیح توأم قارچ و باکتری و بدون تلقیح و چهار سطح

1. Verma
2. Baltruschat
3. Baltruschat

شوری بر غلظت پرولین برگ و محتوای نیتروژن، پروتئین، فسفر و نیز عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۱).

میزان کلروفیل

افزایش سطوح تنش شوری موجب کاهش مقدار کلروفیل کل ($a+b$) در برگ گیاه گندم گردید. میزان کاهش کلروفیل کل تحت تنش شوری شدید (۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) نسبت به عدم تنش شوری ۳۴/۹۵ درصد بود (جدول ۲). گیاهان تلقیح شده با ریزسازواریهای مختلف در مقایسه با گیاه تلقیح نشده (شاهد) از محتوای کلروفیل بیشتری در برگ برخوردار بودند (جدول ۲). بیشترین محتوای کل کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ حاصل گردید (جدول ۲). اثر تلقیح توأم باکتری و قارچ بر میزان محتوای کلروفیل برگ مشابه کاربرد به تنهایی آروسپیریلوم سویه‌های سازگار به شوری بود (جدول ۲).

با افزایش سطوح شوری آب آبیاری، از محتوای کلروفیل برگ کاسته شد. این امر احتمالاً به دلیل تغییر مسیر متابولیسم نیتروژن در ساخت ترکیب‌هایی نظیر پرولین که برای تنظیم اسمزی به کار می‌رود، باشد (حیدری‌شیرف‌آباد، ۱۳۸۰). نتایج مشابهی نیز در ارتباط با کاهش مقدار کلروفیل تحت شرایط تنش شوری توسط هانگ و ردمن^۳ (۱۹۹۵) در جو گزارش گردیده است. بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ، احتمالاً به علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان تلقیح شده باشد زیرا گزارش‌های مکرر از افزایش جذب فسفر توسط این قارچ به گیاه میزبان ارائه گردیده است (زارع و همکاران، ۲۰۱۲a).

گردید. اعمال تیمار شوری به منظور جلوگیری از شوک ناگهانی شدید گیاه گندم، به صورت تدریجی اعمال شد. کود نیتروژن و کود فسفات یک ماه پس از رشد به همه گلدان‌ها اضافه گردید. رشد گیاه گندم در گلخانه طی شش ماه با طول دوره روشنایی روزانه ۱۲-۱۰ ساعت صورت گرفت. گلخانه از نوع گلخانه معمولی با پوششی شیشه‌ای و شرایط آن نزدیک به شرایط محیطی بود. دما و میزان رطوبت نسبی گلخانه در طول دوره رشد گیاه گندم به ترتیب ۲۵-۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۵-۶۰ درصد بود.

قبل از برداشت، اقدام به اندازه‌گیری کلروفیل و پرولین گردید، استخراج کلروفیل کل با استون و میزان جذب نور عصاره با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر که روی طول موج-های ۶۴۳ و ۶۴۵ نانومتر تنظیم شده بود، در مرحله پنجاهمی اندازه‌گیری شد (استرین و اسوک^۱، ۱۹۹۶). میزان پرولین در مرحله سنبله‌رفتن و توسط روش بیتز^۲ و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری گردید. غلظت پرولین برگ به صورت میکرومول در هر گرم وزن تر برگ محاسبه شد. برداشت گندم در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک انجام گردید. بخش‌های هوایی هر بوته از نزدیک سطح خاک، قطع شده و جهت تعیین وزن خشک و عملکرد دانه در آن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت قرار داده شدند. بعد از این مرحله، عملکرد دانه در هر بوته ثبت گردید. همچنین میزان فسفر بخش‌های هوایی با استفاده از روش رنگ‌سنجی (رنگ زرد مولیبدات-وانادات) و نیتروژن با استفاده از روش کجلدال تعیین گردید. همچنین درصد پروتئین دانه با استفاده از رابطه زیر تعیین شد.

$$\times 5/7 \text{ نیتروژن (درصد)} = \text{پروتئین (درصد)}$$

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و آزمون مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD, $P \leq 0.05$) انجام شد. رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای تلقیح با ریزسازواریهای درون‌زیست و اثر تنش شوری بر غلظت پرولین برگ و عناصر فسفر و نیتروژن و نیز پروتئین بخش‌های هوایی و عملکرد دانه گیاه گندم در سطح ۱ درصد و بر میزان کلروفیل $a+b$ در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). اثر متقابل تلقیح با ریزسازواریها و تنش

جدول ۱: تجزیه واریانس محتوی کلروفیل (کلروفیل $a+b$) و پرولین برگ، غلظت فسفر، نیتروژن و پروتئین اندام‌های هوایی و عملکرد دانه در گیاه گندم تلقیح شده با ریزسازواره‌های درون‌زیست تحت شرایط تنش شوری

Table 1: Analysis Variance of chlorophyll and proline content (Ch $a+b$) in leave, phosphorus, nitrogen and protein content in plant shoots and grain yield in wheat plants inoculated with various bioinoculants under salinity conditions

عملکرد دانه Grain Yield	پروتئین Protein	نیتروژن Nitrogen	فسفر Phosphorus	پرولین Proline	کلروفیل Ch ($a+b$)	درجه آزادی Degree of freedom	منابع تغییرات Source of Variation
3.92 ^{***}	0.0604 ^{**}	0.00186 ^{**}	0.002 ^{ns}	4.69 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	2	بلوک Block
11.09 ^{**}	2.14 ^{***}	0.06593 ^{***}	0.032 ^{***}	98.6 ^{***}	0.0038 [*]	4	میکروارگانیس‌ها Bioinoculants (B)
36.37 ^{***}	16.54 ^{***}	0.50916 ^{***}	0.051 ^{***}	573 ^{***}	0.0204 ^{***}	3	تنش شوری Salinity (S)
0.958 [*]	0.4888 ^{***}	0.01504 ^{***}	0.0023 [*]	17.9 ^{***}	0.0006 ^{ns}	12	B × S
0.369	0.0109	0.00034	0.0011	2.76	0.0011	38	خطای آزمایش Error
12.58	2.003	2.003	13.26	10.08	18.99		ضریب تغییرات CV (%)

*, **, ***: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵، ۱ و ۰/۱ درصد؛ ns: غیر معنی‌دار
*, **, ***: significant at 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively; ns: means non-significant

جدول ۲: مقایسه میانگین میزان کلروفیل برگ در گیاه گندم تحت تأثیر میکروارگانیس‌ها و تنش شوری

Table 2: Mean comparison for chlorophyll (ch $a+b$) content in wheat leave affected by microorganisms and salinity stress

غلظت کلروفیل Ch $a+b$	تیمار Treatment ¹
میکروارگانیس‌ها Microorganisms	
0.177 ab ± 0.012	PA
0.187 a ± 0.0081	P
0.178 ab ± 0.0127	A (2)
0.161 bc ± 0.0167	A(1)
0.143 c ± 0.0132	C
تنش شوری Salinity (dS m ⁻¹)	
0.212 a ± 0.0058	0.2
0.188 b ± 0.0077	4
0.139 c ± 0.0096	8
0.138 c ± 0.0106	12

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند
P= قارچ پریفورموسپورا/آزوسپیریلوم، A1، A2= باکتری آزوسپیریلوم سویه‌های سازگار به مناطق شور و غیرشور، PA=تلقیح توأم قارچ و باکتری و C= کنترل

Means with one common letter in each column have no significant difference ($P \leq 0.05$)

P= *P. indica*, A1 and A2= *Azospirillum* spp., PA= Co-inoculation and C=control

گزارش‌ها به صورت افزایش مقدار کلروفیل بیان گردیده است.
اسودرزینسکا^۱ (2000) گزارش کرد که تلقیح گندم با

فسفر به‌عنوان حامل انرژی در طی فرآیند فتوسنتز عمل می‌نماید. مقدار کلروفیل در گندم‌های تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم به ویژه سویه سازگار به شوری، افزایش یافت. تأثیر تلقیح باکتری آزوسپیریلوم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در اکثر

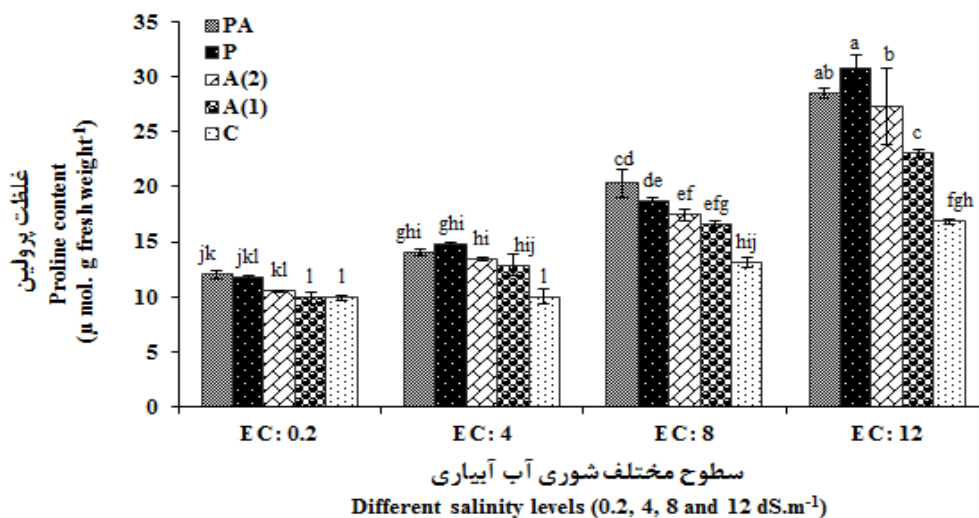
1. Swedrzynska

شوری به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، بیشترین میزان پرولین را گیاهان تلقیح شده با قارچ *پریفورموسپورا/ ایندیکا* و تلقیح توأم با قارچ و باکتری داشتند به طوری که میزان افزایش پرولین در گیاهان تلقیح شده با این میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با گیاهان شاهد به ترتیب، ۷۸/۵۸ و ۶۹/۵۸ درصد بود. باکتری‌های *آزوسپیریوم* سویه سازگار به مناطق شور و غیرشور نسبت به گیاهان شاهد، مقدار پرولین را به ترتیب به میزان ۶۲/۴۴ و ۳۶/۹۶ درصد تحت تنش شوری شدید افزایش دادند (شکل ۱).

آزوسپیریوم موجب افزایش محتوای کلروفیل برگ تحت تنش شوری می‌شود. بنابراین می‌توان بیان نمود استفاده از سویه‌های سازگار به شوری در مقایسه با سویه‌های غیرسازگار از کارایی بهتری برخوردار می‌باشد.

غلظت پرولین برگ

تحت شرایط عدم شوری (آب معمولی)، گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده از میزان مشابه پرولین در برگ برخوردار بودند. میزان غلظت یا تجمع پرولین تحت این شرایط، ۱۰/۵۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ بود (شکل ۱). با افزایش سطوح



شکل ۱: غلظت پرولین (میکرومول در گرم وزن تر برگ) گیاه گندم در تلقیح با ریزسازواره‌های درون‌زی ریشه (P: قارچ *پریفورموسپورا/ ایندیکا*، A(1): باکتری *آزوسپیریوم*، A(2): *آزوسپیریوم* سویه سازگار به شوری، PA: تلقیح توأم قارچ و باکتری و C: کنترل) تحت سطوح مختلف تنش شوری (۰/۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)

Fig. 1: Proline content ($\mu \text{ mol. g fresh weight}^{-1}$) in wheat plants inoculated with endophytic microorganisms (P: *Piriformospora indica*; A (1): *Azospirillum* spp.; A(2): *Azospirillum* spp., salt tolerant strain; PA: *P. indica* + *Azospirillum* inoculation; C: control), under different salinity levels (0.2, 4, 8 and 12 dS m^{-1})

تنش شوری گردید. تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری جنس *آزوسپیریوم* نیز نتایج مشابهی در افزایش میزان پرولین داشت. باکتری *آزوسپیریوم* سویه‌های سازگار به شوری توانایی بیشتری در تولید پرولین نسبت به سویه‌های جدا شده از خاک غیرشور داشتند. راتو و وارلا (1985) اظهار داشتند که سویه‌های مقاوم به شوری با استفاده از محافظ‌های مناسب نظیر پرولین و گلیسین‌بتائین مقاومت خود را نسبت به شرایط شوری افزایش می‌دهند. در هر حال، این سویه‌ها تحت شرایط

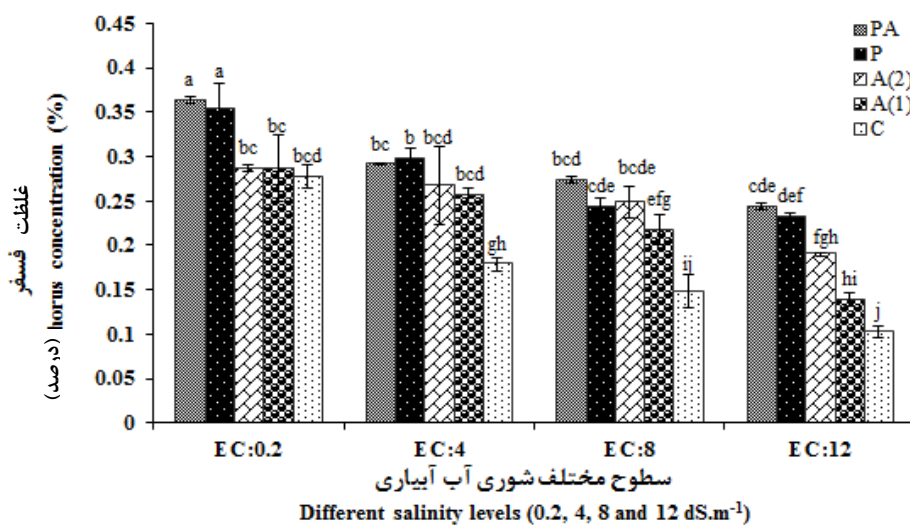
اسیدآمینو پرولین از ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی است که غلظت آن تحت شرایط تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی افزایش می‌یابد (پنگ و همکاران، 2008). با افزایش غلظت شوری آب آبیاری، قارچ *پریفورموسپورا/ ایندیکا* موجب افزایش میزان آن در برگ گردید که این نتایج با یافته‌های *بالتروشات* و همکاران (2008) مطابقت دارد. این پژوهشگران گزارش کردند که قارچ *پریفورموسپورا/ ایندیکا* از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محلول‌های سازگار، موجب کاهش اثرات سوء تنش شوری و افزایش رشد گیاه جو تحت

درصد فسفر بیشتری در بافت‌های خود داشتند. تحت چنین شرایطی، کاربرد *آزوسپیریلوم منجر* به تأثیر معنی‌دار بر غلظت فسفر نگردید (شکل ۲). با افزایش سطوح شوری به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، غلظت فسفر در گندم‌های تلقیح شده با قارچ *پریفورموسپورا/آزوسپیریلوم* نسبت به گندم‌های شاهد، به ترتیب از افزایشی برابر ۸۵ و ۳۹ درصد برخوردار بود (شکل ۲).

شور با تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی احتمالاً در افزایش سازگاری گیاهان به تنش شوری نقش دارند.

غلظت فسفر اندام‌های هوایی

در شرایط استفاده از آب معمولی، گیاهان تلقیح شده با قارچ *پریفورموسپورا/آزوسپیریلوم* و تلقیح توأم قارچ و باکتری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده از غلظت عنصر فسفر بیشتر در بافت‌های خود برخوردار بودند به طوری که نسبت به گیاهان شاهد، ۲۶/۹۶



شکل ۲: غلظت فسفر اندام‌های هوایی (درصد) گیاه گندم در تلقیح با ریزسازواره‌های درون‌زی ریشه (P: قارچ *پریفورموسپورا/آزوسپیریلوم*؛ A(1): باکتری *آزوسپیریلوم*، A(2): *آزوسپیریلوم* سویه سازگار به شوری، PA: تلقیح توأم قارچ و باکتری و C: کنترل) تحت سطوح مختلف تنش شوری (۰/۲، ۴، ۸، ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)

Fig. 2: Phosphorus Concentration (0/0) in wheat plants inoculated, with endophytic microorganisms (P: *Piriformospora indica*; A (1): *Azospirillum* spp.; A(2): *Azospirillum* spp. salt tolerant strain; PA: *P. indica* + *Azospirillum* inoculation; C: control), under different salinity levels (0.2, 4, 8 and 12 dS m⁻¹)

اسید فسفاتاز موجب افزایش انتقال فسفات از ریزوسفر به ریشه گیاهان می‌گردد (وارما و همکاران، ۲۰۰۴؛ مالا^۳ و همکاران، ۲۰۰۴). چنین خصوصیتی از نظر قابلیت *آزوسپیریلوم* در افزایش فسفر قابل دسترس برای گیاه نیز گزارش گردیده است. *آزوسپیریلوم* از طریق ترشح اسیدهای آلی موجب کاهش pH ریزوسفر شده و نتیجه آن، افزایش فسفر قابل دسترس برای گیاه است که خصوصاً در مناطق خشک که مقدار کلسیم و pH خاک بالا می‌باشد این توانمندی، بسیار مفید است (بوت^۴ و همکاران، ۱۹۹۲).

افزایش شوری در خاک، قابلیت دسترسی گیاه به فسفر را کاهش می‌دهد. علت کاهش میزان جذب فسفر تحت شرایط شوری، فرآیند مشابه جذب آن با عنصر کلر بیان گردیده که به نفع کلر تغییر می‌یابد، زیرا فسفر و کلر هر دو آنیون هستند و فرآیند جذب آن‌ها یکسان است (جندال^۱ و همکاران، ۱۹۹۳). بنابراین، افزایش غلظت کلر به علت رقابت این یون با یون فسفات اثرهای مضر روی جذب فسفر می‌گذارد. در تحقیق-های انجام یافته در خصوص روابط میکوریزی، دلیل افزایش تحمل گیاه به تنش شوری را افزایش جذب فسفر توسط میکوریز بیان نموده‌اند (گران^۲ و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعات انجام گرفته نشان داده است قارچ *پریفورموسپورا/آزوسپیریلوم* با تولید

3. Malla
4. Bothe

1. Jindal
2. Grant

محتوای نیتروژن و پروتئین

محدودیت جذب نیتروژن تحت شرایط شوری یکی از عوامل محدودکننده رشد گیاه است. در تحقیق حاضر کاربرد قارچ و سویه‌های مختلف باکتری موجب افزایش محتوای نیتروژن و پروتئین بخش هوایی گیاه گندم در شرایط استفاده از آب معمولی و آب شور گردید. با افزایش میزان سطح شوری به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، گیاهان تلقیح شده با سویه‌های سازگار به مناطق شور از بیشترین محتوای نیتروژن و پروتئین در بافت‌های خود برخوردار بودند (شکل ۳ و ۴). کاربرد سایر تیمارهای تلقیح نیز موجب چنین تغییری در محتوای این دو صفت در گیاه گردید. کمترین محتوای نیتروژن و پروتئین در گیاهان شاهد حاصل شد که نشانگر محدودیت جذب عنصر نیتروژن و کاهش کیفیت گندم (کاهش محتوای پروتئین) تحت شوری است (شکل ۳ و ۴).

زارع و همکاران (2013 الف و ب) اظهار داشته‌اند که تحت تنش شوری، جذب عنصر نیتروژن، محدود می‌گردد در تحقیقی گزارش شده است که قارچ‌های میکوریز از طریق جذب ترکیبات آلی حاوی نیتروژن و تحویل آن به گیاه و یا از طریق افزایش سطح جذب در خاک موجب افزایش جذب نیتروژن برای گیاه می‌گردد (زارع و همکاران، 2013 ب). آروسپیریوم متعلق به گروهی از باکتری‌ها است که نقش تثبیت‌کنندگی نیتروژن را دارا هستند، بنابراین افزایش محتوای نیتروژن گیاه تحت هر دو شرایط شوری و غیرشوری مربوط به ویژگی ذکر شده این باکتری‌ها در تثبیت نیتروژن است. سویه‌های سازگار به شوری تحت شوری بالا، اثر مطلوب‌تری بر محتوای نیتروژن گیاه داشتند که شاید دلیل آن سازگاری بهتر آن‌ها به شوری و حفظ کارآمدی آن‌ها تحت چنین شرایطی باشد (زارع و همکاران، 2012).

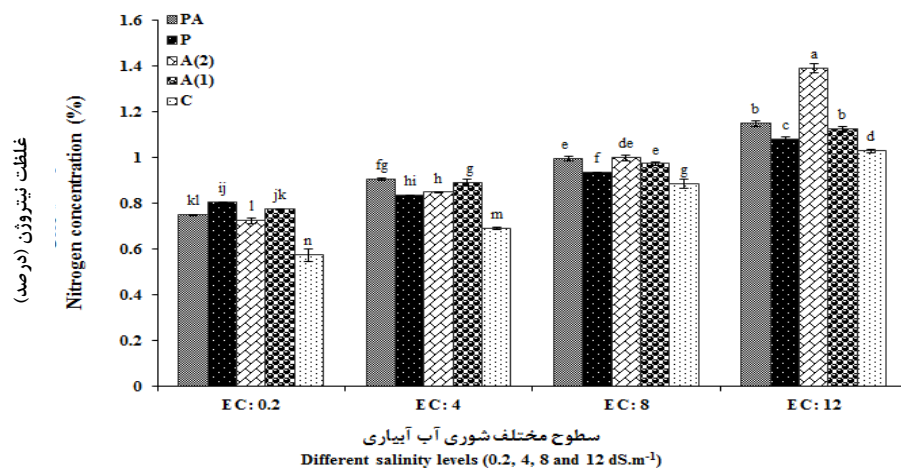
انتظار بر این است که هنگامی که دو میکروارگانیسم توأم استفاده گردد دارای اثر افزایشی بر افزایش تحمل گیاه به تنش داشته باشند و به عبارتی روابط از نوع افزایشی باشد. در مطالعه انجام گرفته اثر بازدارندگی در کاربرد توأم قارچ و باکتری بر میزان نیتروژن جذب شده و حتی عملکرد تحت تنش شدید (EC=12) مشاهده گردید (شکل ۳ و ۵). گزارش‌های محدود ارائه شده نشان داده که تحت شرایط *in vitro* روابط بین باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا می‌تواند افزایشی، خنثی و یا بازدارندگی قوی باشد (وارما و همکاران، 2012). رابطه باکتری آروسپیریوم و قارچ می‌تواند حالت خنثی داشته باشد (وارما و همکاران، 2012) که بستگی به نوع سویه نیز دارد. قارچ

نیتروژن و سایر عناصر خود مانند فسفر را از طریق میسلیوم و از محیط اطراف ریشه جذب می‌نماید (شرامتی^۱، 2005). اما تحت تنش شوری جذب نیتروژن دچار اختلال می‌گردد (زارع و همکاران، 2014) بنابراین شاید اتکاء قارچ بر نیتروژن تثبیت‌شده باکتری باشد و بنابراین اثرات سودمند باکتری بر افزایش نیتروژن گیاه را کاهش دهد، زیرا که باکتری‌های محرک رشد گیاهی به اسپور و هیف‌های قارچ میکوریز متصل گردیده و حتی به داخل بخش‌های رویشی قارچ نیز منتقل می‌گردند (بیانسیوتو و بونفانتو^۲، 2002) بنابراین شاید بخشی از نیتروژن موردنیاز را تحت محدودیت جذب نیتروژن از خاک با نیتروژن تثبیت شده باکتری تأمین نماید و بنابراین از محتوای نیتروژن گیاه کاسته و این کاهش می‌تواند حتی عاملی جهت کاهش میزان عملکرد باشد.

عملکرد دانه

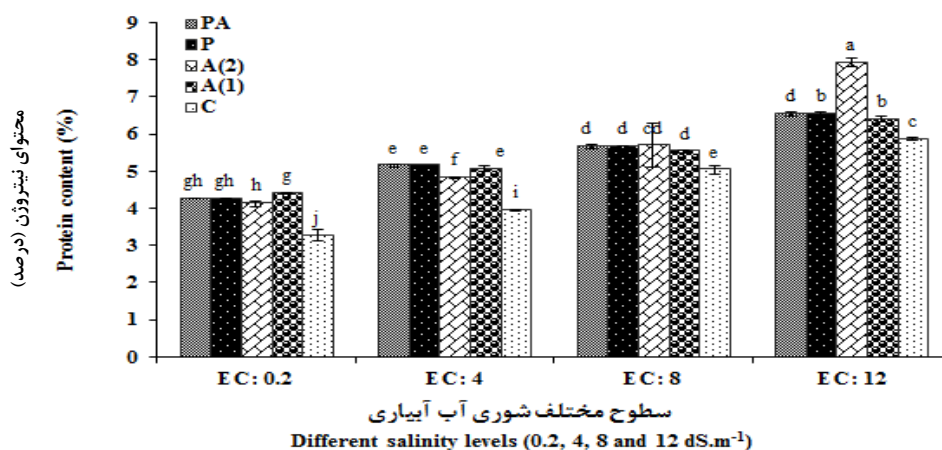
تحت شرایط عدم شوری، بیشترین میزان عملکرد دانه به ترتیب از گیاهان تلقیح شده با قارچ و باکتری (تلقیح توأم) (۸/۲ گرم در بوته)، قارچ پیریفورموسپورا/ایندیکا (۷/۴۱ گرم در بوته) و باکتری آروسپیریوم سویه سازگار به مناطق شور (۷/۱۱ گرم در بوته) و کمترین مقدار عملکرد از گیاهان شاهد (۵/۱۶ گرم در بوته) حاصل شد. تلقیح با باکتری آروسپیریوم سویه جدا شده از مناطق غیرشور نیز نسبت به گیاهان شاهد، تأثیر مثبت و معنی‌داری بر عملکرد دانه (۶/۱۵ گرم در بوته) داشت. تحت تنش شوری شدید، بیشترین میزان عملکرد دانه از گیاهان تلقیح یافته با قارچ، حاصل گردید که در مقایسه با گیاهان شاهد، افزایشی برابر ۷۰/۲۶ درصد نشان داد. تلقیح توأم قارچ و باکتری عملکرد دانه را به میزان ۵۱/۲۱ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. همچنین تلقیح با باکتری آروسپیریوم سویه‌های سازگار به مناطق شور و غیرشور تأثیر مطلوب بر عملکرد دانه گندم داشتند به طوری که موجب افزایش عملکرد دانه به ترتیب به میزان ۳۷/۷۹ و ۱۹/۱۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد شدند (شکل ۵). کاهش میزان عملکرد در کاربرد توأم قارچ و باکتری می‌تواند ناشی از کاهش جذب نیتروژن باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که گیاه تحت تنش شوری شدید (EC=12) و در تلقیح توأم دو میکروارگانیسم از محتوای کمتر نیتروژن برخوردار بوده است که این می‌تواند دلیلی بر کاهش عملکرد تحت کاربرد توأم قارچ و باکتری باشد.

1. Sherameti
2. Bianciotto and Bonfante



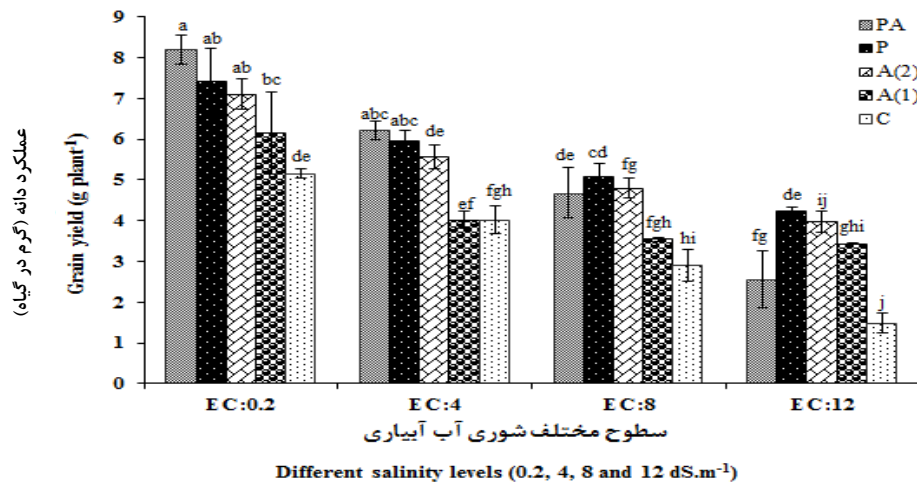
شکل ۳: غلظت نیتروژن اندام‌های هوایی (درصد) گیاه گندم در تلقیح با ریزسازواره‌های درون‌زی ریشه (P: قارچ پیریفورموسپورا/ ایندیکا، A(1): باکتری آزوسپیریلوم، A(2): آزوسپیریلوم سویه سازگار به شوری، PA: تلقیح توأم قارچ و باکتری و C: کنترل) تحت سطوح مختلف تنش شوری (۰/۲، ۴، ۸، ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)

Fig. 2: Nitrogen Concentration (0/0) in wheat plants inoculated with endophytic microorganisms (P: *Piriformospora indica*; A (1): *Azospirillum* spp.; A(2): *Azospirillum* spp., salt tolerant strain; PA: *P. indica* + *Azospirillum* inoculation; C: control), under different salinity levels (0.2, 4, 8 and 12 dS m⁻¹)



شکل ۴: غلظت نیتروژن اندام‌های هوایی (درصد) گیاه گندم در تلقیح با ریزسازواره‌های درون‌زی ریشه (P: قارچ پیریفورموسپورا/ ایندیکا، A(1): باکتری آزوسپیریلوم، A(2): آزوسپیریلوم سویه سازگار به شوری، PA: تلقیح توأم قارچ و باکتری و C: کنترل) تحت سطوح مختلف تنش شوری (۰/۲، ۴، ۸، ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)

Fig. 2: Protein content (0/0) in wheat plants inoculated with endophytic microorganisms (P: *Piriformospora indica*; A (1): *Azospirillum* spp.; A(2): *Azospirillum* spp., salt tolerant strain; PA: *P. indica* + *Azospirillum* inoculation; C: control), under different salinity levels (0.2, 4, 8 and 12 dS m⁻¹)



شکل ۵: عملکرد دانه (گرم در بوته) گیاه گندم در تلقیح با میکروارگانیسم‌های اندوفیت (P: *Piriformospora indica*; A(1): باکتری آزوسپیریوم، A(2): آزوسپیریوم سویه سازگار به شوری، PA: تلقیح توأم قارچ و باکتری و C: کنترل) تحت سطوح مختلف تنش شوری (۲/۰، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)

Fig. 5: Grain yield (g plant⁻¹) in wheat plants inoculated with endophytic microorganisms (P: *Piriformospora indica*; A(1): *Azospirillum* spp.; A(2): *Azospirillum* spp., salt tolerant strain; PA: *P. indica* + *Azospirillum* inoculation; C: control), under

گردید، هرچند در سطوح بالای شوری مزیت قارچ و نوع باکتری‌ها و نیز کاربرد تلفیقی آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری شده مانند فراهمی فسفر و نیتروژن متفاوت بود. می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد میکروارگانیسم‌های درون زیست اثر مثبتی بر عملکرد دانه گیاه گندم تحت شرایط شور و غیرشور داشت. در کشور ایران که سطح وسیعی از اراضی کشاورزی متأثر از پدیده شوری است استفاده از این ریزموجودات همزیست می‌تواند راهکاری در جهت افزایش تحمل گیاه زراعی گندم به شوری باشد.

با افزایش شوری آب آبیاری، عملکرد دانه گندم کاهش یافت. کاهش عملکرد گندم به دلیل افزایش شوری، توسط پژوهشگران زیادی گزارش شده است (ماء^۱ و همکاران، ۲۰۰۴). این محققین علت کاهش را در نتیجه کاهش جذب آب و عناصر غذایی و بر هم خوردن تعادل عناصر غذایی عنوان نموده‌اند. *والر* و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند تلقیح ریشه جو با قارچ *پیریفورموسپورا ایندیکا* موجب افزایش عملکرد آن به میزان ۱۱ درصد گردید. *ساتوویچ*^۲ (۲۰۰۶) با بررسی تأثیر سویه‌های مختلف *آزوسپیریوم* نشان داد که این باکتری‌ها می‌توانند تحمل گندم را به شوری افزایش دهند و عملکرد آن را تا ۶۳ درصد نسبت به شاهد بالا ببرند. *زاک*^۳ و همکاران (۲۰۰۷) در آزمایشی اثر باکتری *آزوسپیریوم لیپوفروم* را بر رشد و عملکرد گندم تحت شرایط شور بررسی کردند و گزارش کردند که این باکتری به‌طور معنی‌داری وزن هزار دانه و عملکرد دانه گندم را افزایش داد.

نتیجه‌گیری

اثرات مفید سودمندی مایه‌های تلقیح مخلوط (کاربرد دو ریزسازواره) بستگی به سطوح شوری داشت. در سطوح شوری پایین کاربرد مخلوط باکتری *آزوسپیریوم* و قارچ در مقایسه با کاربرد به‌تنهایی آن‌ها منجر به افزایش عملکرد دانه گندم

1. Ma
2. Saatovich
3. Zaki

- حیدری شریف‌آباد، ح. ۱۳۸۰. گیاه و شوری، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. تهران. ۱۹۹ صفحه.
- کریمی، ن. ۱۳۹۱. جداسازی و شناسایی همزیست‌های گیاهی (*Azospirillum*) مناطق شور و بررسی تداخل گندم- علف هرز به تلقیح با قارچ انوفیت *P. indica* تحت تنش شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت - دانشگاه ایلام، ۶۷-۷۰.
- Al-Karaki, G. N. 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10: 51-54.
- Ashraf, M. and Harris, P. 2004. Potential biochemical indicators of salt tolerance in plants. *Plant Science*, 166: 3-16.
- Bacilio, M., Rodri'guez, H., Moreno, M., Herna'ndez, J. P. and Bashan, Y. 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a gfp-tagged *Azospirillum lipoferum*. *Biology and Fertility of Soils*, 40: 188-193.
- Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B. D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., Janeczko, A., Kogel, K. H., Schafer, P. and Schwarczinger, I. 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, 180: 501-510.
- Barassi, C. A., Creus, C. M., Casanovas, E. M. and Sueldo, R. J. 2000. Could *Azospirillum* mitigate abiotic stress effects in plants? Auburn University web site available at: <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/barassi.pdf>
- Bashan, Y., Holguin, G., and de-Bashan, L. E. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal of Microbiology*, 50: 521-577.
- Bates, L.S., Waldren, R.O. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-tress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- Bianciotto, V. and Bonfante, P. 2002, Arbuscular mycorrhizal fungi: a specialised niche for rhizospheric and endocellular bacteria, *Antonie Leewvenhoek*, 81:365-371.
- Bothe, H., Korsgen, H., Lehmacher, T. and Hundeshagen, B. 1992. Differential effects of *Azospirillum*, auxin and combined nitrogen on the growth of the roots of wheat. *Symbiosis*, 13: 167-179.
- Cantrell, I.C. and Linderman, R. G. 2001. Pre-inoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant Soil*, 233: 269-281.
- Casanovas, E. M., Barassi, C. A., Andrade, F.H. and Sueldo, R.J. 2003. *Azospirillum*- inoculated maize plant responses to irrigation restraints imposed during flowering. *Cereal Research Communications*, 31: 395-402.
- Cheraghi, S. 2004. Institutional and scientific profiles of organizations working on saline agriculture in Iran. In *Prospects of Saline Agriculture in the Arabian Peninsula: Proceedings of the International Seminar on Prospects of Saline Agriculture in the GCC Countries*. In: Taha, F. K., Ismail, S. and Jaradat, A, (eds), 18-20 March 2001, Dubai, United Arab Emirates, pp. 399-412.
- Creus, C. M., Sueldo, R. J. and Barassi, C. A. 1997. Shoot growth and water status in *Azospirillum*-inoculated wheat seedlings grown under osmotic and salt stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 35: 939-944.
- FAO. 2000. Global Network on Integrated Soil Management for Sustainable Use of Salt-affected Soils. Country Specific Salinity Issues - Iran. Rome, Italy: FAO. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/degrad.asp?country=iran>.
- Francisco, G., Jhon, L., Jifon, S., Micaela, C. and James, P. S. 2002. Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na⁺ and Cl⁻ accumulation in 'sunburst' mandarin grafted on different root stocks. *Journal plant science*, 35: 314-320.
- Grant, C., Bittman, S., Montreal, M., Plenehette, C. and Morel, C. 2005. Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhiza development. *Canadian Journal of Plant Science*, 85: 3-4.
- Greenway, H. and Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31: 141-190.
- Hung, J. and Redmann, R. E. 1995. Solute adjustment to salinity and calcium supply in cultivated and wild barley. *Journal of Plant Nutrition*, 18: 1371-1995.
- Jindal, V., Atmal, A., Seckhon, B. S. and Sing, R. 1993. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on metabolism of moong plant under NaCl salinity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 31: 475-481.
- Ma, W., Charles, T. C. and Glick, B. R. 2004. Expression of an exogenous 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase gen in *Synorhizobium meliloti* increases its ability to nodulate alfalfa. *Annual Review of Plant Biology* Home, 35: 299-319.
- Malla R. and Varma, A. 2004. Phosphatase(s) from microorganisms. In: Varma, A., Podila, G. K., (eds) *Biotechnological applications of microbes*. IK International, New Delhi, pp. 125-150.
- Mass, E. V. and Hoffman, G. J. 1977. Crop tolerance current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division*. 103: 115-134.
- Peng, Y. L., Gao, Z. W., Gao, Y., Liu, G. F., Sheng, L. X. and Wang, D. L. 2008. Ecophysiological characteristics of alfalfa seedlings in response to various mixed salt-alkaline stresses. *Journal of Plant Biology*. 50 (1): 29-39.
- Rao, B. V. and Kates Warla, V. 1985. Salt tolerance of *Azospirillum brasilense*. *Acta Microbiologica at Immunologica Hungarica*, 32: 221-224.
- Saatovich, S. Z. 2006. *Azospirilli* of Uzbekistan soils and their influence on growth and development of wheat plants. *Plant Soil*, 283: 137-145.
- Shanon, M. C. 1997. Adaptation of plants to salinity. *Advanced Agronomy*, 60: 75-120.
- Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A. and Oelmüller, R. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water

- dikinase in tobacco and Arabidopsis roots through a homeodomain transcription factor which binds to a conserved motif in their promoters. *Biology Chememistry*, 280: 26241-26247
- Strain, H. H. and Svec, W. A. 1966. Extraction, separation, estimation and isolation of chlorophylls. In: Vernon, L.P., Seely, G. R., (Eds.). *The Chlorophylls*. Academic Press, New York. pp. 21-66.
- Swedrzynska, D. and Sawicka, A. 2000. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays* ssp. *saccharata* L.) under different cultivation conditions. *Polish Journal of Environmental Studies*, 9: 505-509.
- Varma, A., Abbott, L. K., Werner, D. and Hampp, R. 2004. The state of Plant surface microbiology. In: Varma, A., Abbott, L., Werner, D. and Hampp, R. (eds), *Plant surface microbiology*. Springer, Berlin Heidelberg New York pp. 1-11.
- Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A. and Oelmueller, R., 2012. *Piriformospora indica*: A Novel Plant Growth-promoting mycorrhizal fungus. *Agricultural Research*, 1: 117-131.
- Varma, A., Singh, A., Sahay, N., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Thakran, S., Deka ,D., Bharati, K., Franken, P., Hurek, T., Bleichert, O., Rexer, K. H., Kost ,G., Hahn, A., Hock, B., Maier, W., Walter, M., Strack, D. and Kranner, I. 2001. *Piriformospora indica*, A cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: Hock, B. (eds), *Mycota IX*. Springer, Berlin Heidelberg New York. PP. 123-150.
- Verma, A., Savita, S., Sahay, N., Butehorn, B. and Franken, P. H. 1998. *Piriformospora indica*, A cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 2741-2744.
- Waller, W., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D., Franken, P. and Kogel, K. H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt stress tolerance, disease resistance and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 13386-13391.
- Zaki, M., Hassanein, M. S., Karima, M and Gamal, E. L. 2007. Growth and yield of wheat cultivars irrigated with saline water in newly cultivated land as affected by biofertilization. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(10): 1121-1126.
- Zarea, M. J., Chordia, P. and Varma, A. 2013a. *Piriformospora indica* versus salt stress. In: Varma, A., Gerhard, K., Ralf, O. (eds.), *Piriformospora indica*, *Soil Biology* 33, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F. and Varma, A., 2012. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry*, 45: 139-146.
- Zarea, M. J., Miransari, M. and Karimi N. 2014. Plant physiological mechanisms of salt tolerance induced by mycorrhizal Fungi and *Piriformospora indica*, In: M. Miransari (ed.), *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses*, Springer Science+Business Media New York.
- Zarea, M. J., Mohammadi Goltapeh, E., Karimi, N. and Varma, A. 2013b. Sustainable Agriculture in Saline-Arid and Semiarid by Use Potential of AM Fungi on Mitigates NaCl Effects, In: E. M. Goltapeh, Mohammadi Goltapeh, E., Danesh, Y. R., Varma, A. (eds.), *Fungi as Bioremediators*, *Soil Biology* 32, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Effect of Co-inoculation of Endophytic Fungus *Piriformospora Indica* and *Azospirillum* Strains on Some Physiological Traits, Nutrient Absorption and Grain Yield of Wheat (*Triticum aestivum* cv. Sardari) Under Salt Stress Conditions

Hajinia¹, S. and Zarea^{2*}, M. J.

Abstract

Bacteria of the genus *Azospirillum* and mycorrhizal fungi, well known as plant growth promoting microorganism, are considered to can improve plant tolerance to environmental stresses such as drought and salinity conditions. A factorial randomized complete block design replicated in three times was conducted to test the effects of *Azospirillum* strains and fungus *Piriformospora indica* under increasing salinity levels on wheat seedlings growth, nutrient absorption as well as some physiological traits. Treatments were consisted of five bioinoculants (*P. indica*, salt adapted and non-adapted *Azospirillum* strains, dual inoculation of the both microorganisms and non-inoculated treatment as control) as well as four salinity levels (0.2, 4, 8 and 12 dS m⁻¹). Singly or co-inoculation of wheat with *P. indica* and salt-adapted and non-salt adapted *Azospirillum* strains lead to a higher increase in grain yield, N and P concentrations, protein content as well as total photosynthetic pigments, both under salinity and normal conditions. Plant inoculated with salt-adapted *Azospirillum* spp., under salinity, had the higher nutrient uptake (P and N), protein content as well as total photosynthetic pigments. From obtained result of the present study use of endophytic plant growth promoting microorganism singly or in combination depend on induced salinity levels is different. Under non-salinity dual combination of both microorganisms was more effective in enhancing grain yield compared to other treatments. While under the lower level of salinity (EC=4) microorganisms, both in singly or in combination, had a same effect on grain yield, under severe salinity (EC=12) singly inoculation of each microorganisms had a better performance on grain yield.

Keywords: Saline water irrigation, Plant growth promoting rhizobacteria, *Piriformospora indica*, Wheat

1. Former MSc student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam

2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam

*: Corresponding author Email: mj.zarea@ilam.ac.ir