

## واکنش پارامترهای فلورسانس کلروفیل و فیزیولوژیک گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) به کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد (PGPR) تحت تنش شوری

سیده حدیثه بهاری ساروی<sup>۱</sup>، همت‌اله پیردشتی<sup>۲\*</sup> و یاسر یعقوبیان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، <sup>۲</sup>گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۲/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۵/۰۲/۲۱)

### چکیده:

به منظور بررسی اثر باکتری‌های افزاینده رشد (PGPR) بر فلورسانس کلروفیل و برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه ریحان تحت تنش شوری، آزمایشی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش شوری در چهار سطح (۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید‌سدیم) و تیمار زیستی در سه سطح شامل شاهد بدون تلقیح باکتری، تلقیح با باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلوم و باکتری‌های آزوسپریلوم، سودوموناس و باسیلوس بود. بر اساس نتایج، افزایش تنش شوری باعث افزایش فلورسانس حداقل (F<sub>0</sub>) و حداکثر (F<sub>m</sub>) و کارایی کوانتمی غیرفتوشیمیابی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و نیز کاهش فلورسانس متغیر (F<sub>v</sub>)، حداکثر کارایی کوانتمی فتوسیستم II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) و کارایی کوانتمی فتوشیمیابی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)] شد. روند تغییرات سبزینگی برگ و کلروفیل <sup>a</sup> و <sup>b</sup> در تیمار شاهد در سطوح پایین و متوسط شوری افزایشی و در شوری بالاتر کاهشی بود، ولی محتوای کارتنتوئیدها و محتوی رطوبت نسبی (RWC) همواره روند کاهشی و نشت الکتروولیت روند افزایشی داشت. با این وجود، کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد، F<sub>0</sub> و Y(NO) را به صورت معنی‌داری کاهش و F<sub>v</sub> و Y(II) را نسبت به شاهد افزایش داد. از بین تیمارهای زیستی، کاربرد همزمان آزوسپریلوم، سودوموناس و باسیلوس با افزایش ۱۲ درصدی (Y(II)) و کاهش ۱۶ درصدی (Y(NO)) بیشترین اثر مثبت را بر سیستم فتوستزی گیاه داشت. تیمار زیستی، همچنین باعث بهبود سبزینگی برگ، غلظت کلروفیل <sup>a</sup> و RWC و نیز کاهش نشت الکتروولیت شد. در مجموع، نتایج بیانگر نقش مثبت باکتری‌های افزاینده رشد به ویژه کاربرد همزمان باکتری‌های آزوسپریلوم، سودوموناس و باسیلوس بر بهبود پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگ و صفات فیزیولوژیک گیاه ریحان بود.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های افزاینده رشد، تنش شوری، رنگیزه‌های فتوستزی، ریحان، فلورسانس کلروفیل «

### مقدمه:

آب آبیاری گیاه را با تنش شوری مواجه نموده و گیاه با قرار گرفتن در محیط شور و منفی شدن پتانسیل اسمزی محلول خاک و انباستگی بیش از حد یون‌هایی سمی نظیر سدیم و کلسیم می‌باشد (Munns, 2002).

تشنج شوری با اختلال بر چند مکانیسم مهم گیاه مانند فتوستز، فشار اسمزی و فعالیت آنزیم‌ها، رشد گیاه را کاهش

شوری پس از خشکی از مهم‌ترین و متدائل‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان از جمله ایران است (صفاری و همکاران، ۱۳۹۲) و یکی از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی به شمار می‌رود (Hall, 2001; Marschner, 1995).

کاهش و خاموشی غیرفتوشیمیایی را افزایش داد. علاوه بر آن تنش شوری اثرات تخریبی بر سایر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه نیز دارد که می‌تواند به دلیل کاهش جذب آب یا افزایش جذب نمک باشد. از جمله آسیب‌های ناشی از شوری می‌توان به تخریب غشای سلولی و در نتیجه افزایش نشت الکترولیت‌ها و همچین آسیب به رنگیزهای فتوستتری از جمله کلروفیل *a* و *b* اشاره کرد (عموآقایی و نیکاندیش، ۱۳۹۴).

در این میان یکی از راهکارهایی که تحت تنش شوری می‌تواند آسیب به فرآیندهای فیزیولوژیکی و کارایی فتوستتری گیاه را تعدیل نماید، استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) باکتری‌های افزاینده رشد باعث کاهش میزان اتیلن گیاه از طریق تولید آنزیم آمینوسیکلولپروپانکربوکسیلات‌دی‌آمیناز می‌شوند که آمینوسیکلولپروپانکربوکسیلات را به آلفا-کتوبریتات و آمونیاک هیدرولیز کرده و میزان فراهمی عناصر کم‌صرف در شرایط تنش شوری را افزایش می‌دهد (Chang *et al.*, 2007). با این حال، عمدۀ مطالعات مربوط به اثربخشی باکتری‌های افزاینده رشد (PGPR)، معطوف به عملکرد و اجزای عملکرد می‌باشد (به عنوان مثال: بهاری و پیردشتی، ۱۳۹۱؛ عسیوند و همکاران، ۱۳۹۳) و کمتر به نقش آن در بهبود فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله فتوستتر و مؤلفه‌های آن پرداخته شده است. این در حالی است که برخی مطالعات نشان می‌دهد که تلقیح این باکتری‌ها و حضور آن در ریزوسفر گیاهان، از طریق کاهش اتیلن ناشی از تنش‌هایی نظیر شوری (ربیعی و همکاران، ۱۳۹۱) و خشکی (Ruiz-Sanchez *et al.*, 2011) می‌تواند کارایی فتوستتری گیاهان را در شرایط نامساعد محیطی بهبود بخشد. از سوی دیگر، طی مطالعات متعدد ثابت شده است که اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، روش معتبر و قابل اعتمادی برای مطالعه فرآیندهای فتوستتری گیاه تحت تنش‌های محیطی و همچنین کاربرد میکرووارگانیسم‌های محرک رشد در مواجهه با این تنش‌ها می‌باشد، برای نمونه، ربیعی و همکاران (۱۳۹۱) در گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) تحت تنش

می‌دهد (Ashraf, 2001). یکی از بارزترین واکنش‌های گیاهان به عوامل تنش‌زای محیطی افت فتوستتر ناشی از بسته شدن روزنۀ‌ها و کاهش دی‌اکسیدکربن قابل دسترس می‌باشد (عشقی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). در چنین شرایطی، به دنبال کاهش فتوستتر و کاهش مصرف فرآورده‌های انتقال الکترون یعنی ATP و NADPH در چرخه کالوین، عملکرد کوانتمی فتوسیستم II کاهش پیدا می‌کند (Maxwell and Johnson, 2005). یکی از روش‌های مطالعه این فرآیند، بررسی فلورسانس کلروفیل است. مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی زنجیره انتقال الکترون را از فتوسیستم II به فتوسیستم I نشان می‌دهد (Bhardwaj and Singhal, 1981). همچنین با استفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل می‌توان عدم توازن بین فرآیند متابولیسم و تولید را بررسی نمود (Ali Dib *et al.*, 1994)، چرا که جریان الکترون در فتوسیستم شاخصی برای میزان کلی فتوستتر می‌باشد و اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تخمینی از نحوه عمل فتوستتر را برای ما امکان‌پذیر می‌سازد (Maxwell and Johnson, 2005).

انرژی نوری جذب شده بوسیله مولکول‌های کلروفیل در یک برگ به یکی از صورت‌های زیر تبدیل می‌شود: می‌تواند برای پیشبرد فتوستتر استفاده شود (خاموشی فتوشیمیایی)، انرژی مازاد می‌تواند به صورت حرارت پراکنده شود (خاموشی غیر فتوشیمیایی) و یا می‌تواند به صورت نور با طول موج بلند (فلورسانس کلروفیل) ساطع شود (Baker, 2008). از آنجایی که این سه فرآیند به صورت رقابتی رخ می‌دهند، می‌توان از طریق اندازه‌گیری عملکرد فلورسانس کلروفیل، اطلاعاتی را در مورد تغییرات کارایی فتوشیمیایی و هدررفت گرمایی بدست آورد (Lazar, 1999).

فتوسیستم II بسیار حساس به عوامل بازدارنده محیطی بوده و تنش شوری موجب خسارت به مرکز واکنش آن می‌شود (Grafts and Salvucci, 2002). در همین رابطه پژوهش‌ها نشان داد که تنش شوری در گیاه برنج (Moradi and Ismaili, 2007) و ارقام مختلف گندم چغendarقند (Masojidek *et al.*, 1991) و ارقام مختلف گندم (Cha-um *et al.*, 2009)، عملکرد کوانتمی فتوسیستم II را

۳۰×۴۰ سانتی متر انجام شد. گیاهان تا مرحله هشت برگی با آب معمولی آبیاری و پس از آن جهت اعمال تنش سوری، گلدانها به مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان با محلولهای سوری (۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار) و به مقدار ۵۰۰ میلی لیتر در هر گلدان آبیاری شدند.

پس از اعمال تنش سوری، اندازه گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل در آخرین برگ توسعه یافته با استفاده از دستگاه فلورو مترا (PAM 2500-Walz, Germany) و بر اساس روش Genty و همکاران (۱۹۸۹) صورت گرفت. بدین منظور، برگ‌ها با استفاده از گیره‌های مخصوص برگ B، (2030-B-Walz) به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس فلورسانس حداقل (F<sub>0</sub>) با همهٔ مراکز واکنشی باز فتوسیستم II و فلورسانس حداثر (F<sub>m</sub>) با همهٔ مراکز واکنشی بسته F<sub>m</sub> در برگ‌های سازگار شده به تاریکی تعیین شد. فتوسیستم II در برگ‌های سازگار شده به تاریکی تعیین شد. در مرحله بعد در شرایط روش‌نایی میزان فلورسانس پایدار (F<sub>t</sub>)، فلورسانس حداقل (F<sub>0</sub>) و حداثر (F<sub>m</sub>) در برگ‌های سازگار شده به روش‌نایی تعیین شد. با استفاده از پارامترهای تعیین شده در برگ‌های سازگار شده به تاریکی و روش‌نایی، میزان فلورسانس متغیر (F<sub>v</sub>)، حداثر کارایی کوانتموی فتوسیستم II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>)، کارایی کوانتموی فتوشیمیابی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)], کارایی کوانتموی غیر فتوشیمیابی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)], کارایی کوانتموی غیر فتوشیمیابی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و خاموشی غیر فتوشیمیابی (NPQ) بر اساس جدول ۳ محاسبه شد.

برای اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) از آخرین برگ گسترش یافته گیاه استفاده شد. به این منظور، یک برگ از برگ‌های انتهایی گیاه برداشت و پس از توزین وزن تر برگ (WF) به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار گرفته و سپس وزن آماس (WT) برگ‌ها تعیین شد. سپس نمونه‌های برگی در آون در دمای ۷۲ درجه و به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و وزن خشک (WD) برگ‌ها اندازه گیری شد. محتوای نسبی آب برگ‌ها با استفاده از معادله ۱ بدست آمد (Schonfeld *et al.*, 1988).

$$RWC = \frac{WF - WD}{WT - WD} \times 100 \quad (معادله ۱)$$

شوری و کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد، یعقوبیان و همکاران (۱۳۹۱) در گیاه گندم تحت تنش رطوبتی و همزیستی میکوریزایی و همچنین Yaghoubian و همکاران (۲۰۱۶) تحت تنش کادمیم در گیاه خرفه، جنبایان و همکاران (۱۳۹۴) تحت تنش سرما و نور در گیاه سویا و نیز حسنی و همکاران (۱۳۹۲) و Yaman و همکاران (۲۰۰۸) در گیاه برنج تحت تنش سرما و شوری از این روش استفاده نمودند.

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی است یکساله، علفی و متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) و دارای اهمیت بسزایی در صنایع دارویی و غذایی می‌باشد. مواد مؤثره‌ی پیکر رویشی این گیاه اشتها آور بوده و برای درمان برخی بیماری‌های قلبی و سردردهای میگرنی و عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرد (آمیدبیگی، ۱۲۸۸). این تحقیق جهت بررسی اثر باکتری‌های افزاینده رشد در تحمل به تنش شوری گیاه ریحان با استفاده از پارامترهای فلورسانس کلروفیل و برخی صفات فیزیولوژیکی مربوطه انجام شد.

### مواد و روش‌ها:

پژوهش حاضر در بهار و تابستان ۱۳۹۰ در گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. قبل از شروع آزمایش به منظور تعیین خصوصیات خاک، نمونه برداری از خاک انجام گرفت که برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیابی آن در جدول ۱ نشان داده شده است. تیمارهای آزمایشی شامل تنش شوری کلرید سدیم در چهار سطح (۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار) و تلقیح باکتری در سه سطح شامل شاهد (عدم تلقیح باکتری)، تلقیح گیاه با باکتری‌های از توباكتر و آزو سپریلوم و باکتری‌های آزو سپریلوم، سودوموناس و باسیلوس بود. مشخصات باکتری‌های افزاینده رشد در جدول ۲ آمده است. تلقیح باکتری به صورت پیش تیمار به روش بذرمال و براساس دستورالعمل شرکت تولید کننده (جدول ۲) صورت گرفت. سپس بذور در سایه و به دور از تابش مستقیم آفتاب قرار داده شد تا خشک شود. پس از اعمال تیمارهای باکتریابی کاشت بذور به تعداد ۲۰ بذر در گلدان‌هایی به ابعاد

جدول ۱- نتایج تجزیه نمونه خاک اولیه قبل از اجرای آزمایش (عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری)

هدايت الکتروکلریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	pH	کربن آلی (درصد)	نیتروژن (درصد)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتانسیم (درصد)	رسن (درصد)	شن	سیلت	بافت خاک
۷/۰۸	۴	۰/۴۱	۱۶/۸۸	۳۸۰	۱۷	۲۸/۸۱	۵۴/۲	رسی - سیلتی	

جدول ۲- برخی مشخصات کودهای زیستی مورد استفاده

باکتری‌های موجود	نام تجاری	علایم اختصاری	واحد تشکیل دهنده کلونی در هر میلی لیتر(CFU/ml)	شرکت سازنده
<i>Azotobacter brasiliense</i> <i>Azospirillum lipoferum</i>	نیتروکسین	AZB+AZL	$10^8$ در هر میلی لیتر	فناوری زیستی مهر آسیا
<i>Azospirillum sp.</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Bacillus subtilis</i>	سوپرنیتروپلاس	AZL+PSF+BAS	$10^8$ در هر میلی لیتر	فناوری زیستی مهر آسیا

جدول ۳- مؤلفه‌های بیوفیزیکی اندازه‌گیری شده فلورسانس کلروفیل و معادلات مربوط به آنها

(Klughammer and Schreiber, 2008; Li et al., 2008)

مؤلفه	معادله	شناسه	
فلورسانس متغیر	Fm-Fo	Fv	Variable fluorescence
حداکثر کارایی کواتنومی فتوسیستم II	(Fm-Fo)/Fm	Fv/Fm	Maximum photochemical quantum yield of photosystem II
کارایی کواتنومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II	(Fm-Ft)/Fm'	Y(II)	Effective photochemical quantum yield of photosystem II
کارایی کواتنومی غیرفوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II	(Ft/Fm') - (Ft/Fm)	Y(NPQ)	Quantum yield of regulated non-photochemical
کارایی کواتنومی غیرفوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II	Ft/Fm	Y(NO)	Quantum yield of non-regulated non-photochemical
خاموشی غیرفوشیمیایی	Fm-Fm'/Fm'	NPQ	Non-photochemical quenching

به منظور اندازه‌گیری نشت الکتروولیت، نمونه‌ی برگی در لوله‌های آزمایش حاوی  $10$  میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفته و پس از  $۲۴$  ساعت هدايت الکتروکلریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (CON 410)، سنگاپور) اندازه‌گیری شد (EC<sub>1</sub>). سپس لوله‌های آزمایش به مدت  $۲۰$  دقیقه در دستگاه بن ماری با دمای  $۹۰$  درجه قرار گرفته و مجدداً هدايت الکتروکلریکی نمونه‌ها که نشانگر میزان کل نشت الکتروولیت‌ها در اثر مرگ سلول است، ثبت شد (EC<sub>2</sub>). درصد نشت الکتروولیت‌ها با استفاده از معادله  $۵$  محاسبه شد (Teutonica et al., 1993)

$$\text{معادله } 5 \quad \frac{EC_1}{EC_2} \times 100 = \text{درصد نشت الکتروولیت}$$

در نهایت داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و مقایسه میانگین اثر باکتری بر

همچنین رنگیزه‌های فتوستتری با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۶) اندازه‌گیری و میزان کلروفیل  $a$ ،  $b$  و کارتونوئید بر اساس معادله‌های  $۲$ ،  $۳$  و  $۴$  محاسبه شد.

$$\text{معادله } 2 \quad C_a (\mu\text{g / ml}) = 16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4}$$

$$\text{معادله } 3 \quad C_b (\mu\text{g / ml}) = 34.09 A_{652.4} - 15.28 A_{665.2}$$

$$\text{معادله } 4 \quad \text{Carotenoid } (\mu\text{g / ml}) =$$

$$(1000 A_{470} - 1.63 C_a - 104.96 C_b) / 221$$

در این رابطه‌ها  $C_a$ ،  $C_b$  به ترتیب کلروفیل  $a$  و  $b$  (میکروگرم در میلی‌لیتر) و همچنین  $A_{665.2}$ ،  $A_{652.4}$ ،  $A_{470}$  میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های  $665/2$ ،  $652/4$  و  $470$  نانومتر است.

نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۱-C).

روند تغییرات حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) نیز نسبت به افزایش سطوح شوری به صورت درجه ۴۰ دوم بود. پارامتر Fv/Fm با افزایش تنفس شوری از صفر به ۴۰ میلی مولار تقریباً ثابت بوده، ولی در ادامه از ۴۰ تا ۱۲۰ میلی مولار کاهش نشان داد، به طوری که شبکه کاهش آن با افزایش تنفس شوری، افزایش یافت. کمترین میزان Fv/Fm در سطح ۱۲۰ میلی مولار NaCl مشاهده شد که به میزان پنج درصد نسبت به شاهد کاهش معنی داری نشان داد (شکل ۱-D). برخلاف سایر پارامترهای مورد بررسی، روند پاسخ فلورسانس پایدار (Ft) نسبت به تغییرات شوری از نوع درجه اول بوده و با افزایش تنفس شوری با شبکه ۰/۰۰۵ واحد افزایش نشان داد و در سطح شوری ۱۲۰ میلی مولار به بیشترین مقدار خود رسید که نسبت به شاهد ۲۴ درصد افزایش داشت (شکل ۱-E). تنفس شوری همچنین منجر به افزایش پارامتر خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) شد به طوری که بیشترین شبکه افزایش آن در سطوح پایین شوری بوده و رفته رفته با افزایش سطوح شوری شبکه تغییرات کاهش یافته و بیشترین میزان خاموشی فتوشیمیایی (۰/۳۶۵) در سطح شوری ۹۴ میلی مولار مشاهده شد (شکل ۱-F).

طبق جدول ۵، کاربرد باکتری های افزاینده رشد، میزان فلورسانس حداکثر (Fo) را به صورت معنی داری کاهش داد، به طوری که این کاهش برای کاربرد همزمان از توپاکتر و آزو سپیریلوم و کاربرد همزمان آزو سپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس به ترتیب ۸ و ۵ درصد نسبت به شاهد بود. میزان فلورسانس حداکثر (Fm) برخلاف Fo تحت تأثیر باکتری های افزاینده رشد افزایش نشان داد. بیشترین افزایش مربوط به تیمار کاربرد از توپاکتر و آزو سپیریلوم بود که نسبت به کاربرد همزمان آزو سپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس نیز افزایش معنی داری داشت. همچنین پارامترهای Fv، Fv/Fm، NPQ در برگ های گیاهان تلقیح شده با باکتری های افزاینده رشد به صورت معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافت. این افزایش در تیمار کاربرد همزمان از توپاکتر و آزو سپیریلوم برای Fv،

پارامترهای فلورسانس کلروفیل و صفات فیزیولوژیک با آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. در سطوح تنفس شوری نیز از تجزیه رگرسیونی و برآذش منحنی درجه یک و دو استفاده شد.

#### نتایج:

**فلورسانس کلروفیل**  $\pi$  نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های آزمایش (جدول ۴) نشان داد که تنفس شوری در پارامتر های Fv، Fv، Fv و Y(II) در سطح احتمال پنج درصد و در پارامترهای Fm، (Y(NO) و NPQ در سطح احتمال یک درصد اثر معنی داری داشت. همچنین تیمار باکتری های افزاینده رشد مورد مطالعه نیز در پارامترهای Fv، Fv، Fm و در سطح احتمال یک درصد و در پارامترهای (Y)، Y(II) و NPQ در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی داری را نشان داد (جدول ۴). بین باکتری های افزاینده رشد مورد مطالعه و سطوح مختلف شوری از نظر تمامی صفات مورد مطالعه برهمکنش معنی داری مشاهده نشد.

برای توصیف اثر شوری بر پارامترهای Fv، Fm و از معادله رگرسیونی درجه دوم استفاده شد (شکل ۱-A، B و C). روند تغییرات فلورسانس حداقل در برگ های سازگار به تاریکی (F<sub>0</sub>) با افزایش تنفس شوری از نوع درجه دوم و به صورت افزایشی بوده و با افزایش سطوح شوری، شبکه منحنی پاسخ نیز افزایش یافت، به طوری که بالاترین میزان آن (با حدود ۷ درصد افزایش نسبت به شاهد) که نشان دهنده آسیب شدید ناشی از تنفس می باشد، در سطح شوری ۱۲۰ میلی مولار مشاهده شد (شکل ۱-A). همچنین فلورسانس حداکثر (Fm) نیز با افزایش تنفس شوری از سطح صفر تا ۵۰ میلی مولار افزایش، ولی در ادامه (از سطح ۵۰ تا ۱۲۰ میلی مولار) کاهش نشان داد (شکل ۱-B). برخلاف Fv و Fm، روند تغییرات فلورسانس متغیر (Fv) در پاسخ به افزایش تنفس شوری به صورت کاملاً کاهشی بوده و بیشترین شبکه کاهش نیز در سطوح بالای تنفس مشاهده شد. کمترین مقدار فلورسانس متغیر (۴/۲) در سطح شوری ۱۲۰ میلی مولار و با ۴/۵ درصد کاهش

جدول ۴- میانگین مریعات اثر تیمارهای مورد بررسی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در گیاه ریحان

منابع تغییر درجه آزادی	شوری (A)	تیمار زیستی (B)	AxB	خطای آزمایشی	ضریب تغییرات (درصد)		
						۳	۲
۵/۵۹	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۱۸ **	۰/۰۸ *	Fo	
۰/۰۴	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱۰ **	۰/۰۰۰۰۷ **	Fm	
۳/۳۴	۰/۰۲	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۳۸ **	۰/۲۵ *	Fv	
۳/۳۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۳۰ **	۰/۰۰۱۰ *	Fv/Fm	
۲۵/۶	۰/۳۶	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۸۵	۰/۸۷	Ft	
۱۱/۰	۰/۰۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۱۸ *	۰/۰۱۴ *	Y(II)	
۲۶/۱	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۰۹	Y(NPQ)	
۱۸/۰	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۲۰ *	۰/۰۲۰ **	Y(NO)	
۲۴/۳	۰/۰۰۶	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۳۰ *	۰/۰۳۰ **	NPQ	

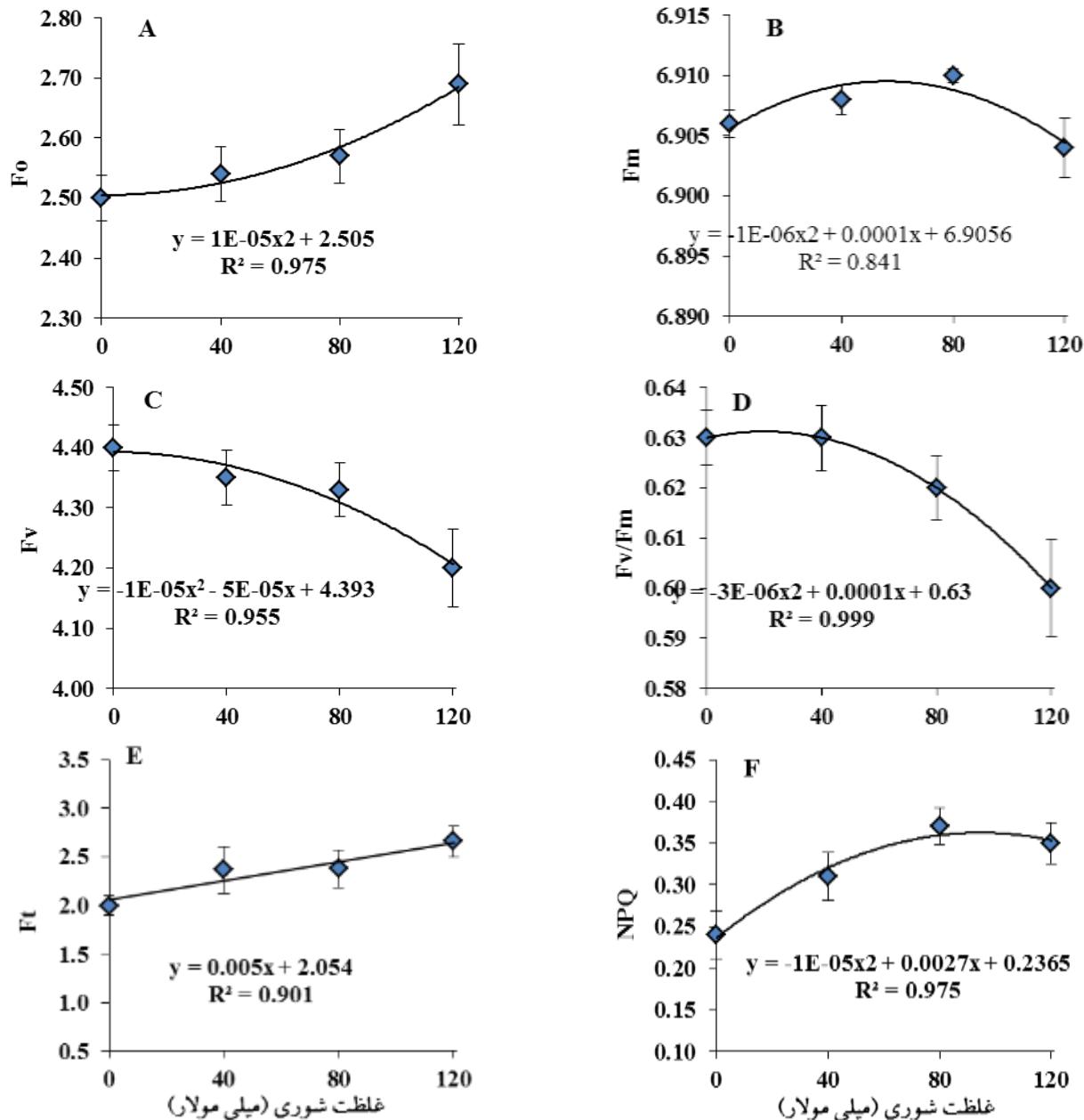
\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

منجر به افزایش ۶ و ۱۲ درصدی کارایی کوانتمومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)] در برگ گیاه ریحان شد (شکل ۲-B). همچنین شکل ۲-B نشان داد که کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] تحت تأثیر کاربرد باکتری های افزاینده رشد قرار گرفت. براساس یافته ها، کاربرد همزمان آزوسپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس و یا ازتوباکتر و آزوسپیریلوم به ترتیب منجر به کاهش ۱۶ و ۱۱ درصدی Y(NO) نسبت به شاهد شد. با این وجود، تلقیح همزمان باکتری های آزوسپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس، میزان کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم دو (Y(NPQ)) را حدود ۱۰ درصد نسبت به شاهد کاهش داد، ولی کاربرد توأم ازتوباکتر و آزوسپیریلوم، اثر چندانی بر این پارامتر نداشت (شکل ۲-B).

**صفات فیزیولوژیک:** براساس جدول تجزیه واریانس، اثر تیمارهای مورد مطالعه بر صفات فیزیولوژیک (جدول ۶) تیمار شوری بر تمام صفات فیزیولوژیک اندازه گیری شده شامل سبزینگی برگ، کلروفیل *a* و *b*، کارتنوئید، محتوی نسبی آب برگ (RWC) و نشت الکترولیت در سطح احتمال یک درصد اثر معنی داری داشت. اثر تیمار زیستی نیز بر صفات سبزینگی برگ در سطح احتمال یک درصد و در کلروفیل *a*، RWC و

NPQ به ترتیب ۵، ۶/۵ و ۱۲ درصد و در تیمار کاربرد همزمان آزوسپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس به ترتیب ۳، ۳/۵ و ۱۸ درصد بود.

در پژوهش حاضر، کارایی کوانتمومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)], کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)] و همچنین کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفتند (شکل ۲-A). میزان (Y(II) با افزایش تنش شوری روند کاهشی نشان داد، به طوری که سطح شوری ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب منجر به کاهش ۲، ۸ و ۱۱ درصدی آن نسبت به شاهد شد. با افزایش سطوح شوری میزان کارایی کوانتمومی غیر فتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II افزایش یافت به طوری که بیشترین مقدار Y در سطح شوری ۱۲۰ میلی مولار مشاهده شد که حدود ۳۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. همچنین میزان Y(NPQ) در گیاهان تحت تنش شوری کاهش نشان داد، به طوری که در تنش شوری ۱۲۰ میلی مولار به کمترین میزان خود رسید که این کاهش نسبت به شاهد ۱۲ درصد بود (شکل ۲-A). کاربرد همزمان ازتوباکتر و آزوسپیریلوم و همچنین کاربرد همزمان آزوسپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس به ترتیب

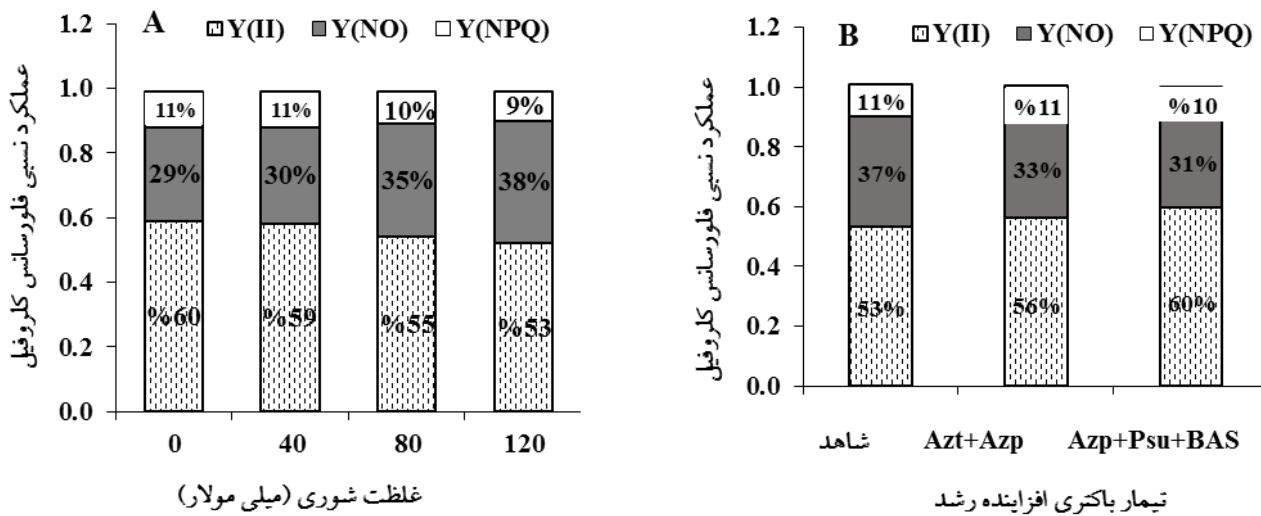


شکل ۱- روند تغییرات پارامترهای فلورسانس حداقل (A)، فلورسانس حداکثر (B)، فلورسانس متغیر (C)، حداکثر کارایی کوانتم فتوسیستم II (D)، فلورسانس پایدار (E) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (F) در پاسخ به افزایش شوری خاک در گیاه ریحان. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر ساده باکتری‌های افزاینده رشد بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در گیاه ریحان

تیمار	تیمار زیستی	NPQ	Fv/Fm	Fv	Fm	Fo
شاهد		۰/۲۷ <sup>b</sup>	۰/۶۰ <sup>b</sup>	۴/۲۱ <sup>b</sup>	۷/۹۰۴ <sup>c</sup>	۲/۷۹ <sup>a</sup>
AZB+AZL		۰/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۶۴ <sup>a</sup>	۴/۴۳ <sup>a</sup>	۷/۹۱۰ <sup>a</sup>	۲/۴۸ <sup>b</sup>
AZL+PSF+BAS		۰/۳۳ <sup>a</sup>	۰/۶۲ <sup>a</sup>	۴/۳۳ <sup>a</sup>	۷/۹۰۸ <sup>b</sup>	۲/۵۶ <sup>b</sup>

\* در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



شکل ۲- تغییرات پارامترهای Y(II)، Y(NO) و Y(NPQ) در پاسخ به افزایش شوری خاک (A) و تلقیح با باکتری‌های افزاینده رشد (B) در گیاه ریحان

جدول ۶- میانگین مریعات اثر تیمارهای مورد بررسی بر رنگیزه‌های فتوستزی و صفات فیزیولوژیک گیاه ریحان

منابع تغییر	شوری (A)	تیمار زیستی (B)	A×B	خطای آزمایشی	ضریب تغییرات	(درصد)
					۳	
سبزینگی برگ (عدد SPAD)	۵/۴۶۴**	۱۱/۶۱۲**	۲/۸۷۷*	۱/۱۳۰	۲/۵۳	
کلروفیل a	۲/۴۴۴*	۳/۱۰۶*	۱/۴۹۰*	۰/۵۸۹	۱۰/۱۱	
کلروفیل b	۱۱/۴۲۲**	۰/۹۳۹	۲/۶۵۲	۱/۵۶۶	۲۶/۸۶	
کاروتونئید	۳/۴۷۳**	۰/۲۶۷	۰/۵۷۵	۰/۲۵۹	۲۶/۵۸	
محتوی نسبی آب برگ	۷۰/۶۹**	۴۸/۹۳*	۱۷/۳۸	۱۴/۶۶	۵/۱۵	
نشت الکترولیت	۱۲۰/۸/۱۲**	۱۹۸/۲۸*	۱۳۱/۵۲	۵۹/۴۴	۲۷/۸۲	

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

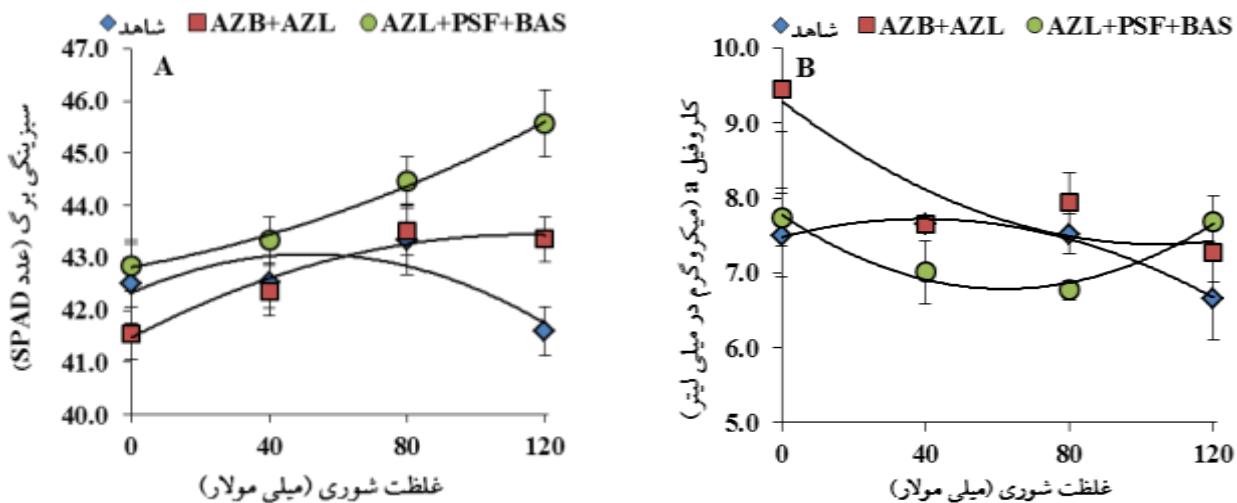
ازتوپاکتر و آزوسپریلوم نیز تا غلاطت حدود ۸۰ میلی مولار به صورت افزایشی و سپس تقریباً ثابت بود. گیاهان تلقیح شده با ترکیب باکتری‌های آزوسپریلوم، سودوموناس و باسیلوس در تمام سطوح شوری و گیاهان تلقیح شده با ترکیب باکتری‌های ازتوپاکتر و آزوسپریلوم در سطوح بالای شوری (۰-۶۰ میلی مولار) از سبزینگی برگ بالاتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند (شکل ۳-۱ و جدول ۷).

تغییرات کلروفیل a نیز در پاسخ به افزایش شوری آب آبیاری به صورت معادله درجه دوم بود (شکل ۳-۲ و جدول ۷). با این وجود، عکس‌العمل کلروفیل a نسبت به تنش شوری در سطوح مختلف تیمار زیستی متفاوت بود. در تیمار شاهد،

نشت الکترولیت در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود.

برهمکنش شوری و تیمار زیستی نیز در سبزینگی برگ و غلاطت کلروفیل a معنی دار ( $P < 0.01$ ) بود.

بر اساس یافته‌ها، روند تغییرات سبزینگی برگ و غلاطت کلروفیل a در پاسخ به افزایش شوری خاک از معادله درجه دوم تبعیت کرد (شکل ۳ و جدول ۷). با افزایش غلاطت شوری آب آبیاری از صفر تا ۴۰ میلی مولار، سبزینگی برگ در هر سه تیمار زیستی روند افزایشی داشت، ولی با افزایش بیشتر شوری از ۴۰ تا ۱۲۰ میلی مولار در تیمار کابرد همزمان آزوسپریلوم، سودوموناس و باسیلوس این روند افزایشی ادامه داشته، ولی در شاهد به صورت کاهشی بود. همچنین در کاربرد همزمان



شکل ۳- اثر تیمار کود زیستی بر روند تغییرات سبزینگی برگ (عدد SPAD) (A) و کلروفیل a (B) در پاسخ به افزایش شوری خاک در گیاه ریحان. میله های عمودی نشان دهنده خطای استاندارد می باشد.

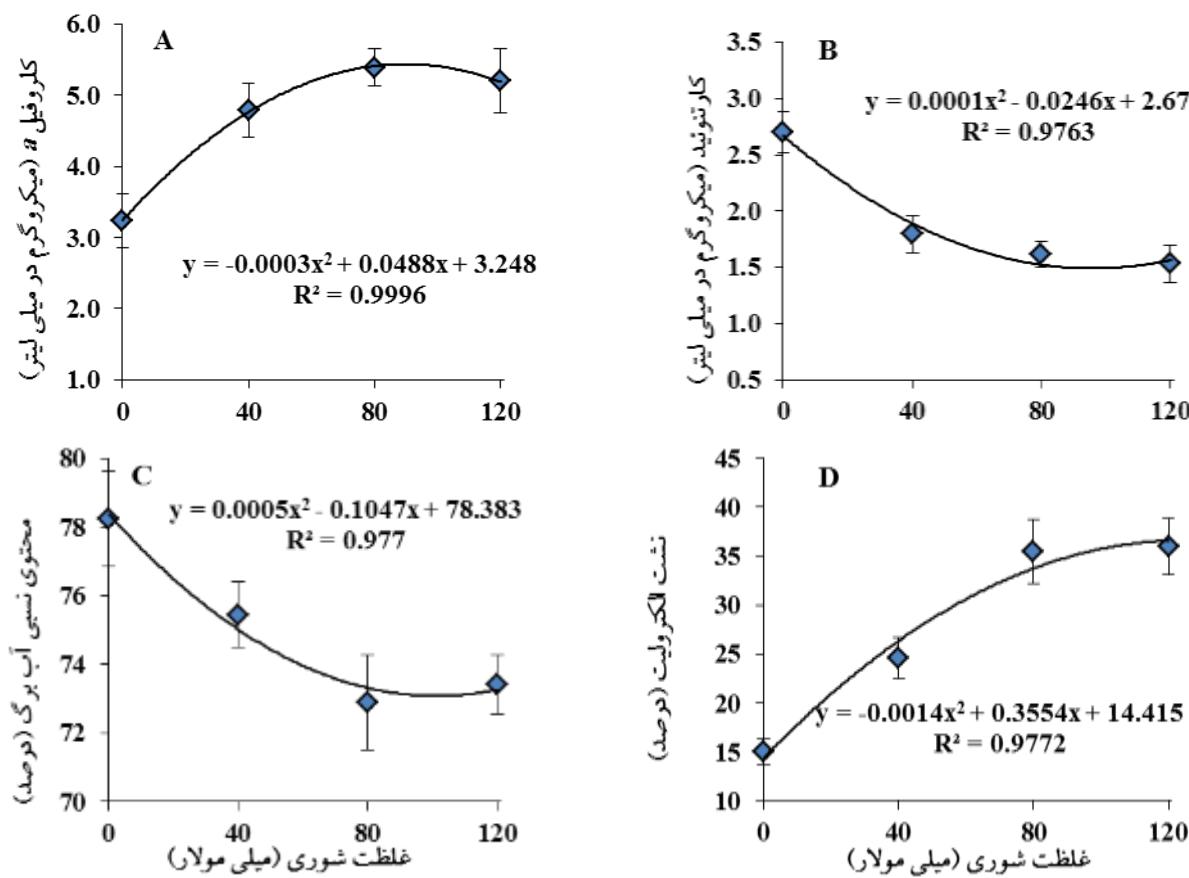
جدول ۷- معادله مناسب توصیف کننده اثر تیمار کود زیستی بر روند تغییرات سبزینگی برگ (عدد SPAD) و کلروفیل a در پاسخ به افزایش شوری خاک در برگ گیاه ریحان

تیمار زیستی	سبزینگی برگ (عدد SPAD)	کلروفیل a	نام صفت
شاهد (عدم تلقیح)	$y = -0.0003x^2 + 0.0287x + 42.335$ $R^2 = 0.643$	$y = -0.0002x^2 + 0.0366x + 9.296$ $R^2 = 0.983$	AZB+AZL
AZB+AZL	$y = -0.0001x^2 + 0.0343x + 41.479$ $R^2 = 0.947$	$y = -0.0002x^2 + 0.0124x + 7.477$ $R^2 = 0.8266$	شاهد
AZL+PSF+BAS	$y = 1E-04x^2 + 0.0117x + 42.825$ $R^2 = 0.994$	$y = 0.0003x^2 - 0.0319x + 7.7735$ $R^2 = 0.968$	AZL+PSF+BAS

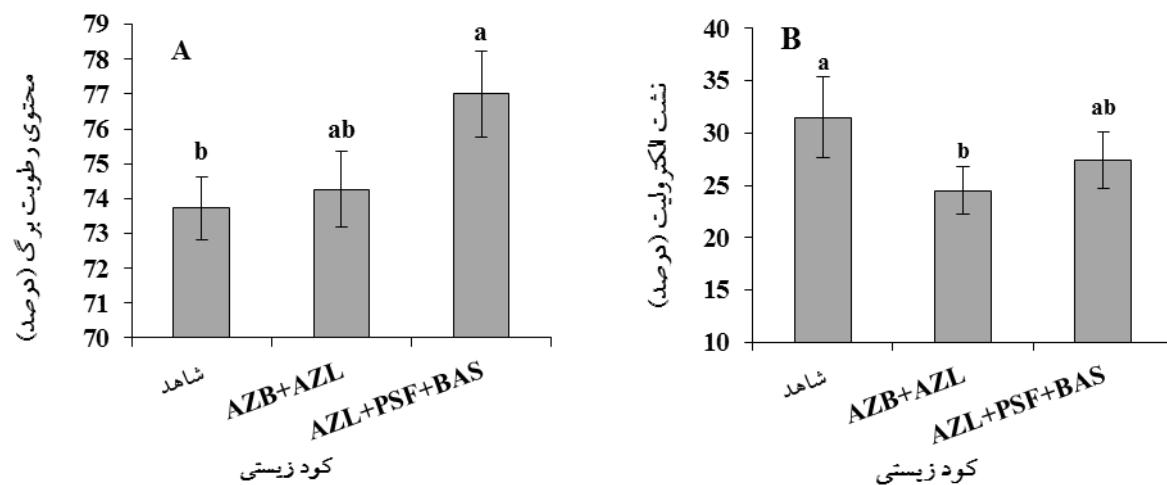
داشت (شکل ۴- A). روند پاسخ غله شوری کارتوئنید نسبت به افزایش تنفس شوری مشابه کلروفیل a و منفی بوده و در اثر شوری کاهش یافت. بیشترین شبکه کاهشی آن در سطوح پایین شوری مشاهده شد و با افزایش تنفس، شبکه منحنی پاسخ کاهش یافت (شکل ۴- B).

محتوی نسبی آب نیز در اثر تنفس شوری کاهش یافت، به طوری که در شوری ۱۲۰ میلی مolar نسبت به شوری صفر، حدود شش درصد کاهش داشت. بیشترین شبکه کاهش منحنی در سطوح پایین تنفس مشاهده شد و با افزایش شوری از شدت تغییرات کاسته شد (شکل ۴- C). برخلاف RWC، روند تغییرات نشت الکتروولیت در پاسخ به افزایش تنفس شوری به صورت کاملاً افزایشی بوده و بیشترین شبکه افزایشی نیز در سطوح پایین تنفس مشاهده شد. بیشترین مقدار نشت الکتروولیت

غلظت کلروفیل a از شوری صفر تا حدود ۸۰ میلی مolar روند افزایشی و سپس (از ۸۰ تا ۱۲۰ میلی مolar) کاهشی بود، در حالی که در کاربرد همزمان باکتری های ارتوباکتر و آزو سپریلیوم، روند تغییرات آن همواره کاهشی بود، با اینحال تقریباً در تمام سطوح شوری از غله کلروفیل a بالاتری نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود (شکل ۳- B و جدول ۷). برای توصیف اثر شوری بر غله کلروفیل a، کارتوئنید، RWC و نشت الکتروولیت از معادله رگرسیونی درجه دوم استفاده شد (شکل ۴- D-A). روند تغییرات غله کلروفیل b با افزایش تنفس شوری به صورت افزایشی بود که با افزایش سطوح شوری شبکه منحنی کاهش یافت، به طوری که بالاترین میزان آن با حدود ۶۶ درصد افزایش نسبت به شاهد در سطح شوری حدود ۸۵ میلی مolar مشاهده شد و سپس روند کاهشی



شکل ۴- روند تغییرات کلروفیل a (A)، کارتوئید (B)، محتوی نسبی آب برگ (C) و نشت الکترولیت (D) در پاسخ به افزایش شوری خاک در گیاه ریحان. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشد.



شکل ۵- اثر تیمار کود زیستی بر محتوی نسبی آب برگ (A) و نشت الکترولیت (B) در گیاه ریحان. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشد.

شکل ۵- (A) نشان داد که کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد RWC را افزایش داد، به طوری که این افزایش برای کاربرد همزمان آزوسپریلوم، سودوموناس و باسیلوس نسبت به شاهد

(۳۶ درصد) در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و با ۱/۴ برابر افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۱-D). مقایسه میانگین اثر باکتری‌های افزاینده رشد بر RWC

فلورسانس حداقل  $F_0$  بدست می‌آید، وضعیت جریان الکترون از بخش فتوسیستم به  $QA$  را نشان می‌دهد (Xia *et al.*, 2004). نتایج نشان داد که تنفس شوری، کاهش مقدار فلورسانس متغیر را به دنبال داشت (جدول ۵). اصولاً مقدار فلورسانس کلروفیل هنگامی که اولین پذیرنده الکترون ( $QA$ ) در حالت احیا باشد زیاد است و به این دلیل مقدار فلورسانس متغیر ( $F_v$ ) نیز در این حالت زیاد می‌شود، اما زمانی که  $QA$  در حالت اکسیداسیون است، مقدار فلورسانس کلروفیل کم می‌باشد و میزان فلورسانس متغیر ( $F_v$ ) کاهش می‌یابد (صفاری و همکاران، ۱۳۹۲). Ali Dib و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کردند که تنفس‌های محیطی مقدار ( $F_v$ ) را به علت ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم II کاهش می‌دهند. از آنجایی که فلورسانس متغیر نشانگر احیای کامل پذیرنده الکترون ( $Q$ ) می‌باشد، بنابراین می‌توان استنباط نمود که تنفس شوری در انتقال الکترون به فتوسیستم I اختلال ایجاد می‌کند (صفاری و همکاران، ۱۳۹۲).

نسبت  $F_v/F_m$  نیز نشان دهنده‌ی ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II می‌باشد و به عنوان شاخصی معتبر برای نشان دادن اختلال ناشی از تنفس در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری استفاده می‌شود (Li *et al.*, 2008; Baker and Rosenqvist, 2004). کاهش میزان  $F_v/F_m$  در شرایط تنفس نشانه کاهش میزان حفاظت نوری بوده و همچنین دلیل معنی‌دار بودن تنفس شوری بر کارایی فتوسنتز است. به طور کلی به نظر می‌رسد گیاهی که در سطوح بالای شوری نسبت  $F_v/F_m$  بیشتری داشته باشد، توانایی انجام محافظت نوری در شرایط تنفس را خواهد داشت. نتایج حاصل از این پژوهش نیز حاکی از کاهش  $F_v/F_m$  در اثر تنفس شوری می‌باشد (جدول ۵). NPQ در واقع شاخص مربوط به هدررفت گرمایی است و افزایش این پارامتر بیانگر ظرفیت بالای چرخه گرانتوфیل و توانایی گیاه در دفع تنفس از طریق هدر دادن انرژی به صورت گرمایی می‌باشد (Chaves *et al.*, 2009)، ولی با افزایش بیشتر سطوح تنفس، ممکن است افزایش در NPQ برای مصرف انرژی مازاد و حفظ اکسیداسیون پذیرنده‌های الکترون

#### ۴/ درصد و معنی دار بود.

از سوی دیگر، کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد، کاهش نشت الکتروولیت را در برگ‌های گیاه ریحان به دنبال داشت. بیشترین کاهش نشت الکتروولیت (حدود ۲۲ درصد نسبت به شاهد) مربوط به تیمار کاربرد از تویاکتر و آزوسپیریلوم بود که با کاربرد همزمان آزوسپیریلوم، سودوموناس و باسیلوس در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۵-B).

#### بحث:

فلورسانس حداقل ( $F_0$ ) تحت تأثیر تنفس‌های محیطی که تغییر ساختاری در مراکز واکنش اولیه فتوسیستم II بوجود می‌آورند، قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر، میزان  $F_0$  با افزایش سطح شوری افزایش یافت (جدول ۴)، که این امر بیانگر تخریب زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II در اثر کاهش ظرفیت کوئینون آ ( $QA$ ) و عدم اکسیداسیون کامل آن به دلیل جریان کند الکترون در طول مسیر فتوسیستم II و در مجموع غیرفعال شدن فتوسیستم II می‌باشد (Zlatev and Yordanov, 2004). افزایش  $F_0$  در اثر تنفس شوری در آفتتابگردان (حیدری و همکاران، ۱۳۸۹) و کلزا (صفاری و همکاران، ۱۳۹۲) نیز گزارش شده است. فلورسانس حداکثر ( $F_m$ ) در اثر تابش فوتون‌های نوری و احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته بودن همه مراکز واکنش ایجاد می‌شود (Mehta *et al.*, 2010). نتایج ارائه شده در پژوهش حاضر در خصوص فلورسانس حداکثر نشان می‌دهد که سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار موجب افت میزان  $F_m$  شد (شکل ۱). Yaman و همکاران (۲۰۰۸) نیز کاهش  $F_m$  را در گیاه برنج تحت تنفس شوری گزارش کردند. نتایج مشابهی مبنی بر کاهش میزان  $F_m$  در اثر تنفس خشکی در گیاهچه گندم زمستانه (Zlatev, 2009) و تنفس شوری در کلزا (Atlassi *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است. افت  $F_m$  ممکن است با کاهش فعالیت کمپلکس آنزیم تجزیه‌کننده آب و همچنین چرخه انتقال الکترون در درون یا اطراف فتوسیستم II مرتبط باشد (Chaves *et al.*, 2009).

فلورسانس متغیر ( $F_v$ ) که از اختلاف فلورسانس حداکثر  $F_m$  با

که کاربرد این قارچ‌ها به عنوان کود زیستی تحت تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری و خشکی می‌تواند کارایی کوانتومی فتوسیستم II را افزایش دهد. در این خصوص می‌توان به مطالعات Ruiz و همکاران (۲۰۱۱) در گیاه برنج و Zhu و همکاران (۲۰۱۲) در گیاه ذرت تحت تنش خشکی اشاره کرد. در آزمایش حاضر علیرغم اثر مثبت کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگ ریحان، برهمکنش تیمار باکتری‌ها و تنش شوری در هیچ‌کدام از پارامترهای مورد بررسی معنی‌دار نبود که ناشی از اثر مثبت باکتری‌های افزاینده رشد در تمام سطوح شوری مورد بررسی بدون در نظر گرفتن غلظت کلرید سدیم می‌باشد. همچنین بین دو تیمار باکتری‌ایی مورد مطالعه، کاربرد همزمان باکتری‌های آزوسپریلیوم، سودوموناس و باسیلوس نسبت به کاربرد همزمان ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به میزان بیشتری (II) Y را افزایش و Y(NPQ) و Y(NO) را کاهش داد که حاکی از اثر بهتر این باکتری‌ها در تلقیح با گیاه ریحان بود.

نتایج آزمایش نشان داد که روند تغییرات سبزینگی برگ و کلروفیل *a* در تیمار شاهد با افزایش شوری تا ۴۰ میلی‌مولار افزایشی و سپس کاهشی بود (شکل ۳ و جدول ۷). کلروفیل *b* نیز در سطوح پایین و متوسط شوری افزایش و در شوری بالاتر کاهش یافت (شکل ۴-*A*، ولی کارتوئید همواره روند کاهشی داشت (شکل ۴-*B*). در سطوح پایین تنش شوری به علت فعال شدن مکانیسم‌های تحمل به تنش از قبیل کاهش سطح برگ و افزایش ضخامت آن می‌تواند باعث افزایش کلروفیل در واحد سطح برگ شود (Rajcan *et al.*, 1999). در همین راستا، پژوهشگران افزایش مقدار کلروفیل در اثر تنش ملایم را به افزایش وزن مخصوص برگ نسبت داده و بیان داشتند که در ادامه و با افزایش بیش از حد تنش و اثرات سوء آن بر ساختار کلروفیل و در نتیجه تخریب کلروپلاست، میزان کلروفیل کاهش می‌یابد (Cramer, 2002; Masojidek *et al.*, 1991). Koyro (۲۰۰۰) نیز با تأکید بر اینکه منیزیم یک عنصر ضروری برای ساخت کلروفیل است، کاهش غلظت کلروفیل را با کاهش جذب منیزیم در اثر تنش شوری مرتبط دانست.

فتوسیستم II ناکافی باشد (Ort and Baker, 2002) در آزمایش حاضر، اعمال تنش شوری کاهش میزان (Y(II)) و به دنبال آن افزایش (NO) Y را به همراه داشت (شکل A-۲). از آنجایی که (II) Y نسبت نور استفاده شده در فرآیند فتوسترن به کل نور جذب شده به وسیله کلروفیل مربوط به فتوسیستم II بوده و مستقیماً با سرعت آسیمیلاسیون  $\text{CO}_2$  در برگ ارتباط دارد (Genty *et al.*, 1989). این کاهش احتمالاً بیانگر کاهش فرآیند فتوسترنی و آسیمیلاسیون  $\text{CO}_2$  در اثر تنش شوری می‌باشد. در همین راستا، حسنه و همکاران (۱۳۹۲) کاهش پارامتر (II) Y در شرایط تنش سرما در ژنوتیپ‌های گیاه برنج را گزارش کردند. میزان فلورسانس حداقل (Fo) در اثر تلقیح بوته‌های ریحان با باکتری‌های محرك رشد کاهش نشان داد (جدول ۶). کم بودن مقدار فلورسانس حداقل نشان دهنده حفاظت مراکز فتوسیستم II می‌باشد. همچنین نتایج حاصله (جدول ۶) بیانگر Fv, Fm, Fv/Fm و NPQ در مقایسه با تیمار شاهد بود. از سوی دیگر تلقیح باکتری‌های افزاینده رشد، میزان (II) Y را افزایش و در عوض (NO) Y و (NPQ) Y را کاهش داد که نشانگر افزایش نسبت نور استفاده شده در فرآیند فتوشیمیایی نسبت به دو فرآیند اتلاف انرژی به صورت هدر رفت گرمایی تنظیم شده [Y(NPQ)] و تنظیم نشده [Y(NO)] و در نتیجه افزایش سرعت آسیمیلاسیون  $\text{CO}_2$  می‌باشد (Klughammer and Schreiber, 2008; Li *et al.*, 2008) (۱۳۹۱) نیز نتایج مشابهی را در خصوص تأثیر باکتری‌های افزاینده رشد بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل تحت تنش شوری در گیاه گشینی ارائه کردند. باکتری‌های افزاینده رشد در زمان وقوع تنش‌های محیطی با تولید موادی همچون اکسین، آنتی‌اکسیدان‌ها، سیتوکنین‌ها، اسانس‌ها و آنزیم ACC دامیناز به رشد گیاه و تحمل شرایط نامساعد کمک می‌کنند (Jungwook *et al.*, 2009). هرچند مطالعات چندانی در مورد اثر باکتری‌های افزاینده رشد بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل انجام نشده است، ولی در مورد قارچ‌های میکوریزا که به عنوان کود زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرند، نشان داده شده است

موجب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ایجاد شده توسط شوری و درنتیجه کاهش نشت الکتروولیت می‌شود. جلوگیری از پراکسیداسیون غشاء توسط تیمارهای همزیستی به پایداری غشاء کمک کرده و با حفاظت از کلروفیل از کاهش عملکرد فتوستنتزی تحت تنش شوری جلوگیری می‌کند (عموآقایی و نیکاندیش، ۱۳۹۴). در پژوهش حاضر نیز چه در شدت‌های متفاوت تنش شوری و چه شرایط بهینه رشدی، استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد موجب افزایش RWC و تعدیل آسیب‌های غشایی شده و نشت الکتروولیت را کاهش داد. بعلاوه، این میکرووارگانیسم‌ها با بهبود سبزینگی برگ و غلظت کلروفیل، کارایی کوانتمی فتوسیستم II را نیز در سطوح مختلف شوری ارتقاء بخشد. عموماً قایی و نیکاندیش (۱۳۹۴) نیز طی آزمایشی روی دو واریته یوننجه نتایج مشابهی را در کاربرد باکتری‌های محرک رشد سینوریزوپیوم و باسیلوس تحت تنش شوری گزارش نمودند.

#### نتیجه‌گیری کلی:

در مجموع نتایج نشان داد که تنش شوری با آسیب به سیستم فتوستنتزی گیاه ریحان و تخریب رنگیزه‌های فتوستنتزی آن، حساسیت بیشتر پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگی را در پی دارد. از سوی دیگر، کاربرد باکتری‌های افزاینده رشد بهویژه کاربرد همزمان باکتری‌های آزوسپریلیوم، سودوموناس و باسیلوس چه در شرایط مطلوب رشدی و چه در سطوح مختلف شوری باعث تعدیل اثر تخریبی شوری و در نتیجه بهبود سیستم فتوستنتزی و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه شد، که در نهایت می‌تواند باعث افزایش تحمل گیاه به تنش شوری و همچنین افزایش عملکرد آن در مناطقی با خاک یا آب شور شود.

#### سپاسگزاری:

بدین‌وسیله از مساعدت‌های پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در فراهم نمودن امکانات اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تشکر و قدردانی می‌شود.

افزایش تنش شوری محتوای نسبی آب برگ را کاهش داد (شکل ۴-C)، ولی روند تغییرات نشت الکتروولیت نسبت به افزایش تنش شوری به صورت کاملاً افزایشی بوده و بیشترین شب افزایش نیز در سطوح پایین تنش مشاهده شد (شکل ۱-D). در طی تنش شوری به علت کاهش پتانسیل آب و جذب بالای یون‌های سدیم و کلر و اثر آنها بر فرآیندهای مانند ستز دیواره سلولی، سرعت طویل شدن سلول‌ها و تورژسانس کاهش یافته، دیواره‌ی سلول‌ها سخت و ضخیم می‌گردد (Fricke and Peter, 2002) RWC در اثر افزایش تنش شوری در گیاهانی چون تربیچه (Yildirim *et al.*, 2008) و بزرک در گیاهانی چون نیز گزارش شده است. نشت الکتروولیت به عنوان شاخص پایداری غشاء تحت تنش شوری افزایش می‌یابد، چراکه تنش‌های محیطی از طریق افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در داخل سلول، موجب پراکسیداسیون لبیدی و کاهش پایداری غشاء و در نتیجه نشت مواد سیتوپلاسمی از آن شده و افزایش نسبت هدایت الکتریکی را به دنبال دارد (Manchanda and Garg, 2008). از سوی دیگر گونه‌های اکسیژن فعال باعث ناپایداری غشای تیلاکوئیدی و در نتیجه آسیب به کلروفیل می‌شوند (عموماً قایی و نیکاندیش، ۱۳۹۴) افزایش نشت الکتروولیت در اثر شوری در گیاهانی چون گندم (Farooq and Azam, 2006) و تاج‌خرروس (Battacharjee and Mukherjee, 1996) گزارش شده است.

نتایج ارائه شده در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که پیش تیمار زیستی بذر باعث بهبود سبزینگی برگ و غلظت کلروفیل a شد (شکل ۳ و جدول ۷). همچنین افزایش RWC و کاهش نشت الکتروولیت را در برگ‌های گیاه ریحان به دنبال داشت (شکل ۵). Ashraf و همکاران (۲۰۰۴) بیان داشتند که بعضی از باکتری‌های PGPR اگزولپی‌سَاکاریدهایی را تولید می‌کنند که با کاتیون‌هایی چون  $\text{Na}^+$  پیوند برقرار کرده و باعث کاهش تجمع سدیم و اثرات منفی ناشی از آن در سلول شده و در نتیجه با کاهش اثرات منفی شوری باعث جلوگیری از تخریب غشاء سلولی و نهایتاً سبب افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش شوری می‌شود. از این‌رو، به‌نظر می‌رسد همزیستی باکتری‌ای

## منابع:

- امید بیگی، ر. (۱۳۸۸) تولید و فرآوری گیاهان دارویی. آستان قدس رضوی. جلد دوم. ۴۳۸ صفحه.
- بهاری ساروی، ح. و پیردشتی، ه. ا. (۱۳۹۱) ارزیابی کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) و حل کننده فسفات (PSM) بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم ( $N_{80}$ ) در سطوح مختلف نیتروژن و فسفر در شرایط گلخانه. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. ۱۰: ۶۸۱-۶۸۹.
- حسنی، ز. پیردشتی، ه. ا. یعقوبیان، ی. و نوری، م. ز. (۱۳۹۲) کاربرد تکنیک فلورسانس کلروفیل برای شناسایی ژنتیک‌های متجمحل به سرمای هوا و آب در گیاه برنج (*Oryza sativa L.*). مجله سلول و بافت. ۵ (۲): ۱۹۵-۲۰۶.
- جنایان، م. پیردشتی، ه. ا. یعقوبیان، ی. (۱۳۹۴) اثر شدت تابش بر تحمل به سرمای سویا [*Glycine max (L.) Merr.*] با استفاده از روش فلورسانس کلروفیل. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی. ۴: ۱۴۱-۱۵۲.
- حیدری، م. مصری، ف. و کیخا، ز. (۱۳۸۹) اثر تنفس شوری بر متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، فلورسانس کلروفیل و تنظیم کننده‌های اسمزی پنج رقم کلزا. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۱ (۳): ۴۹۱-۵۰۲.
- ربیعی، ز. پیردشتی، ه. ا. راهداری، پ. حسینی، ج. و یعقوبی، م. (۱۳۹۱) تأثیر باکتری‌های محرک رشد در پارامترهای فلورسانس کلروفیل در گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) تحت تنفس شوری. اولین همایش ملی تنفس‌های محیطی. دانشگاه اصفهان. ایران. صفحات ۱۹۱-۱۹۶.
- صفاری، ر. مقصودی مود، ع. ا. و صفاری و. ر. (۱۳۹۲) اثر تنفس شوری بر فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی ارقام آفتابگردان (*Helianthus annus L.*). مجله به زراعی نهال و بذر. ۹: ۱۳۰-۱۰۹.
- عسیوند، ح. ر. دوستی، ا. مجذون حسینی، ن. و پوربابایی، ا. ع. (۱۳۹۳) تأثیر باکتری‌های محرک رشد و پیری بذر بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه لوبیا چیتی. نشریه علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۵: ۲۷۷-۲۸۵.
- عشقیزاده، ح. ر. و احسانزاده، پ. (۱۳۸۸) تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر چند ژنتیک ذرت: I فلورسانس کلروفیل، خصوصیات رشد و عملکرد دانه. علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۰: ۱۴۴-۱۳۵.
- عماآقایی، ر. و نیکاندیش، ف. (۱۳۹۴) اثر تلقیح ریشه دو رقم یونجه (*Medicago sativa*) با جدایه‌هایی از گونه‌های سینوریزوپیوم و باسیلوس بر رشد، مقدار کلروفیل و تمامیت غشای سلول در شرایط تنفس شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). ۲۸: ۱۵۲-۱۴۰.
- یعقوبیان، ی. پیردشتی، ه. ا. گل‌په، م. ا. اسفندیاری، ا. و فیضی‌اصل، و (۱۳۹۱) اثر همزیستی میکروزیایی بر کارایی کوانتمومی فتوسیستم II تحت تنفس رطوبتی در گندم. دوازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج. ایران. صفحات ۲۲۳-۲۱۹.

- Ali Dib, T., Monneveux, P. H., Acevedo, E. and Nachit, M. M. (1994) Evaluation of proline analysis chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicator in durum wheat (*Triticum turgidum L.*). *Euphytica* 79: 65-67.
- Ashraf, M., Berge S. H. and Mahmood O. T. (2004) Inoculating wheat seedling with exopolysaccharide producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biology and Fertility of Soils* 40: 157-162.
- Ashraf, M. (2001) Relationship between growth and gas exchange characteristics in some salt tolerant amphidiploid Brassica species in relation to their diploid parents. *Environmental and Experimental Botany* 45: 155-163.
- Atlassi Pak, V., Nabipour, M. and Meskarbashee, M. (2009) Effect of salt stress on chlorophyll content, fluorescence, Na and K ions content in rape plants (*Brassica napus L.*). *Asian Journal of Agricultural Research* 3: 28-37.
- Baker, N. R. (2008) Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59: 89-113.

- Battacharjee, S. and Mukherjee, A. K. (1996) Ethylene evolution and membrane lipid peroxidation as indicators of salt injury in leaf tissues of Amaranthus seedlings. Indian Journal Experimental Biology. 34: 279–281.
- Bhardwaj, R. and Singhal, G. (1981) Effect of water stress on photo chemical activity of chloroplasts during greening etiolated barley seedling. Plant and Cell Physiology 22: 155-162.
- Chang, P. C. (2007) The use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and an arbuscular mycorrhiza fungus (AMF) to improve plant growth in saline soil for phytoremediation. A thesis presented to the University of Science in Biology, Ontario, Canada. 153p.
- Cha-Um, S., Supaibulwattana, K. and Kirdmanee, C. (2009) Comparative effect of salt stress and extreme pH stress combined on glycinebetaine accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of two rice genotypes. Rice Science 16: 247-282.
- Chaves, M., Flaxes, J. and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress regulation mechanism from whole plant to cell. Annals of Botany 103: 551-556.
- Cramer, G.R. (2002) Response of abscisic acid mutant of *Arabidopsis* to salinity. Functional Plant Biology 29: 561-567.
- Farooq S. and Azam, F. (2006) The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. Journal of Plant Physiology 163: 629-637.
- Fricke, W. and Peter, W.S. (2002) The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A Study at the cell level. Plant Physiology 129: 374–388.
- Genty, B., Briantais, J. M. and Baker, N. R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta 990: 87–92.
- Grafts-Brander, S. J. and Salvucci, M. E. (2002) Sensitivity of photosynthesis in a C<sub>4</sub> plant, maize, to heat stress. Plant Physiology 129: 1773-1780.
- Hall, A. E. (2001) Crop responses to environmental stresses. 232p.
- Jungwook Yang, J., Kloepfer, W. and Choong- Min, R. (2009) Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science 14: 118-123.
- Klughammer, C. and Schreiber, U. (2008) Complementary PSII quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. PAM Application Notes 1: 27-35.
- Koyro, H.W. (2000) Effect of high NaCl-salinity on plant growth, leaf morphology and ion composition in leaf tissues of *Beta vulgaris* ssp. Maritima. Angewandte Botanik 74: 67-73.
- Lazar, D. (1999) Chlorophyll *a* fluorescence induction. Biochimica et Biophysica Acta 1412: 1–28.
- Li, G. M., Liu, B. B., Wu, Y. and Zou, Z. R. (2008) Interactive effects of drought stresses and elevated CO<sub>2</sub> concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. Journal Integrative Plant Biology 50(10): 1307-1317.
- Lichtenthaler, H. K. (1994) Chlorophylls and carotenoid pigments of photosynthetic Biol. Membrane. Method in Enzymology 148: 350-382.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. Acta Physiologia Plantarum 30: 595-618.
- Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plant. 2<sup>nd</sup> Academic Press. Ltd. London.
- Masojidek, J., Trivedi, S., Halshaw, L., Alexiou, A. and Hall, D.O. (1991) The synergistic effect of drought and light stress in sorghum and pearl millet. Plant Physiology 96: 198-207.
- Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2005) Chlorophyll fluorescence-a practical guide. Journal of Experimental Botany 51: 659-668.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S. and Bharti, S. (2010) Chlorophyll *a* fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. Plant Physiology and Biochemistry 48:16-20.
- Moradi, F. and Ismaeil M. (2007) Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. Annals of Botany 99: 1161-1173.
- Munnas, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environment 28: 239-250.
- Nasir Khan, M., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Mansoor, M., Khan, A. and Naeem, M. (2007) Salinity induced changes in growth, enzyme activities, photosynthesis, prolin accumulation and yield in linseed genotypes. World Journal of Agricultural Sciences 5: 685-695.
- Ort, D. R. and Baker, N. R. (2002) A photoprotective role for O<sub>2</sub> as an alternative electron sink in photosynthesis. Current Opinion in Plant Biology 5: 193–198.
- Rajcan, I., Dwyer, L.M. and Tollenaar, M. (1999) Note on relationship between leaf soluble carbohydrate and chlorophyll concentration in maize during leaf senescence. Field Crops Research 63: 13-17.
- Ruiz-Sanchez, M., Aremada, E., Munoz, Y. and Aroca, R. (2011) *Azospirillum* and *arbuscular* mycorrhizal colonization enhanced rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. Journal of Plant Physiology 168: 1031-1037.

- Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. and Morhinweg, D. W. (1988) Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. *Crop Science* 28: 526-531.
- Teutonica, R. A., Palta, J. P. and Osborn, T.C. (1993) In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. *Crop Science* 33: 103-107.
- Xia, A., Li, Y. and Zou, D (2004) Effects of salinity stress on PSII in *Ulva lactuca* as probed by chlorophyll fluorescence measurements. *Aquatic Botany* 8: 129-137.
- Yaghoubian, Y., Siadat, S. A., Moradi Telavat, M. R., Pirdashti, H. (2016). Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil. *Russian Journal of Plant Physiology* 63: 1-8.
- Yaman, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M. and Miyake, H. (2008) Correlation between chloroplast ultrastructure and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa L.*) grown under salinity. *Plant Production Science* 11: 139 - 145.
- Yildirim, E., Turan, M., Donmez, M.F. (2008) Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus Sativus L.*) by plant growth promoting rhizobacteria. *Romanian Biotechnological Letters* 13: 3933-3943
- Zhu, X. C., Song, F. B. and Liu, S. Q. (2012) Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant, Soil and Environment* 58: 186-191.
- Zlatev, Z. (2009) Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence of young wheat plants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 23: 438-441.
- Zlatev, Z. and Yordanov, T. (2004) Effect of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 30: 3-18.