

## Original article

### Evaluation of the application of endophytic bacteria *Micromonospora echinaurantiaca* and *Sphingomonas aquatilis* in enhancing wheat tolerance to salinity stress

Soheila Aghaei Dargiri<sup>1</sup>, Shahram Naeimi<sup>2\*</sup>, Seyed Mojtaba Khayam Nekouei<sup>3</sup>

1. Postdoctoral Researcher, Department of Biological Control Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2. Associate Professor, Department of Biological Control Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3. Associate Professor, Faculty of Bioscience, University of Tarbiat Modares, Tehran, Iran

Received 9 July 2024; Revised 16 September 2024; Accepted 18 September 2024

## Extended abstract

### Introduction

Climate change is a major concern for sustainable agriculture in the twenty-first century, as it negatively affects crop production and soil fertility, thereby increasing the risk of famine. Among the various issues associated with climate change, salt stress is one of the most significant factors affecting crop production worldwide. Many biotic and abiotic factors can limit wheat yield. Abiotic stress is one of the main limitations that inhibit plant growth and productivity by disrupting physiological processes and suppressing defense mechanisms. Seed germination is a critical life stage for the survival of plants and the timely establishment of seedlings, especially in stressful environments. However, several mitigation strategies are also used to cope with the adverse effects of salt stress. Microbial-based solutions, in particular, are highly desirable in sustainable agriculture as they provide a natural, cost-effective, and environmentally safe approach to improve plant growth and yield.

### Materials and methods

A study was conducted to investigate the effect of the endophytic bacteria *Micromonospora echinaurantiaca* and *Sphingomonas aquatilis* on the salinity tolerance of the Sardari wheat variety under laboratory and greenhouse conditions. The experiments were designed in a factorial arrangement based on a completely randomized design (CRD). Treatments included endophytic bacteria ( $1 \times 10^8$  cells ml<sup>-1</sup>,  $\lambda = 600$  n) and salt stress levels of 50, 100, and 150 mM NaCl, with three replications.

### Results and discussion

The results showed that the endophytic bacteria *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* enhanced wheat seed germination compared to the control. The presence of the endophyte *M. echinaurantiaca* at concentrations of 50 and 100 mM, and *S. aquatilis* at 50 mM, improved wheat seed germination by 100% compared to the control. The most significant increases in shoot and root length under 150 mM salt stress were observed in wheat inoculated with *M. echinaurantiaca* compared to the control. *M. echinaurantiaca* increased the fresh weight of wheat seedlings by 4.32% under 150 mM salinity stress compared to uninoculated plants. However, this bacterium caused a 19.90% decrease in dry weight. A significant 15.07% increase in root length tolerance index was observed in the presence of *M. echinaurantiaca* under 50 mM salinity stress compared to the control. Evaluation of salinity tolerance indices revealed that the highest tolerance indices for shoot length, root length, dry weight, and

\* Corresponding author: Shahram Naeimi; E-Mail: [sh.naeimi@areeo.ac.ir](mailto:sh.naeimi@areeo.ac.ir)

germination were observed in plants inoculated with *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* under control (non-saline) conditions. Wheat inoculated with *M. echinaurantiaca* showed a 63.92% increase in stem length tolerance under 150 mM salinity stress. The endophytic bacterium *M. echinaurantiaca* increased root stress tolerance by 62.25% under 150 mM salinity stress. The wet weight tolerance index increased in response to inoculation with *M. echinaurantiaca*. Evaluation of the dry weight tolerance index showed that *M. echinaurantiaca* increased this index by 129.01%. The germination tolerance index increased by 108.70% following wheat inoculation with *M. echinaurantiaca*. Under greenhouse conditions and 150 mM salt stress, *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* increased chlorophyll a content by 12.95% and 6.39%, respectively. Additionally, *S. aquatilis* increased chlorophyll b content by 48.54% and carotenoid content by 80.42% compared to the control. Under 150 mM salinity stress, *S. aquatilis* also increased relative leaf water content by 81.60%, and enhanced antioxidant activity and flavonoid content by 81.23% and 46.11%, respectively. Moreover, the endophytes enhanced catalase activity and modulated hydrogen peroxide levels, indicating their crucial role in improving wheat tolerance to salt stress. Based on these results, using the endophytic bacteria *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* for biological seed priming is an effective strategy to mitigate salinity stress and enhance wheat salinity tolerance.

### **Conclusion**

These results highlight the importance of further research on biological priming using endophytic bacteria. In the future, enhancing crop performance through microbiome-based approaches could contribute to significant advances in sustainable agriculture under changing climatic conditions.

**Keywords:** Catalase, Germination index, Germination percentage, Photosynthetic pigments

## ارزیابی کاربرد باکتری‌های اندوفیت *Micromonospora echinaurantiaca* و *Sphingomonas aquatilis* در افزایش تحمل گندم به تنش شوری

سهیلا آقائی درگیری<sup>۱</sup>، شهرام نعیمی<sup>۲\*</sup>، سید مجتبی خیام نکوئی<sup>۳</sup>

۱. محقق پسادکتری، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲. دانشیار، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳. دانشیار، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: درصد جوانه‌زنی رنگیزه‌های فتوسنتزی شاخص بنیه کاتالاز	مطالعه‌ای با هدف بررسی کاربرد باکتری‌های اندوفیت <i>Micromonospora echinaurantiaca</i> و <i>Sphingomonas aquatilis</i> بر تحمل به تنش شوری گندم رقم سرداری در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای انجام شد. این آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای باکتری‌های اندوفیت با غلظت (1×10 <sup>۸</sup> ) و تنش شوری با غلظت‌های (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) در سه تکرار طراحی شد. در شرایط آزمایشگاهی باکتری اندوفیت <i>M. echinaurantiaca</i> و <i>S. aquatilis</i> باعث بهبود جوانه‌زنی بذر گندم نسبت به شاهد شدند. علاوه بر این، در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، تلقیح گندم با <i>M. echinaurantiaca</i> منجر به افزایش معنی‌دار طول ساقچه و ریشه‌چه و افزایش ۴/۳۲ درصدی وزن تر گیاهچه شد. شاخص بنیه در حضور <i>M. echinaurantiaca</i> و تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار به میزان ۱۵/۰۷ درصد بهبود یافت. در شرایط گلخانه‌ای تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، اندوفیت‌های <i>M. echinaurantiaca</i> و <i>S. aquatilis</i> به ترتیب ۱۲/۹۵ و ۶/۳۹ درصد میزان کلروفیل a را افزایش دادند. همچنین <i>S. aquatilis</i> موجب افزایش ۴۸/۵۴ درصدی کلروفیل b و ۸۰/۴۲ درصدی کاروتنوئید شد. در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار تنش شوری، این باکتری میزان محتوای نسبی آب برگ را ۸۱/۶۰ درصد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید را به ترتیب ۸۱/۲۳ و ۱۱/۴۶ درصد افزایش داد. همچنین، اندوفیت‌ها فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان پراکسید هیدروژن را بهبود بخشیدند که نشان‌دهنده نقش مهم آن‌ها در افزایش تحمل گندم به تنش شوری است. نتایج نشان می‌دهد که باکتری‌های اندوفیت <i>M. echinaurantiaca</i> و <i>S. aquatilis</i> می‌توانند به عنوان عامل مؤثر در فرآیند پرایمینگ زیستی برای کاهش تنش شوری و افزایش تحمل گندم به این تنش مورد استفاده قرار گیرند که اهمیت تحقیقات بیشتر در این زمینه را نشان می‌دهد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۹ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۸	
تاریخ انتشار: بهار ۱۴۰۵ ۱-۲۲ (۱): ۱۹	

### مقدمه

مختلف زیستی و غیرزیستی مانند شوری قرار گیرد و عملکرد آن کاهش یابد (Torabian et al., 2018). شوری یکی از عوامل تنش‌زای غیرزیستی چالش‌برانگیز است که از طریق کاهش رشد گیاهچه، کاهش فعالیت فتوسنتزی، سمیت یونی و کاهش سرعت سنتز پروتئین و متابولیسم لیپیدها به شدت بر فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیک گیاهان تأثیر می‌گذارد (Singh et al., 2019). در حال حاضر تخمین زده شده است که تقریباً ۲۰ درصد از کل

گندم (*Triticum aestivum* L.) از محصولات زراعی مهم در جهان است که در کشور ایران با تولید ۱۰۰۹۳۵۷۸/۶۴ تن، رتبه سیزدهم جهانی تولید این محصول را به خود اختصاص داده است (FAO, 2021). در سال ۲۰۲۲، میزان کل سطح زیر کشت گندم در ایران ۶۴۷۳۹۴۹ هکتار با عملکرد متوسط ۱۶۶۷ کیلوگرم در هکتار گزارش گردیده است (FAO, 2021). این گیاه می‌تواند تحت تأثیر تنش‌های

تنش شوری، پیش‌تیمار بذر با انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌های اندوفیت است که در حال حاضر مشخص شده است که کاربرد اندوفیت‌ها پتانسیل بالقوه‌ای در کاهش تنش زیستی و غیرزیستی برای گیاهان ارائه می‌دهد (Verma et al., 2021).

میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ یا باکتری) را شامل می‌شود که بدون ایجاد بیماری در بافت‌های داخلی گیاهان ساکن می‌شوند (Kandel et al., 2017). میکروارگانیسم‌های اندوفیت باعث بهبود رشد گیاه، افزایش تحمل آن در برابر تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، دما، فلزات سنگین و مقاومت در برابر پاتوژن‌ها می‌شوند (Golparyan et al., 2018). در تحقیقاتی نشان داده شد که باکتری‌های اندوفیت *Oceanobacillus* sp.، *Micrococcus luteus* و *Bacillus* sp. جداسازی شده از گیاهان هالوفیت، شاخص جوانه‌زنی گندم را بهبود داده و سبب افزایش تحمل به تنش شوری شده است (Soltani et al., 2024). همچنین در پژوهشی مشاهده شد که تلقیح باکتری اندوفیت *Pseudomonas jordanii* و *Oceanobacillus jordanicus* سبب کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری و افزایش رشد گندم در شرایط گلخانه و مزرعه شد (Albdaiwi et al., 2024). بنابراین، کاربرد روش‌هایی که با استفاده از آن‌ها بتوان وضعیت رشد و نمو گیاهچه را تحت تنش شوری و خشکی ارتقاء داد، بسیار ارزشمند است. استفاده از اندوفیت‌ها یک راهکار امیدوارکننده جهت بهبود جوانه‌زنی بذر (Verma et al., 2019) و نیز حفاظت گیاهان در برابر عوامل تنش‌زای محیطی است (Wani et al., 2019). هدف از این مطالعه تأثیر کاربرد دو گونه باکتری اندوفیت *Micromonospora echinaurantiaca* و *Sphingomonas aquatilis* برافزایش تحمل گندم رقم سرداری به تنش شوری در شرایط آزمایشگاه و گلخانه است.

#### مواد و روش‌ها

در این آزمایش باکتری‌های اندوفیت (MW663991) *M. echinaurantiaca* (MW663935) و *S. aquatilis* جداسازی شده از گیاهان شورپسند *Suaeda aegyptiaca* منطقه بندر چارک ("۲۶°۴۳'۳۵.۸" و "۵۴°۱۷'۰۱.۷") و *Aerva javanica* منطقه بندر کلاهی ("۰۳°۲۷'۰۰.۶" و "۵۲°۵۶'۲۱.۱") استان هرمزگان استفاده شد (Aghaei

زمین‌های قابل‌کشت در سطح جهان با تنش شوری مواجه است و این میزان تا سال ۲۰۵۰ به ۳۰ درصد خواهد رسید (Otlewska et al., 2020). علاوه بر این، بارندگی کم و دماهای بالا هر دو نقش مهمی در افزایش شوری خاک، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان دارند (Etesami and Maheshwari, 2018).

در کشت گندم، مرحله جوانه‌زنی بذر نسبت به نوسانات دما حساس‌تر است، زیرا از طریق تغییر فعالیت‌های متابولیکی باعث تأخیر در جوانه‌زنی بذر می‌شود (Djanaguiraman et al., 2020). در گندم، پژوهشگران گزارش کرده‌اند که ۴/۱ تا ۶/۴ درصد کاهش در تولید جهانی گندم با هر یک درجه سلسیوس افزایش دما در طول فصل زراعی همراه است (Liu et al., 2016). با این حال، اگر دما در مرحله زایشی از ۲۴/۱۴ درجه سانتی‌گراد (حداکثر دمای روز/حداقل دمای شبانه) افزایش یابد، از ۲۱ تا ۲۵ درصد سبب تغییر در کاهش عملکرد دانه می‌شود (Djanaguiraman et al., 2020). اگرچه رویکردهای مختلف اصلاح‌نژاد گندم منجر به توسعه واریته‌های متعدد گردیده است و نیز شیوه‌های خوب مدیریتی، به افزایش رشد و عملکرد کمک کرده است. با این حال، اصلاح نژاد محدودیت‌های خاص خود را دارد، و اگر از استراتژی‌های روابط همزیستی گیاهان و میکروارگانیسم‌ها بهره‌برداری شود، انتظار بهبود اثرات نامطلوب تنش‌های زیستی و غیرزیستی و افزایش بهره‌وری در گندم وجود دارد (Hubbard et al., 2012). در میان چنین رویکردهایی، پرایمینگ زیستی به‌عنوان روشی نوآورانه و پایدار برای کاهش تنش شوری گیاه در نظر گرفته شده است. پرایمینگ زیستی بذر یک استراتژی تیمار بذر (پرایمینگ بذر) برای تنظیم رشد گیاه، مدیریت تنش و بهبود جوانه‌زنی بذر است (Sarkar et al., 2021). بنابراین، پرایمینگ زیستی بذر با میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه که به‌طور طبیعی در اطراف ناحیه ریشه گیاهان کلونیزاسیون شده‌اند، پتانسیل زیادی برای افزایش عملکرد گیاه در یک محیط غیربهبوده دارد (Rocha et al., 2019). پرایمینگ زیستی میکروارگانیسم‌ها یک رویکرد برای بهبود ظرفیت دفاعی گیاه است که منجر به افزایش مقاومت/تحمل تنش و/یا واکنش دفاعی شدیدتر به شرایط تنش‌زا قبل از جوانه‌زنی می‌شود (Rocha et al., 2019). در پرایمینگ زیستی بذرها با انواع میکروارگانیسم‌ها پوشانده می‌شوند که منجر به کلونیزاسیون سریع و پایدار بذر می‌گردد (Singh et al., 2016). یکی از راهکارهای مقابله با

$$GP = \frac{N'}{N} \times 100 \quad [1]$$

GP: درصد جوانه‌زنی، N': تعداد بذرها، N: تعداد کل بذرها است (Shakirova and Sahabudinova, 2003).

میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT)

$$MGT = \frac{\sum(nidi)}{\sum ni} \times 100 \quad [2]$$

MTG: متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی شاخصی از سرعت و شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌شود (Ellis and Roberts, 1980). در این رابطه، di: روز پس از کاشت، ni: تعداد بذر جوانه‌زده در روز di و  $\sum di$  کل تعداد بذور جوانه‌زده است.

میانگین روزانه جوانه‌زنی (MDG)

$$MDG = \frac{GP}{D} \quad [3]$$

MDG: متوسط جوانه‌زنی روزانه شاخصی از سرعت جوانه‌زنی روزانه است (Hunter et al., 1984). در این رابطه جایی که D تعداد روزهای پس از شروع بررسی جوانه‌زنی و n نشان‌دهنده تعداد بذرها، تازه جوانه‌زده در روز D است.

سرعت جوانه‌زنی ( $\bar{R}$ )

$$\bar{R} = \frac{l}{MGT} \quad [4]$$

شاخص بنیه (SVI)

[5] درصد جوانه‌زنی  $\times$  (طول ریشه‌چه + طول ساقه‌چه) = SVI: شاخص بنیه گیاهچه است که بیان‌کننده میزان جوانه‌زنی بذور و کیفیت گیاهچه‌های تولیدی به صورت هم‌زمان است (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

#### شاخص‌های تحمل به شوری

برای ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ، بر طبق فرمول‌های زیر محاسبه خواهد شد (Gholizadeh et al., 2021).

شاخص تحمل تنش طول ساقه‌چه (SLSI)

$$SLSI = \frac{\text{طول ساقه‌چه تحت تنش شوری}}{\text{طول ساقه‌چه بدون تنش شوری}} \times 100 \quad [6]$$

شاخص تحمل به تنش طول ریشه (RLSI)

$$RLSI = \frac{\text{طول ریشه‌چه تحت تنش شوری}}{\text{طول ریشه‌چه بدون تنش شوری}} \times 100 \quad [7]$$

شاخص تحمل به تنش وزن تر (FWSI)

$$FWSI = \frac{\text{وزن تر تحت تنش شوری}}{\text{وزن تر بدون تنش شوری}} \times 100 \quad [8]$$

شاخص تحمل به تنش وزن خشک (DWSI)

$$DWSI = \frac{\text{وزن خشک تحت تنش شوری}}{\text{وزن خشک بدون تنش شوری}} \times 100 \quad [9]$$

شاخص تحمل به تنش جوانه‌زنی (GSI)

(Dargiri, 2019). ژنوتیپ گندم رقم سرداری از موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور تهیه گردید.

#### ضد عفونی سطحی بذر

بذور گندم با آب دیونیزه شست‌وشو، سپس به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول و با محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۱۵۰ ثانیه ضد عفونی سطحی شده و سپس با آب دیونیزه استریل ۳ بار شسته شد (Abideen et al., 2022).

#### تهیه سوسپانسیون باکتری

سویه باکتری در محیط کشت نوترینت براث به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای  $28 \pm 1$  درجه سلسیوس با سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه کشت و نگهداری شد. تراکم نوری (OD) سوسپانسیون باکتری با غلظت  $1 \times 10^8$  سلول بر میلی‌لیتر با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر تنظیم شد (Weller and Cook, 1983).

#### تلقیح باکتری اندوفیت به بذر گندم و اعمال تنش شوری

بذر گندم در ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری حاوی ماده کربوکی متیل سلولاز یک درصد به مدت ۴ ساعت غوطه‌ور و بذرها تلقیح شده به مدت ۳۰ دقیقه روی دستمال کاغذی خشک شدند. بذرها (۱۰ دانه در هر ظرف، سه تکرار) روی کاغذ صافی در ظروف پتری دیش ۸ سانتی‌متری قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر (شاهد) و غلظت‌های مختلف شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) به ظروف پتری اضافه شد. کناره‌های ظروف پتری با پارافیلیم بسته و سپس در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شد (Abdellatif et al., 2009).

#### ارزیابی شاخص‌ها

در طی آزمایش‌ها، تعداد بذر جوانه‌زده روزانه به مدت ۷ روز شمارش شد (Moradi and Pir, 2018) در پایان آزمایش‌های طول ساقه‌چه (SL)، طول ریشه‌چه (SL) گیاهچه با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد. وزن تر گیاهچه (TFW) با استفاده از ترازو با دقت (۰/۰۰۰۱) ارزیابی شد و سپس نمونه‌ها در آن ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد وزن خشک (TDW) توزین شد. درصد جوانه‌زنی (GP)

تعیین وزن تر نمونه‌ها، بلافاصله وزن شدند (FW)، سپس تمامی برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون لوله‌های آزمایش حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای اتاق و محیط تاریک قرار داده شد و وزن اشباع آن‌ها اندازه‌گیری شد (TW). در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و وزن خشک آن‌ها تعیین گردید (DW). محتوای نسبی آب برگ (RWC) با استفاده از روش (Saddiq et al., 2021) محاسبه شد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$RWC = (FW \times DW) / (TD \times DW) \times 100 \quad [11]$$

FW: وزن تر برگ، DW: وزن خشک برگ، TW: وزن آماس.

### اندازه‌گیری فنل، آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید

#### تهیه عصاره

برای تهیه عصاره آنتی‌اکسیدان، فنل و فلاونوئید سه میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد با ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با استفاده از نیتروژن مایع کوبیده شد، سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و از فاز رویی برای اندازه‌گیری محتوی فنل، فعالیت آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید استفاده گردید (Singleton and Rossi, 1965).

#### فنل

سنجش محتوای فنل کل با معرف فولین-سیوکالتو و روش (Singleton and Rossi, 1965) انجام شد. ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در متانول ۸۰ درصد همگن و سپس با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و ۱ میلی‌لیتر محلول متانول (۱/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین) به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد؛ سپس ۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۱۲ درصد به محلول اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه، جذب محلول حاصل در طول موج ۷۶۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

#### آنتی‌اکسیدان

برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل این آزمایش مطابق روش (Nanjo et al., 1996) و بر اساس فعالیت مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) محاسبه شد. ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه‌شده از بافت

$$GSI = \frac{\text{بذرهای جوانه زده تحت تنش شوری}}{\text{بذرهای جوانه زده بدون تنش شوری}} \times 100 \quad [10]$$

### آزمایش‌های گلخانه‌ای

برای تماس بهتر بذور با اندوفیت‌ها، از ماده کربوکسی متیل سلولاز یک درصد استفاده شد. بذور انکوبه شده با تیمارهای اندوفیت به مدت شش ساعت روی شیکر قرار داده شدند. نمونه شاهد (بدون تلقیح) در آب مقطر به مدت شش ساعت شیک شد. بذور گندم مایه‌زنی شده به باکتری به‌طور جداگانه در گلدان‌های پلاستیکی (ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۲ سانتی‌متر) با ۲ کیلوگرم خاک نسبتاً سبک (شنی لومی) کشت شد (Manjunatha et al., 2022). این آزمایش در یک گلخانه تحت شرایط محیطی کنترل‌شده (متوسط دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵۰ درصد، دوره نوری ۸/۱۶ ساعت (روشنایی/تاریکی)، متوسط انتگرال نور روزانه ۲۰۰-۲۵۰ میکرومول در مترمربع بر ثانیه که برابر است با انتگرال نور روزانه 14.40 mol m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> (DLI)) انجام شد (Posada et al., 2007).

اعمال تنش شوری: گیاهان تا مرحله سبز شدن (چهار برگی) با آب معمولی آبیاری خواهند شد. پس از رسیدن به مرحله رشد چهار برگی، گیاهچه‌های گندم تحت برنامه آبیاری دوره‌ای هر پنج روز یک‌بار قرار گرفت که در آن آبیاری با نمک در غلظت‌های (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) آبیاری شد (Manjunatha et al., 2022). پس از ۶۰ روز اعمال تنش شوری، پارامترهای ذیل مورد بررسی قرار گرفت.

### رنگیزه‌های فتوسنتزی

جهت عصاره‌گیری و تعیین کلروفیل و کاروتنوئید برگ، با پنج میلی‌لیتر از حلال استون ۸۰ درصد استخراج صورت گرفت. بدین منظور نیم گرم برگ تازه در هاون ساییده و با ۵ میلی‌لیتر استون: آب (۸۰:۲۰) مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از جداکردن عصاره رویی، مرحله بالا با دیگر تکرار شد. جذب عصاره در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر به‌صورت گرم به وزن تر محاسبه شد (Lichtenthaler and Buschman, 2001).

### محتوای نسبی آب برگ

برای تعیین محتوای نسبی آب برگ از جوان‌ترین برگ بالغ در هر گیاه سه دیسک برگی تهیه شد. بدین منظور برای

۰/۳ درصد تربیتون X-100 و ۴ درصد پلی وینیل پیرولیدون بود، هموزنیزه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند (Pan et al., 2006). پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها، مایع رویی نمونه‌ها به تیوب‌های جدید منتقل و از آن برای اندازه‌گیری میزان فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز استفاده شد.

#### کاتالاز

آنزیم کاتالاز  $H_2O_2$  را بدون نیاز به فاکتور احیاکننده، به اکسیژن و آب تبدیل می‌کند. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش (Hasanuzzaman et al., 2013) انجام شد. بدین منظور، ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات pH=7 ۵۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن  $H_2O_2$  ۳۰ درصد به آن اضافه شد و میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت دو دقیقه با فواصل زمانی ۲۰ ثانیه‌ای ثبت گردید.

#### آنالیز آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور (اندوفیت و تنش) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام خواهد شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت. برای رسم نمودار شاخص تحمل به شوری از SRplot نسخه ۲۰۲۱ استفاده شد.

#### نتایج و بحث

##### پارامترهای جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* و تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر گندم معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تلقیح اندوفیت باکتریایی *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* سبب افزایش جوانه‌زنی بذر گندم نسبت به شاهد شد. حضور اندوفیت باکتریایی *M. echinaurantiaca* در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار و اندوفیت باکتریایی *S. aquatilis* در غلظت ۵۰ میلی‌مولار

برگ با ۵۰۰ میکرولیتر آب مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۷۵ میکرولیتر از عصاره رویی سانتریفیوژ شده با ۲ میلی‌لیتر DPPH ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت و جذب عصاره در طول موج ۵۱۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

#### فلاونوئید

میزان فلاونوئید کل با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد (Toor and Savage, 2005). یک‌دهم گرم از نمونه‌های گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول عصاره‌گیری شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، آب مقطر اضافه شد تا حجم ۵ میلی‌لیتر به دست آید. سپس به محلول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر  $NaNO_2$  ۵ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۰/۶ میلی‌لیتر  $AlCl_3$  ۱۰ درصد اضافه شد. در نهایت ۲ میلی‌لیتر  $NaOH$  ۱ مولار و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به دست آمد.

#### پراکسید هیدروژن

به مقدار ۰/۱ گرم نمونه برگ با پنج میلی‌لیتر تری کلوراستیک اسید ۰/۱ ساییده و مخلوط سانتریفیوژ شد. پس از آن ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به همراه ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات و دو میلی‌لیتر معرف یک مولار یدید پتاسیم به مدت یک ساعت در تاریکی قرار داده شد. میزان پراکسید هیدروژن نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد. غلظت پراکسید هیدروژن نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Yang et al., 2009).

#### بررسی فعالیت ویژه (Specific activity)

##### تهیه عصاره

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها از برگ‌های جوان توسعه‌یافته که قبلاً در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، استفاده شد. ابتدا حدود ۰/۵ گرم از هر نمونه گیاهی در هاون و به کمک نیتروژن مایع به خوبی پودر شد و سپس ۵ میلی‌لیتر بافر استخراج که شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7/8)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA،

جوانه‌زنی مربوط به تیمار اندوفیت باکتریایی *M. echinaurantiaca* در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار و اندوفیت باکتریایی *S. aquatilis* در غلظت ۵۰ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد مشاهده شد (شکل ۱ ج). بیشترین سرعت جوانه‌زنی بذر در حضور اندوفیت‌های باکتریایی *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* و کمترین در عدم حضور اندوفیت باکتریایی (شاهد) مشاهده شد (شکل ۱ د).

سبب بهبود جوانه‌زنی بذر گندم در مقایسه با شاهد شد (شکل ۱ الف). نتایج نشان داد که بیشترین میانگین زمان جوانه‌زنی مربوط به تنش شوری با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار و کمترین در عدم حضور اندوفیت باکتریایی و مشخص گردید که اندوفیت باکتریایی *M. echinaurantiaca* با غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید (شکل ۱ ب). بیشترین میانگین روزانه

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* بر جوانه‌زنی بذر گندم تحت تنش شوری  
Table 1. Variance analysis of the effect of endophytic bacteria *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* on wheat seed germination under salt stress

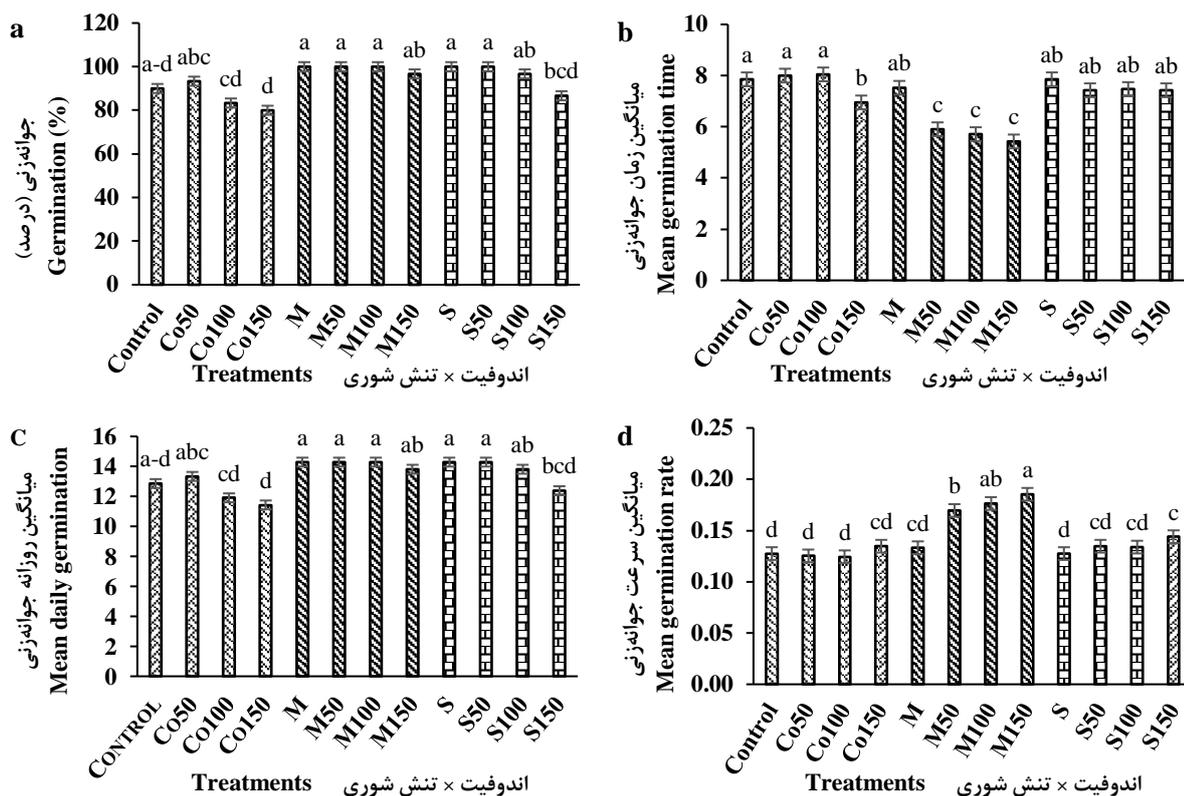
S.O.V	منابع تغییر	df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	میانگین زمان جوانه‌زنی Mean germination time	میانگین روزانه جوانه‌زنی Mean daily germination	سرعت جوانه‌زنی Germination speed
Endophyte (E)	اندوفیت	2	242.22*	5.96**	3.58 <sup>ns</sup>	0.0035**
Salinity stress (S)	تنش شوری	4	118.88 <sup>ns</sup>	2.10**	1.06 <sup>ns</sup>	0.0011**
E × S	اندوفیت × تنش شوری	8	137.46**	1.16**	2.90*	0.00058**
Test error	خطای آزمایش	30	51.11	0.138	1.17	0.000071
C.V (%)	ضریب تغییرات	-	7.67	5.15	8.12	6.00

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

(Albdaiwi et al., 2024). در تحقیقاتی گونه‌های *Bacillus* با موفقیت به‌عنوان عوامل بیوپرایمینگ در محصولاتمانند سیب‌زمینی (Gururani et al., 2013)، تربچه (Kaymak et al., 2009)، برنج، ماش و نخود (Chakraborty et al., 2011) استفاده شده است. در گزارشی بیوپرایمینگ بذر گندم با سویه‌های *Bacillus subtilis* MA17 و *Bacillus safensis* MA19 در شرایط تنش سرعت جوانه‌زنی را افزایش داد (Hadj Brahim et al., 2022). بیوپرایمینگ با باکتری‌های اندوفیت درصد جوانه‌زنی بذر و رشد تربچه و گندم را در شرایط شوری بهبود بخشید (Araújo et al., 2016; Lastochkina et al., 2017). باکتری‌های اندوفیت می‌توانند بهبود در توزیع آب و مواد مغذی در گیاه فراهم کنند. این امر می‌تواند به جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری کمک کند، زیرا گیاه با دسترسی به منابع آب و مواد مغذی بیشتر، مقاومت به تنش شوری را افزایش می‌دهد (Fouda et al., 2019).

پرایمینگ بذر با تلقیح باکتریایی مفید یک رویکرد اکولوژیکی جذاب برای بهبود سرعت جوانه‌زنی در شرایط نامطلوب محیطی و فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مراحل اولیه رشد گیاه به دلیل تحمل القایی است (Singh et al., 2020). برخی از باکتری‌های اندوفیت قابلیت فیکساسیون نیتروژن را دارند، یعنی قادر به تبدیل نیتروژن مولکولی گازی به فرم قابل‌استفاده برای گیاهان می‌باشند (Paśmionka et al., 2021). باکتری‌های اندوفیت به گیاهان کمک می‌کنند تا در مقابل تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری و عوامل بیولوژیکی مقاوم‌تر شوند (Vaishnav et al., 2019). این امر باعث می‌شود که جوانه‌زنی بذر در شرایط متنوع و مختلف بهبود یابد (Vaishnav et al., 2019). به‌طور کلی، تعامل باکتری اندوفیت با گیاهان می‌تواند به تنظیم فیزیولوژی گیاهان کمک کند و عملکردهای مختلف زیستی آن‌ها را بهبود بخشد، در نهایت به افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر کمک می‌کند



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* بر (الف) جوانه‌زنی، (ب) میانگین زمان جوانه‌زنی، (ج) میانگین روزانه جوانه‌زنی، (د) سرعت جوانه‌زنی بذر گندم تحت تنش شوری.

Fig. 1. Comparison of the average effect of endophytic bacteria *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* on (a) germination, (b) mean germination time (MGT), (c) mean daily germination (MDG), (d) mean germination speed of wheat seeds under salt stress (R)

معنی‌دار طول ریشه‌چه در تیمار باکتری *M. echinaurantiaca* در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار به میزان ۱/۰۴ درصد در مقایسه با شاهد شد (جدول ۳). به‌طور کلی نتایج نشان داد که بیشترین افزایش معنی‌دار طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در تلقیح گندم با باکتری اندوفیت *M. echinaurantiaca* در مقایسه با شاهد مشاهده شد (جدول ۳). تنش شوری با مهار تقسیم سلولی و افزایش طول سلول بر رشد ریشه اولیه تأثیر می‌گذارد (Sadak et al., 2020). باین‌حال، فعل‌وانفعالات اندوفیت اثرات مضر تنش شوری را بر رشد گیاه کاهش می‌دهد و در نتیجه سبب افزایش زیست‌توده در گیاهان می‌گردد (Porcel et al., 2012). اندوفیت‌های باکتریایی می‌توانند برخی از فعالیت‌های زیستی را در گیاهان انجام دهند که موجب رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Eid et al., 2021). اندوفیت‌های باکتریایی می‌توانند سبب افزایش طول ساقه و ریشه گیاه گندم شوند، به دلیل ویژگی‌های زیستی آن‌ها که

### صفات مورفولوژیک

#### طول ساقه‌چه و ریشه‌چه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس جدول ۲ مشاهده شد که اثر برهمکنش باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر طول ساقه‌چه و ریشه‌چه معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین طول ساقه‌چه در تلقیح گندم با باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* در شرایط عدم تنش شوری در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۱۳/۸۳ و ۱۶/۵۶ درصد بود (جدول ۳). سپس حضور باکتری *M. echinaurantiaca* در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش طول ساقه‌چه به میزان ۷/۸۴ درصد شد (جدول ۳). افزایش طول ریشه‌چه در حضور باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* در شاهد (عدم تنش شوری) به ترتیب به میزان ۱۷/۶۱ و ۱۵/۹۲ درصد نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۳). بیشترین افزایش

در تحقیقاتی وزن تر و خشک ذرت‌هایی که بذرهاشان با ریزوباکتری‌ها تیمار شده بود در مقایسه با تیمار شاهد افزایش قابل توجهی نشان داد (Youseif, 2018). همچنین در پژوهشی سویه Agrobacterium NGB-11 بیشترین تأثیر را در افزایش طول گیاه نشان داد (Khezri et al., 2018).

### شاخص بنیه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهمکنش باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* و تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر شاخص بنیه معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین شاخص بنیه در تلقیح باکتری *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* در عدم تنش شوری نسبت به شاهد بود (جدول ۳). سپس، افزایش معنی‌دار شاخص بنیه در حضور باکتری *M. echinaurantiaca* در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار به میزان ۱۵/۰۷ درصد در مقایسه با شاهد مشاهده شد (جدول ۳). افزایش شاخص بنیه بذر گندم به معنای بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک، مورفولوژیک و بیوشیمیایی بذر است که باعث می‌شود بذر قوی‌تر و مقاوم‌تر در برابر تنش‌های مختلف، از جمله تنش شوری باشد (Ghonaim et al., 2021). اندوفیت‌های باکتریایی با فعالیت‌های متعددی می‌توانند به تقویت شاخص بنیه بذر گندم و افزایش مقاومت آن در برابر تنش شوری کمک کنند (Afridi et al., 2019). این تأثیرات ممکن است به‌عنوان استراتژی مؤثر برای بهبود عملکرد و تولید محصول در شرایط محیطی متنوع مورد استفاده قرار بگیرند (Sturz et al., 2000).

### شاخص‌های تحمل به تنش شوری

شاخص تحمل به تنش شوری یکی از معیارهای مهم در ارزیابی و مقایسه میزان توانایی گیاهان در مقابل به تنش شوری است (Zhu et al., 2016)؛ بنابراین، ارزیابی شاخص تحمل به تنش شوری در گیاهان تلقیح شده به اندوفیت، ابزاری مهم برای تحقیقات علمی، بهبود زراعت و استفاده از گیاهان با عملکرد بهتر در شرایط تنش شوری است (Shahid et al., 2022). شاخص به‌عنوان یک ابزار مفید در مطالعات فیزیولوژیکی، تولیدات کشاورزی و بهبود زراعت مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tao et al., 2021). بیشترین شاخص تحمل به تنش طول ساقه‌چه، ریشه‌چه، وزن خشک و جوانه‌زنی

می‌تواند فعالیت‌های رشدی و تغذیه‌ای را بهبود بخشد (Emami et al., 2019). این فعالیت‌ها ممکن است شامل افزایش تولید هورمون‌های گیاهی، فعال‌سازی مواد مغذی، بهبود جذب آب و مواد معدنی و افزایش تحمل به تنش‌های محیطی باشد (Vaishnav et al., 2019). در تحقیقی تأثیر باکتری‌های *P. fluorescens* 313 و *Azospirillum* sp روی رشد گیاهان گندم، گوجه‌فرنگی، فلفل و پنبه تحت شرایط مختلف محیطی مورد بررسی قرار گرفت (Bashan and De-Bashan, 2005).

### وزن تر و خشک گیاهچه

برطبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر برهمکنش باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* و تنش شوری به ترتیب در سطح احتمال پنج و یک درصد بر وزن تر و خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین و کمترین وزن تر گیاهچه مربوط به تیمار *M. echinaurantiaca* در عدم تنش شوری و در تلقیح باکتری *S. aquatilis* در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب به میزان ۰/۲۴۱ و ۰/۱۳۴ گرم در مقایسه با شاهد مشاهده شد (جدول ۳). باکتری *M. echinaurantiaca* در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به میزان ۴/۳۲ درصد سبب افزایش وزن تر گیاهچه گندم در مقایسه با عدم حضور باکتری در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار شد (جدول ۳). بیشترین وزن خشک گیاهچه در عدم حضور باکتری و تنش شوری با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳). در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار باکتری *M. echinaurantiaca* به میزان ۱۹/۹۰ درصد سبب کاهش وزن خشک گردید (جدول ۳). تحت شرایط شوری، گیاهان ممکن است با مشکلاتی مواجه شوند که می‌تواند رشد و توسعه آن‌ها را مختل کند. این تنش‌ها می‌توانند به دلیل افزایش غلظت مواد معدنی در خاک، از جمله نمک‌های آنیونی مانند سدیم و کلر باشند که می‌تواند به آسیب ریشه‌ها و همچنین جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاهان منجر شود. در این شرایط، برخی از اندوفیت‌های باکتریایی می‌توانند به گیاهان کمک کنند تا با تنش شوری سازگارتر شوند (Vaishnav et al., 2019). این باکتری‌ها ممکن است مکانیسم‌هایی را فعال کنند که باعث افزایش جذب آب و مواد معدنی از خاک توسط گیاه می‌شود. این عملکرد می‌تواند به‌عنوان یک مکانیسم تنظیمی برای مقاومت در برابر تنش شوری عمل کند (Etesami and Adl, 2020).

در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار شد (شکل ۲ ب). نتایج نشان داد که شاخص تحمل به وزن تر توسط باکتری اندوفیت *M. echinaurantiaca* افزایش یافت (شکل ۲ ج). ارزیابی شاخص تحمل به وزن خشک نشان داد که باکتری اندوفیت *M. echinaurantiaca* به میزان ۱۲۹/۰۱ درصد سبب افزایش این شاخص گردید (شکل ۲ د).

مربوط به باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* در شاهد (عدم تنش شوری) در مقایسه با شاهد بود (شکل ۲). افزایش تحمل به تنش طول ساقه‌چه در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مربوط تلقیح گندم به باکتری اندوفیت *M. echinaurantiaca* به میزان ۶۳/۹۲ درصد مشاهده شد (شکل ۲ الف). باکتری اندوفیت *M. echinaurantiaca* سبب افزایش تحمل به تنش ریشه‌چه به میزان ۶۲/۲۵ درصد

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* بر ویژگی‌های مورفولوژیک گیاهچه گندم تحت تنش شوری

Table 2. Variance analysis (Mean squares) of the effect of endophytic bacteria *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* on the morphological characteristics of wheat seedlings under salt stress

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	طول ساقه‌چه (SL)	طول ریشه‌چه (RL)	وزن تر گیاهچه (TFW)	وزن خشک گیاهچه (TDW)	شاخص بنیه (SVI)
Endophyte (E)	اندوفیت	2	87.26**	37.40**	0.00022 <sup>ns</sup>	0.00046 <sup>ns</sup>	96.78**
Salinity stress (S)	تنش شوری	4	143.90**	73.73**	0.0051*	0.00028*	447.34**
E × S	اندوفیت × تنش شوری	8	43.91**	47.38**	0.0032*	0.00022**	159.26**
Test error	خطای آزمایش	30	7.96	1.10	0.0014	0.000077	13.30
C.V (%)	ضریب تعییرات	-	15.48	11.89	12.39	19.59	17.31

<sup>ns</sup>, \*\*, \* و \* به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

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

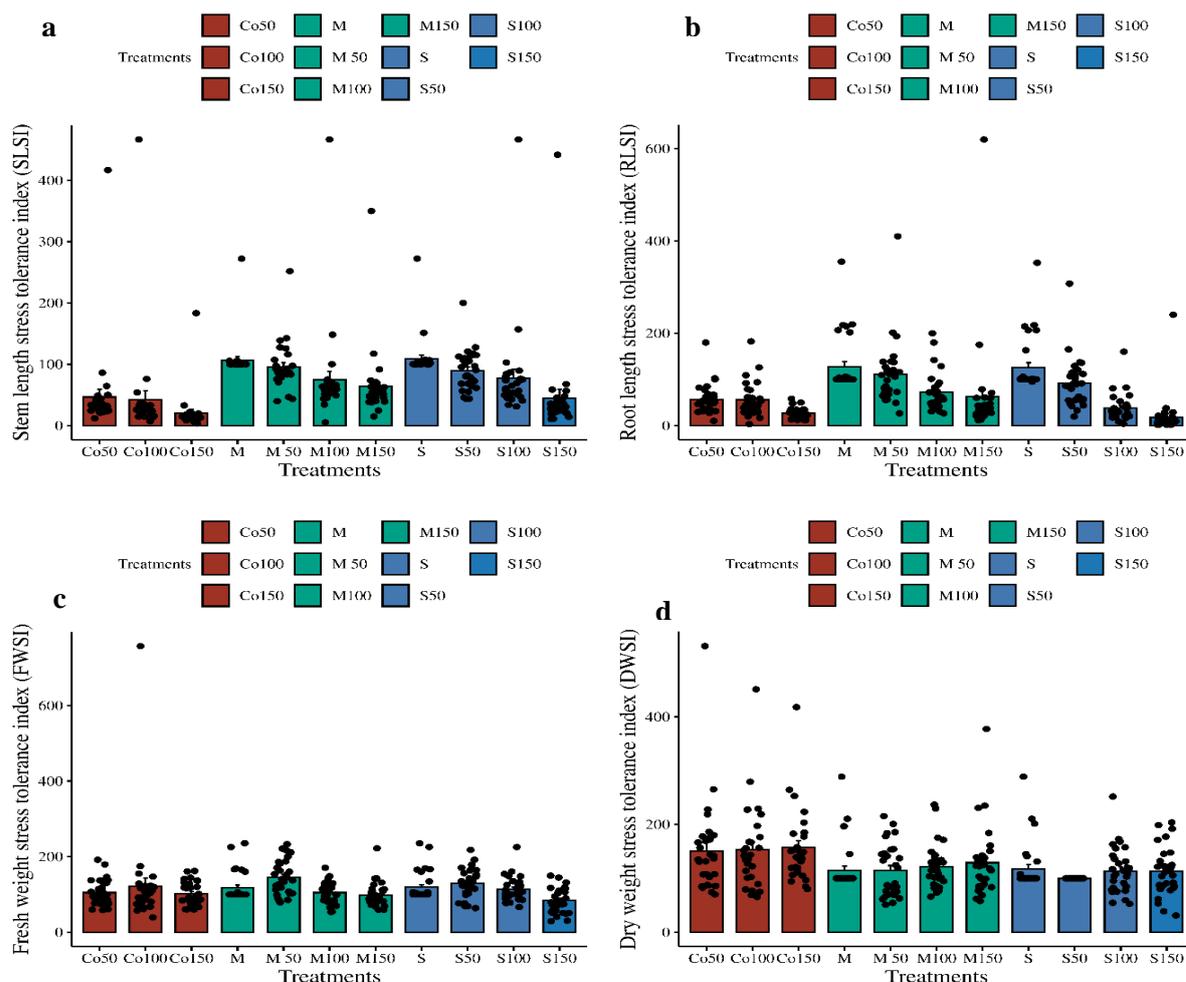
جدول ۳. مقایسه میانگین اثر باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* بر ویژگی‌های مورفولوژیک گیاهچه گندم تحت تنش شوری

Table 3. Comparison of the average effect of endophytic bacteria *M. echinaurantiaca* and *S. aquatilis* on the morphological characteristics of wheat seedlings under salt stress

باکتری Bacterial	تنش شوری Salinity stress	طول ساقه‌چه (SL)	طول ریشه‌چه (RL)	وزن تر گیاهچه (TFW)	وزن خشک گیاهچه (TDW)	شاخص بنیه (SVI)
۱×۱۰ <sup>۸</sup>	mM		mm	g		%
Control	0	13.52±0.48 <sup>b</sup>	12.4±0.77 <sup>b</sup>	0.174±0.0074 <sup>cd</sup>	0.0280±0.0012 <sup>c</sup>	2347.2±0.0008 <sup>c</sup>
	50	4.73±0.32 <sup>f</sup>	6.3±0.32 <sup>e</sup>	0.176±0.0089 <sup>cd</sup>	0.0378±0.0016 <sup>a</sup>	1030.4±0.0006 <sup>h</sup>
	100	3.93±0.23 <sup>f</sup>	6.0±0.39 <sup>e</sup>	0.194±0.0301 <sup>bcd</sup>	0.0392±0.0022 <sup>a</sup>	830.00±0.0001 <sup>i</sup>
	150	2.17±0.10 <sup>e</sup>	3.0±0.14 <sup>e</sup>	0.162±0.0063 <sup>de</sup>	0.0407±0.0015 <sup>a</sup>	416.80±0.0002 <sup>j</sup>
<i>M. echinaurantiaca</i>	0	15.39±0.38 <sup>a</sup>	14.6±0.56 <sup>a</sup>	0.198±0.0087 <sup>bc</sup>	0.0303±0.0010 <sup>bc</sup>	3001.0±0.0002 <sup>a</sup>
	50	14.58±0.66 <sup>ab</sup>	12.6±0.67 <sup>b</sup>	0.241±0.0101 <sup>a</sup>	0.0296±0.0015 <sup>bc</sup>	2701.0±0.0006 <sup>b</sup>
	100	8.63±0.37 <sup>de</sup>	7.8±0.50 <sup>d</sup>	0.172±0.0050 <sup>cd</sup>	0.0322±0.0013 <sup>bc</sup>	1643.0±0.0001 <sup>e</sup>
	150	7.65±0.35 <sup>e</sup>	4.9±0.32 <sup>ef</sup>	0.169±0.00717 <sup>cd</sup>	0.0326±0.0012 <sup>b</sup>	1217.0±0.0001 <sup>g</sup>
<i>S. aquatilis</i>	0	15.76±0.21 <sup>a</sup>	14.4±0.12 <sup>a</sup>	0.200±0.0046 <sup>bc</sup>	0.0310±0.0012 <sup>bc</sup>	3017.0±0.0003 <sup>a</sup>
	50	12.13±0.63 <sup>c</sup>	10.6±0.76 <sup>c</sup>	0.214±0.0078 <sup>ab</sup>	0.0280±0.0012 <sup>c</sup>	2271.0±0.0006 <sup>d</sup>
	100	9.05±0.21 <sup>d</sup>	4.5±0.51 <sup>f</sup>	0.187±0.0048 <sup>bcd</sup>	0.0296±0.0014 <sup>bc</sup>	1308.8±0.0006 <sup>f</sup>
	150	4.52±0.28 <sup>f</sup>	1.1±0.12 <sup>h</sup>	0.134±0.0067 <sup>c</sup>	0.0299±0.0018 <sup>bc</sup>	491.4±0.0001 <sup>j</sup>

میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

The mean of similar letters does not have a significant difference at the  $P < 0.05$  probability level.



شکل ۲. مقایسه میانگین شاخص‌های تحمل به شوری (الف) شاخص تحمل به تنش طول ساقه‌چه، (ب) شاخص تحمل به تنش طول ریشه‌چه، (ج) شاخص تحمل به تنش وزن خشک گیاهچه و (د) شاخص تحمل به تنش جوانه‌زنی

Fig.2. Comparison of average salinity tolerance indices (a) stem length tolerance index, (b) root length tolerance index, (c) fresh weight stress tolerance index and (d) dry weight stress tolerance index

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر متقابل اندوفیت و تنش شوری بر کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید گندم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). اندوفیت‌ها بهبود معناداری در کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید نشان داد. تنش شوری باعث کاهش در رنگیزه‌های فتوسنتزی شده و حضور اندوفیت‌ها این کاهش را تا حدی جبران می‌کند (جدول ۵). حضور باکتری‌های اندوفیت *M. echinaurantica* و *S. aquatilis* در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش کلروفیل a به ترتیب به میزان ۱۲/۹۵ و ۶/۳۹ درصد در گندم شد (جدول ۵). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کلروفیل b تحت تنش شوری کاهش یافته؛ درحالی‌که اندوفیت باکتریایی *S. aquatilis* سبب افزایش کلروفیل b و کاروتنوئید در تنش شوری ۱۵۰

### شاخص تحمل به جوانه‌زنی (GSI)

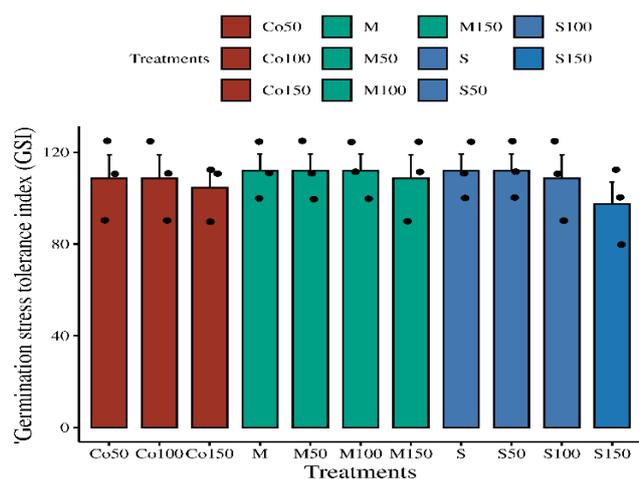
شاخص تحمل به درصد جوانه‌زنی توسط تلقیح گندم به باکتری *M. echinaurantica* به میزان ۱۰۸/۷۰ درصد افزایش یافت (شکل ۳). شاخص تحمل به جوانه‌زنی به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم کیفیت بذر استفاده می‌شود. این شاخص نشان‌دهنده توانایی بذر برای جوانه‌زنی و رشد مناسب در شرایط محیطی مختلف است (Zhang et al., 2020). به‌طورکلی، شاخص تحمل به جوانه‌زنی بذر، نشان‌دهنده سلامت و قدرت بذر است که توانایی رشد و توسعه جوانه را در شرایط شوری دارد (Yañez-Yazlle et al., 2021).

میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی  
کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید

کنند. این بهبود شامل افزایش کارایی سیستم‌های فتوسنتزی و کاهش آسیب ناشی از نور زیاد می‌شود (Nawaz et al., 2023). اندوفیت‌ها با تولید اسمولیت‌های محافظ (مثل پرولین) را دارند که می‌توانند فشار اسمزی را در سلول‌های گیاه بهبود بخشیده و از ساختارهای رنگیزه‌های فتوسنتزی در برابر آسیب محافظت کنند (Liang et al., 2024). همچنین اندوفیت‌ها می‌توانند به تنظیم میزان یون‌های سلولی و جلوگیری از تجمع سمی یون‌های سدیم و کلر کمک کنند. این ویژگی باعث حفظ تعادل یونی و عملکرد بهتر سیستم فتوسنتزی می‌شود. اندوفیت‌ها قادر به تحریک مسیرهای پیام‌رسانی در گیاهان هستند که می‌تواند منجر به پاسخ‌های دفاعی مناسب و سازگاری بهتر گیاهان با شرایط تنش‌زا شود (Oukala et al., 2021). در گزارشی اثر باکتری اندوفیت *Bacillus subtilis* BERA71 روی گیاه نخود نشان داد که تلقیح این باکتری سبب افزایش محتوای کلروفیل و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان تخت شرایط تنش شد (Abd Allah et al., 2018). در پژوهشی باکتری اندوفیت *Sphingomonas* sp. LK11 جداسازی شده از حبوبات *Tephrosia apollinea* سبب افزایش محتوای کلروفیل در گیاه گوجه‌فرنگی شد (Khan et al., 2014).

میلی‌مولار به میزان ۴۸/۵۴ و ۸۰/۴۲ درصد در مقایسه با شاهد شد (جدول ۵).

تنش شوری با تجمع یون‌های نمک (مثل سدیم و کلر) در سلول‌ها می‌تواند باعث ایجاد سمیت یونی و اختلال در جذب آب و عناصر غذایی شود که مستقیماً بر سنتز کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها تأثیر منفی می‌گذارد. تنش شوری موجب افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود که می‌تواند به آسیب غشاهای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک منجر شده و تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی را تسریع کند (Hualpa-Ramirez et al., 2024). اندوفیت‌ها می‌توانند جذب عناصر غذایی ضروری مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم را بهبود بخشند. این عناصر برای سنتز کلروفیل و کارتنوئیدها ضروری هستند اندوفیت‌ها قادر به تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها هستند که به تحریک رشد گیاه و افزایش محتوای کلروفیل کمک می‌کنند (Tang et al., 2022). اندوفیت‌ها می‌توانند مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های محیطی مانند شوری را از طریق تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و تحریک سیستم دفاعی گیاه افزایش دهند. این باعث کاهش آسیب اکسیداتیو و حفظ ساختار رنگ‌دانه‌ها می‌شود (Verma et al., 2021). اندوفیت‌ها می‌توانند با بهبود ساختار و کارایی فتوسنتزی گیاهان، به افزایش محتوای کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها کمک



شکل ۳. مقایسه میانگین شاخص‌های تحمل به جوانه‌زنی  
Fig. 3. Comparison of the average germination stress tolerance index

شوری نسبت عدم حضور اندوفیت مشاهده شد (جدول ۵). نتایج نشان داد که حضور باکتری اندوفیت *S. aquatilis* سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ به میزان ۸۱/۶۰ درصد در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد شد (جدول ۵). اندوفیت‌های باکتریایی اسمولیت‌های محافظ

#### محتوای نسبی آب برگ

تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات هم‌زمان اندوفیت و تنش شوری بر محتوای نسبی آب برگ در گندم در سطح احتمال یک درصد معنادار بوده است (جدول ۴). با تلقیح اندوفیت باکتری افزایش معنی‌داری در تمامی سطوح تنش

آب در برگ‌ها منجر می‌شود (Cui et al., 2024). در مطالعه‌ای کاربرد باکتری‌های اندوفیت *Enterobacter ludwigii* B30 سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ گیاه Bermudagrass در شرایط تنش شوری شد (Wei et al., 2022). در تحقیقی نشان داد شده که گیاه گوجه‌فرنگی تلقیح شده به باکتری اندوفیت *Exigubacterium aurantiacum* در مقایسه با گیاهان غیرتلقیح، محتوای آب نسبتاً بالاتری را حفظ می‌کنند (Aghaei Dargiri et al., 2021).

مانند پرولین را تولید می‌کنند که باعث تنظیم فشار اسمزی و حفظ آب در سلول‌ها می‌شود (Kushwaha et al., 2020). علاوه بر این اندوفیت‌های باکتریایی با بهبود جذب آب و مواد مغذی، توسعه بهتر سیستم ریشه و تنظیم فشار تورگور سلولی، به حفظ سلامت گیاه کمک می‌کند (Jha, 2019). همچنین اندوفیت‌ها با کاهش تجمع یون‌های سمی مانند سدیم و افزایش دفع آن‌ها، مسیرهای دفاعی گیاه، اثرات منفی تنش شوری را کاهش می‌دهد. نهایتاً، تولید هورمون‌های رشد توسط اندوفیت‌ها به افزایش تحمل گیاه به شوری و نگهداشت

جدول ۴. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر اندوفیت، تنش شوری و برهمکنش آن‌ها بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه گندم

Table 4. Variance analysis (Mean squares) of endophyte effect, salt stress and their interaction on physiological parameters of wheat plant

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	محتوای نسبی آب برگ Relative content leaf
Endophyte (E)	اندوفیت	2	1.35**	4.08**	6.92**	5013.34**
Salinity stress (S)	تنش شوری	3	0.304**	0.064 <sup>ns</sup>	1.15**	424.03**
S×E	اندوفیت×تنش شوری	6	0.098**	0.189*	0.89**	28.51**
Test error	خطای آزمایش	24	0.0083	0.072	0.21	1.75
C.V (%)	ضریب تغییرات	--	1.35	7.30	11.42	1.88

<sup>ns</sup>, \*\*, \* به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

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

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر اندوفیت‌ها بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه گندم تحت تنش شوری در شرایط گلخانه‌ای

Table 5. Comparison of the average effect of endophytes on the physiological parameters of wheat plants under salt stress in greenhouse conditions

اندوفیت Endophyte	تنش شوری Salinity stress	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	محتوای نسبی آب برگ Relative content leaf
$1 \times 10^8$	mM	-----mg/g <sup>-1</sup> FW-----			%
Control	0	6.71±0.021 <sup>e</sup>	3.36±0.078 <sup>efg</sup>	3.91±0.024 <sup>bc</sup>	76.32±0.46 <sup>d</sup>
	50	6.48±0.025 <sup>f</sup>	3.07±0.057 <sup>fgh</sup>	3.68±0.083 <sup>c</sup>	72.44±0.46 <sup>e</sup>
	100	6.21±0.10 <sup>g</sup>	3.04±0.032 <sup>gh</sup>	2.67±0.024 <sup>d</sup>	54.78±0.36 <sup>g</sup>
	150	6.10±0.049 <sup>g</sup>	2.74±0.18 <sup>h</sup>	2.35±0.076 <sup>d</sup>	45.50±0.44 <sup>h</sup>
<i>M. echinaurantica</i>	0	7.21±0.044 <sup>a</sup>	4.38±0.032 <sup>ab</sup>	4.76±0.26 <sup>ab</sup>	88.40±0.43 <sup>ab</sup>
	50	7.11±0.004 <sup>ab</sup>	3.92±0.063 <sup>bcd</sup>	4.60±0.15 <sup>abc</sup>	81.82±0.76 <sup>c</sup>
	100	6.99±0.004 <sup>bc</sup>	3.72±0.088 <sup>cde</sup>	3.90±0.13 <sup>bc</sup>	76.88±0.67 <sup>d</sup>
	150	6.89±0.02 <sup>de</sup>	3.51±0.21 <sup>def</sup>	3.73±0.25 <sup>c</sup>	75.39±0.90 <sup>d</sup>
<i>S. aquatilis</i>	0	7.00±0.00 <sup>bc</sup>	4.41±0.17 <sup>a</sup>	5.16±0.32 <sup>a</sup>	90.00±0.00 <sup>a</sup>
	50	6.99±0.002 <sup>bc</sup>	4.21±0.23 <sup>ab</sup>	4.67±0.12 <sup>ab</sup>	86.39±0.84 <sup>b</sup>
	100	6.94±0.023 <sup>cd</sup>	4.10±0.051 <sup>abc</sup>	4.40±0.46 <sup>abc</sup>	82.55±0.68 <sup>c</sup>
	150	6.49±0.073 <sup>f</sup>	4.07±0.057 <sup>abc</sup>	4.24±0.047 <sup>bc</sup>	81.60±0.75 <sup>c</sup>

میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

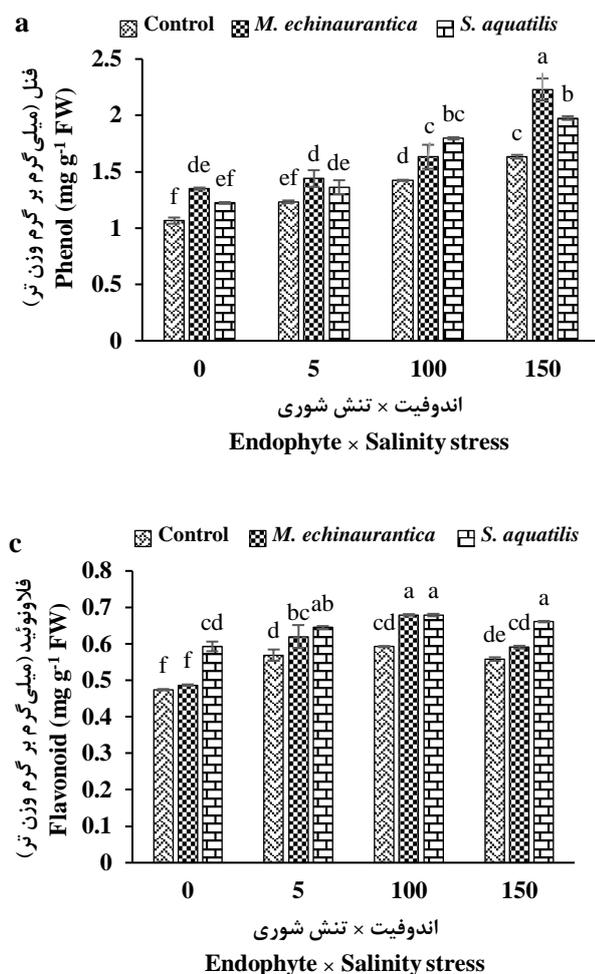
The mean of similar letters does not have a significant difference at the  $P < 0.05$  probability level

گندم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد با افزایش تنش شوری میزان فنل، آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید در گندم افزایش یافت (شکل ۴). کاربرد اندوفیت

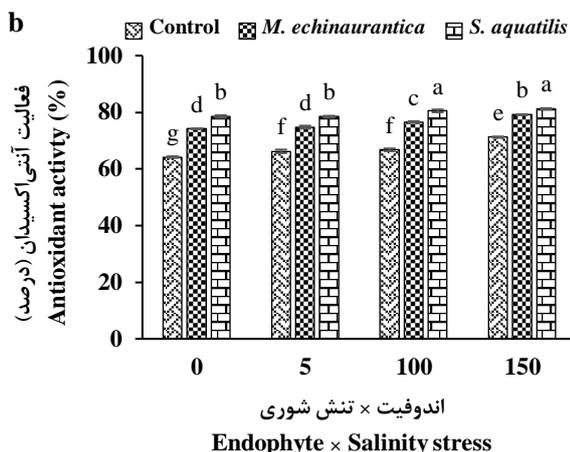
#### فنل، آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید

بر طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) اثر متقابل اندوفیت و تنش شوری بر فنل، آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید

عمل می‌کند (Oukala et al., 2021). نتایج نشان داد اعمال تیمار سبب روندی افزایشی در میزان آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید در تنش شوری با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شد؛ درحالی‌که این میزان در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار کاهش یافت (شکل ۴ ب و ج).



باکتریایی *M. echinaurantiaca* در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش فنل به میزان ۳۶/۸۰ درصد در مقایسه با شاهد شد (شکل ۴ الف). اندوفیت‌ها ممکن است از طریق سیگنال‌های مولکولی یا تغییر در مسیرهای متابولیکی گیاه، تولید فنل‌ها را تحریک کنند. این افزایش در تولید فنل به‌عنوان بخشی از پاسخ دفاعی گیاه به شرایط تنش شوری

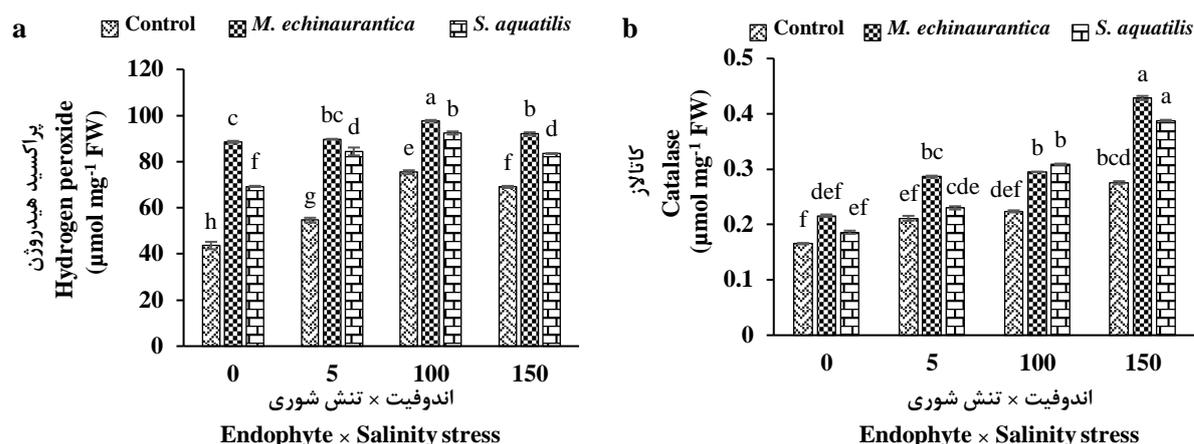


شکل ۴. مقایسه میانگین اثر تلقیح اندوفیت‌های *Sphingomonas aquatilis* و *Micromonospora echinaurantiaca* و عدم تلقیح بر پارامترهای (الف) فنل، (ب) فلاونوئید و (ج) آنتی‌اکسیدان گیاه گندم تحت تنش شوری با غلظت‌های (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) در شرایط گلخانه‌ای. میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. نوار خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

**Fig.4.** Comparison of the average effect of inoculation of endophytes (*Micromonospora echinaurantiaca* and *Sphingomonas aquatilis*) and no inoculation on the parameters of (a) phenol, (b) flavonoid and (c) antioxidant of wheat plant under salt stress with concentrations (0, 50, 100 and 150 mM) in greenhouse conditions. The mean of similar letters does not have a significant difference at the five percent probability level. Error bar indicates standard error.

نه تنها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند، بلکه به‌عنوان عوامل پیام‌رسانی در پاسخ به تنش نیز مؤثر هستند. با بهبود عملکرد سیستم‌های دفاعی از جمله افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان و تولید فلاونوئیدها، گیاهان بهتر می‌توانند در برابر تنش شوری مقاومت کنند (Wu et al., 2020). پژوهشی باکتری *Bacillus subtilis* سبب افزایش فنل، آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید در گیاه نخود افزایش یافت (Abd Allah et al., 2018) که همسو با نتایج این مطالعه است.

حضور اندوفیت باکتریایی *S. aquatilis* سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فلاونوئید در گیاه گندم به ترتیب به میزان ۸۱/۲۳ و ۱۱/۴۶ درصد نسبت به عدم حضور آن در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار شد (شکل ۴ ب و ج). شوری باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود و حضور اندوفیت می‌تواند به افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدها به‌عنوان بخشی از پاسخ دفاعی کمک کند (Zandi and Schnug, 2022). اندوفیت‌ها ممکن است مسیرهای بیوسنتز فلاونوئیدها را تحریک کنند. این ترکیبات



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر تلقیح اندوفیت‌های *Micromonospora echinaurantiaca* و *Spingomonas aquatilis* و عدم تلقیح بر پارامترهای (الف) پراکسید هیدروژن و (ب) آنزیم کاتالاز گیاه گندم تحت تنش شوری با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار در شرایط گلخانه‌ای. میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. نوار خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 5. Comparison of the average effect of inoculation of endophytes (*Micromonospora echinaurantiaca* and *Spingomonas aquatilis*) and non-inoculation on parameters (a) hydrogen peroxide and (b) catalase enzyme of wheat plant under salt stress with concentrations (0, 50, 100 and 150 mM) in greenhouse conditions. The mean of similar letters does not have a significant difference at the five percent probability level. Error bar indicates standard error.

جدول ۶. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر اندوفیت، تنش شوری و برهمکنش آن‌ها بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاه گندم

Table 6. Variance analysis (Mean squares) of endophyte effect, salt stress and their interaction on biochemical parameters of wheat plant

S.O.V	منابع تغییر	درجه		آنتی‌اکسیدان	فلاونوئید	پراکسید هیدروژن	کاتالاز
		آزادی	فنل				
		df	Phenol	Antioxidants	Flavonoid	Hydrogen peroxide	Catalase
Endophyte (E)	اندوفیت	2	0346**	247.96**	0.0293**	9284.58**	0.0116**
Salinity stress (S)	تنش شوری	3	0.603**	36.05**	0.0069**	3967.84**	0.0109**
S×E	اندوفیت×تنش شوری	6	0.211**	3.94**	0.0146**	4928.18**	0.0308**
Test error	خطای آزمایش	24	0.0118	0.623	0.00071	16.67	0.00131
C.V (%)	ضریب تغییرات	--	7.11	1.04	4.52	4.76	13.11

<sup>ns</sup>، <sup>\*\*</sup> و <sup>\*</sup> به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

<sup>ns</sup>، <sup>\*\*</sup> and <sup>\*</sup>: non-significant, significant at  $p \leq 0.01$  and  $p \leq 0.05$ , respectively

هیدروژن پراکسید هیدروژن که به گیاه کمک کند تا در برابر تنش شوری بهتر مقابله کند (Ha-Tran et al., 2021). در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، باکتری *M. echinaurantiaca* و *S. aquatilis* سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب به میزان ۰/۴۲۸ و ۰/۳۸۷ میکرومول بر میلی‌گرم وزن تر در مقایسه با شاهد شد (شکل ۵ ب). تنش شوری، به دلیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن بیشتر، می‌تواند منجر به افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی شود. حضور باکتری‌های اندوفیت می‌تواند این اثر را تقویت کند و فعالیت کاتالاز را به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش دهد (Khan et al., 2020).

### پراکسید هیدروژن و کاتالاز

بر طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۶) اثر متقابل اندوفیت و تنش شوری بر پراکسید هیدروژن گندم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین افزایش معنی‌دار پراکسید هیدروژن در تیمار با باکتری اندوفیت *M. echinaurantiaca* و تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به میزان ۲۰/۵۶ درصد در مقایسه با شاهد بود (شکل ۵ الف). شوری به‌تنهایی باعث افزایش پراکسید هیدروژن می‌شود و اندوفیت‌ها ممکن است سیستم دفاعی گیاه را تحریک کنند تا بیشتر به تولید پراکسید

باکتری سبب افزایش طول ساقه‌چه، ریشه‌چه، وزن تر و شاخص بینه شد؛ در حالی از کاهش وزن خشک گیاه گندم در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کرد. نتایج همچنین نشان داد که تلقیح اندوفیت باکتریایی سبب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و محتوای نسبی در گندم تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در شرایط گلخانه‌ای شد. همچنین در شرایط گلخانه‌ای صفات فنل، آنتی‌اکسیدان، فلاونوئید، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم کاتالاز گندم در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار توسط هر دو اندوفیت باکتریایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طور کلی، استفاده از پرایمینگ زیستی با باکتری‌های اندوفیت *Micromonospora echinaurantiaca* و *S. aquatilis* می‌تواند راهکاری مؤثر برای کاهش تنش شوری در گندم باشد و منجر به بهبود عملکرد و کیفیت محصولات گندم در شرایط شوری خاک گردد.

### سیاسگزاری

این طرح پژوهشی توسط صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور و سازمان تات با کد طرح ۴۰۲۰۳۱۵ حمایت مالی شده است.

باکتری‌های اندوفیت ممکن است از طریق تولید مولکول‌های پیام‌رسانی یا تعامل مستقیم با گیاهان، مسیرهای دفاعی را تحریک کرده و به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کمک کنند (Hamilton et al., 2012). در پژوهشی باکتری‌های اندوفیت *Exiguobacterium* sp. AM11 و *Bacillus pumilus* AM11 سبب افزایش فعالیت آنزیمی کاتالاز در گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری شد (Ali et al., 2017). در یک گزارش نتایج نشان داد که کاربرد باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* باعث تحریک بیشتر فرآیندهای آنتی‌اکسیدانی و حذف گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش پراکسید هیدروژن در گیاه *Pisum sativum* تحت تنش شوری شد (Sofy et al., 2010).

### نتیجه‌گیری نهایی

استفاده از پرایمینگ زیستی باعث کاهش وابستگی به مواد شیمیایی و کاهش آلودگی محیط‌زیست می‌شود. این روش می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد پایدار و محیط‌زیستی در کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری *M. echinaurantiaca* سبب افزایش درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، میانگین سرعت جوانه‌زنی در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار شد. همچنین، متعاقباً این

### منابع

- Ali, A., Shahzad, R., Khan, A.L., Halo, B.A., Al-Yahyai, R., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A. and Lee, I.J., 2017. Endophytic bacterial diversity of *Avicennia marina* helps to confer resistance against salinity stress in *Solanum lycopersicum*. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 312-322. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1362051>
- Abd-Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Hashem, A., Radhakrishnan, R., Al-Huqail, A.A., Al-Otibi, F.O.N., Malik, J.A., Alharbi, R.I., Egamberdieva, D., 2018. Endophytic bacterium *Bacillus subtilis* (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms. *Journal of Plant Interactions*. 13, 37-44. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1414321>
- Abdellatif, L., Bouzid, S., Kaminskyj, S., Vujanovic, V., 2009. Endophytic hyphal compartmentalization is required for successful symbiotic Ascomycota association with root cells. *Mycological Research*, 113, 782-791. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.02.013>
- Albdaiwi, R., Al-Sayaydeh, R., Al-Rifae, M.K., Alhindi, T., Ashraf, M., Al-Abdallat, A.M., 2024. Halotolerant endophytic bacteria regulate growth and field performance of two durum wheat genotypes with contrasting salinity tolerance potential. *Plants*, 13, 1179. <https://doi.org/10.3390/plants13091179>
- Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D., 1973. Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigor in soybean seed 1. *Crop Science*. 13, 227-232. <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300020023x>
- Abideen, Z., Cardinale, M., Zulfqar, F., Koyro, H.W., Rasool, S.G., Hessini, K., Darbali, W., Zhao, F., Siddique, K.H., 2022. Seed endophyte bacteria enhance drought stress

- tolerance in *Hordeum vulgare* by regulating physiological characteristics, antioxidants and minerals uptake. *Frontiers in Plant Science*. 13, 980046.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.980046>
- Afridi, M.S., Mahmood, T., Salam, A., Mukhtar, T., Mehmood, S., Ali, J., Khatoon, Z., Bibi, M., Javed, M.T., Sultan, T., Chaudhary, H.J., 2019. Induction of tolerance to salinity in wheat genotypes by plant growth promoting endophytes: Involvement of ACC deaminase and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*. 139, 569-577.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.041>
- Aghaei Dargiri, S., Samsampour, D., Askari Seyahooei, M., Bagheri, A., 2021. Evaluation of the effect of fungal *Penicillium chrysogenum* and bacterial *Exigubacterium aurantiacum* endophytes on improvement of the morpho-physiological characteristics of tomato seedlings. *Journal of Plant Process and Function*. 10, 251-266. [In Persian].  
<http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1400.1.0.42.17.9>
- Aghaei Dargiri, S., Samsampour, D., Askari Seyahooei, M., Bagheri, A., 2019. Investigation of endophyte diversity of some Amaranthacea species in Hormozgan province and their role to salinity tolerance in tomato plant. PhD thesis, Hormozgan University. [In Persian].
- Araújo, S., Balestrazzi, A., 2016. New Challenges in Seed Biology - Basic and Translational Research Driving Seed Technology. IntechOpen. Available at:  
<http://dx.doi.org/10.5772/61583>.
- Bashan, Y., de-Bashan, L.E., 2005. Fresh-weight measurements of roots provide inaccurate estimates of the effects of plant growth-promoting bacteria on root growth: a critical examination. *Soil biology and biochemistry*, 37, 1795-1804.  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.02.013>
- Chakraborty, U., Roy, S., Chakraborty, A.P., Dey, P., Chakraborty, B., 2011. Plant growth promotion and amelioration of salinity stress in crop plants by a salt-tolerant bacterium. *Recent Research in Science and Technology*. 3.(11):61-70.
- Cui, J., Nie, F., Zhao, Y., Zhang, D., Zhou, D., Wu, J., Qu, L., Xiao, L., Liu, L., 2024. A review on plant endophytes in response to abiotic stress. *Environmental Pollutants and Bioavailability*. 36, 2323123.  
<https://doi.org/10.1080/26395940.2024.2323123>
- Djanaguiraman, M., Narayanan, S., Erdayani, E., Prasad, P.V., 2020. Effects of high temperature stress during anthesis and grain filling periods on photosynthesis, lipids and grain yield in wheat. *BMC Plant Biology*. 20, 1-12.  
<https://doi.org/10.1186/s12870-020-02479-0>
- Eid, A.M., Fouda, A., Abdel-Rahman, M.A., Salem, S.S., Elsaied, A., Oelmüller, R., Hijri, M., Bhowmik, A., Elkelish, A., Hassan, S.E.D., 2021. Harnessing bacterial endophytes for promotion of plant growth and biotechnological applications: an overview. *Plants*. 10, 935.  
<https://doi.org/10.3390/plants10050935>
- Ellis, R.H., Roberts, E.H., 1980. Towards a rational basis for testing seed quality. In: Hebblethwaite, P.D. (Ed), *Seed Production*. Butterworths, London. 605-635.
- Emami, S., Alikhani, H.A., Pourbabaei, A.A., Etesami, H., Sarmadian, F., Motessharezadeh, B., 2019. Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environmental Science and Pollution Research*. 26, 19804-19813.  
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-05284-x>
- Etesami, H., Adl, S.M., 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and their action mechanisms in availability of nutrients to plants. *Environmental and Microbial Biotechnology Phyto-Microbiome in Stress Regulation*, p. 147-203.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-15-2576-6\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-15-2576-6_9)
- Etesami, H., Maheshwari, D.K., 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 156, 225-246.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>
- FAO, 2021. *Crops: Food and Agriculture Organization of the United Nations*.  
<https://www.fao.org/faostat/en/#data>
- Fouda, A., Hassan, S.E.D., Eid, A.M., El-Din Ewais, E., 2019. The interaction between plants and bacterial endophytes under salinity stress. *Endophytes and Secondary Metabolites*. 1-12.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-90484-9\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-319-90484-9_15)
- Gholizadeh, F., Mirzaghaderi, G., Danish, S., Farsi, M., Marashi, S.H., 2021. Evaluation of

- morphological traits of wheat varieties at germination stage under salinity stress. *Plos One*. 16, e0258703. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258703>
- Ghonaim, M.M., Mohamed, H.I., Omran, A.A., 2021. Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) salt stress tolerance using physiological parameters and retrotransposon-based markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 68, 227-242. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00981-w>
- Golparyan, F., Azizi, A., Soltani, J., 2018. Endophytes of *Lippia citriodora* (Syn. *Aloysia triphylla*) enhance its growth and antioxidant activity. *European Journal of Plant Pathology*. 152, 759-768. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1520-x>
- Gururani, M.A., Upadhyaya, C.P., Baskar, V., Venkatesh, J., Nookaraju, A., Park, S.W., 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *Solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. *Journal of Plant Growth Regulation*. 32, 245-258. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9292-6>
- Hadj Brahim, A., Ben Ali, M., Daoud, L., Jlidi, M., Akremi, I., Hmani, H., Feto, N.A., Ben, Ha-Tran, D.M., Nguyen, T.T.M., Hung, S.H., Huang, E., Huang, C.C., 2021. Roles of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in stimulating salinity stress defense in plants: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 22, 3154. <https://doi.org/10.3390/ijms22063154>
- Hasanuzzaman, M. and Fujita, M., 2013. Exogenous sodium nitroprusside alleviates arsenic-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings by enhancing antioxidant defense and glyoxalase system. *Ecotoxicology*, 22(3), 584-596. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1050-4>
- Hamilton, C.E., Gundel, P.E., Helander, M. and Saikkonen, K., 2012. Endophytic mediation of reactive oxygen species and antioxidant activity in plants: a review. *Fungal Diversity*, 54(1), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0158-9>
- Hualpa-Ramirez, E., Carrasco-Lozano, E.C., Madrid-Espinoza, J, Tejos., R, Ruiz-Lara, S., Stange, C., Norambuena, L., 2024. Stress salinity in plants: New strategies to cope with in the foreseeable scenario. *Plant Physiology and Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108507>
- Hubbard, M., Germida, J., Vujanovic, V., 2012. Fungal endophytes improve wheat seed germination under heat and drought stress. *Botany*. 90, 137-149. <https://doi.org/10.1139/b11-091>
- Hunter, E.A., Glasbey, C.A., Naylor, R.E.L., 1984. The analysis of data from germination tests. *The Journal of Agricultural Science*. 102, 207-213. <https://doi.org/10.1017/S0021859600041642>
- Jha, Y., 2019. Endophytic bacteria as a modern tool for sustainable crop management under stress. *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment*. 203-223. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_9)
- Kandel, S.L., Joubert, P.M., Doty, S.L., 2017. Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. *Microorganisms*. 5, 77. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040077>
- Kaymak, H.Ç., Güvenç, İ., Yarali, F., Dönmez, M.F., 2009. The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 33, 173-179. <https://doi.org/10.3906/tar-0806-30>
- Khan, M.A., Asaf, S., Khan, A.L., Adhikari, A., Jan, R., Ali, S., Imran, M., Kim, K.M., Lee, I.J., 2020. Plant growth-promoting endophytic bacteria augment growth and salinity tolerance in rice plants. *Plant Biology*. 22, 850-862. <https://doi.org/10.1111/plb.13124>
- Khan, T.A., Mazid, M., Quddusi, S., 2014. Role of Organic and Inorganic Chemicals in Plant-Stress Mitigation. In: Gaur, R., Sharma, P. (eds) *Approaches to Plant Stress and their Management*. Springer, New Delhi. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-1620-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1620-9_3)
- Khezri, M., Abbaspour Anbi, A., Mohammad Sour, F., 2018. Evaluation of seed biopriming on tomato leaf spot biocontrol and plant growth factors. *Biological Control of Pests and Plant Disease*. 7, 1-16. <https://doi.org/10.22059/jbioc.2018.263489.237>
- Kushwaha, P., Kashyap, P.L., Bhardwaj, A.K., Kuppusamy, P., Srivastava, A.K., Tiwari, R.K., 2020. Bacterial endophyte mediated plant

- tolerance to salinity: growth responses and mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 36, 26. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-2804-9>
- Lastochkina, O., Pusenkova, L., Yuldashev, R., Babaev, M., Garipova, S., Blagova, D.Y., Khairullin, R., Aliniaiefard, S., 2017. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L.(wheat) under salinity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 121, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.020>
- Liang, Q., Tan, D., Chen, H., Guo, X., Afzal, M., Wang, X., Tan, Z., Peng, G., 2024. Endophyte-mediated enhancement of salt resistance in *Arachis hypogaea* L. by regulation of osmotic stress and plant defense-related genes. *Frontiers in Microbiology*. 15, 1383545. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1383545>
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol*. 148: 350-382. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- Liu, B., Asseng, S., Müller, C., Ewert, F., Elliott, J., Lobell, D.B., Martre, P., Ruane, A.C., Wallach, D., Jones, J.W., Rosenzweig, C., 2016. Similar estimates of temperature impacts on global wheat yield by three independent methods. *Nature Climate Change*. 6, 1130-1136. <https://doi.org/10.1038/nclimate3115>
- Manjunatha, N., Manjunatha, N., Li, H., Sivasithamparam, K., Jones, M.G., Edwards, I., Wylie, S.J., Agarrwal, R., 2022. Fungal endophytes from salt-adapted plants confer salt tolerance and promote growth in wheat (*Triticum aestivum* L.) at early seedling stage. *Microbiology*. 168, 001225. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001225>
- Moradi, A., Piri, R., 2018. Plant growth promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in Cumin (*Cuminum cyminum* L.) during germination stage. *Journal of Plant Process and Function*. 6, 47-54. <https://doi.org/10.1001.1.23222727.1396.6.22.8.2>
- Nanjo, F., Goto, K., Seto, R., Suzuki, M., Sakai, M., Hara, Y., 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radical Biology and Medicine*. 21, 895-902. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(96\)00237-7](https://doi.org/10.1016/0891-5849(96)00237-7)
- Nawaz, F., Rafeeq, R., Majeed, S., Ismail, M.S., Ahsan, M., Ahmad, K.S., Akram, A., Haider, G., 2023. Biochar amendment in combination with endophytic bacteria stimulates photosynthetic activity and antioxidant enzymes to improve soybean yield under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 23, 746-760. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01079-1>
- Otlewska, A., Migliore, M., Dybka-Stępień, K., Manfredini, A., Struszczyk-Swita, K., Napoli, R., Białkowska, A., Canfora, L., Pinzari, F., 2020. When salt meddles between plant, soil, and microorganisms. *Frontiers in Plant Science*. 11, 553087. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.553087>
- Oukala, N., Aissat, K., Pastor, V., 2021. Bacterial endophytes: The hidden actor in plant immune responses against biotic stress. *Plants*. 10, 1012. <https://doi.org/10.3390/plants10051012>
- Pan, Y., Wu, L.J., Yu, Z.L., 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation*. 49, 157-165. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9101-y>
- Paśmionka, I.B., Bulski, K., Boligłowa, E., 2021. The participation of microbiota in the transformation of nitrogen compounds in the soil—A review. *Agronomy*. 11, 977. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050977>
- Porcel, R., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2012. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 32, 181-200. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0029-x>
- Posada, F., Aime, M.C., Peterson, S.W., Rehner, S.A., Vega, F.E., 2007. Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycological Research*, 111, 748-757. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.006>
- Rocha, I., Ma, Y., Souza-Alonso, P., Vosátka, M., Freitas, H., Oliveira, R.S., 2019. Seed coating: a tool for delivering beneficial microbes to agricultural crops. *Frontiers in Plant Science*. 10, 1357. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01357>
- Sadak, M.S., Abd El-Hameid, A.R., Zaki, F.S., Dawood, M.G., El-Awadi, M.E., 2020. Physiological and biochemical responses of soybean (*Glycine max* L.) to cysteine

- application under sea salt stress. *Bulletin of the National Research Centre*. 44, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0259-7>
- Saddiq, M.S., Iqbal, S., Hafeez, M.B., Ibrahim, A.M., Raza, A., Fatima, E.M., Baloch, H., Jahanzaib, Woodrow, P., Ciarmiello, L.F., 2021. Effect of salinity stress on physiological changes in winter and spring wheat. *Agronomy*. 11, 1193. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061193>
- Sarkar, D., Singh, S., Parihar, M., Rakshit, A., 2021. Seed bio-priming with microbial inoculants: A tailored approach towards improved crop performance, nutritional security, and agricultural sustainability for smallholder farmers. *Current Research in Environmental Sustainability*. 3, 100093. <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2021.100093>
- Shahid, M., Zeyad, M.T., Syed, A., Singh, U.B., Mohamed, A., Bahkali, A.H., Elgorban, A.M., Pichtel, J., 2022. Stress-tolerant endophytic isolate *Priestia aryabhatai* BPR-9 modulates physio-biochemical mechanisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) for enhanced salt tolerance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19, 10883. <https://doi.org/10.3390/ijerph191710883>
- Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A., Fatkhutdinova, D.R., 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*. 164, 317-322. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00415-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00415-6)
- Singh, P., Kumar, A., Borthakur, A., 2019. Abatement of environmental pollutants: trends and strategies. *Elsevier Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-03174-6>
- Singh, S., Singh, U.B., Malviya, D., Paul, S., Sahu, P.K., Trivedi, M., Paul, D., Saxena, A.K., 2020. Seed biopriming with microbial inoculant triggers local and systemic defense responses against *Rhizoctonia solani* causing banded leaf and sheath blight in maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17, 1396. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041396>
- Singh, V., Upadhyay, R.S., Sarma, B.K., Singh, H.B., 2016. Seed bio-priming with *Trichoderma asperellum* effectively modulate plant growth promotion in pea. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*. 9, 361-365. <http://dx.doi.org/10.5958/2230-732X.2016.00047.4>
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sofy, M.R., Aboseidah, A.A., Heneidak, S.A. and Ahmed, H.R., 2021. ACC deaminase containing endophytic bacteria ameliorate salt stress in *Pisum sativum* through reduced oxidative damage and induction of antioxidative defense systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(30), 40971-40991. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13585-3>
- Soltani, J., Samavati, R., Jalili, B., Bagheri, H., Hamzei, J., 2024. Halotolerant endophytic bacteria from desert-adapted halophyte plants alleviate salinity stress in germinating seeds of the common wheat *Triticum aestivum* L. *Cereal Research Communications*, 52, 165-175 <https://doi.org/10.1007/s42976-023-00377-3>
- Sturz, A.V., Christie, B.R., Nowak, J., 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 19, 1-30. <https://doi.org/10.1080/07352680091139169>
- Tang, M.J., Lu, F., Yang, Y., Sun, K., Zhu, Q., Xu, F.J., Zhang, W., Dai, C.C., 2022. Benefits of endophytic fungus *Phomopsis liquidambaris* inoculation for improving mineral nutrition, quality, and yield of rice grains under low nitrogen and phosphorus condition. *Journal of Plant Growth Regulation*. 41, 2499-2513. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10462-8>
- Tao, R., Ding, J., Li, C., Zhu, X., Guo, W., Zhu, M., 2021. Evaluating and screening of agro-physiological indices for salinity stress tolerance in wheat at the seedling stage. *Frontiers in Plant Science*. 12, 646175. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.646175>
- Toor, R.K., Savage, G.P., 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International*. 38, 487-494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.016>
- Torabian, S., Shakiba, M.R., Dabbagh Mohammadi Nasab, A., Toorchi, M., 2018. Leaf gas exchange and grain yield of common

- bean exposed to spermidine under water stress. *Photosynthetica*. 56, 1387-1397. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0834-4>
- Vaishnav, A., Shukla, A.K., Sharma, A., Kumar, R., Choudhary, D.K., 2019. Endophytic bacteria in plant salt stress tolerance: current and future prospects. *Journal of Plant Growth Regulation*. 38, 650-668. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9880-1>
- Verma, H., Kumar, D., Kumar, V., Kumari, M., Singh, S.K., Sharma, V.K., Droby, S., Santoyo, G., White, J.F., Kumar, A., 2021. The potential application of endophytes in management of stress from drought and salinity in crop plants. *Microorganisms*, 9, 1729. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081729>
- Verma, S.K., Kharwar, R.N., White, J.F., 2019. The role of seed-vectored endophytes in seedling development and establishment. *Symbiosis*. 78, 107-113. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00619-1>
- Wani, A.S., Ahmad, A., Hayat, S., Tahir, I., 2019. Epibrassinolide and proline alleviate the photosynthetic and yield inhibition under salt stress by acting on antioxidant system in mustard. *Plant Physiology and Biochemistry*. 135, 385-394. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.002>
- Wei, H., He, W., Li, Z., Ge, L., Zhang, J., Liu, T., 2022. Salt-tolerant endophytic bacterium *Enterobacter ludwigii* B30 enhance bermudagrass growth under salt stress by modulating plant physiology and changing rhizosphere and root bacterial community. *Frontiers in Plant Science*. 13, 959427. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.959427>
- Weller, D.M., Cook, R.J., 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with *Fluorescent pseudomonads*. *Phytopathology*. 73, 463-469
- Wu, F.L., Li, Y., Tian, W., Sun, Y., Chen, F., Zhang, Y., Zhai, Y., Zhang, J., Su, H., Wang, L., 2020. A novel dark septate fungal endophyte positively affected blueberry growth and changed the expression of plant genes involved in phytohormone and flavonoid biosynthesis. *Tree Physiology*. 40, 1080-1094. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpaa047>
- Yañez-Yazlle, M.F., Romano-Armada, N., Acreche, M.M., Rajal, V.B., Irazusta, V.P., 2021. Halotolerant bacteria isolated from extreme environments induce seed germination and growth of chia (*Salvia hispanica* L.) and quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under saline stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 218, 112273. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112273>
- Yang, S.L., Lan, S.S., Gong, M., 2009. Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. *Journal of Plant Physiology*. 166, 1694-1699. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.04.006>
- Youseif, S.H., 2018. Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria and their effects on the growth of maize plants under greenhouse conditions. *Annals of Agricultural Sciences*. 63, 25-35. <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2018.04.002>
- Zandi, P., Schnug, E., 2022. Reactive oxygen species, antioxidant responses and implications from a microbial modulation perspective. *Biology*. 11, 155. <https://doi.org/10.3390/biology11020155>
- Zhang, T., Fan, S., Xiang, Y., Zhang, S., Wang, J., Sun, Q., 2020. Non-destructive analysis of germination percentage, germination energy and simple vigour index on wheat seeds during storage by Vis/NIR and SWIR hyperspectral imaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 239, 118488. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118488>
- Zhu, M., Shabala, S., Shabala, L., Fan, Y., Zhou, M.X., 2016. Evaluating predictive values of various physiological indices for salinity stress tolerance in wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 202, 115-124. <https://doi.org/10.1111/jac.12122>