

## تأثیر باکتری آروسپیریلوم بر ویژگی‌های مرفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط تنش شوری

هادی محمدی بابازیدی<sup>۱\*</sup>، علی حاتمی<sup>۲</sup>، مهرشاد براری<sup>۲</sup>، محمد جواد زارع<sup>۲</sup>، مهران فلک ناز<sup>۳</sup>

۱. گروه زراعت (تکنولوژی بذر) دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
۳. گروه اصلاح نباتات (ژنتیک بیومتری) دانشگاه گیلان، گیلان، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** تنش شوری یکی از عمده عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی می‌باشد. از طرفی کاهش میزان بارندگی و افزایش بی رویه گرما در چند سال گذشته سبب ایجاد تبخیر و تعرق بیشتر و تشدید اثر شوری در کاهش عملکرد گردیده است.

**مواد و روش‌ها:** در این آزمایش اثر باکتری آروسپیریلوم بر خصوصیت‌های مرفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی ریحان در شرایط تنش شوری در قالب طرح فاکتوریل با طرح پایه بلوک های کامل تصادفی ۳ تکرار و ۴ سطح شوری ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ (دسی زیمنس بر متر) و ۲ سطح باکتری حضور و عدم حضور انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش سطوح تنش، بیش تر صفات تحت تأثیر قرار می‌گیرند. به طوری که این گیاه در سطوح پایین تر کم تر ولی در سطوح ۴ دسی زیمنس بر متر شوری و ۶ دسی زیمنس بر متر به شدت کاهش عملکرد نشان داد.

**بحث:** این مطالعه نشان داد افزایش سطوح تنش باعث کاهش ارتفاع وزن خشک ریشه، طول ریشه و وزن زیست توده و نیز سبب کاهش تعداد برگ و شاخه فرعی و کلروفیل a، b و ab شد. هم چنین تنش شوری با افزایش سطوح شوری، میزان نیتروژن و پروتئین و پرولین را افزایش داد.

**نتیجه گیری:** نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که باکتری آروسپیریلوم بر اکثر خصوصیت‌های فیزیولوژیک و مرفولوژیک گیاه در شرایط تنش اثر مثبت داشته و توانسته است با ایجاد شرایط مناسب تر رشد تا حدودی اثر سوء تنش را کنترل نماید اثر متقابل باکتری و تنش شوری نیز بر اکثر صفات معنی دار بود.

**واژه‌های کلیدی:** خاک های بیابانی، اکتینو میسیت‌ها، خواص ضد میکروبی

### مقدمه

مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شود. از کل اراضی زیر کشت دنیا یک صد و پنجاه میلیون هکتار حدود ۲۳ درصد مشکل شوری دارند. بر اساس آمار موجود ۴۰۰ تا ۹۵۰ میلیون هکتار از اراضی دنیا متأثر از شوری هستند (۳). تنش شوری یکی از تنش‌های عمده محدود کننده توسعه کشاورزی در دنیا می‌باشد و رابطه تنگاتنگی با تنش خشکی دارد و کمابیش زمانی به وجود می‌آید که آب آبیاری یا بارندگی به اندازه کافی موجود نباشد تا به وسیله آن از تجمع املاح در منطقه ریشه جلوگیری به عمل آید (۵) گیاهان دارویی از منابع بالقوه عظیم

شوری از مهم ترین عوامل محدود کننده تولید محصول در

نویسنده مسئول: گروه زراعت دانشکده تولیدات گیاهی دانشگاه  
علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان  
پست الکترونیکی: mohammadihadi45@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۱۴

## جداسازی، خالص سازی و شناسایی باکتری های

### جنس *Azospirillum*

برای جداسازی باکتری *Azospirillum spp*، نمونه های گیاهی ذرت از شهرستان کوهدشت (استان خرم آباد) و برای جداسازی سویه های سازگار به شوری نمونه های گیاهی ذرت از خاک های شور استان خوزستان تهیه گردید. پس از تهیه نمونه ها، ریشه ها با آب مقطر شست و شو و به مدت ۱۰ دقیقه در محلول بافر جهت استریل قرار گرفتند. سپس ریشه ها در یک محیط کامل استریل در لوله های آزمایش حاوی محیط نیمه جامد تعدیل شده فاقد نیتروژن قرار داده شدند. پس از اطمینان از رشد باکتری مورد نظر به محیط اختصاصی حاوی کنگورد منتقل و در انکوباتور قرار داده شدند. پس از چند روز از انکوباسیون و با توجه به خصوصیت های ظاهری کلونی های باکتری مورد نظر جداسازی و سپس با بازگشت متوالی سویه های مختلف باکتری جنس *Azospirillum spp* خالص سازی گردید. تشخیص گونه های مختلف باکتری *Azospirillum spp* بر اساس ویژگی های مرفولوژیک و فیزیولوژیک آن ها صورت گرفت.

### تهیه مایه تلقیح باکتری *Azospirillum spp*

کلونی های حاصل از تکثیر سویه باکتری *Azospirillum spp* که در محیط جامد کنگو رد تولید شده بود به محیط نیمه جامد تعدیل شده فاقد نیتروژن منتقل گردید و به مدت ۲-۳ روز در انکوباتور در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و بعد از رشد، آماده تلقیح گردید.

### ضد عفونی بذور مورد استفاده

بذر را به ترتیب در الکل ۷۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و سپس توسط هیپوکلریت سدیم ۲٪ درصد به مدت دو دقیقه ضد عفونی سطحی شدند. سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو گردیدند تا اثر هیپوکلریت سدیم حذف شود.

### تلقیح بذورهای گیاه ریحان با مایه تلقیح

#### *Azospirillum*

برای تلقیح بذور ابتدا به ازاء هر ایزوله باکتری از ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت مایع تعدیل شده فاقد نیتروژن تهیه و سپس بذرها با آن آغشته شدند و به مدت یک ساعت در شیکر قرار گرفتند تا نفوذ باکتری به داخل شیارها و پوست دانه امکان پذیر گردد.

### تجزیه داده های آماری

تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت. آزمون مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی

الهی هستند که با برنامه ریزی صحیح می توانند در مواردی درمانی، دارویی منابع غذایی، آرایشی و بهداشتی بالاخص در مورد اقتصاد بدون نفت جایگاه ویژه ای داشته باشند (۲). ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی است علفی و یک ساله متعلق به خانواده نعنائیان که ایران و افغانستان منشأ این گیاه هستند. *Ocimum* شامل ۲۰ گونه است که در میان آن ها *O. basilicum* مهم ترین گونه اقتصادی می باشد. ریحان علاوه بر اینکه اسانس آن استفاده می شود به عنوان ادویه و سبزی تازه نیز استفاده دارد (۴). یکی از راه کارهای نو جهت افزایش تحمل تنش شوری در گیاهان استفاده از فن آوری های زیستی مانند تلقیح بذر گیاهان زراعی با انواع مختلفی از باکتری هایی که در شرایط تنش می توانند گیاه را حمایت کرده و باعث عدم توقف در رشد آن شوند (۱۰). باکتری آروسپیریلیوم یک باکتری گرم منفی و حاوی گرانول های پلی بی هیدروکسی بوتیریت است. سلول ها مارپیچ و نیم حلقوی بوده که به صورت حلزونی حرکت می کنند. یکی از خصوصیت های آروسپیریلیوم توانایی احیاء نیترات است. این باکتری به طور گسترده ای در خاک و بیرون و درون ریشه ها موجود است. باکتری آروسپیریلیوم با ایجاد رابطه هم زیستی با ریشه بسیاری از گیاهان تحمل گیاه را در برابر شوری افزایش می دهد (۱۲).

## روش کار

این آزمایش در اردیبهشت سال ۱۳۹۰ در گلخانه دانشکده کشاورزی ایلام انجام گرفت. قبل از اجرای آزمایش، نمونه خاک تهیه و خصوصیت های فیزیکی و شیمیایی آن تعیین شد. این پژوهش دارای ۴ تیمار شوری با سطوح صفر، ۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر و دو سطح باکتری آروسپیریلیوم (وجود و عدم وجود آروسپیریلیوم) در نظر گرفته شد. بذر مورد استفاده از پاکان بذر اصفهان با قوه نامیه ۹۹٪ قدرت جوانه زنی ۹۵٪ تهیه شد. عمل استریل خاک با استفاده از آون در دمای ۱۲۰ درجه به مدت ۴ ساعت و ۳ روز متوالی انجام گرفت، هم زمان کود دامی و شن نیز استریل شده و به نسبت ۲: ۱: ۱ خاک و شن و کود ترکیب شد. کف هر گلدان ۳ سوراخ برای زه کش مناسب ایجاد شد. بذر تلقیح شده با باکتری در ۳ ردیف درون هر گلدان کشت گردید بعد از مرحله ۳ تا ۵ برگی گیاه اقدام به تنک کردن شد. در مراحل اولیه رشد تا زمان ۵ برگی گیاه، آبیاری با آب معمولی انجام گردید. برای جلوگیری از شوک به گیاه اعمال تنش به صورت تدریجی انجام گرفت.

گردید. کاهش رشد و ارتفاع گیاه از اثرهای مشهود شوری بر گیاهان رشد یافته تحت تنش شوری می باشد (۱).

### تعداد برگ

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که بین سطوح مختلف تنش شوری و باکتری اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد. بین اثر متقابل باکتری و تنش اختلاف معنی داری وجود نداشت. ضریب تغییرات برای این صفت ۱۵/۶۹ بوده است. مقایسه میانگین سطوح تنش (جدول ۲) بیانگر این بود که بیشترین تعداد برگ در گیاه شاهد با میانگین (۲۲/۸۳) بود که افزایشی ۶۲ درصدی با سطح ۴ شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) در تعداد برگ داشت. جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان از افزایش ۳۵ درصدی تعداد برگ در حضور باکتری نسبت به عدم حضور باکتری داشت.

به نظر می‌رسد کاهش تعداد برگ در گیاه به خصوص در مراحل آغازین رشد به علت کاهش توانایی جذب آب توسط گیاه به واسطه تنش اسمزی حاصل از شوری می‌باشد. افزایش شوری از رشد برگ کاسته و سطح ویژه برگ کاهش می‌یابد و می‌تواند از علت‌های اصلی مختل شدن رشد برگ در تنش شوری باشد در اثر تنش شوری در برگ‌ها پیری زودرسی ایجاد و سبب ریزش آن‌ها شده و به دنبال آن تعداد برگ در گیاه کاهش می‌یابد (۸).

تنش شوری ممکن است از طریق اعمال اثرهای مضر خود بر روی میزان رشد و کاهش تعداد برگ باعث کاهش سطح فتوسنتز کننده شود و در نتیجه گیاه را دچار اختلال کند (۸). قرار دادن گیاهان سورگوم تلقیح شده با *Azospirillum* در معرض تنش اسمزی در سیستم‌های هیدروکربونی اثرهای زیانبار تنش اسمزی مانند پیری برگ در آن‌ها کاهش یافته است (۱۵).

### تعداد شاخه فرعی

در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) صفات نشان داد که اثر سطوح مختلف تنش شوری و باکتری بر تعداد شاخه جانبی در سطح احتمال ۱٪ معنی داری است. همچنین اثر متقابل باکتری و تنش در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی بود. جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که بیشترین تعداد شاخه جانبی (۲۵/۸۳) در سطح اول تنش و کمترین تعداد شاخه جانبی (۹/۳۳) در سطح چهارم تنش شوری حاصل شد، که اختلافی ۶۳ درصدی بین این دو سطح وجود داشت. مطالعه حاضر نشان داد که در شرایط عدم حضور

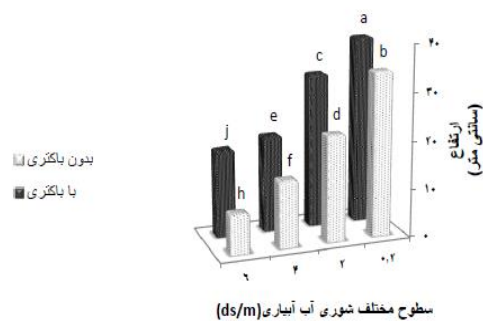
دار (LSD,  $P \leq 0/05$ ) با نرم افزار SAS مورد سنجش قرار گرفت. از نرم افزار Excel جهت رسم نمودارها استفاده شد.

### بحث

#### ارتفاع

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که بین سطوح مختلف تنش و باکتری در سطح یک درصد اختلاف بسیار معنی داری وجود دارد. اثر متقابل تنش شوری و باکتری اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد نشان داد. در بین سطوح مختلف شوری بیشترین ارتفاع بوته (۳۶/۸۳) سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان ارتفاع (۱۳/۳۳ سانتی‌متر) در تیمار سطح ۴ شوری مشاهده می‌شود؛ و همچنین در تیماری که باکتری آروسپیریلوم استفاده گردید.

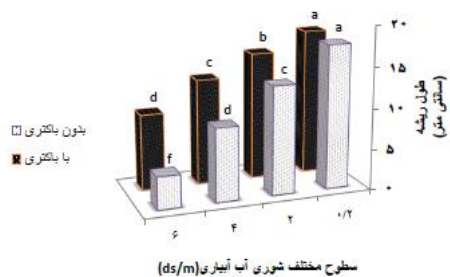
ارتفاع بیش‌تری نسبت به تیمار بدون حضور باکتری حاصل شد. به طوری که حضور باکتری موجب افزایش ۳۶ درصدی ارتفاع نسبت به عدم حضور باکتری شد. نمودار ۱ نشان می‌دهد که بیشترین ارتفاع (۳۶/۳۳ سانتی‌متر) مربوط به سطح اول شوری (شاهد) در حضور باکتری و کمترین ارتفاع (۸/۳۳ سانتی‌متر) مربوط به سطح چهارم شوری در غیاب باکتری می‌باشد.



نمودار ۱ - اثر متقابل باکتری و تنش در صفت ارتفاع بوته

تلقیح گیاه ریحان با باکتری *Azospirillum* از طریق افزایش رشد گیاه موجب تعدیل اثرهای تنش شوری می‌گردد و ارتفاع را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار می‌دهد (۶). در یک تحقیق گلخانه‌ای توسط روستا و همکاران (۶) تلقیح با *Azospirillum* نسبت به شاهد در غالب موارد موجب افزایش ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی در گیاه ذرت و گندم

این عمل موجب عدم توسعه ریشه و چوب پنبه‌ای شدن و در نهایت کاهش رشد و نیز کاهش طول و وزن ریشه شود. به احتمال افزایش طول ریشه در گیاه تلقیح شده با باکتری مربوط به نقش آمین باشد. در بسیاری از مطالعه‌های انجام شده نقش آمین تولیدی توسط *Azospirillum* را در تغییر مرفولوژی ریشه گزارش داده اند. در آزمایش‌های گذشته در آرژانتین، در ذرت تلقیح شده با باکتری افزایش قابل توجهی در توسعه ریشه و زمان برداشت به دست آمد. می‌توان گفت که در گیاه ریحان تحت تنش شوری در تیمارهای تلقیح شده به باکتری در واقع توانایی جذب آب از اعماق بیش‌تر، پتانسیل برگ بیش‌تر و دمای کانوپی کم‌تر منجر به ایجاد یک سیستم ریشه‌ای موفق‌تر که طول ریشه بیش‌تری را دارد حاصل می‌شود (۲۲).



نمودار ۳- اثر متقابل باکتری و تنش شوری در صفت طول ریشه

### وزن خشک ریشه

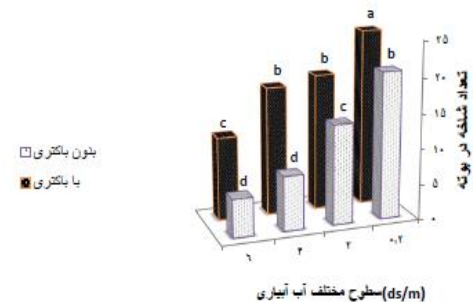
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در جدول (جدول ۱) نشان داد که بین سطوح مختلف تنش شوری در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد، از طرفی بین سطوح باکتری، اثر متقابل تنش شوری و باکتری در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که کم‌ترین وزن ریشه مربوط به سطح چهار شوری با میانگین ۰/۵۴ بوده که نسبت به سطح شاهد کاهشی ۷۲ درصدی را نشان می‌دهد در این خصوص اثر باکتری بر وزن ریشه موجب افزایش ۳۱/۵ درصدی وزن خشک ریشه شد گردید. با توجه به نمودار (۴) اثر متقابل تنش شوری و باکتری بیش‌ترین وزن ریشه مربوط به سطح اول شوری (شاهد) و حضور باکتری با میانگین ۲ گرم است. سطح چهارم شوری در عدم حضور باکتری باعث ایجاد کم‌ترین وزن ریشه گردید. این در صورتی است که حضور باکتری افزایش ۶۰ درصدی وزن ریشه را به دنبال داشت. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که تنش شوری موجب

باکتری میانگین تعداد شاخه جانبی ۱۴/۴۱ می‌باشد، که حضور باکتری باعث افزایش ۳۳ درصدی تعداد شاخه جانبی در گیاه ریحان گردید. مطالعه‌های نشان داده که خسارت شوری در گیاهان از طریق اثر اسمزی است که معادل کاهش میزان آب، اثرسمیت ویژه یون‌ها و اختلال در جذب عناصر غذایی می‌باشد (۲۲).

### طول ریشه

جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که بین سطوح مختلف تنش شوری و باکتری هم‌چنین اثر متقابل باکتری و تنش در سطح احتمال ۱٪ اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد. جدول مقایسه میانگین داده‌ها (۲-۴) نشان داد که بیش‌ترین طول ریشه (۱۷/۸۳ سانتی‌متر) مربوط به سطح اول شوری و کم‌ترین طول ریشه (۶/۸۳ سانتی‌متر) مربوط به سطح ۴ شوری می‌باشد.

در جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داده شد که باکتری آزوسپریلیوم به میزان ۲۹ درصد طول ریشه را نسبت به زمانی که باکتری حضور نداشت افزایش داد. نمودار (۳) نشان می‌دهد که بیش‌ترین اثر متقابل (۱۷/۶۶) مربوط به سطح اول شوری با باکتری و کم‌ترین اثر متقابل مربوط به سطح چهار شوری بدون حضور باکتری می‌باشد هم‌چنین طول ریشه در حضور باکتری رشدی ۲۹ درصدی نسبت به



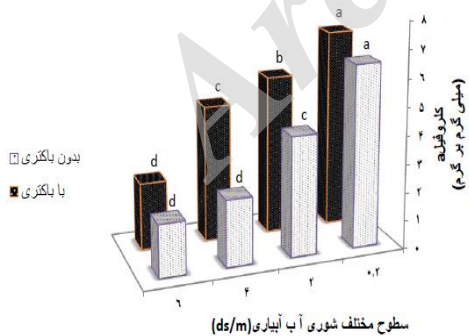
نمودار (۲) اثر متقابل باکتری و تنش شوری در صفت تعداد شاخه فرعی

عدم حضور باکتری نشان داد. در یک تحقیق گلخانه‌ای توسط روستا و همکاران (۶) تلقیح با باکتری *Azospirillum* نسبت به شاهد در غالب موارد افزایش طول ریشه و وزن ریشه در گیاهان ذرت و گندم گزارش گردید. با افزایش غلظت شوری در مراحل رشد گیاه از میزان توسعه ریشه کاسته می‌شود، در صورتی که گیاه بخواهد از مکانیسم‌های اجتناب که شامل تراوش یون‌ها به بیرون ریشه، جذب توسط سلول‌های پارانشیمی آوند چوبی، سیستم مبادله بین آوند آبکش و توزیع شیب یونی بین بخش‌هایی در حال رشد استفاده کند باید نمک موجود در سیتوپلاسم خود را در حد پائین نگه دارد که

که افزایش شوری در محیط آب و خاک سبب کاهش شدید رشد اندام هوایی گیاه می‌شود. گیاه تلقیح شده با باکتری آرسپیریلیوم دارای وزن خشک اندام هوایی بیش‌تری نسبت به گیاه تلقیح نشده ذرت بود (۱۹).

### وزن خشک گیاه

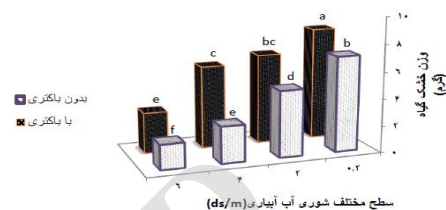
جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد که سطوح مختلف تنش و باکتری و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک گیاه در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که سطح ۴ شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) با میانگین ۲/۴۳ گرم به‌عنوان کمترین وزن خشک بوته کاهشی ۶۸/۵ درصدی نسبت به سطح شاهد داشت از طرفی اثر باکتری بر وزن خشک گیاه ریحان باعث افزایش ۳۲ درصدی نسبت به عدم حضور باکتری داشت این افزایش ۳۲ درصدی وزن خشک گیاه توسط باکتری نشان اثر مثبت حضور باکتری جهت جبران بخشی از خسارت ۶۸/۵ درصدی ناشی از تنش شوری می‌باشد. با توجه به جدول مقایسه میانگین (۲-۴) وزن خشک گیاه تحت اثر متقابل تنش × باکتری قرار گرفت. آن‌چه از نمودار (۵) استنباط می‌شود اثر مثبت باکتری در مقابله با شوری است به‌طوری‌که بیش‌ترین میانگین وزن خشک گیاه (۸/۳۶ گرم) مربوط به اثر متقابل سطح اول شوری (شاهد) در حضور باکتری است. این در صورتی است که تنش شوری در سطح چهار (۶ دسی‌زیمنس بر متر) در عدم حضور باکتری کم‌ترین وزن خشک گیاه با میانگین ۱/۸۴ گرم است و سطح چهارم شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) در حضور باکتری دارای روند افزایشی که وزن خشک گیاه رشدی ۳۸ درصدی را نشان می‌دهد.



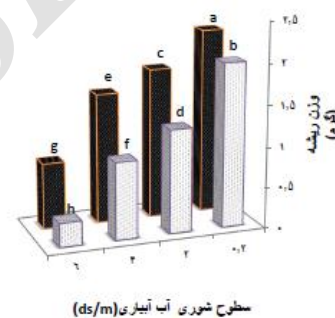
### کلروفیل a

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) صفات نشان داد که بین سطوح مختلف تنش شوری و باکتری و اثر متقابل نیز در سطح احتمال ۱٪ برای کلروفیل a اختلاف بسیار معنی داری وجود دارد. با افزایش سطوح شوری کلروفیل a کاهش

کاهش وزن ریشه شد. در تنش‌های شوری مربوط به سطوح بالای تنش، این کاهش چشم‌گیر بود. هم‌چنین در این تحقیق گزارش گردید که باکتری آرسپیریلیوم با ایجاد شرایط مناسب و بهبود رشد موجب افزایش رشد در ریشه گردید. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج تحقیق شاورت و همکاران (۲۳) مطابقت داشت.



نمودار ۴- اثرهای متقابل سطوح تنش شوری و باکتری



نمودار ۵- اثر متقابل تنش شوری و باکتری بر وزن خشک گیاه

### وزن زیست توده

تجزیه واریانس داده‌های زیست توده (جدول ۱) نشان داد که سطوح شوری و تیمار باکتری در سطح یک در صد معنی‌دار می‌باشد اما اثرهای متقابل این دو معنی‌دار نبود (جدول ۲). ضریب تغییرهای برای این کمیت ۱۹/۵۷ بوده است. مقایسه میانگین داده‌ها (۲) بیانگر این است که کم‌ترین زیست توده مربوط به شدیدترین شرایط شوری یعنی (۶ دسی‌زیمنس بر متر) و برابر (۵/۰۷ گرم) بوده است اما در شرایط بدون تنش مقدار آن حدود ۱/۵ درصد افزایش یافته است (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها برای سطوح باکتری عملکرد زیست توده را برای شرایط حضور باکتری (۱۱/۴) و برای شرایط غیر باکتری (۶/۹۸) با افزایش ۶۳ درصدی نشان داد. کاهش وزن اندام هوایی ممکن است به دلیل کاهش جذب در اثر سمیت ویژه یون‌ها و اختلال در جذب عناصر غذایی نیز باشد که این مطلب توسط صفر نژاد و همکاران (۲۱)، پینلس و همکاران (۱۸) تأیید شده است. شهاب و همکاران (۲۳) گزارش کردند



باکتری و نیز تنش وجود دارد. هم‌چنین این جدول نشان داد که بین اثر متقابل باکتری \* تنش اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. در بین سطوح مختلف شوری بیش‌ترین میزان کلروفیل کل (۱۰/۹) مربوط به تیمار شاهد و کم‌ترین میزان کلروفیل (۳/۳۲) مربوط به سطح ۴ شوری بود. هم‌چنین وجود باکتری سبب افزایش ۱۸ درصدی کلروفیل کل نسبت به شرایط بدون باکتری شد. در شوری‌های ضعیف کاهش فتوسنتز به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و در شوری‌های قوی به دلیل واکنش‌های تخریبی و بیوشیمیایی است (۱۵). شوری موجب تخریب ساختار کلروپلاست‌ها و عدم پایداری ترکیب‌های رنگیزه-پروتئین می‌شود (۲۴). در اثر شوری میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. هم‌چنین، بعضی از مواد تنظیم‌کننده رشد نظیر آبسزیک اسید (ABA)، اتیلن و هتروکسین موجب تحریک فعالیت این آنزیم می‌شوند و در نتیجه در شرایط تنش غلظت این مواد افزایش می‌یابند (۲۰).

### محتوای کلروفیل

نتایج حاصل جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان می‌دهد که سطوح مختلف تنش شوری در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. اما برای سطوح باکتری و اثرهای متقابل باکتری \* تنش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه به نتایج حاصل از جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) مشاهده می‌شود که کم‌ترین میزان کلروفیل برگ مربوط به سطح چهار شوری یعنی (۶ دسی‌زیمنس بر متر) برابر (۱۷/۶۱) بوده است اما در شرایط بدون تنش شوری مقدار آن حدود ۴۳٪ افزایش یافته است. کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش به علت اختلال در جذب عناصر غذایی ضروری در سنتز سنگریزه‌های فتوسنتزی می‌باشد. این اختلال می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل باشد. نتایج فعالیت‌های پژوهشگران نشان داده است که با کاهش پتانسیل آب برگ گندم فعالیت کلروفیل‌از تحریک و به‌طور ناگهانی زیاد می‌شود. که خود مؤید این مسئله است. افزایش برخی از مواد تنظیم‌کننده رشد نظیر اتیلن و آبسزیک اسید در اثر تنش فعالیت کلروفیل‌از تحریک و باعث تجزیه کلروفیل می‌شود (۱۷).

### پرولین

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها جدول (جدول ۱) نشان داد که اختلال معنی‌داری در سطح ۱٪ بین سطوح مختلف تنش و سطوح باکتری و نیز اثر متقابل تنش \* باکتری وجود دارد مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش سطوح

یافت به طوری‌که بیشترین کلروفیل a (۶/۷۶) مربوط به تیمار شاهد یعنی تیمار بدون تنش شوری بود. و نیز کم‌ترین کلروفیل a (۲/۱۲) در سطح ۴ شوری مشاهده می‌شود. از طرفی مشخص گردید که تیمار مربوط به حضور باکتری به میزان ۲۱ درصد نسبت به عدم حضور باکتری کلروفیل a را افزایش داد. نمودار (۶) نشان داد که بیش‌ترین کلروفیل a مربوط به اثر متقابل سطح اول شوری با باکتری (۵/۷۰) می‌باشد و کم‌ترین کلروفیل a (۱/۸۶) مربوط به سطح چهارم شوری بدون باکتری می‌باشد. در تنش بیش‌تر کلروفیل a کم‌تر و نیز تنش کم‌تر کلروفیل a بیش‌تری مشاهده شد. کاهش میزان کلروفیل تحت تنش شوری می‌تواند ناشی از وضعیت نامناسب رشد گیاه باشد. افزایش سطوح شوری موجب ناکارآمدی برگ‌ها، کاهش انجام فتوسنتز و تشدید صدمات وارد به گیاه را شامل شود (۱۳). از طرفی سمیت یون سدیم و کلر می‌تواند موجب آسیب به غشای پلاسمایی، اندامک سلولی و اختلال در فتوسنتز و تنش سلولی را شامل شود (۱). کاهش میزان کلروفیل a در شرایط تنش به احتمال به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن می‌باشد (۱)، هم‌چنین در گزارشی توسط هانگ و دردمن ۱۹۹۵ در گیاه گشنیز، گیاه تلقیح شده با باکتری دارای کلروفیل a بیش‌تری نسبت به گیاه تلقیح نشده داشت. تولید مواد تنظیم‌کننده رشد توسط باکتری‌های افزایشنده رشد گیاه می‌تواند یکی از موجه‌ترین سازگاری‌های پیشنهادی برای توضیح تأثیر این باکتری بر افزایش میزان کلروفیل باشد (۹).

### کلروفیل b

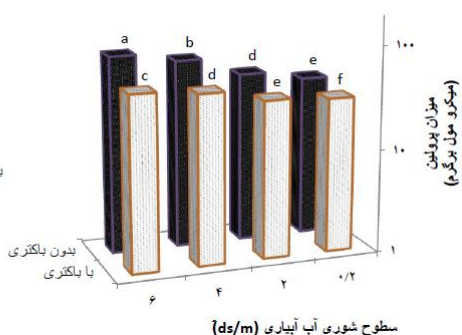
جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) صفات نشان می‌دهد که در سطوح مختلف تنش برای کلروفیل b در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود دارد. هم‌چنین در جدول مشاهده می‌شود که حضور باکتری و نیز اثر متقابل باکتری \* تنش اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داده می‌شود که بیش‌ترین کلروفیل b (۴/۱۴) مربوط به سطح اول تنش و کم‌ترین میزان کلروفیل (۱/۲) مربوط به سطح ۴ شوری می‌باشد (۹). تحت شرایط تنش شوری افزایش غلظت املاح به‌خصوص سدیم و کلر در محیط ریشه موجب کاهش پتانسیل اسمزی و در نتیجه کاهش جذب آب توسط گیاه می‌گردد (۱۴).

### کلروفیل a+b

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها جدول (جدول ۱) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ بین سطوح مختلف

است. جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین گیاه در بین سطوح شوری (۳۳/۸۵) مربوط به سطح ۴ شوری می‌باشد و کمترین مقدار پروتئین (۱۴/۵۸) مربوط به تیمار شاهد بود. از طرفی در تیمار استفاده از باکتری مقدار پروتئین نسبت به تیمار عدم حضور باکتری افزایش یافت در واقع باکتری به میزان ۲۴ درصد نسبت به تیمار بدون باکتری پروتئین را افزایش داد. نمودار (۸) نشان داد که در کلیه سطوح تنش شوری باکتری باعث افزایش میزان نیتروژن می‌شود. تثبیت نیتروژن به‌عنوان اولین مکانیسم جهت توصیف بهبود در رشد گیاه به دنبال تلقیح با آروسپیریلیوم پیشنهاد شده بود که با این حال چندین سال بعد، مطالعه‌ها نشان دادند که سهم نیتروژن تثبیت شده توسط آروسپیریلیوم برای گیاهان بین ۵ تا ۱۸ درصد افزایش در کل گیاه می‌باشد (۱۱).

تأمین بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه نقش داشته است ولی نمی‌تواند جایگزین کامل کود شیمیایی نیتروژن شود. در پژوهشی عمو آقایی و همکاران اثر تلقیح با باکتری آروسپیریلیوم برزیلنس *brezilens* در گندم در شرایط گلخانه بررسی کردند نتایج آن‌ها نشان داد که تلقیح با باکتری سبب افزایش محتوای پروتئین در ارقام گندم شد. مستأجران و همکاران (۱۳۸۶) میزان عملکرد، مقدار پروتئین و درصد رسوب پروتئین دانه سه رقم گندم زراعی تحت تیمار شوری آب و آبیاری را به‌وسیله مایه تلقیح آروسپیریلیوم *brezilens* بررسی کردند، نتایج این پژوهش نشان داد شوری موجب افزایش میزان پروتئین و رسوب پروتئین می‌شود (۷). در گیاهان، تلقیح آروسپیریلیوم کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری شده را در مقایسه به گیاهان تلقیح نشده افزایش می‌دهد. در هر صورت گیاه تلقیح شده با باکتری آروسپیریلیوم تحت شرایط شور با تجمع مواد تنظیم‌کننده اسمزی به‌احتمال برای تحمل به شوری مقاوم‌تر می‌باشد.



نمودار ۷- اثر متقابل باکتری \* تنش شوری بر میزان پروتئین

شوری بر میزان تجمع این ترکیب دریافت سبز افزوده می‌شود به طوری که در تیمار سطح ۴ شوری بیشترین میزان (۶۷/۳۰ میکرون بر گرم وزن تازه) و کمترین میزان (۳۳/۶۲) در تیمار شاهد حاصل گردید. هم‌چنین مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) برای حضور باکتری (۳۹/۵۶) و برای عدم حضور باکتری (۵۹/۱۲) می‌باشد که این استنباط نشان می‌دهد که باکتری با ایجاد شرایط مناسب رشد برای گیاه تنش شوری را به میزان ۳۳ درصد کنترل نموده است. نمودار (۸) نشان داد که در کلیه سطوح تنش شوری باکتری باعث افزایش میزان نیتروژن می‌شود. تثبیت نیتروژن به‌عنوان اولین مکانیسم جهت توصیف بهبود رشد گیاه به دنبال تلقیح با آروسپیریلیوم پیشنهاد شده بود که با این حال چندین سال بعد، مطالعه‌ها نشان دادند که سهم نیتروژن تثبیت شده توسط آروسپیریلیوم برای گیاهان بین ۵ تا ۱۸ درصد افزایش در کل گیاه می‌باشد (۱۱).

### میزان نیتروژن

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که سطوح مختلف تنش شوری و سطوح باکتری در سطح ۱٪ بسیار معنی‌دار بوده اند، هم‌چنین اثر متقابل باکتری \* تنش شوری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) بیانگر این است که کمترین میزان نیتروژن مربوط به تیمار شاهد و در سطح چهار شوری مقدار نیتروژن دارای افزایش ۵۶ درصدی بود. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) برای سطوح باکتری میزان نیتروژن را برای شرایط حضور باکتری (۴/۴) و برای شرایط غیر باکتری ۲۴ در صد کاهش نیتروژن را نشان می‌دهد. نمودار (۸) نشان داد که در کلیه سطوح تنش شوری باکتری باعث افزایش میزان نیتروژن می‌شود. تثبیت نیتروژن به‌عنوان اولین مکانیسم جهت توصیف بهبود رشد گیاه به‌دنبال تلقیح با آروسپیریلیوم پیشنهاد شده بود که با این حال چندین سال بعد، مطالعه‌ها نشان دادند که سهم نیتروژن تثبیت شده توسط آروسپیریلیوم برای گیاهان بین ۵ تا ۱۸ درصد افزایش در کل گیاه می‌باشد (۱۱). از مجموع مطالعه‌های انجام شده در مورد تثبیت نیتروژن توسط باکتری آروسپیریلیوم این‌چنین می‌تواند نتیجه گرفت که این باکتری در تأمین بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه نقش داشته است ولی نمی‌تواند جایگزین کامل کود شیمیایی نیتروژن شود.

### پروتئین

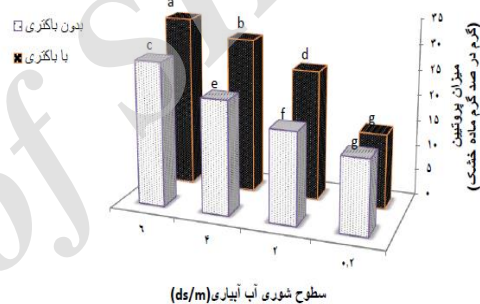
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌های (جدول ۱) نشان داد که اثر سطوح مختلف تنش شوری و باکتری هم‌چنین اثر متقابل تنش \* باکتری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار

## سپاسگزاری

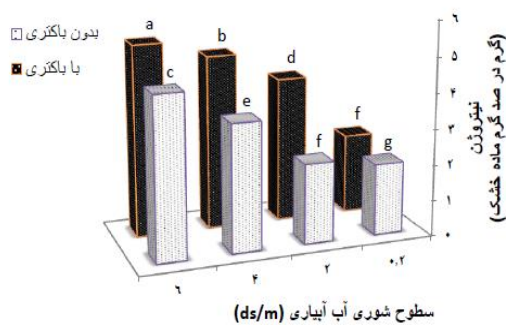
بدین وسیله از حمایت های مالی، فنی و علمی دانشگاه ایلام و اساتید گرامی تشکر و قدردانی می شود.

## نتیجه گیری

نتایج این آزمایش نشان می دهد که تنش شوری باعث کاهش عملکرد می شود. به طوری که هر چه به شدت این تنش افزوده می شود کاهش رشد چشم گیر تر می شود. در این آزمایش اثر مثبت باکتری آزوسپیریلوم در ایجاد شرایط مناسب تر رشد برای گیاه ریحان در شرایط تنش به وضوح نمایان می باشد، به طوری که اثر متقابل باکتری و تنش شوری در اکثر صفات معنی دار می باشد.



نمودار ۸- اثر متقابل باکتری \* تنش شوری بر نیتروژن



نمودار ۹- اثر متقابل باکتری \* تنش شوری بر پروتئین



جدول ۱- تجزیه واریانس دادها اثر تنش شوری و باکتری بر گیاه ریحان

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع	طول ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک گیاه	تعداد شاخه جانبی	تعداد برگ	وزن زیست توده
تکرار	۲	۱۲۱/۷۹	۳/۰۴	۰/۴۵	۱/۵۰	۲۶/۲۹	۲۶/۷۹	۴/۴۳
باکتری	۱	۶۴۰/۶۶**	۱۲۱/۵۰**	۱/۷۲*	۲۱/۸۴۲*	۳۰/۱۰۴**	۲۶۰/۰۴**	۱۲۱/۵۶**
تنش شوری	۳	۵۷۹/۱۶**	۱۳۰/۲۸**	۲/۱۷**	۳۰**	۲۹۲/۱۵**	۲۲۱/۸۱**	۶۷/۴۲**
باکتری×تنش	۳	۳۲/۳۳*	۳۵/۲۷**	۰/۶۴*	۱/۵۵**	۱۸/۲۶*	ns۱۰/۳۷	ns۳/۵۷
خطای آزمایشی	۱۴	۷/۲۲	۱/۹۴	۰/۱۰۴	۴/۷۹	۳/۴۳	۵/۶۹	۳/۲۷
ضریب تغییرهای	-	۱۰/۷۸	۱۰/۳۹	۲۲/۷۴	۱۱/۴۷	۱۰/۳۱	۱۵/۶۹	۱۹/۵۷

ns، \*\* و \*\*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و غیر معنی دار

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس دادها اثر تنش شوری و باکتری بر گیاه ریحان

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a + b	محتوای کلروفیل	پرولین	نیتروژن	پروتئین	اسانس
تکرار	۲	۱/۰۵	۰/۱۳	۱/۶۳	۳۳	۱۴/۷۷	۰/۱۳	۵/۱۸	۰/۰۳۷
باکتری	۱	۵/۳۹**	۱/۷۱ns	۱۰/۹۱**	۵۷/۷۱ns	۲۲۹۵/۵۴**	۷/۰۷**	۲۷۶/۳۳**	۰/۰۳۶**
تنش شوری	۳	۲۳/۴۳**	۱۷/۰۹**	۶۳/۰۴**	۱۸۲/۷۶**	۱۴۹۳/۴۹**	۱۰/۰۴**	**۳۹۳/۱۴	**۰/۲۴۸
باکتری×تنش	۳	۲/۴۷**	۰/۱۸**	۲/۹۶ns	۹/۵۷ns	۵۲۲/۴۶**	۰/۹۰**	۳۵/۱۷**	ns۰/۰۰۸۱
خطای آزمایشی	۱۴	۰/۳	۰/۵۶	۰/۹۹	۱۵/۹۳	۲۲/۳۲	۰/۵	۲/۱۵	۰/۳۸
ضریب تغییرهای	-	۱۲/۶۴	۲۹/۲۷	۱۴/۳۷	۱۵/۹۸	۹/۵۷	۶/۰۹	۶/۰۹	۳/۳۷

ns، \*\* و \*\*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و غیر معنی دار

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تنش شوری و باکتری بر گیاه ریحان

منابع تیمار	ارتفاع (سانتی متر)	طول ریشه (سانتی متر)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک گیاه (گرم)	تعداد شاخه جانبی در بوته	تعداد برگ در بوته	وزن زیست توده (گرم)
۰/۲	۳۹/۳۳ <sup>a</sup>	۱۷/۸۳ <sup>a</sup>	۱/۹۱ <sup>a</sup>	۷/۷۲ <sup>a</sup>	۲۵/۸۳ <sup>a</sup>	۲۲/۸۳ <sup>a</sup>	۱۳ <sup>a</sup>
۲	۲۷/۳۳ <sup>b</sup>	۱۴/۵ <sup>b</sup>	۱/۶۵ <sup>a</sup>	۵/۸ <sup>b</sup>	۲۰/۵ <sup>b</sup>	۱۶/۶۶ <sup>b</sup>	۱۰/۴۵ <sup>b</sup>
۴	۲۲/۱۶ <sup>c</sup>	۱۴/۵ <sup>b</sup>	۱/۵۶ <sup>a</sup>	۴/۴۲ <sup>c</sup>	۱۶/۱۶ <sup>c</sup>	۱۲/۸۳ <sup>c</sup>	۸/۴۲ <sup>c</sup>
۶	۱۳/۳۳ <sup>d</sup>	۶/۸۳ <sup>c</sup>	۰/۵۴ <sup>b</sup>	۲/۴۳ <sup>d</sup>	۹/۳۳ <sup>d</sup>	۸/۵ <sup>d</sup>	۵/۰۷ <sup>d</sup>
سطوح باکتری							
حضور	۳۰/۸۰ <sup>a</sup>	۱۵/۶۶ <sup>a</sup>	۱/۶۸ <sup>a</sup>	۶/۰۴ <sup>a</sup>	۲۱/۵ <sup>a</sup>	۱۸/۵ <sup>a</sup>	۱۱/۴ <sup>a</sup>
عدم حضور	۱۹/۷۵ <sup>b</sup>	۱۱/۱۶ <sup>b</sup>	۱/۱۵ <sup>b</sup>	۴/۱ <sup>b</sup>	۱۴/۴۱ <sup>b</sup>	۱۱/۹ <sup>b</sup>	۶/۹۸ <sup>b</sup>

ns، \*\* و \*\*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و غیر معنی دار

تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی دوره هشتم شماره بیست و نهم - تاثیر باکتری ...

ادامه جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تنش شوری و باکتری بر گیاه ریحان								
اسانس (در صد)	پروتئین (گرم در صد گرم ماده خشک)	نیتروژن (گرم در صد گرم ماده خشک)	پرولین (میکرو مول بر گرم)	محتوای کلروفیل (در صد)	کلروفیل a+b (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم)	منابع تیمار سطوح شوری(دسی زیمنس بر متر)
۰/۳۷۵ <sup>d</sup>	۱۴/۵۸ <sup>d</sup>	۲/۳۳ <sup>c</sup>	۳۳/۶۲ <sup>d</sup>	۳۰/۹۹ <sup>a</sup>	۱۰/۹ <sup>a</sup>	۴/۱۴ <sup>a</sup>	۶/۷۶ <sup>a</sup>	۰/۲
۰/۵۰۱ <sup>c</sup>	۲۱/۶۶ <sup>c</sup>	۳/۴۶ <sup>d</sup>	۳۸/۸۷ <sup>c</sup>	۲۵/۸۹ <sup>b</sup>	۷/۸۷ <sup>b</sup>	۲/۹۳ <sup>b</sup>	۴/۹۴ <sup>b</sup>	۲
۰/۶۰۱ <sup>b</sup>	۲۶/۳۲ <sup>b</sup>	۴/۲۱ <sup>b</sup>	۵۷/۵۵ <sup>b</sup>	۲۵/۳۶ <sup>b</sup>	۵/۵۷ <sup>c</sup>	۱/۹۷ <sup>c</sup>	۳/۵۹ <sup>c</sup>	۴
۰/۸۵۵ <sup>a</sup>	۳۳/۸۵ <sup>a</sup>	۵/۴۱ <sup>a</sup>	۶۷/۳ <sup>a</sup>	۱۷/۶۱ <sup>c</sup>	۳/۳۲ <sup>d</sup>	۱/۲ <sup>c</sup>	۲/۱۲ <sup>d</sup>	۶
								سطوح باکتری
۰/۵۴۴ <sup>b</sup>	۲۷/۵ <sup>a</sup>	۴/۴ <sup>a</sup>	۳۹/۵۶ <sup>b</sup>	۲۶/۶۹ <sup>a</sup>	۷/۵۹ <sup>a</sup>	۲/۷۶ <sup>a</sup>	۴/۸۳ <sup>a</sup>	حضور
۰/۶۲۲ <sup>a</sup>	۲۰/۷ <sup>b</sup>	۳/۳۱ <sup>b</sup>	۵۹/۱۲ <sup>a</sup>	۲۳/۲۳ <sup>b</sup>	۶/۲۴ <sup>b</sup>	۲/۳۶ <sup>b</sup>	۳/۸۳ <sup>b</sup>	عدم حضور
**، ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۵، ۰/۱ و غیر معنی دار								

## منابع

۱. امام ی. نیک نژاد م. سفید کن ف. حمدی ل. م. برازنده م. عسگری ف. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، جلد اول، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، ۲۰۰ صفحه. ۱۳۷۷.
۲. آئینه چی د ی. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۱۹۵. ۱۳۷۰.
۳. پوستینی ک. واکنش های فیزیولوژیکی دو رقم گندم نسبت به تنش شوری. مجله علوم کشاورزی ایران، ۲۶ (۲): ۵۷-۶۳. ۱۳۷۴.
۴. حسنی ع ر. اثرهای تنش آبی بر برخی خصوصیت های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه ریحان، مجله دانش کشاورزی، ۱۲: ۴۷-۵۹، ۱۳۸۱.
۵. حیدری م. بررسی مقاومت، عملکرد و مراحل نمو سه رقم گندم تیپ بهاره تحت مقادیر مختلف تنش شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز، مجتمع عالی و پژوهش کشاورزی رامین، ۱۱۳ صفحه. ۱۳۷۹.
۶. روستا م. بررسی فراوانی و فعالیت *Azospirillum* در برخی از خاک های ایران، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، تهران، ایران، ۱۳۷۵.
۷. مستاجران ا. عموقائی ر. امتیازی گ. اثر *Azospirillum* و شوری آب آبیاری بر عملکرد دانه و میزان پروتئین ارقام زراعی گندم، صفحات ۶۴-۵۱، ۱۳۸۶.
۸. یزدی م. ارزیابی تحمل به شوری ارقام گلرنگ با استفاده از آب شور. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد. ۱۳۸۳.
9. Asharf M, Foolad M R. Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, article in press, 2006.
10. Bacilio M, Rodry' guez H, Moreno M, Hernandez J P, Bashan Y, Mitigation salt stress in wheat seedlings by a gfp-tagged *Azospirillum lipoferum* Biol of Fert. Soils, 2004;40:188-193.
11. Bashan Y, Holguin G, *Azospirillum* plant relationships: environmental and physiological advances. 1997; Can. J. Microbiol, 43:103-121
12. Dobreiner J, Balows, H G, Truper M, Dworkin W, Harder, K H, The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. In The Prokaryotes Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1990; 28:2236-2253,.
13. Hung J, Redmann R E, Solute adjustment to salinity and calcium supply in cultivated and wild barley. Journal Plant Nutr, 1995;18:1371-1382
14. Katerji N, VanHoom J W, Hamdy A, Karam F, Mastrorill M. Effect of salinity on germination. Agriculture Water Management, 2000;26: 81-91.
15. Lauchli, A. Salt exclusion, an adaptation of legumes for crops ~d pastures under saline conditions. 1984;171-187.
16. Tripathi Mishel B M. Tripathi P. Salinity stress response in the plant growth promoting rhizobacter *Azospirillum* Spp. J. Biosci, 1998;23(4):463-71
17. Morgan J M. Osmoregulation and water stress in higher plant. Ann Rev Plant Physiol, 1984;35:299.
18. Penuelas J. Isla R. Filella I. Araus J L. Visible and near- infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. Crop Sci. 1997;37: 198-202.
19. Pham G H. Singh A. Malla R. Kumari R. Prasad R. Sachdev M. Rexer K H. Kost G. Luis P. Kaldorf, M. Buscot F. Harrmann S. Peskan T. Oelmuller R. Saxena A K. Declerck, S. Mittag M. Stabentheiner E. Hehl S. Varma A. Interaction of *Piriformospora indica* with diverse microorganisms and plants. In: Varma A, Abbott L, Werner D, Hampp R (eds) Plant surface- microbiology. Springer, Heidelberg, 2004;237-265,
20. Rosa-Ibarra M. Maiti R. Biochemical mechanism in glossy sorghum lines for resistance to salinity stress. Journal, Plant Physiol, 1995;144: 515,.
21. Safarnejad A. Collin H. Bruce K D. McNeillly T. Characterization of alfalfa following in vitro selection for salt tolerance. Euphytica, 1996;92: 55-61.
22. Shabala S. Babourina O. Newman I. Ionspecific mechanisms of osmoregulation in bean mesophyll cells. Journal of Experimental Botany 2000;51: 1243-1253.
23. Shalhevet J. Plant under salt and water stress. In: Plant adaptation to environmental stress (Eds: L. Fowden, T. Mansfield, and J. Stoddard). 1993;133-1554.
24. Singh A K. Dobej R S. Changes in chlorophyll a and b content and activities of photosystems I and II in rice seedling induced by NaCl. Journal Photosynthetica, 1995;31: 489,.