The Effect of Phosphate-Solubilizing Bacteria in Availability of Phosphorus from Rock Phosphate and Improving Pistachio Seedlings Growth at Different Levels of Irrigation Water Salinity

Introduction

Phosphorus (P) is one of the most important nutritional elements of plants and it is necessary for the development of plant roots. Due to the high cost of chemical fertilizers, it is important to use cheap sources such as rock phosphate (RP) to supply P needed by plants. The efficiency of RP is low and its use alone cannot supply the P required by the plant. One of the ways to increase the efficiency of RP is to use phosphate solubilizing bacteria (PSB). Considering the salinity of soil and irrigation water in many pistachio-growing areas of Iran, the use of salt-resistant PSB can increase their resistance to salt stress in addition to supplying the P required by pistachios.

Materials and Methods

In order to investigate the role of PSB in supplying the required P of pistachio seedlings under saline conditions, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design with 3 replications in greenhouse conditions. The factors included PSB at three levels [control (PSB_0), *Pseudomonas sp. 1* (PSB_1) and *Pseudomonas sp. 2* (PSB_2)], RP at two levels (0 and 30 mg P from rock RP) and irrigation water salinity at three levels (0, 5 and 10 dS/m). The bacteria used in this study were able to produce ACC-deaminase, indole acetic acid and dissolve tricalcium phosphate in vitro. For inoculation, inoculum containing each bacterium with a population of 10^8 cells/ml was prepared in the nutrient broth medium and each pistachio seed (*P. vera* L. cv. Badami) was inoculated with 500 µL of bacterial inoculum. The plants were irrigated with non-saline water for four weeks and then with saline water until harvesting based on experimental treatments. During the growth period, the soil moisture of the pots was kept at about 80% of the field capacity by weight method. Finally, shoot and root sampling was performed and various characteristics such as shoot and root dry weight, chlorophyll, carotenoids, proline, soluble sugars, RWC, MSI and phosphorus as well as sodium concentrations were measured. Analysis of variance of traits was performed using SAS software and the means were compared using the LSD method with a probability level of $P \leq 0.05$.

Results and Discussion

The results showed that water salinity decreased the dry weight of shoot and root, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, relative water content (RWC) and membrane stability index (MSI) of leaf and p concentration of shoot and root of pistachio seedlings. Auxin produced by bacteria can directly increase cell division and growth or indirectly increase ACC-deaminase production. On the other hand, proline, soluble sugars and sodium were accumulated in the leaves of seedlings with increasing water salinity. According to the results, although the use of RP alone did not show significant effect on the studied indicators, its simultaneous use with PSB had the greatest role in improving the growth of pistachio seedlings, especially in saline conditions. The highest amount of dry weight of shoot (1.89 g/plant) and root (1.59 g/plant), chlorophyll b (1.30 mg/g fresh weight), carotenoids (1.35 mg/g fresh weight), soluble sugars (59.1 mg/g fresh weight), proline (36.7 mg/g fresh weight), leaf RWC (91 %), leaf MSI (84%) and the P concentration of shoot (0.39 %) and root (0.35 %) was obtained from the simultaneous application of RP and PSB (especially PSB_2) in non-saline conditions. The PSB increase soil P availability by reducing of soil pH by release of protons and organic acids and mineralization by production of acid phosphatases. Bacteria, in addition to increasing soil P availability, improve phosphorus uptake and chlorophyll content in plants by affecting root morphology and its development in soil. On the other hand, inoculation with PSB (both separately and together with rock phosphate) reduced sodium accumulation in the aerial parts and roots of pistachio seedlings.

Conclusion

Unlike pistachio trees, the tolerance of pistachio seedlings to salt stress is low. According to the results, the salinity symptoms were visible in the pistachio seedling leaves at the water salinity level of 10 dS/m, which caused the drying of the lower leaves and the burning of the edges of the young leaves. On the other hand, although the application of RP alone did not have significant effect on increasing the tolerance of plants to salt stress, the simultaneous use of RP with PSB increased growth, the accumulation of proline and soluble sugars, the concentration of chlorophyll and carotenoids, the amount of RWC and MSI and P concentration of pistachio seedlings, especially in saline conditions. Therefore, the use of PSB can help the growth and establishment of pistachio seedlings under salinity stress conditions and increase the efficiency of RP and supply P needed by the seedlings.

Keywords: PGPR, Phosphorus, Pistachio, Salinity stress, Water absorption

تاثیر باکتری‌های حل کننده فسفات در تأمین فسفر از سنگ فسفات و بهبود رشد دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

فرهاد آذرمی آتاجان- محمدحسن سیاری زهان- عبدالله میرزایی

چکیده

استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات (PSB) متحمل به شوری از روش‌های مؤثر در افزایش کارایی سنگ فسفات، تأمین فسفر مورد نیاز گیاه و بهبود رشد آن در محیط‌های شور می‌باشد. به‌منظور بررسی نقش PSB در تأمین فسفر مورد نیاز دانهال‌های پسته در شرایط شور، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل PSB در سه سطح [شاهد (PSB_0)، باکتری *Pseudomonas sp.* 1 (PSB_1) و باکتری *Pseudomonas sp.* 2 (PSB_2)]، سنگ فسفات در دو سطح (صفر و ۳۰ میلی‌گرم فسفر از منبع سنگ فسفات) و شوری آب آبیاری در سه سطح (صفر، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر) بود. نتایج نشان داد که شوری آب موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه، کلروفیل، کاروتنوئیدها، مقدار نسبی آب و شاخص پایداری غشا برگ و غلظت فسفر اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته گردید. در مقابل، پرولین، قندهای محلول و سدیم با افزایش شوری آب در برگ دانهال‌ها انباشته شد. با توجه به نتایج، اگرچه کاربرد سنگ فسفات به تنهایی تأثیر چندانی بر شاخص‌های مورد مطالعه نشان نداد اما، کاربرد همزمان آن با باکتری‌ها بیشترین نقش را در بهبود رشد دانهال‌های پسته بویژه در شرایط شور داشت. بیشترین مقدار وزن خشک اندام هوایی (۱/۸۹ گرم بر دانهال) و ریشه (۱/۵۹ گرم بر دانهال)، کلروفیل b (۱/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کاروتنوئیدها (۱/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، قندهای محلول (۵۹/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، پرولین (۳۶/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، مقدار نسبی آب برگ (۹۱/۰ درصد)، شاخص پایداری غشا (۸۴/۰ درصد)، غلظت فسفر اندام هوایی (۰/۳۹ درصد) و غلظت فسفر ریشه (۰/۳۵ درصد) از کاربرد همزمان سنگ فسفات و باکتری‌ها (بویژه سویه PSB_2) در شرایط غیرشور بدست آمد. از طرفی تلقیح با PSB (هم بصورت مجزا و هم همراه با سنگ فسفات) موجب کاهش تجمع سدیم در اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته شد. از اینرو، استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات با کارایی بالا و خصوصیات محرک رشدی مناسب، می‌تواند علاوه‌بر افزایش کارایی سنگ فسفات و تأمین فسفر مورد نیاز دانهال‌ها، موجب بهبود رشد و افزایش مقاومت آنها به تنش شوری گردد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد گیاه، پسته، تنش شوری، جذب آب، فسفر

مقدمه

پسته (*Pistacia ver* L.) یکی از مهمترین محصولات صادراتی باغبانی ایران بوده و ایران پس از ایالات متحده آمریکا و ترکیه سومین تولیدکننده پسته در جهان است (FAOSTAT, 2020). براساس آمارنامه محصولات باغی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۹، سطح زیر کشت پسته در ایران حدود ۵۳۴ هزار هکتار بوده و میزان تولید آن حدود ۳۸۶ هزار تن در سال می‌باشد. با وجود افزایش سطح زیر کشت پسته در ایران، عملکرد این محصول همچنان پایین است. عملکرد پسته در ایران به دلیل pH و محتوای کربنات کلسیم بالای خاک، مواد آلی کم در خاک، شوری خاک و آب آبیاری، حاصلخیزی ضعیف خاک و مدیریت ضعیف تغذیه‌ای بسیار پایین است (Azarmi *et al.*, 2016).

اگرچه پسته از گیاهان مقاوم به شوری محسوب می‌شود اما افزایش شوری به‌دلیل کیفیت پایین آب آبیاری، مدیریت ضعیف و هم‌چنین ماهیت و ساختار طبیعی خاک استقرار، رشد و عملکرد درختان پسته را در مناطق مختلف ایران کاهش داده است (Tavalali *et al.*, 2009). شوری خاک یکی از گسترده‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان زراعی و باغی را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک محدود کرده است (Meloni *et al.*, 2001). عمده‌ترین دلیل افزایش شوری در اراضی کشاورزی مربوط به آبیاری با آب‌های زیرزمینی حاوی غلظت بالای نمک‌های محلول، مدیریت ضعیف اراضی و هم‌چنین ساختار و ماهیت طبیعی خاک است. تحت تنش شوری، به‌دلیل تغییرات در فراهمی عناصرغذایی، توزیع و انتقال آن‌ها در بخش‌های مختلف گیاه و یا تخریب فیزیولوژیکی برخی از اندام‌های دخیل گیاه در جذب عناصرغذایی، تعادل تغذیه‌ای گیاه از بین می‌رود (Grattan and Grieve, 1999). از طرفی غلظت بالای سدیم در این شرایط، جذب سایر

عناصر مانند پتاسیم، منیزیم و کلسیم را کاهش داده و کمبود آن‌ها در گیاه مشاهده می‌شود (Iqbal and Ashraf, 2013). علاوه بر اثرات مستقیم شوری بر گیاه، در خاک‌های شور، عدم تعادل تغذیه‌ای، از مهمترین دلایل کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌باشد. در خاکهای شور، فعالیت عناصر غذایی نظیر فسفر به دلیل افزایش قدرت یونی محیط کاهش می‌یابد (Grattan and Grieve, 1999).

فسفر (P) یکی از عناصر غذایی ضروری مورد نیاز گیاهان برای رشد و عملکرد می‌باشد. این عنصر نقشی اساسی در فرآیندهای مهم سلولی مانند حفظ ساختار غشا، تقسیم سلولی، تولید مولکول‌های زیستی و در نتیجه متابولیسم کربوهیدراتها و فعال کردن آنزیم‌ها دارد (Razaq *et al.*, 2017). غلظت فسفر در گیاهان بین ۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد وزن خشک گیاه می‌باشد (Malhorta *et al.*, 2018). حد بحرانی فسفر در خاک برای گیاهان مختلف ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است. براساس مطالعات انجام شده، مقدار فسفر حدود ۷۱ درصد خاک‌های کشاورزی ایران کمتر از حد بحرانی است (Shahbazi and Besharati, 2013). متداول‌ترین روش برای جبران کمبود فسفر خاک، استفاده از کودهای فسفاته می‌باشد. بخش اعظمی از کودهای فسفاته اضافه شده به خاک، طی واکنش‌های رسوبی با یون‌های آهن و آلومینیوم در خاک‌های اسیدی و با یون کلسیم در خاک‌های قلیایی و آهکی وارد فاز جامد می‌شود (Ayeni *et al.*, 2012) که نتیجه آن مصرف بیش از پیش این کودها می‌باشد. استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی علاوه‌بر مشکلات زیست‌محیطی و افزایش شوری خاک، از نظر اقتصادی نیز مقرون به‌صرفه نیست (Kang *et al.*, 2011). از اینرو، استفاده از منابع ارزان قیمت نظیر سنگ فسفات برای تأمین فسفر مورد نیاز گیاهان رو به افزایش است. مشکل اصلی سنگ فسفات حلالیت و کارایی کم آن بویژه در خاک‌های آهکی است (Naeem *et al.*, 2013).

گزارش شده است که از روش‌های افزایش کارایی سنگ فسفات و همچنین فراهمی فسفر خاک استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات (PSB) می‌باشد. سازوکار اصلی باکتری‌های حل کننده فسفات در افزایش فراهمی فسفر، کاهش pH از طریق تولید پروتون، اسیدهای آلی، اسیدهای معدنی و آنزیم فسفاتاز می‌باشد (Alori *et al.*, 2017). براساس برخی مطالعات انجام شده، خصوصیات محرک رشدی باکتری‌ها نظیر توان حل کنندگی فسفات‌های کم محلول، در شرایط تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی انجام می‌گیرد. از طرفی، باکتری‌های حل کننده فسفات برای فعالیت و تولید ترکیبات محرک رشدی در خاکهای شور، می‌بایست متحمل به شوری نیز باشند. این باکتری‌ها می‌توانند تحمل گیاه به تنش شوری و کارایی کودهای فسفاته را افزایش دهند (Khan *et al.*, 2014). این باکتری‌ها توانایی تولید ترکیبات ثانویه متعدد و آنزیم‌های مختلف مانند ACC–دآمیناز را دارا هستند. آنزیم ACC–دآمیناز نقش مهمی در افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری و کاهش اثرات این تنش بر گیاه با تنظیم و تعدیل سطح اتیلن دارد (Glick, 2004). کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات می‌تواند مصرف کودهای فسفاته را تا ۵۰ درصد بدون تأثیر معنی‌دار بر عملکرد گیاه، کاهش دهد (Jilani *et al.*, 2007). تلقیح با باکتری سودوموناس پوتیدا توانست با کاهش سطح آبسیزیک اسید و افزایش غلظت ایندول استیک اسید در برگ، مقاومت مرکبات به تنش شوری را افزایش دهد (Vives-Peris *et al.*, 2018). زینلی بافقی و همکاران (Zeinali bafghi *et al.*, 2020) بیان کردند استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش شاخص‌های رشد گیاه، شامل وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه، سطح برگ و تعداد برگ گیاه پسته در خاک شور شد. هم‌چنین سرچشمه‌پور و همکاران (Sarcheshmehpour *et al.*, 2015) گزارش کردند که استفاده از ریزجانداران بومی باغات پسته توانست کارایی خاک فسفات و رشد نهال‌های پسته را در شرایط شور افزایش دهد.

در سال‌های اخیر با توجه به خصوصیات اقلیمی استان خراسان جنوبی، سطح زیر کشت پسته در این استان رو به افزایش بوده است. بطوریکه براساس محصولات باغی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۹ این استان دارای رتبه پنجم در سطح زیر کشت و تولید پسته در کشور می‌باشد. اما افزایش شوری زمین‌های کشاورزی در مناطق پسته‌کاری و وضعیت ضعیف حاصلخیزی خاک آن‌ها، استقرار، رشد و عملکرد نهال‌ها و درختان پسته را با مشکل مواجه کرده است. از طرفی، کارایی پایین کودهای فسفاته (کمتر از ۳۰ درصد) و قیمت بالای آن‌ها، یافتن منابع جایگزین تأمین فسفر را بیش از پیش ضروری ساخته است. از اینرو، هدف این مطالعه بررسی تاثیر باکتری‌های حل کننده فسفات مقاوم به شوری در افزایش فراهمی فسفر از سنگ فسفات و بهبود رشد دانهال‌های پسته در سطوح شوری آب آبیاری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۴۰۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل باکتری‌های حل کننده فسفات در سه سطح [شاهد (PSB_0)، باکتری *Pseudomonas sp.* 1 (PSB_1) و باکتری *Pseudomonas sp.* 2 (PSB_2)]، سنگ فسفات در دو سطح (صفر و ۳۰ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک) و شوری آب

آبیاری در سه سطح (شاهد، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر از منبع NaCl) بود. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند انتخاب شدند که قبلا از خاک‌های شور جداسازی شده بودند. این باکتری‌ها توانایی انحلال تری کلسیم فسفات در دو محیط جامد و مایع، تولید ایندول ایتیک اسید، سیدروفور و آنزیم ACC–دآمیناز در شرایط آزمایشگاهی را داشتند (Azarmi *et al.*, 2015). خاک مورد استفاده در این پژوهش از یکی از مناطق کشاورزی استان خراسان جنوبی با درجه شوری مناسب انتخاب گردیده و برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن تعیین گردید (جدول ۱). پس از گذراندن خاک تهیه شده از الک ۴ میلی‌متری، به هر گلدان ۲ کیلوگرم خاک همگن ریخته شد. پودر سنگ فسفات نیز که از معدن آسفوردی یزد تهیه شده بود براساس تیمارها قبل از کاشت با خاک مخلوط شد. برای کاشت، ابتدا در هر گلدان ۴ بذر جوانه‌زده پسته (رقم بادامی ریز زرند) در عمق ۳ سانتی‌متری قرار داده شد و برای جلوگیری از آلودگی دیگر تیمارها، ابتدا تیمارهای بدون تلقیح کشت شدند. برای تلقیح، بر روی هر بذر ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های مورد نظر (آماده شده در محیط Nutrient Broth با جمعیت 10^8 سلول در میلی‌لیتر) اضافه شد. چهار هفته پس از کاشت، تعداد دانهال‌ها در هر گلدان به ۲ عدد کاهش داده شد. آبیاری گلدان‌ها به‌مدت چهار هفته با آب غیرشور (۱/۲۰ دسی‌زیمنس بر متر) انجام شد و پس از آن تا زمان برداشت آبیاری با استفاده از آب‌های شور تهیه شده از نمک کلریدسدیم (NaCl) و براساس نقشه طرح انجام شد. لازم به ذکر است در طول دوره رشد رطوبت خاک گلدان‌ها در حدود ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) به‌روش وزنی نگهداری شد. در طول دوره رشد دمای گلخانه در روز و شب به‌ترتیب ۴±۲۸ و ۲±۱۹ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۴۵ درصد بود. در انتهای دوره رشد (هفته بیستم پس از کاشت)، دانهال‌ها از محل طوقه قطع و وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه پس از خشک کردن نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در آون با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a و کلروفیل b، نمونه‌برگ تازه از برگ‌های سالم و بالغ تهیه شد. سپس ۰/۲۵ گرم از نمونه برگ تازه در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به‌صورت محلول یکنواخت درآید. سپس نمونه‌ها به لوله‌های سانتریفوژ منتقل و به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شدند. درنهایت، میزان جذب نور در محلول رویی توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu BioSpec-1601, Japan) در طول موج‌های ۶۴۶/۴ و ۶۶۳/۶ نانومتر قرائت و غلظت کلروفیل محاسبه شد (Porra, 2002). اندازه‌گیری مقدار کاروتنوئیدها نیز در همان عصاره تهیه شده برای اندازه‌گیری کلروفیل و تعیین میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام گردید (Lichtenthaler and Wellburn, 1983). برای تعیین غلظت پرولین، نمونه تازه برگ با اتانول ۹۵ درصد ساییده شده و پس از سانتریفوژ کردن به محلول رویی معرف نین هیدرین، اسید فسفریک و اسید استیک گلاسیال اضافه شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم قرار داده شده و پس از خنک شدن به آنها بنزن اضافه گردید. در نهایت پس از انجام واکنش، مقدار جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Paquin and Lechasseur, 1979). برای اندازه‌گیری قندهای محلول، عصاره الکلی که قبلا برای اندازه‌گیری پرولین تهیه شده بود را با آنترون تازه تهیه شده مخلوط کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌گرم قرار داده شد تا واکنش انجام و محلول رنگی شود. پس از خنک شدن، میزان جذب آن با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر شد (Irigoyen *et al.*, 1992). برای تعیین مقدار نسبی آب برگ (RWC)، ۰/۵ گرم از نمونه در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. پس از مدت ۴ ساعت وزن برگ در حالت تورژسانس اندازه‌گیری گردید. پس از آن نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سلسیوس درون آون خشک شده و مقدار RWC از رابطه زیر محاسبه شد (Gonzalez and Gonzalez-Vilar, 2003):

$$RWC\ (\%) = [(\text{وزن خشک} - \text{وزن تازه}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس})] \times 100$$

برای اندازه‌گیری شاخص پایداری غشا (MSI) از هر برگ دو نمونه تهیه و در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. یک نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به‌مدت ۳۰ دقیقه (EC_1) و نمونه دیگری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به‌مدت ۱۵ دقیقه (EC_2) درون حمام آب قرار داده شدند. سپس هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری و از رابطه زیر مقدار این شاخص محاسبه شد (Sairam, 1994):

$$MSI = [1-(EC_1/EC_2)]\times 100$$

برای اندازه‌گیری غلظت عناصر فسفر و سدیم در برگ و ریشه، نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس درون کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شدند. سپس نمونه‌های خاکستر شده با استفاده از اسیدکلریدریک ۲ نرمال عصاره‌گیری شده و برای تهیه عصاره شفاف از کاغذ صافی عبور داده شدند. در نهایت غلظت سدیم با استفاده از فلیم فتومتر و غلظت فسفر به روش مولیبدات– وانادات با استفاده از

اسپکتروفتومتر تعیین شدند. (Chapman and Pratt, 1961). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول ۱- ویژگی‌های خاک قبل از آزمایش

Table 1- Soil properties before sowing

بافت خاک Texture	pH	هدایت الکتریکی EC	مواد آلی OM	رطوبت اشباع SP	P	K	Na	Ca	Mg
		(dS/m)	%	%	($mg\ kg^{-1}$)		($mg\ L^{-1}$)		
Sandy Loam	7.50	1.40	0.57	30	7.12	179	168	112	91

نتایج و بحث

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر وزن خشک اندام‌هوایی و ریشه دانهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). نتایج آزمایش مشخص کرد که افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر وزن خشک اندام هوایی را به‌ترتیب ۱۴ و ۳۶ درصد و وزن خشک ریشه را به‌ترتیب ۱۷ و ۵۸ درصد در مقایسه با شاهد کاهش داد (جدول ۳). نتایج بیانگر واکنش شدید ریشه نسبت به اندام هوایی دانهال‌های پسته در برابر شوری است. در محیط‌های شور به دلیل اثرات منفی پتانسیل اسمزی پایین محلول خاک و جذب کم آب و عناصر غذایی و تأثیر سوء شوری بر فتوسنتز و فرآیندهای جانبی آن، انرژی لازم برای رشد مناسب ریشه و اندام هوایی در اختیار آن ها قرار نمی‌گیرد. شوری طولانی مدت موجب پیری زودرس برگ‌های بالغ و کاهش شدید رشد گیاه می‌شود (Munns and Tester, 2008). کاهش رشد پارامترهای رویشی گیاه از جمله وزن خشک نهال‌های پسته تحت تنش شوری توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است (Azarmi *et al.*, 2016; Ferguson *et al.*, 2002). کاربرد تنهای سنگ فسفات تأثیر معنی‌داری بویژه در شرایط شور بر وزن خشک دانهال‌های پسته نشان نداد. از طرفی تلقیح با باکتری‌های حل کننده فسفات PSB_1 و PSB_2 وزن خشک اندام‌هوایی را در تمام سطوح شوری نسبت به همان سطح شوری افزایش معنی‌داری داد. اما در وزن خشک ریشه، فقط کاربرد PSB_2 براین پارامتر در تمام سطوح شوری مؤثر بود. با توجه به نتایج بدست آمده، کاربرد همزمان سنگ فسفات با هر دو سویه موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته در تمام سطوح شوری در مقایسه با همان سطح شوری گردید. اگرچه کارایی باکتری PSB_2 در این افزایش بیشتر از باکتری PSB_1 بود. بیشترین وزن خشک اندام هوایی و ریشه دانهال‌ها به‌ترتیب برابر ۱/۸۹ و ۱/۵۹ گرم بر نهال بود که از کاربرد همزمان سنگ فسفات و PSB_2 در شرایط غیرشور حاصل گردید (جدول ۳). باکتری‌های جنس سودوموناس به‌دلیل تولید طیف وسیعی از ترکیبات مختلف و تحریک رشد گیاهان در خاک‌های شور، نقش مهمی در افزایش حاصلخیزی خاک و کاهش تنش شوری در گیاه دارند (Mishra *et al.*, 2010). با توجه به تولید هورمون اینول استیک اسید (IAA) و انحلال فرم‌های کم‌محلول فسفر توسط باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش، می‌توان بهبود رشد دانهال‌ها را به آن‌ها نسبت داد. اکسین تولید شده توسط این باکتری‌ها می‌تواند به‌صورت مستقیم موجب افزایش تقسیم و رشد سلول شده و یا به‌صورت غیرمستقیم موجب افزایش تولید آنزیم ACC–دآمیناز شود (Patten and Glick, 2002). به نظر می‌رشد که هورمون اکسین و آنزیم ACC–دآمیناز در افزایش رشد گیاه مکمل یکدیگر هستند. شاهارونا و همکاران (Shaharroona *et al.*, 2006) گزارش کردند که تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید کننده IAA موجب افزایش وزن ریشه، رشد طولی و انشعابات فرعی ریشه و تولید ریشه‌های نازک‌تر شده و در نتیجه جذب آب و عناصرغذایی را افزایش می‌دهند.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر باکتری‌های حل کننده فسفات و سنگ فسفات بر رشد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 2- ANOVA (mean squares) for the effect of PGPR on the growth, physiological and biochemical traits of pistachio seedlings irrigated by different levels of water salinity

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک اندام‌هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoids	قندهای محلول برگ Leaf soluble sugars	پرولین برگ Leaf proline
سنگ فسفات Rock phosphate (RP)	1	0.96**	0.34**	0.015*	0.003ns	0.10**	1568**	208**
باکتری Bacteria (PSB)	2	0.56**	0.44**	0.48**	0.28**	0.14**	579**	493**
شوری Salinity (S)	2	1.74**	2.47**	1.23**	1.64**	1.16**	1275**	1617**
سنگ فسفات × باکتری RP × PSB	2	0.005ns	0.044**	0.003ns	0.003ns	0.005*	73.7**	10.5*
سنگ فسفات × شوری RP × PSB	2	0.006ns	0.020**	0.043**	0.004*	0.007**	104**	1.49ns
باکتری × شوری PSB × S	4	0.064**	0.050**	0.030**	0.016**	0.008**	6.24ns	33.6**
سنگ فسفات× باکتری× شوری RP × PSB × S	4	0.010*	0.009*	0.002ns	0.003*	0.005**	36.2**	8.08*
خطا Error	36	0.004	0.003	0.003	0.0009	0.0008	9.46	2.87
ضریب تغییرات CV		5.54	6.65	3.79	3.63	2.93	8.69	9.93

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	مقدار نسبی آب برگ RWC	شاخص پایداری غشا MSI	غلظت فسفر اندام‌هوایی Shoot P Concentration	غلظت فسفر ریشه Root P Concentration	غلظت سدیم اندام هوایی Shoot Na Concentration	غلظت سدیم ریشه Root Na Concentration
سنگ فسفات Rock phosphate (RP)	1	222*	642**	0.064**	0.008**	0.0006ns	0.003*
باکتری Bacteria (PSB)	2	1070**	1181**	0.13**	0.063**	0.41**	0.036*
شوری Salinity (S)	2	1882**	3193**	0.059**	0.041**	0.416**	0.175**
سنگ فسفات × باکتری RP × PSB	2	4.61ns	10.2 ns	0.013**	0.002**	0.0001ns	0.0002ns
سنگ فسفات × شوری RP × PSB	2	7.03ns	42.7**	0.002*	0.0002ns	0.018**	0.004**

نسخه پیش انتشار

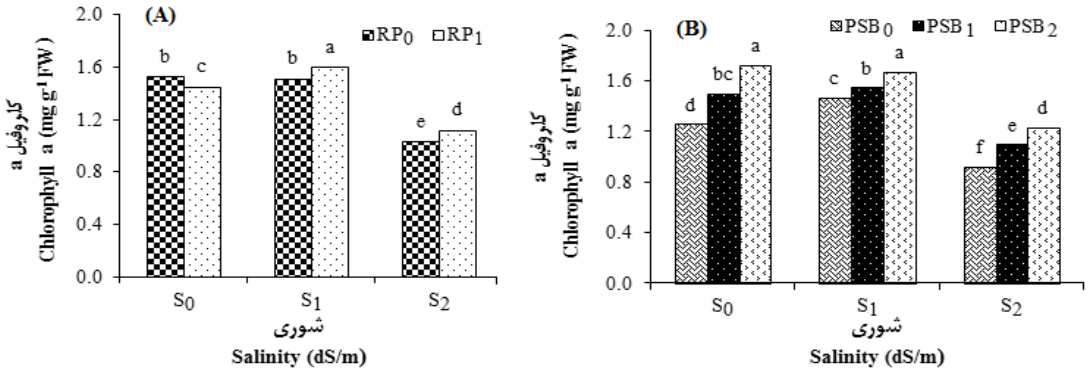
باکتری × شوری PSB × S	4	54.9**	40.2**	0.004**	0.0008**	0.003**	0.001*
سنگ فسفات×باکتری× شوری RP × PSB × S	4	19.4*	18.2*	0.002**	0.0005*	0.0008ns	0.0001ns
خطا Error	36	6.95	5.84	0.0004	0.0001	0.0007	0.0004
ضریب تغییرات CV		3.89	4.45	10.2	6.33	9.03	6.28

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها

نتایج آزمایش بیانگر تأثیر معنی‌دار اثرات اصلی باکتری‌های حل کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری و همچنین برهمکنش سنگ فسفات و شوری و برهمکنش باکتری و شوری بر مقدار کلروفیل a برگ ($p<0.01$) بود (جدول ۲). نتایج نشان داد اگرچه سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر اثر معنی‌داری بر کلروفیل a نداشت اما با افزایش شوری آب آبیاری به ۱۰ دسی زیمنس بر متر، مقدار این پارامتر ۳۲ درصد کاهش یافت. غلظت کلروفیل در گیاهان رشد کرده تحت تنش می‌تواند معیار مناسبی برای تخمین مقاومت آن به تنش باشد. کاهش مقدار کلروفیل در شرایط شور می‌تواند به‌دلیل اثر بازدارندگی یون‌های سدیم و کلر در بیوسنتز رنگیزه‌ها، تخریب سنتز و یا تشدید تجزیه آن‌ها باشد (Ashraf and Harris, 2013). کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر شوری ممکن است ناشی از کاهش سنتز کمپلکس اصلی رنگدانه کلروفیل، تخریب نوری کمپلکس پروتئینی رنگدانه‌های a و b که محافظت کننده دستگاه فتوسنتزی هستند، آسیب اکسیداتیو لیپیدهای کلروپلاست، رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Egert and Tevini, 2002). کاربرد سنگ فسفات در شرایط غیرشور موجب کاهش ولی در شرایط شور موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل a نسبت به همان سطح شوری گردید (شکل ۱-A). کمبود فسفر می‌تواند با محدود کردن رشد ریشه، جذب عناصر غذایی مختلف مانند نیتروژن را کاهش داده و بدین‌ترتیب موجب کاهش سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی در برگ شود (Fageria *et al.*, 2009). همچنین براساس نتایج برهمکنش باکتری و شوری، کاربرد هر دو سویه باکتری غلظت کلروفیل a را در تمام سطوح شوری در مقایسه با همان سطح شوری افزایش داد. کمترین مقدار غلظت این پارامتر از سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر (۰/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و بیشترین آن از تلقیح باکتری PSB_2 در شرایط غیرشور (۱/۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بدست آمد که با تیمار کاربرد باکتری PSB_1 در سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر اختلافل معنی‌داری نداشت (شکل ۱-B). باکتری‌ها با توسعه ریشه و افزایش دسترسی به آب و عناصر غذایی، کارایی مصرف آب در محیط شور را افزایش داده و در نتیجه تأثیر شوری بر فتوسنتز را کاهش می‌دهند. ماراته و همکاران (Marathe et al., 2017) بیان کردند که استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات تولید کننده IAA (*سودوموناس ایروژینوزا*) توانست جذب نیتروژن، پتاسیم و فسفر و غلظت کلروفیل در گیاه را افزایش دهد.



شکل ۱- برهم‌کنش سنگ فسفات و شوری آب آبیاری (A) و باکتری‌های حل کننده فسفات و شوری آب آبیاری (B) بر کلروفیل a برگ دانهال‌های پسته

Figure 1- The effect of rock phosphate and salinity interaction (A), and PSB and salinity interaction (B) on the leaf chlorophyll a content of pistachio seedlings (LSD, *p≤0.05*).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن ($p<0.05$) اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر مقدار کلروفیل b و کاروتنوئید برگ دانهال‌های پسته داشت (جدول ۲). نتایج نشان داد که با افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر، غلظت کلروفیل b بطور معنی‌داری کاهش یافت. معمولاً نقش کلروفیل a نسبت به b در فتوسنتز گیاهان غالب‌تر است اما تنش شوری موجب نزدیک‌تر شدن ارزش آن‌ها به‌هم می‌شود (Mane *et al.*, 2011). موسوی و همکاران (Mousavi *et al.*, 2008) نشان دادند که افزایش غلظت کلرید سدیم از ۴۰ به ۱۶۰ میلی‌مولار موجب کاهش کلروفیل a، b و a+b در درختان زیتون شد. کریمی و همکاران (Karimi *et al.*, 2009) نشان دادند که با افزایش شوری میزان فتوسنتز خالص در دو رقم پسته بادامی و قزوینی کاهش یافت. هم چنین در مقادیر بالای شوری غلظت کلروفیل a، b و کلروفیل کل در هر دو رقم کاهش نشان داد. کاربرد تنهای سنگ فسفات نیز تأثیر معنی‌داری بر مقدار این پارامتر در هیچکدام از سطوح شوری نشان نداد. از طرفی، تلقیح با باکتری PSB_1 و در سطوح شوری صفر و ۵ دسی زیمنس بر متر و تلقیح با باکتری PSB_2 در تمام سطوح شوری مقدار کلروفیل b را در مقایسه با همان سطح شوری بطور معنی‌داری افزایش داد. همچنین کاربرد همزمان هر دو سویه با سنگ فسفات موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر در تمام سطوح شوری گردید. هرچند، بیشترین مقدار کلروفیل b از تلقیح باکتری PSB_2 در شرایط غیرشور برابر با ۱/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدست آمد (جدول ۳). افزایش غلظت کلروفیل در نهال‌های تلقیح شده با باکتری‌ها می‌تواند به‌دلیل افزایش جذب عناصرغذایی دخیل در ساختار کلروفیل از جمله منیزیم، آهن و منگنز باشد. هم‌چنین باکتری‌ها کارایی مصرف آب را در محیط شور افزایش داده و بدین ترتیب تأثیر شوری بر فتوسنتز را کاهش می‌دهند. باکتری‌ها علاوه‌بر افزایش فراهمی فسفر خاک، با تأثیر بر مورفولوژی ریشه، جذب فسفر و غلظت کلروفیل را افزایش می‌دهند. الهایسوفی و همکاران (Elhaissoufi *et al.*, 2020) نشان دادند که کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات همراه با سنگ فسفات مقدار کلروفیل a و b را در گندم افزایش داد.

باتوجه به نتایج این آزمایش، مقدار کاروتنوئیدهای برگ با افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۷ و ۴۶ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری کاهش یافت. کاروتنوئیدها علاوه بر دخالت مستقیم در فرآیند فتوسنتز، در افزایش مقاومت سیستم‌های دفاعی گیاهان برابر تنش‌های اکسیداتیو نیز نقش دارند (Parida and Das, 2005). از طرفی، اگرچه کاربرد تنهای سنگ فسفات فقط در سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر شد اما، کاربرد همزمان سنگ فسفات با باکتری‌ها غلظت کاروتنوئیدها را در تمام سطوح شوری نسبت به همان سطح شوری بطور معنی‌داری افزایش داد. بیشترین مقدار کاروتنوئیدهای برگ مربوط به کاربرد باکتری در شرایط غیرشور (۱/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن مربوط به سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر (۰/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۳). آذرمی و همکاران (Azarmi *et al.*, 2016) گزارش کردند که تلقیح نهال‌های پسته با باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت موجب افزایش رشد و غلظت کاروتنوئیدهای برگ در شرایط شور گردید. همچنین افزایش غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها در نهال‌های برنج تلقیح شده با باکتری *Bacillus spp.* گزارش شده است (Khan *et al.*, 2021).

جدول ۳- تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات و سنگ فسفات بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه و غلظت کلروفیل b و کاروتنوئیدهای برگ دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 3- The effect of rock phosphate and PSB on the shoot and root dry weight, and chlorophyll b and carotenoids contents of pistachio seedlings irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	سنگ فسفات Rock phosphate	شوری Salinity (dS/m) 0	5	10	شوری Salinity (dS/m) 0	5	10
		وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g plant^{-1})			وزن خشک ریشه Root dry weight (g plant^{-1})		
PSB_0	RP_0	0.96 fg	0.82 hi	0.61 k	0.87 ef	0.72 g	0.36 i
	RP_1	1.01 f	0.98 fg	0.67 jk	1.10 d	0.75 g	0.40 i
PSB_1	RP_0	1.32 cd	1.15 e	0.75 ij	1.21 c	0.81 fg	0.44 i
	RP_1	1.53 b	1.26 d	0.92 gh	1.45 b	1.09 d	0.74 g
PSB_2	RP_0	1.49 b	1.14 e	0.74 ij	1.36 b	0.86 ef	0.58 h
	RP_1	1.89 a	1.34 c	1.02 f	1.59 a	0.91 e	0.62 h

		کلروفیل b Chlorophyll b (mg g^{-1} FW)			کاروتنوئید Carotenoids (mg g^{-1} FW)		
PSB_0	RP_0	0.92 e	0.71 g	0.45 k	1.08 ef	0.89 i	0.58 m
	RP_1	0.91 e	0.73 g	0.43 kl	1.12 de	0.94 h	0.60 m
PSB_1	RP_0	1.13 c	0.84 f	0.49 jk	1.29 b	1.01 g	0.71 k
	RP_1	1.15 c	0.90 e	0.53 ij	1.35 a	1.14 d	0.79 j
PSB_2	RP_0	1.30 a	0.93 de	0.56 i	1.20 c	0.94 h	0.66 l
	RP_1	1.24 b	0.97 d	0.62 h	1.23 c	1.05 fg	0.88 i

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters were significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

مقدار قندهای محلول و پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر مقدار قندهای محلول ($p<0.01$) و پرولین برگ ($p<0.05$) دانهال‌های پسته بود (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، آبیاری با هر دو سطح شوری آب آبیاری موجب افزایش غلظت قندهای محلول برگ گردید. تجمع قندهای محلول مانند ساکارز در بافت‌های گیاهی تحت شرایط تنش به‌عنوان تنظیم کننده اسمزی عمل می‌کند. علاوه‌براین، این ترکیبات می‌توانند با درشت مولکول‌های درون سلول برهم‌کنش داشته و موجب افزایش پایداری و عملکرد آن‌ها شوند (Murakeozy *et al.*, 2003). کریمی و همکاران (Karimi *et al.*, 2009) دلیل تجمع قندهای محلول با افزایش شوری را کاهش میزان فتوسنتز، تبدیل نشاسته به قند و یا مصرف کمتر کربوهیدرات توسط گیاه گزارش کردند. براساس نتایج این پژوهش، کاربرد تنهای سنگ فسفات در هیچ کدام از سطوح شوری بر این پارامتر تأثیر معنی‌داری نشان نداد. همچنین، اگرچه کاربرد تنهای باکتری PSB_1 تأثیر معنی‌داری بر مقدار قندهای محلول برگ در هیچکدام از سطوح شوری آب نداشت، اما کاربرد باکتری PSB_2 موجب افزایش ۸۰ و ۲۴ درصدی مقدار این پارامتر به‌ترتیب در سطوح شوری صفر و ۵ دسی زیمنس بر متر شد. به هرحال، بیشترین تأثیر بر مقدار قندهای محلول را کاربرد همزمان سنگ فسفات و باکتری داشت. بطوری‌که بیشترین مقدار این پارامتر (۵۹/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از کاربرد همزمان باکتری PSB_2 و سنگ فسفات در سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر و کمترین مقدار آن (۱۴/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار شاهد بدست آمد (جدول ۴). افزایش قندهای محلول در گیاهان تلقیح شده با ریزجانداران خاکزی به بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاهان نسبت داده می‌شود. مطالعات نشان داده است که تلقیح با باکتری‌ها از جمله سودوموناس‌ها موجب افزایش غلظت و جذب فسفر در گیاه می‌شود. فسفر نقش کلیدی در انتقال انرژی و شکستن کربوهیدرات‌ها دارد (Demir, 2004). از طرفی، تلقیح با این باکتری‌ها سطح هورمون‌های گیاهی مانند سیتوکینین و جیبرلین را در گیاه افزایش می‌دهد که این هورمون‌ها می‌توانند با افزایش انتقال یون‌های مؤثر در باز شدن روزنه‌ها و تنظیم سطح کلروفیل، موجب افزایش سرعت فتوسنتز و درنهایت محتوای قندهای محلول در گیاهان شوند (Selvaraj and Chellappan, 2006).

براساس نتایج بدست آمده، شوری موجب تجمع پرولین در برگ دانهال‌های پسته گردید. بطوری‌که در سطح شوری آب ۱۰ دسی زیمنس بر متر، مقدار این پارامتر نسبت به شاهد ۳/۴ برابر افزایش نشان داد. پرولین احتمالاً در سلول‌های تحت تنش، نقش آنتی‌اکسیدانی دارد و با تجمع در سیتوپلاسم سلول‌ها از طریق کاهش پتانسیل اسمزی درون سلولی، تجمع نمک در واکوئل را تنظیم می‌کند (Akhkha *et al.*, 2011). افزایش تجمع پرولین در نهال‌های پسته تحت تنش شوری توسط بهزادی راد و همکاران (Behzadi Rad *et al.*, 2021) نیز گزارش شده است. کاربرد سنگ فسفات نیز فقط در سطح شوری ۱۰ دسی زینس بر متر بر مقدار پرولین برگ اثر معنی‌دار داشت که موجب افزایش غلظت آن شد. شهریاری‌پور و همکاران (Shahriaripour *et al.*, 2011) گزارش کردند که کاربرد فسفر موجب کاهش غلظت پرولین برگ نهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری شد. همچنین تلقیح با باکتری PSB_2 مقدار پرولین برگ را در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۷۴، ۶۹ و ۹۴ درصد نسبت به همان سطح شوری افزایش معنی‌دار داد. از طرفی، کاربرد همزمان باکتری‌ها با سنگ فسفات تأثیر بیشتری بر مقدار پرولین برگ داشت. بیشترین مقدار این پارامتر (۳۶/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از کاربرد همزمان سنگ فسفات و باکتری PSB_2 در سطح شوری ۱۰ دی زیمنس بر متر بدست آمد که با کاربرد تنهای باکتری PSB_2 در سطح شوری ۱۰ دی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۴). سویه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد گیاه با افزایش سنتز پرولین در گیاهان رشد کرده در شرایط تنش موجب حفظ آب سلول می‌شوند (Sziderics *et al.*, 2007). افزایش غلظت پرولین در گیاهان تلقیح شده با این باکتری‌ها را می‌توان به تنظیم مسیرهای سنتز پرولین برای حفظ سطح بالای آن در درون سلول نسبت داد. آذرمی و همکاران (Azarmi *et al.*, 2016) نیز نشان دادند که باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب افزایش پرولین در برگ نهال‌های پسته شد.

مقدار نسبی آب (RWC) و شاخص پایداری غشا (MSI) برگ

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر مقدار نسبی آب و شاخص پایداری غشای برگ دانهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد اعمال شوری آب آبیاری ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر موجب کاهش ۱۰ و ۳۱ درصدی مقدار نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد شد. مقدار RWC گیاه شاخصی مناسب برای ارزیابی وضعیت آب گیاه و تعیین تحمل آن به تنش شوری است. با توجه به افزایش غلظت یون سدیم در برگ دانهال های پسته با افزایش شوری، کاهش آب در برگ دانهال‌ها با افزایش شوری را می‌توان به تجمع یون سدیم در برگ‌ها نسبت داد. از طرفی کاربرد تنهای سنگ فسفات نیز فقط در سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر بر مقدار این پارامتر تأثیر معنی‌دار داشت که باعث افزایش ۸ درصدی آن نسبت همان سطح شوری گردید. تلقیح با هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 نیز موجب افزایش معنی‌دار مقدار نسبی آب برگ در تمام سطوح شوری آب شد. اگرچه، کارایی سویه PSB_2 در مقایسه با سویه PSB_1 در این تأثیر بیشتر بود. کاربرد همزمان سنگ فسفات و باکتری‌ها بیشترین تأثیر را در افزایش این پارامتر داشت. بطوری‌که کاربرد همزمان سنگ فسفات و باکتری PSB_2 مقدار نسبی آب برگ را در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۳۴، ۱۹ و ۵۲ درصد نسبت به همان سطح شوری افزایش داد (جدول ۴). یکی از بارزترین خصوصیات محرک رشدی باکتری‌های جنس سودوموناس تولید هورمون اکسین است. نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که اکسین موجب افزایش رشد ریشه‌های جانبی و در نتیجه حجم و طول ریشه گیاه می‌شود. با توجه به افزایش وزن ریشه دانهال‌های پسته تلقیح شده با باکتری‌های سودوموناس تولید کننده اکسین در این پژوهش، افزایش مقدار آب در برگ دانهال‌ها را می‌توان به افزایش ریشه‌های مویین و در نتیجه دسترسی بهتر و بیشتر به آب به‌ویژه در شرایط شور نسبت داد. مایاک و همکاران (Mayak *et al.*, 2004) گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند با بهبود کارایی مصرف و مقدار آب گیاه موجب افزایش ریشه‌زایی و در نتیجه رشد آن در شرایط تنش شوند. افزایش مقدار RWC در برگ نهال‌های پسته (Azarmi *et al.*, 2016) و توت فرنگی (Karlidag *et al.*, 2013) تلقیح شده با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در شرایط شور نیز گزارش شده است.

براساس نتایج، مقدار شاخص پایداری غشای برگ با افزایش شوری آب آبیاری به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۹ و ۳۲ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. یکی از مهم‌ترین اثرات شوری بر گیاه کاهش استحکام غشا و تخریب آن است. پراکسیداسیون لیپیدهای غشا نشان دهنده‌ی آسیب به غشا سلولی و در نتیجه افزایش نفوذپذیری آن تحت تنش شوری است (Katsuhara *et al.*, 2005). از طرفی، کاربرد تنهای سنگ فسفات فقط در شرایط غیرشور موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر گردید. هر چند تلقیح با هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 موجب افزایش معنی‌دار شاخص پایداری غشا در تمام سطوح شوری نسبت به همان سطح شوری شد که از نظر آماری اختلافی بین دو سویه مشاهده نشد. به هرحال، کاربرد همزمان باکتری و سنگ فسفات تأثیر بیشتری در افزایش این شاخص داشت که نقش سویه PSB_1 در این افزایش بیشتر از سویه PSB_2 بود. بیشترین مقدار شاخص پایداری غشا (۸۴ درصد) از کاربرد همزمان سنگ فسفات و سویه PSB_1 در شرایط غیرشور و کمترین مقدار آن از سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر (۳۳/۹ درصد) بدست آمد (جدول ۴). باکتری‌های محرک رشد گیاه با افزایش قابلیت جذب عناصرغذایی و آب و هم‌چنین تولید متابولیت‌های مختلف از جمله اکسین و آنزیم ACC–دآمیناز موجب بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه شده و در نتیجه با کاهش غلظت گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد، استحکام غشای سلولی را افزایش می‌دهند. گزارش شده است که مقدار MSI در گیاه توت فرنگی تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاه تحت تنش شوری افزایش یافت (Karlding *et al.*, 2013).

جدول ٤- تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات و سنگ فسفات بر مقدار قندهای محلول، پرولین، مقدار نسبی آب و پایداری غشای برگ دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 4- The effect of rock phosphate and PSB on the soluble sugars, proline, RWC and MSI content of pistachio seedlings leaf irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	سنگ فسفات Rock phosphate	شوری Salinity (dS/m)			شوری Salinity (dS/m)		
		0	5	10	0	5	10
		قندهای محلول برگ Leaf soluble sugars (mg g^{-1} FW)			پرولین برگ Leaf proline (mg g^{-1} FW)		
PSB_0	RP_0	14.6 k	23.1 ij	31.5 efg	5.22 h	9.73 efg	17.5 d

PSB_1	RP_1	17.5 jk	27.5 ghi	33.1 ef	5.89 h	11.6 ef	21.5 c
	RP_0	18.9 jk	24.5 hi	28.9 fgh	7.36 gh	12.3 e	24.1 c
PSB_2	RP_1	24.4 hi	35.0 de	47.2 b	10.0 efg	16.6 d	31.0 b
	RP_0	26.3 hi	28.7 fgh	35.6 de	9.13 fg	16.5 d	34.0 a
	RP_1	33.0 ef	41.7 c	59.1 a	15.9 d	22.0 c	36.7 a
		مقدار نسبی آب برگ RWC (%)			شاخص پایداری غشا MSI (%)		
PSB_0	RP_0	68.0 ef	61.1 g	46.5 i	50.1 f	45.6 gh	33.9 k
	RP_1	71.0 de	66.2 f	47.9 i	63.3 c	49.2 fg	35.0 jk
PSB_1	RP_0	73.5 cd	68.0 ef	56.1 h	73.2 b	59.2 d	41.8 hi
	RP_1	77.3 c	71.5 de	60.3 gh	84.0 a	64.5 c	51.7 f
PSB_2	RP_0	84.2 b	73.4 cd	61.3 g	64.0 c	51.9 ef	38.0 ij
	RP_1	91.0 a	72.7 d	70.6 de	70.9 b	55.8 de	45.3 gh

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters were significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

غلظت فسفر اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر معنی‌دار بودن اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های حل کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری بر غلظت فسفر اندام‌هوایی ($p<0.01$) و ریشه ($p<0.05$) دانهال‌های پسته بود (جدول ۲). با توجه به نتایج این آزمایش، اگرچه غلظت فسفر اندام هوایی فقط تحت تأثیر شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر قرار گرفت (کاهش ۴۲ درصدی)، اما غلظت فسفر ریشه با اعمال هر دو سطح شوری آب ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۲۵ و ۵۳ درصد بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (جدول ۵). برخی پژوهشگران گزارش کرده‌اند که شوری خاک موجب کاهش جذب فسفر توسط گیاه می‌شود. به عقیده آن‌ها فسفر در شرایط شور با کاتیون‌های Ca^{2+}، Mg^{2+} و Zn^{2+}واکنش داده و به‌صورت غیرقابل دسترس برای گیاه در خاک تثبیت می‌شود (Cantrell and Lindermann, 2001). از سوی دیگر، کاهش مقدار فسفر قابل‌جذب در خاک‌های شور می‌تواند به اثر یون مشترک که باعث کاهش فعالیت یون فسفات و تشکیل کانی‌های فسفات-کلسیم که غلظت فسفر خاک را در سطح پایینی نگه می‌دارد، مربوط باشد. کاهش جذب فسفر در برگ و ریشه نهال‌های پسته توسط اسکندری و مظفری (Eskandari and Mozaffari, 2014) گزارش شده است. در مقابل، کاربرد تنهای سنگ فسفات فقط بر مقدار فسفر ریشه در سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر اثر معنی‌دار داشت که آن را ۳۳ درصد نسبت به همان سطح شوری افزایش داد. براساس نتایج بدست آمده، تلقیح با هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 مقدار فسفر اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته را در تمام سطوح شوری در مقایسه با همان سطح شوری بطور معنی‌داری افزایش داد. هرچند، مقدار این افزایش در اثر کاربرد سویه PSB_2 بیشتر از کاربرد سویه PSB_1 بود. تلقیح با سویه PSB_2 در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر غلظت فسفر اندام هوایی را به‌ترتیب ۹۱، ۸۷ و ۱۴۲ درصد و غلظت فسفر ریشه را به‌ترتیب ۵۲، ۷۸ و ۱۰۰ درصد در مقایسه با همان سطح شوری افزایش معنی‌دار داد. به هرحال بیشترین غلظت فسفر اندام هوایی (۰/۴۱ درصد) از کاربرد همزمان سنگ فسفات و PSB_2 در سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر و بیشترین غلظت فسفر ریشه (۰/۳۵ درصد) از کاربرد همزمان سنگ فسفات و PSB_2 در شرایط غیرشور بدست آمد (جدول ۵). مطالعات نشان داده است که بیش از ۹۰ درصد فسفر به‌ویژه در خاک‌های شور از دسترس گیاه خارج است. از طرفی فراهمی فسفر آلی خاک برای گیاه بیشتر از فسفر معدنی با قابلیت انحلال پایین است. فسفر آلی می‌تواند با فعالیت جمعیت میکروبی خاک به‌صورت قابل‌جذب برای گیاه تبدیل شود. انحلال و فراهمی فسفر خاک توسط جمعیت میکروبی به نوع منبع فسفاتی (آلی یا معدنی)، نوع گیاه میزبان، جمعیت میکروبی، pH و ترکیب آنیون‌ها و کاتیون‌ها بستگی دارد (Niu *et al.*, 2010). پاتل و همکاران (Patel *et al.*, 2012) گزارش کردند که باکتری‌های جدا شده از خاک‌های شور، فسفر محلول خاک را افزایش دادند. بنابراین استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات نقش مهمی در افزایش فسفر قابل جذب گیاه در خاک‌های شور دارد. براساس مطالعات آزمایشگاهی، باکتری‌های استفاده شده در این پژوهش توانایی انحلال تری کلسیم فسفات را بعنوان منبع نامحلول فسفر دارا بودند. از دیگر اثرات مهم ریزجانداران حل‌کننده‌ی فسفات از جمله سودوموناس‌ها در افزایش فراهمی فسفر قابل‌استفاده، افزایش ریشه‌زایی گیاه می‌باشد. باکتری‌های سودوموناس بر قابلیت ارتجاع ریشه مؤثر بوده و با افزایش انشعابات ریشه و تارهای کشنده، جذب عناصرغذایی را افزایش می‌دهند (De.freitas and Germida, 1990).

جدول ۵- تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات و سنگ فسفات بر غلظت فسفر اندام هوایی و ریشه دانهال‌های پسته در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 4- The effect of rock phosphate and PSB on the shoot and root phosphorus concentration of pistachio seedlings irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	سنگ فسفات Rock phosphate	شوری Salinity (dS/m)			شوری Salinity (dS/m)		
		0	5	10	0	5	10
		غلظت فسفر اندام هوایی Shoot P concentration (%)			غلظت فسفر ریشه Root P concentration (%)		
PSB_0	RP_0	0.12 gh	0.15 fg	0.07 i	0.19 fg	0.14 j	0.09 l
	RP_1	0.10 hi	0.17 f	0.10 hi	0.18 gh	0.15 ij	0.12 k
PSB_1	RP_0	0.16 f	0.20 e	0.11 h	0.22 e	0.17 gh	0.14 ij
	RP_1	0.25 cd	0.31 b	0.16 f	0.26 cd	0.20 ef	0.16 hi
PSB_2	RP_0	0.23 de	0.28 bc	0.17 f	0.29 b	0.25 d	0.18 gh
	RP_1	0.39 a	0.41 a	0.23 de	0.35 a	0.27 bc	0.22 e

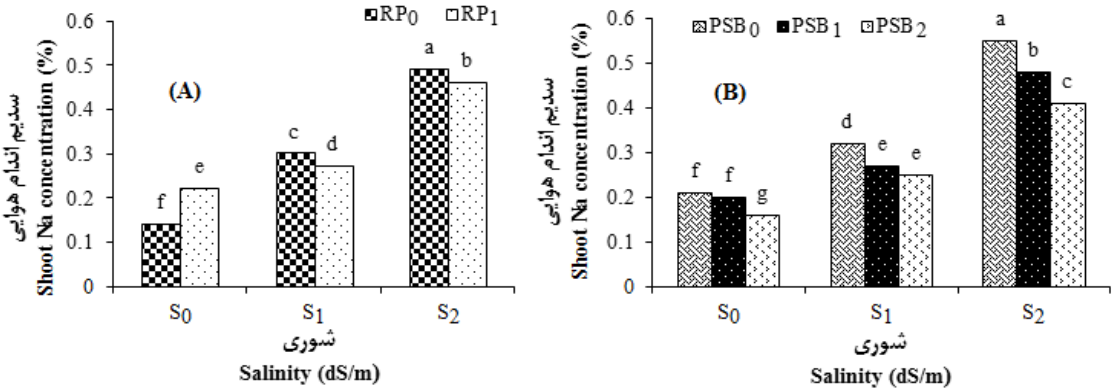
برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters were significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

غلظت سدیم اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی باکتری و شوری آب آبیاری و همچنین اثرات متقابل سنگ فسفات و شوری آب آبیاری، و باکتری‌های حل کننده فسفات و شوری بر غلظت سدیم اندام‌هوایی دانهال‌های پسته معنی‌دار ($p<0.01$) شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سنگ فسفات و شوری آب آبیاری نشان داد که با افزایش شوری آب به ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر، غلظت سدیم اندام هوایی به‌ترتیب ۲/۱ و ۳/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۲-A). از مهم‌ترین اثرات تنش شوری بر گیاهان انباشت یون‌های سمی در اندام‌های مختلف آن‌ها به‌ویژه برگ‌ها می‌باشد. هرچند مقاومت گیاه پسته به تنش شوری نسبتاً بالاست، ولی با افزایش غلظت سدیم در محیط رشد ریشه، توانایی ریشه برای کنترل و تجمع سدیم در خود کاهش یافته و در نتیجه انتقال آن به اندام‌هوایی افزایش می‌یابد. به‌طورکلی، به‌دلیل تجمع عناصر سمی مانند سدیم و کلر در اندام‌هوایی گیاهان، آسیب‌پذیری برگ‌ها نسبت به ریشه در برابر این عناصر بیشتر است. در مطالعه‌ای بر روی دو پایه پسته (سرخس و قزوینی) مشخص شد که با افزایش شوری، غلظت سدیم در اندام‌هوایی هر دو پایه به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت، هرچند غلظت سدیم در پایه سرخش بیشتر از پایه قزوینی بود (Saadatmand *et al.*, 2007). براساس مطالعات بهزادی راد و همکاران (Behzadi Rad *et al.*, 2021)، شوری موجب افزایش غلظت سدیم در اندام‌هوایی و ریشه سه رقم نهال پسته (قزوینی، قرمز پسته و موتیکا) مورد بررسی گردید. هرچند تجمع این عنصر در اندام‌هوایی هر سه رقم بیشتر از ریشه بود. هم‌چنین براساس نتایج آن‌ها، تجمع سدیم در گونه حساس به شوری (موتیکا) بیشتر از گونه‌های مقاوم بود. از طرفی، کاربرد سنگ فسفات در شرایط غیرشور موجب افزایش و در شرایط شور موجب کاهش سدیم اندام هوایی نسبت به همان سطح شوری شد (شکل ۲-A). همچنین با توجه به نتایج برهم‌کنش باکتری‌های حل کننده فسفات و شوری آب، تلقیح با هر دو سویه PSB_1 و PSB_2 موجب کاهش غلظت سدیم اندام هوایی در شرایط شور نسبت به همان سطح شوری

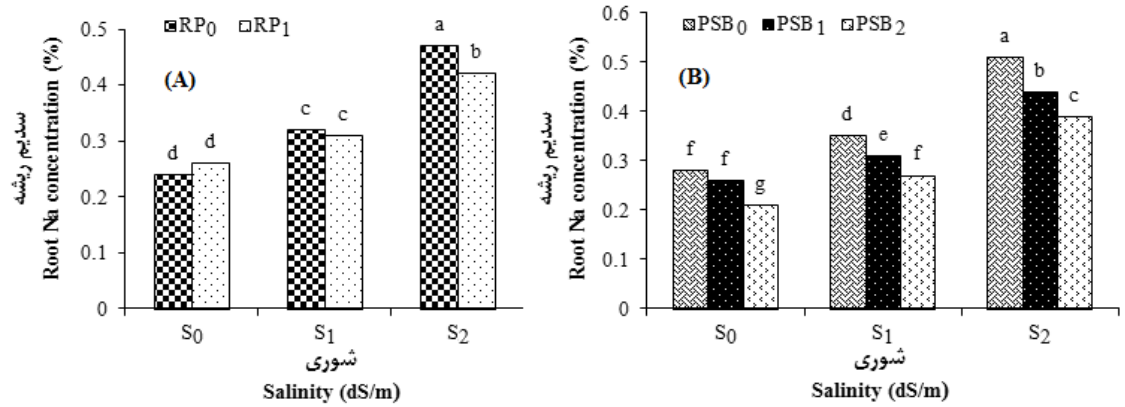
شد. هرچند، کارایی سویه PSB_2 در کاهش این پارامتر بیشتر از سویه PSB_1 بود. تلقیح با باکتری PSB_2 در سطوح شوری صفر، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر، مقدار سدیم اندام هوایی را به‌ترتیب ۲۳، ۲۱ و ۲۵ درصد نسبت به همان سطح شوری کاهش داد (شکل ۲-B).



شکل ۲- برهم‌کنش سنگ فسفات و شوری آب آبیاری (A) و باکتری‌های حل کننده فسفات و شوری آب آبیاری (B) بر غلظت سدیم اندام هوایی دانهال‌های پسته

Figure 2- The effect of rock phosphate and salinity interaction (A), and PSB and salinity interaction (B) on the shoot Na concentration of pistachio seedlings (LSD, *p≤0.05*).

غلظت سدیم ریشه تحت تأثیر معنی‌دار ($p<0.01$) اثرات اصلی باکتری‌های حل کننده فسفات، سنگ فسفات و شوری آب آبیاری و همچنین اثرات متقابل سنگ فسفات و شوری آب آبیاری، و باکتری‌های حل کننده فسفات و شوری آب آبیاری قرار گرفت (جدول ۲). براساس نتایج برهم‌کنش سنگ فسفات و شوری آب، کاربرد سنگ فسفات فقط در سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر بر مقدار سدیم ریشه موثر بود که موجب کاهش ۱۱ درصدی این پارامتر نسبت به همان سطح شوری شد (شکل ۳-A). تلقیح با باکتری‌ها نیز بویژه در شرایط شور موجب کاهش سدیم ریشه شد. تلقیح با سویه‌های PSB_1 و PSB_2 غلظت سدیم ریشه را در سطح شوری ۵ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۰ و ۲۳ درصد و در سطح شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۴ و ۲۴ درصد در مقایسه با همان سطح شوری کاهش داد (شکل ۳-B). باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند با تولید اگزوپلی ساکاریدها با کاتیون‌هایی نظیر سدیم پیوند برقرار کرده و فراهمی آن را برای گیاه کاهش دهند. از طرفی، کاهش جذب سدیم در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌ها می‌تواند به کاهش جریان انبوه (آپوپلاستی) سدیم مربوط باشد (Ashraf *et al.*, 2004).



شکل ۳- برهم‌کنش سنگ فسفات و شوری آب آبیاری (A) و باکتری‌های حل کننده فسفات و شوری آب آبیاری (B) بر غلظت سدیم ریشه دانهال‌های پسته

Figure 3- The effect of rock phosphate and salinity interaction (A), and PSB and salinity interaction (B) on the root Na

concentration of pistachio seedlings (LSD, $p \leq 0.05$).

نتیجه گیری

اگرچه درختان پسته (بویژه رقم بادامی) مقاومت نسبتاً بالایی به شوری خاک و آب دارند، ولی حد تحمل نهال‌های پسته به تنش شوری کمتر است. با توجه به نتایج این پژوهش، علائم شوری در سطح شوری آب ۱۰ دسی زیمنس بر متر در برگ‌های دانهال‌ها نمایان بود که موجب خشکیدگی برگهای پایین و سوختگی حاشیه و نوک برگ‌های جوان گردید. بنابراین این نکته در زمان کاشت نهال‌های پسته در اراضی با خاک و آب شور (بویژه در کاشت مستقیم بذر در خاک باغات) می‌بایست مورد توجه قرار گیرد. از طرفی، کاربرد سنگ فسفات همراه با تلقیح با باکتری‌های حل کننده فسفات موجب افزایش رشد، تجمع پرولین و قندهای محلول، غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها، مقدار آب نسبی و پایداری غشا و غلظت فسفر دانهال‌های پسته بویژه در شرایط شور شد. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش توانایی تولید ترکیبات محرک رشدی و مقاومت به تنش شوری در شرایط آزمایشگاهی را دارا بودند. بهبود رشد و افزایش مقاومت در برابر تنش شوری در دانهال‌های تلقیح شده با باکتری‌ها را می‌توان به تولید هورمون ایندول استیک اسید، اسیدهای آلی و پروتون و آنزیم ACC–دآمیناز توسط این باکتری‌ها نسبت داد. ایندول استیک اسید و آنزیم ACC–دآمیناز ترشح شده توسط باکتری‌ها موجب تحریک ریشه‌زایی و افزایش رشد ریشه می‌گردد. از طرفی تولید اسیدهای آلی و پروتون باعث کاهش اسیدیته محیط و افزایش فراهمی عناصری مانند فسفر بویژه از سنگ فسفات می‌شود. بنابراین افزایش رشد ریشه و فراهمی عناصر غذایی در محیط ریشه دانهال‌های تلقیح شده با باکتری‌ها، مقدار جذب آب و عناصر غذایی در دانهال‌ها را افزایش داده و موجب بهبود رشد و مقاومت آن‌ها در شرایط تنش می‌گردد. افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه دانهال‌های تیمار شده با باکتری‌ها و سنگ فسفات در این پژوهش تایید کننده موارد فوق است. از طرفی، کاهش آثار تنش شوری نظیر خشک شدن برگ‌ها و سوختگی حاشیه برگ ها در دانهال‌های تیمار شده با باکتری‌ها و سنگ فسفات نیز بصورت ظاهری مشاهده شد. بنابراین استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات می‌تواند به رشد و استقرار دانهال‌های پسته در شرایط تنش شوری و افزایش کارایی سنگ فسفات و تأمین فسفر مورد نیاز دانهال‌ها کمک کند.

منابع

1. Akhkha A., Boutra T. and Alhejely A. 2011. The rates of photosynthesis chlorophyll content, dark respiration, proline and abscicic acid (ABA) in wheat (*Triticum durum*) under water deficit conditions. International Journal of Agricultural and Biology 13: 215-221.
2. Alori E.T., Glick B.R. and Babalola O. O. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. Frontiers in Microbiology 8: 971. doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971.
3. Ashraf M. and Harris P.J.C. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. Photosynthetica 51: 163-190. 10.1007/s11099-013-0021-6
4. Ashraf M., Hasnain S., Berge O. and Mahmood T. 2004. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. Biology and Fertility of Soils 40: 157-162. 10.1007/s00374-004-0766-y
5. Ayeni L.S., Adeleye E.O. and Adejumo J.O. 2012. Comparative effect of organic, organomineral and mineral fertilizers on soil properties, nutrient uptake, growth and yield of maize (*Zea mays*). International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science 2(11):493-497. 10.13140/RG.2.2.15371.18721
6. Azarmi F., Mozafari V., Abbaszadeh-Dahaji P. and Hamidpour M. 2015. Isolation and evaluation of plant growth promoting indices of *Pseudomonas fluorescens* isolated from pistachio rhizosphere. Journal of Soil Biology 2(2): 173-186. 10.22092/sbj.2015.100867
7. Azarmi F., Mozafari V., Abbaszadeh-Dahaji P. and Hamidpour M. 2016. Biochemical, physiological and antioxidant enzymatic activity responses of pistachio seedlings treated with plant growth promoting rhizobacteria and Zn to salinity stress. Acta Physiologiae Plantarum 38: 21. 10.1007/s11738-015-2032-3
8. Behzadi Rad P., Roozban M.R., Karimi S., Ghahremani R. and Vahdati, K. 2021. Osmolyte accumulation and sodium compartmentation key role in salinity tolerance of pistachios rootstocks. Agriculture 11: 708. doi.org/10.3390/agriculture11080708.
9. 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 and Soil 233: 269-281. 10.1023/A:1010564013601
10. Chapman H.D. and Pratt P.F. 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters. University of California, Riverside.

11. De-Freitas J.R. and Germida J.J. 1990. A root tissue culture system to study winter wheat-rhizobacteria interactions. Applied Microbiology and Biotechnology 33: 589-595. 10.1007/BF00172557
12. Demir S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal of Biology 28: 85-90.
13. Egert M. and Tevini M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environmental and Experimental Botany 48: 43-49. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00008-4
14. Elhaissoufi W., Khourchi S., Ibnyasser A., Ghoulam C., Rchiad Z., Zeroual Y., Lyamlouli K. and Bargaz A. 2020. Phosphate solubilizing rhizobacteria could have a stronger influence on wheat root traits and above ground physiology than rhizosphere P solubilization. Frontiers in Plant Science 11: 979. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00979.
15. Eskandari S. and Mozaffari V. 2014. Interactive effect of soil salinity and copper application on growth and chemical composition of pistachio seedlings (*cv. badami*). Communications in Soil Science and Plant Analysis 45: 688-702. https://doi.org/10.1080/00103624.2013.874022
16. Fageria N.K., Filho M.P. Barbosa., Moreira A. and Guimarães C.M. 2009. Foliar fertilization of crop plants. Journal of Plant Nutrition 32(6): 1044-1064. 10.1080/01904160902872826.
17. FAOSTAT. 2020. Food and agriculture organization of the United Nations. Retrieved from FAOSTAT database. http://ww1.faostat.org/ Accessed on 22 June 2020.
18. Ferguson L., Poss J.A., Grattan S.R., Grieve G.M., Wang D., Wilson C., Donovan T.J. and Chao C.T. 2002. Pistachio rootstocks influence scion growth and ion relations under salinity and boron stress. Journal of the American Society for Horticultural Science 127: 194-199. https://doi.org/10.21273/JASHS.127.2.194
19. Glick B.R. 2004. Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. Advances in applied microbiology 56: 291-312. 10.1016/S0065-2164(04)56009-4
20. Gonzalez L. and Gonzalez-Vilar M. 2003. Determination of relative water content. In: Reigosa M.J. editor. Handbook of plantecophysiology techniques. Dordrecht: Kluwer Academic, p. 207-212
21. Grattan S.R. and Grieve C.M. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. Scientia Horticulture 78: 127- 157. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00192-7
22. Iqbal M. and Ashraf M. 2013. Alleviation of salinity-induced perturbations in ionic and hormonal concentrations in spring wheat through seed preconditioning in synthetic auxins. Acta Physiologiae Plantarum 35: 1093-1112. 10.1007/s11738-012-1147-z
23. Irigoyen J.J., Emerich D.W. and Sanchez-Diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 84: 55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x
24. Jilani G., Akram A., Ali R.M., Hafeez F.Y., Shamsi I.H., Chaudhry A.N. and Chaudhry A.G. 2007. Enhancing crop growth, nutrients availability, economics and beneficial rhizosphere microflora through organic and biofertilizers. Annals of Microbiolgy 57: 177-183. 10.1007/BF03175204
25. Kang J., Amoozegar A., Hesterberg D. and Osmond D.L. 2011. Phosphorus leaching in a sandy soil as affected by organic and incomposted cattle manure. Geoderma 161: 194-201. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.12.019
26. Karimi S., Rahemi M., Maftoun M., Eshghi S. and Tavallali V. 2009. Effect of long–term salinity on growth and performance of two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. Australian Journal of Crop Science 3: 1630-1639.
27. Karlidag H., Yildirim E., Turan M., Pehluvan M. and Donmez F. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria× ananassa*). HortScience 48(5): 563-567. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.5.563
28. Katsuhara M., Otsuka T. and Ezaki B. 2005. Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. Plant Science 169: 369-373. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.03.030
29. Khan M.S., Zaidi A. and Ahmad E. 2014. Mechanism of phosphate solubilization and physiological functions of phosphate-solubilizing microorganisms, Phosphate Solubilizing Microorganisms. Springer, pp. 31-62.
30. Khan MA., Hamayun M., Asaf S., Khan M., Yun B-W., Kang S-M. and Lee I-J. 2021. Rhizospheric *Bacillus spp.* rescues plant growth under salinity stress via regulating gene expression, endogenous hormones, and antioxidant system of *Oryza sativa* L. Frontiers in Plant Science 12: 665590. doi: 10.3389/fpls.2021.665590.
31. Lichtenthaler H.K. and Wellburn A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b

of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592. https://doi.org/10.1042/bst0110591.
32. Malhotra H., Vandana S., harma S. and Pandey R. 2018. Phosphorus nutrition: plant growth in response to deficiency and excess" in Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance, eds Hasanuzzaman M., Fujita M., Oku H., Nahar K. and Hawrylak-Nowak B. (Singapore: Springer Singapore) 171-190.
33. Mane A.V., Deshpande T.V., Wagh V.B., Karadge, B.A. and Samant J.S. 2011. A critical review on physiological changes associated with reference to salinity. International Journal of Environmental Sciences 1192-1216.
34. Marathe R., Phatake Y., Shaikh A., Shinde B. and Gajbhiye, M. 2017. Effect of IAA produced by *Pseudomonas aeruginosa* 6a (bc4) on seed germination and plant growth of *Glycin max*. Journal Experimental Biology and Agriculture Sciences 5: 351-358. https://doi.org/10.18006/2017.5(3).351.358.
35. Mayak S., Tirosh T. and Glick B.R. 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant physiology and Biochemistry 42(6): 565-572. 10.1016/j.plaphy.2004.05.009.
36. Meloni D.A., Oliva M.A., Ruiz H.A. and Martinez, C.A. 2001. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. Journal of Plant Nutrition 24: 599- 668. https://doi.org/10.1081/PLN-100104983
37. Mishra M., Kumar U., Mishra, P.K. and Prakash, P. 2010. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of *Cicer arietinum* L. growth and germination under salinity. Advances in Biological Research 4: 92-96.
38. Mousavi A., Lessani H., Babalar M., Talaei A.R. and Fallahi E. 2008. Influence of salinity on chlorophyll, leaf water potential, total soluble sugars, and mineral nutrients in two young olive cultivars. Journal of Plant Nutrition 31: 1906-1916. https://doi.org/10.1080/01904160802402807
39. Munns R. and Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
40. Murakeozy E.P., Nagy Z., Duhaze C., Bouchereau A. and Tuba Z. 2003. Seasonal changes in the levels of compatible osmolytes in three halophytic species of inland saline vegetation in Hungary. Journal of Plant Physiology 160: 395-401. https://doi.org/10.1078/0176-1617-00790
41. Naeem A., Akhtar M. and Ahmad W. 2013. Optimizing available phosphorus in calcareous soils fertilized with diammonium phosphate and phosphoric acid using Freundlich adsorption isotherm. The Scientific World Journal 2013: 680257. http://dx.doi.org/10.1155/2013/680257.
42. Niu, S., Wu M., Han Y.I., Xia J., Zhang Z., Yang H. and Wan S. 2010. Nitrogen effects on net ecosystem carbon exchange in a temperate steppe. Global Change Biology 16: 144-155. doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01894.x
43. Paquin R. and Lechasseur P. 1979. Observations on measurement method of free proline in extracts from plants. Canadian Journal of Botany 57: 1851-1854. doi.org/10.1139/b79-233
44. Parida A.K. and Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicology Environmental Safety 60: 324-349. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010
45. Patel D., Jha C.K., Tank N. and Saraf M. 2012. Growth enhancement of chickpea in saline soils using plant growth-promoting rhizobacteria. Journal of Plant Growth Regulation 31: 53-62. doi.org/10.1007/s00344-011-9219-7
46. Patten C.L. and Glick B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. Applied Environmental Microbiology 68: 3795-3801. https://doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002
47. Paul D. and Nair S. 2008. Stress adaptations in a plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. Journal of Basic Microbiology 48: 1-7. 10.1002/jobm.200700365
48. Porra R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research 73: 149-156. doi.org/10.1007/1-4020-3324-9-56
49. Razaq M., Zhang P., Shen H. and Salahuddin .2017. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. PLoS ONE 12(2): e0171321. doi.org/10.1371/journal.
50. Saadatmand A.R., Banihashemi Z., Maftoun M. and Sepaskhah, A.R. 2007. Interactive effect of soil salinity and water stress on growth and chemical compositions of pistachio nut tree. Journal of Plant Nutrition 30: 2037-2050. https://doi.org/10.1080/01904160701700483
51. Sairam R.K. 1994. Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. Indian Journal of Experimental Biology 32: 584-593.

52. Sarcheshmehpour M., Besharati H. and Savaghebi G.R. 2015. Increasing the efficiency of rock phosphate by some indigenous microorganisms of pistachio orchards to improve growth and nutrition of pistachio seedlings under salt stress. Iranian Journal of Soil Research 29(3): 371-381. 10.22092/IJSR.2015.103511
53. Selvaraj T. and Chellappan P. 2006. Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality. Journal of Central European Agriculture 7: 349-358.
54. Shaharroona B., Arshad M., Zahir Z.A., and Khalid A. 2006. Performance of *Pseudomonas spp.* containing ACC-Deaminase for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil Biology and Biochemistry 38: 2971-2975. doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.03.024
55. Shahbazi K. and Besharati H. 2013. Overview of agricultural soil fertility status of Iran. Journal of Land Management 1: 1-15. 10.22092/LMJ.2013.100072
56. Shahriaripour R., Tajabadi Pour A. and Mozaffari V. 2011. Effects of salinity and soil phosphorus application on growth and chemical composition of pistachio seedlings. Communications in Soil Science and Plant Analysis 42: 144-158. doi.org/10.1080/00103624.2011.535065.
57. Sziderics A.H., Rasche F., Trognitz F., Wilhelm E. and Sessitsch A. 2007. Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaptation in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Canadian Journal of Microbiology 53: 1195-1202. https://doi.org/10.1139/W07-082
58. Tavallali V., Rahemi M. and Kholdebarin B. 2009. Ameliorative effect of zinc on pistachio (*pistacia vera* L.) growth under salt-affected soil condition. Research Journal of Environmental Science 3: 656-666. 10.3923/rjes.2009.656.666
59. Vives-Peris V., Gomez-Cadenas A. and Perez-Clemente R.M. 2018. Salt stress alleviation in citrus plants by plant growth-promoting rhizobacteria *Pseudomonas putida* and *Novosphingobium* sp. Plant Cell Reports 37: 1557-1569. 10.1007/s00299-018-2328-z
60. Zeinali bafghi M., Gholamnezhad J., Esmailzadeh-Hosseini S.A., Shirmardi M. and Jafari A. 2020. Influence of growth promoting bacteria on growth and physiological traits of pistachio in saline soils. Horticultural Plants Nutrition 2(2): 107-129. (In Persian with English abstract) 10.22070/HPN.2020.4548.1030