مقاله پژوهشی

تأثیر باکتری‌های محرک رشد جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان شورپسند بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه گندم رقم نارین در شرایط شور

اصغر مصلح آرانی[1*]، علیرضا امینی حاجی‌آبادی[2]، سمیه قاسمی[3]، محمد هادی راد[4]

[1] گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و کویر شناسی، دانشگاه یزد، [2]دانشجوی دکتری گروه مدیریت بیابان، دانشکده منابع طبیعی یزد، دانشگاه یزد، و کارشناس ارشد اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان یزد،[3] گروه علوم خاک، دانشکده منابع طبیعی و کویر شناسی، دانشگاه یزد،[4] بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۶/۰۱)

چکیده

شوری از جمله مهمترین تنش‌های غیرزیستی کاهنده رشد و نمو گندم است. کاهش اثرات شوری به کمک باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به‌عنوان یک راهکار سازگار با محیط‌زیست مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. در تحقیق حاضر، برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گندم رقم نارین به باکتری محرک رشد مقاوم به شوری جدا شده از ریزوسفر گیاهان آتریپلکس (*Atriplex lentiformis* (Torr.) S. Watson)، شور گز (*Tamarix ramosissima* Ledeb)، اشنان (*Seidlitzia rosmarinus* Ehrenb. ex Bois) و سنبله نمکی (*Halostachys belangeriana* (Moq.) Botsch.) در شرایط شور بررسی گردید. گندم رقم نارین پس از تلقیح با باکتری‌های شناسایی شده (*Bacillus safensis*، *B. pumilus* و *Zhihengliuella halotolerans*) در گلدان کشت و با آب آبیاری با شوری ۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر به‌عنوان شاهد و شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر آبیاری گردید. نتایج نشان داد که باکتری‌های شناسایی شده دارای توان تولید اکسین، سیدروفور، سیانید هیدروژن، ۱ -آمینو سیکلوپروپان- ۱ -کربوکسیلیک اسید دآمیناز (ACC دآمیناز) و توان انحلال فسفات بودند. با افزایش شوری، محتوای کلروفیل در تمام تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافت. استفاده از باکتری‌ها، باعث افزایش ۲۱/۵ تا ۹۴/۳، ۶ تا ۱۷۵ و ۱۷ تا ۳۴ درصدی به ترتیب در میزان کلروفیل a، b و کل در بین تیمارهای شوری شد. افزایش ۱۳ تا ۱۳۶ درصد پرولین، ۱۱ تا ۹۲/۵ درصدی فنل کل، ۱۲/۵ تا ۹۰ درصدی مهارکنندگی رادیکالهای آزاد و ۷/۵ تا ۱۷/۵ درصدی قندهای محلول در بین تیمارهای شوری تلقیح شده با باکتری‌ها نسبت به شاهد بدون باکتری دیده شد. بهبود شرایط فیزیولویک گیاه تحت تاثیر اثر مثبت باکتری‌ها در نهایت باعث افزایش زیست‌توده گیاه شد که در این میان نقش باکتری *B. safensis* بیشتر از دو باکتری دیگر بود. نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری‌های محرک رشد گیاهان مرتعی شورپسند می‌توانند در بهبود شاخص‌های رشد گیاه گندم در شرایط تنش شوری نقش داشته باشند.

کلمات کلیدی: باکتری محرک رشد، ریزوسفر، شوری، گندم

مقدمه

تامین امنیت غذایی، همواره مهمترین دغدغه در راه رشد و توسعه جوامع بشری بوده است. با افزایش جمعیت جهان از ۷ میلیارد در سال ۲۰۱۰ به ۱۰ میلیارد نفر در سال ۲۰۵۰، حدود

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: amoleh@yazd.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

۵۶ درصد غذای بیشتر باید تولید شود. البته این افزایش تولید باید با رعایت دو شرط اساسی پایداری زیست‌بوم عملی گردد. شرط اول، تخریب نکردن ۵۹۳ میلیون هکتار جنگل (حدود دو برابر شبه قاره هند) برای تامین زمینهای زراعی لازم برای این افزایش تولید و شرط دوم تخطی نکردن از تعهد بین‌المللی کاهش ۶۷ درصدی تولید گازهای گلخانه‌ای نسبت به سال ۲۰۱۰ می‌باشد. افزایش تولید همراه با رعایت این شرط‌ها، مستلزم استفاده از اراضی دارای محدودیت زراعی مانند شوری و افزایش بهره‌وری در واحد سطح اراضی زراعی است. این بدان معناست که ضمن افزایش تولید گیاهان علیرغم وجود تنشهای زیست محیطی موجود؛ مصرف کودهای شیمیایی را نیز به‌دلیل ضررهای زیست محیطی از جمله وارد نمودن ترکیبات نیتروژن‌دار به اتمسفر باید کاهش داد (Ward *et al.*, 2018).

افزایش مقاومت گیاهان زراعی به شوری با توجه به منابع عظیم خاک و آب متاثر از شوری نه تنها فرصتی برای گسترش سطح زراعت بلکه با توجه به روند رو به رشد شوری ثانویه، الزامی برای حداقل حفظ تولید فعلی و حتی افزایش بهره‌وری در واحد سطح اراضی زراعی موجود می‌باشد. در این وضعیت، گندم به‌عنوان مهمترین غله، منبع غذایی اصلی برای ۴۰ درصد مردم جهان بوده و بیش از هر گیاه زراعی دیگر کالری و پروتئین تولید می‌کند. همچنین گندم در بین تولیدات زراعی، بیشترین سطح کشت در جهان را بخود اختصاص داده (Giraldo *et al.*, 2019) و در کشورهای در حال توسعه با تامین ۶۰ درصد کالری مورد نیاز روزانه، دارای جایگاه مرکزی در سبد تغذیه انسان است (Sobolewska *et al.*, 2020).

علاوه بر روش‌های به نژادی و اصلاح ژنتیکی، استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به‌عنوان راهکاری برآمده از طبیعت و سازکار با محیط زیست برای افزایش مقاومت گندم به تنش شوری در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته است (Leontidou *et al.*, 2020). در این راستا، تلقیح گندم با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد مقاوم به شوری، به‌عنوان راهکاری با منافع چندگانه برای افزایش عملکرد گندم در شرایط تنش شوری معرفی شده است (Numana *et al.*, 2018; Etesami and Maheshwari, 2018; Rahahla *et al.*, 2019). باکتری‌های محرک رشد ریزوسفری با سازوکارهای مختلف مانند تسهیل جذب مواد مغذی به گیاه از طریق تثبیت نیتروژن، انحلال فسفاتهای غیر آلی و قابل جذب نمودن فسفر برای گیاه، جذب ریز مغذی‌هایی مانند آهن با ساخت سیدروفور و تعدیل سطح هورمون‌های گیاهی مانند افزایش تولید اکسین یا کاهش تولید اتیلن از طریق فعالیت ACC دآمیناز باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش شوری می‌شوند. این باکتری‌ها همچنین نیاز به کودهای شیمیایی را جبران و فعالیت عوامل بیماری‌زای گیاهی را با ترشح سیانید هیدروژن متوقف کرده یا کاهش می‌دهند (Gouda *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2019). ایندول ۳ استیک اسید (IAA) از معمول‌ترین انواع اکسین بوده که بر چندین فرآیند در گیاه از جمله تشکیل و طولانی شدن سلول‌های ساقه و تارهای مویین ریشه تاثیر مثبت دارد. اتیلن از دیگر هورمون‌های گیاهی بوده که در شرایط تنش‌های محیطی از جمله شوری، غلظت آن در گیاه افزایش یافته و منجر به کوتاهی ریشه، کاهش زیست‌توده و توسعه گیاه می‌شود. باکتری‌های محرک رشد قادرند تا ماده اولیه تولید اتیلن یعنی ACC (l-amino-cyclopropane-l-carboxylic acid) را با ساخت آنزیم ACC دآمیناز تجزیه کرده و از اثرات منفی اتیلن بر گیاه جلوگیری کنند (Shilev, 2020).

گیاهان، سازوکارهای مختلفی برای مقابله با تنش شوری دارند. در ابتدا، گیاهان با ساخت تنظیم کننده‌های اسمزی مانند پرولین و قندهای محلول به تنش پاسخ می‌دهند تا فشار تورگر سلول را که برای عملکرد صحیح آن لازم است حفظ کنند (Liang *et al*, 2017). تنظیم کننده‌های اسمزی مذکور، ضمن تاثیر در عملکرد اسمزی، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را نیز تنظیم می‌کند (Mushtaq *et al.*, 2020). علاوه بر این، گیاه برای تعدیل میزان گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از تنش اکسایش، اقدام به ساخت ترکیبات آنتی اکسیدانی اعم از آنزیمی مانند کاتالاز و غیر آنزیمی مانند ترکیبات فنلی می‌کند (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). از جمله اثرات تنش شوری،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

نشت الکتریکی غشا بوده که اثر منفی بر فرایندهایی مانند فتوسنتز، تنفس و سوخت و ساز پروتئین می‌گذارد. تنش اسمزی همچنین باعث بسته شدن روزنه‌ها (ناشی از کاهش جذب دی اکسید کربن) و در نتیجه عدم توازن در ساخت رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش فتوسنتز می‌گردد (Polash *et al.*, 2019). بر این اساس، سنجش میزان پرولین، قند، درصد مهارکنندگی رادیکالهای آزاد ، فنل و میزان کلروفیل، می‌تواند شاخص مناسبی از واکنش گیاه به تنش شوری باشد.

ریزوسفر گیاهان هالوفیت به عنوان یک آشیانه اکولوژیک مهم برای انواع مختلف ریزوباکتری‌های مقاوم به شوری عمل می‌کند که می‌توانند موجب افزایش رشد و عملکرد گیاهان تحت شرایط تنش شوری شوند. به عنوان مثال، در یک مطالعه باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیتی جداسازی شده از گیاه شورپسند سالیکورنیا توانستند مقاومت گیاه گندم به تنش شوری را افزایش دهند (Razzaghi Komaresofla *et al.*, 2019). یکی از باکتری‌های مفید ریزوسفری، باکتری *Zhihengliuella halotolerans* است که برای اولین بار در سال ۲۰۰۷ در کشور چین شناسایی شد (Zhang *et al.*, 2007). مطالعات بعدی روی این جدایه نشان داد که دارای صفات محرک رشد گیاه شامل قابلیت انحلال فسفات غیر-معدنی، تولید سیدروفور، آنزیم ACC دآمیناز و تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشد و اثرات مثبت این باکتری بر روی رشد گیاهان نشان داده شد (Jha *et al.*, 2012). یکی دیگر از باکتری‌هایی که صفات محرک رشدی متعددی دارد، باکتری *B. pumilus* می‌باشد. مطالعات نشان داد تلقیح این باکتری به گیاه گندم باعث تحریک رشد گندم شد (Ansari *et al.*, 2019). از جنس باسیلوس، گونه *B. safensis* نیز مورد مطالعه قرار گرفته و اثرات محرک رشدی آن روی برخی از گونه‌ها نشان داده شده است. این باکتری که برای اولین بار در کشور آمریکا شناسایی شد، مقاوم در محیط‌های شور، عناصر سنگین و اشعه ماورای بنفش می‌باشد (Satomi *et al.*, 2006).

در پژوهش حاضر، ابتدا باکتری‌های مقاوم به شوری از ریزوسفر گیاهان شورپسند جداسازی و صفات محرک رشد آنها ارزیابی شد. سپس باکتری‌هایی که نسبت به سایر جدایه-های مورد بررسی واجد صفات محرک رشد و مقاومت به شوری بالاتری بودند، شناسایی و تاثیر آنها با هدف هم‌افزایی اثر مثبت عملیات به نژادی و باکتری‌های محرک رشد بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گندم رقم نارین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های شورپسند از ریزوسفر چهار گونه شورپسند آتریپلکس(*Atriplex lentiformis* Torr.) S. Watson)، گز (*Tamarix ramosissima* Ledeb)، اشنان *Seidlitzia rosmarinus* Ehrenb. ex Bois) و سنبله نمکی (مارونگ) (*Halostachys belangeriana* (Moq.) Botsch). از رویشگاه این گیاهان در منطقه چاه‌افضل اردکان در ۷۰ کیلومتری شهر (N ″۴۷/۱۲′۰۰ °۳۰ و E ″۵/۲۸′۵۲ °۵۳) در اردیبهشت ماه ۱۳۹۷ جداسازی شد.

معرفی گندم رقم نارین: رقم موسوم به نارین، طی آزمایش سازگاری و پایداری عملکرد (هدایت الکتریکی (EC) خاک ۸ تا ۱۳ دسی‌زیمنس بر متر) با میانگین عملکرد ۴/۱۱ تن در هکتار نسبت به میانگین ارقام شاهد بم، نیشابور، کویر و روشن افزایش عملکرد داشته است. با توجه به تحمل به شوری، پتانسیل عملکرد بالا، سازگاری خوب در مناطق با تنش شوری در اقلیم معتدل و گرم، مقاومت به خوابیدگی، مقاومت به ریزش دانه، کیفیت نانوایی خوب و زودرسی، رقم نارین برای مناطق معتدل گرم کشور دارای تنش شوری آب و خاک (هدایت الکتریکی خاک ۸ تا ۱۳ و آب ۸ تا ۱۱ دسی‌زیمنس بر متر) معرفی شده است (امینی سفیدآب و همکاران، ۱۳۹۶).

نمونه‌برداری خاک و جداسازی باکتری‌ها: عملیات نمونه‌برداری خاک از عمق ۱۰۰ سانتی‌متری خاک ریزوسفری گونه‌های شورزی بیابانی مورد نظر صورت گرفت. برای جداسازی باکتری‌ها ۱۰ گرم از خاک ریزوسفری به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول بافر استریل (کلرید سدیم ۰/۹ درصد) منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه بوسیله شیکر با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند. سپس سری‌های رقت خاک تهیه و یک دهم میلی لیتر از آن روی ظروف پتری‌دیش حاوی محیط کشت آگار مغذی پخش گردید. تمام پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت یک هفته نگهداری و سپس توسط دستگاه شمارش کلنی، تعداد کلنی‌های باکتری در ظرف پتری مربوط به رقتی از خاک که تعداد کلنی‌های آن بیش از ۳۰ و کمتر از ۳۰۰ عدد بود شمارش و بر این اساس تعداد باکتری های ریزوسفری جداسازی شده بصورت CFU (Colony-Forming Unit) بر گرم خاک گزارش شدند (Szymańska *et al.*, 2016). مراحل خالص‌سازی این جدایه‌ها پس از کشت مجدد روی همان محیط از طریق بازکشت (Sub-culturing) انجام گرفت.

جهت جداسازی باکتری‌های مقاوم به شوری از نمونه‌های خاک ریزوسفری، عصاره‌های خاک روی محیط‌های کشت نوترینت آگار با سطوح شوری صفر (شاهد)، ۴، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم در سه تکرار به‌صورت یکنواخت کشت و سپس پلیت‌ها به مدت یک هفته در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته، باکتری‌های مقاوم (جدایه مقاوم به شوری جداسازی شده از ریزوسفر هر گیاه که قادر به رشد روی محیط‌های کشت نوترینت آگار با سطح شوری ۱۶۰ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم بودند) جداسازی شدند و خالص‌سازی آنها با روش کشت خطی انجام شد (Ilyas et al., 2020). فقط یک یا دو جدایه باکتری از هر گیاه و در مجموع ۶ جدایه باکتری روی محیط کشت نوترینت آگار با سطح شوری ۱۶۰ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم رشد کردند و در مرحله بعد صفات محرک رشد گیاه آنها اندازه‌گیری شد. سپس از بین آنها، جدایه‌های برتر از لحاظ صفات محرک رشد گیاه انتخاب گردید. با انجام شناسایی مولکولی جدایه‌های برتر، دو جدایه مشابه تشخیص داده شده و لذا در نهایت سه گونه باکتری *B. safensis* (MW295355) (از ریزوسفر آتریپلکس لنتی‌فورمیس)، *B. pumilus* (MW295357) (از ریزوسفر مارونگ و کوره‌گز) و *Zhihengliuella halotolerans* (MW295355) (از ریزوسفر اشنان) شناسایی گردید. شناسایی جدایه‌های باکتریایی بر اساس تعیین توالی ژن 16S rRNA (*et* Weisburg *al.*, 1991) انجام شد. تمام مراحل شناسایی جدایه باکتری‌ها توسط شرکت سلول کاوشگر ژن پژوه (شماره ثبت ۳۴۳۸۱) انجام شد.

سنجش کمی تولید ایندول استیک اسید طبق روش Bent و همکاران (۲۰۰۱)، اندازه‌گیری انحلال فسفات معدنی در محیط مایع طبق روش Jeon و همکاران (۲۰۰۳)، ارزیابی تولید سیدروفور از روش Alexander and Zuberer (۱۹۹۱)، توان تولید سیانید هیدروژن از روش Donate-Correa و همکاران (۲۰۰۴) و سنجش فعالیت تولید ۱ -آمینو سیکلوپروپان- ۱ - کربوکسیلیک اسید دآمیناز (ACC دآمیناز) از روش Honma and Shimomura (۱۹۷۸) تعیین شد.

آزمون گلخانه‌ای: بذر گندم رقم نارین از بخش غلات مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد تهیه شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایهٔ کاملا تصادفی با دو عامل شامل جدایه باکتری در چهار سطح (بدون باکتری بعنوان شاهد و ۳ جدایهٔ باکتری متحمل به شوری، هر یک متعلق به یک گیاه)، تنش شوری در چهار سطح شوری (آب آبیاری با شوری ۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر به‌عنوان شاهد و شوری‌های ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب معادل ۴۳، ۸۷ و ۱۷۴ میلی-مولار از طریق اضافه کردن کلرید سدیم به آب شاهد تهیه شد) و در سه تکرار انجام شد. بذرها با استفاده از الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۵ دقیقه استریل سطحی شده و به‌منظور حذف سمیت هیپوکلریت سدیم، بذرها با استفاده از آب مقطر استریل ده بار آبکشی شدند.

برای تلقیح بذرها، به ازای هر سویه باکتری، یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث تهیه گردید. برای تهیه مایه تلقیح، یک کلنی خالص از هر باکتری برداشته و تحت شرایط استریل به یک ارلن حاوی محیط کشت اضافه گردید. ارلن هر باکتری روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از ۴۸ ساعت مایه تلقیح سویه‌ها با جمعیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

جدول ۲- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای

EC	pH	درصد اشباع	منیزیم	سدیم	مس	بافت	نیتروژن
(ds/m)	-		(میلی‌گرم بر کیلوگرم)			-	(٪)
۲/۹	۷/۲۴	۳۱	۲۰۴	۱۰	۰/۷۲	شنی-لومی	۰/۰۳۵
فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	روی	آهن	منگنز	کلسیم	کربن	
		(میلی‌گرم بر کیلوگرم)				(٪)	
۱۵/۸	۱۶۸	۱/۰۴	۸/۵	۱۰/۴۲	۳۱۲/۶	۰/۴۲	

تقریبی ۹×۱۰^{۸} (تنظیم جمعیت باکتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت تا تمام سویه‌های باکتری دارای جمعیت یکسان باشند) آماده مصرف شدند. سپس بذرهای استریل سطحی شده به ارلن‌های حاوی مایه تلقیح باکتری‌های مورد مطالعه اضافه و به‌مدت ۴۵ دقیقه روی شیکر با دور ۱۲۰ و دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شد. علاوه بر این، بعد از کشت بذرها در گلدان، به هر بذر ۳ میلی لیتر مایع تلقیح اضافه شد. پس از تهیه خاک مناسب و تعیین برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن (جدول ۱) خاک‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر دراتوکلاو استریل شدند. برای کاشت بذرها از گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۱ سانتی متر و قطر دهانهٔ ۱۶ سانتی متر استفاده و به هر گلدان ۲ کیلوگرم خاک اضافه شد. بذور تلقیح شده با باکتری روی کاغذ صافی‌های استریل و مرطوب در داخل انکوباتور جوانه‌دار شدند. در هر گلدان ۸ بذرجوانه زده در عمق ۲ سانتی-متری و با فاصله‌های یکسان کاشته شدند. دقت شد تا از بذوری استفاده شوند که اندازه ریشه‌چه آنها برابر بودند. در طول دوره رشد گیاه در گلخانه، درجه حرارت روز و شب به ترتیب برابر با ۳۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. آبیاری گیاهان تا آغاز مرحله سه برگی با آب شاهد بوده و پس از مرحلهٔ سه برگی، ضمن تنک کردن گیاهان، چهار گیاه انتخاب شد که دارای اندازه برابر بودند. برای جلوگیری از وارد شدن تنش به گیاهان، تیمارهای شوری به صورت تدریجی اعمال شد. همچنین به‌منظور اطمینان از رسیدن به شوری مورد نظر هر هفته یک بار هدایت الکتریکی زهاب گلدان‌ها اندازه‌گیری شده و در صورت افزایش بیش از شوری تیمار، آبشویی با آب شاهد انجام گردید. در مرحله پایانی دوره رویشی و قبل از مرحله زایشی و تولید گل‌آذین، برخی پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گندم (برای هر شاخص برگ‌های مشابه به لحاظ زمان تولید) شامل کلروفیل a و b، کلروفیل کل، پرولین، فنل کل، فعالیت درصد مهارکنندگی رادیکالهای آزاد، زیست توده کل و قندهای محلول کل اندازه‌گیری شد.

سنجش میزان قندهای محلول کل طبق روش Kochert (۱۹۸۷)، پرولین طبق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳)، میزان کلروفیل a و b بر اساس روش Wellburn and Lichtenthaler (۱۹۸۳)، تعیین میزان فنل کل طبق روش Hayouni و همکاران (۲۰۰۷) و درصد مهارکنندگی رادیکالهای آزاد طبق روش Suhanya و همکاران (۲۰۰۹) انجام گرفت. تمام اندازه گیری‌ها با دستگاه اسپکتوفتومتر مدلAnalytik Jene 210 ساخت کشور آلمان انجام شد.

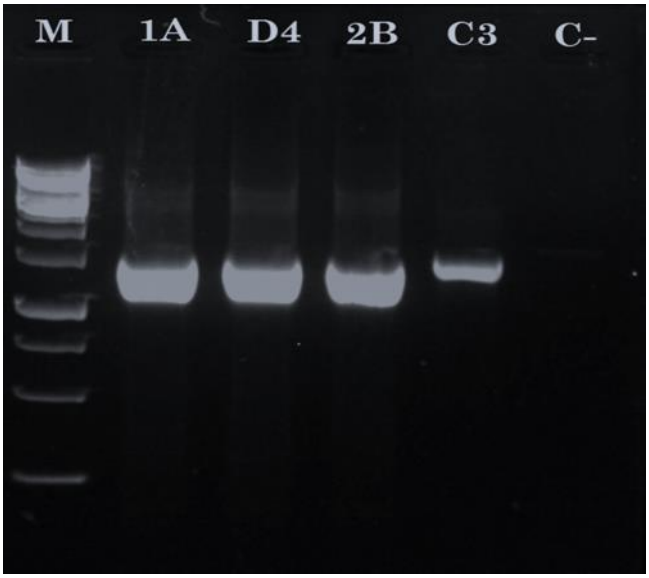
تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها نیز به‌روش دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج

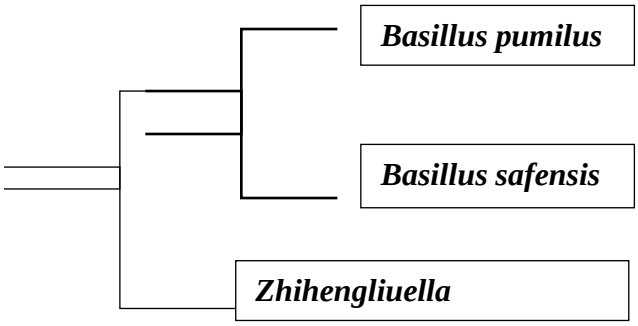
جدایه‌ها و شناسایی مولکولی و صفات محرک رشد گیاه آنها نتایج شناسایی مولکولی نشان داد که دو گونه برتر باکتری متعلق به جنس باسیلوس بنام‌های *Bacillus safensis* (MW295355) (از ریزوسفر آتریپلکس لنتی‌فورمیس) و *B. pumilus* (MW295357) (از ریزوسفر مارونگ و کوره‌گز) بود. گونه دیگر بنام *Zhihengliuella halotolerans*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]



شکل ۱- باندهای محصول PCR به همراه کنترل منفی روی ژل آکار ۱ درصد



شکل ۲- درخت فیلوژنیک جدایه‌ها

(MW295355) (از ریزوسفر اشنان) شناسایی گردید. شکل ۱ محصول PCR به همراه کنترل منفی روی ژل آگار ۱ درصد را نشان می‌دهد. درخت فیلوژنی حاصل از توالی‌های 16S rRNA سویه‌ها نشان داد که سه باکتری در سه گونه متفاوت طبقه‌بندی شدند (شکل ۲).

نتایج نشان داد که هر سه باکتری مورد بررسی قادر به تولید اکسین (ایندول ۳ – استیک اسید) بودند. بیشترین مقدار تولید اکسین در باکتری *B. safensis* معادل ۲۹/۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. هر سه باکتری قادر به تولید سیانید هیدروژن بودند و بیشترین مقدار تولید سیانید هیدروژن بر اساس تغییر رنگ کاغذ صافی در باکتری *Z. halotolerans* با درجه ۵ (بسیار بالا) مشاهده شد. مقدار تولید سیدروفور با اندازه‌گیری قطر هاله نارنجی رنگ اطراف کلونی جدایه‌ها ارزیابی شد. نتایج حاصل از بررسی توانایی تولید سیدروفور نشان داد هر سه باکتری قادر به تولید سیدروفور بودند. تولید ACC دآمیناز در هر سه باکتری مشاهده شد و بیشترین مقدار آن در باکتری *B. pumilus* به مقدار ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. ارزیابی انحلال تری کلسیم فسفات در محیط مایع توسط باکتری‌ها نشان داد که هر سه باکتری قادر به انحلال آن بودند. توانایی انحلال فسفات *Z . halotolerans* بیشتر از دو برابر باکتری *B. safensis* و *B. pumilus* بود (جدول ۲).

تاثیر شوری و باکتری بر شاخص‌های فیزیولوژیک: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر شوری، باکتری و اثر متقابل شوری× باکتری بر صفات کلروفیل a و b، پرولین، فنل کل و درصد مهارکنندگی رادیکالهای آزاد معنی‌دار بود. در حالیکه اثر متقابل معنی‌داری بین شوری× باکتری بر مقدار قندهای محلول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

جدول ۲- میانگین تولید ایندول ۳ استیک اسید، سیانید هیدروژن، سیدروفور، ACC دآمیناز و توان انحلال فسفات

باکتری‌ها	ایندول ۳ استیک اسید (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	سیانید هیدروژن (درجه رنگ)	سیدروفور (قطر هاله به کلنی)	ACC دآمیناز (میکرومول الفا-کتوبوتیریت بر ساعت بر میلی‌گرم پروتیین)	انحلال فسفات (میکروگرم بر میلی‌لیتر)
B. safensis	۲۹/۷۲^{a}	۳ ^{b}	۱/۵۰ ^{a}	۶ ^{b}	۷۰/۳۳^{c}
B. pumilus	۲۲/۵۷^{b}	۳ ^{b}	۰/۵۰ ^{b}	۸ ^{a}	۱۱۶/۳۳^{b}
Z. halotolerance	۲۶/۸۲^{a}	۵ ^{a}	۰/۱۴^{c}	۶ ^{b}	۱۶۲/۰۸^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس اثرات تیمارهای شوری و باکتری بر برخی صفات فیزیولوژیک گندم رقم نارین

منبع تغییر		شوری	باکتری	شوری×باکتری	خطا	ضریب تغییرات (٪)
	درجه آزادی	۳	۳	۹	۳۲	–
میانگین مربعات	کلروفیل a	۶۲/۸**	۱۷۲**	۱۲/۱*	۴/۸	۱۰/۳
	کلروفیل b	۲/۸**	۹/۷**	۱/۲**	۰/۳	۱۴/۹
	کلروفیل کل	۷۷/۴**	۲۴/۲**	۹/۵ ^{ns}	۵/۶	۹/۴
	پرولین	۶/۸**	۱/۷**	۰/۷**	۰/۱	۱۵/۹
	فنل کل	۵/۵**	۲/۷**	/۶**	۰/۱	۱۷/۳
	درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد	۳۲/۸**	۲۷**	۷/۸**	۰/۵	۹/۶
	قندهای محلول	۴/۶**	۲/۲**	۰/۶^{ns}	۰/۴	۱۰
	زیست توده	۰/۲۱**	۰/۳۷**	۰/۰۴۷**	۰/۰۱	۵

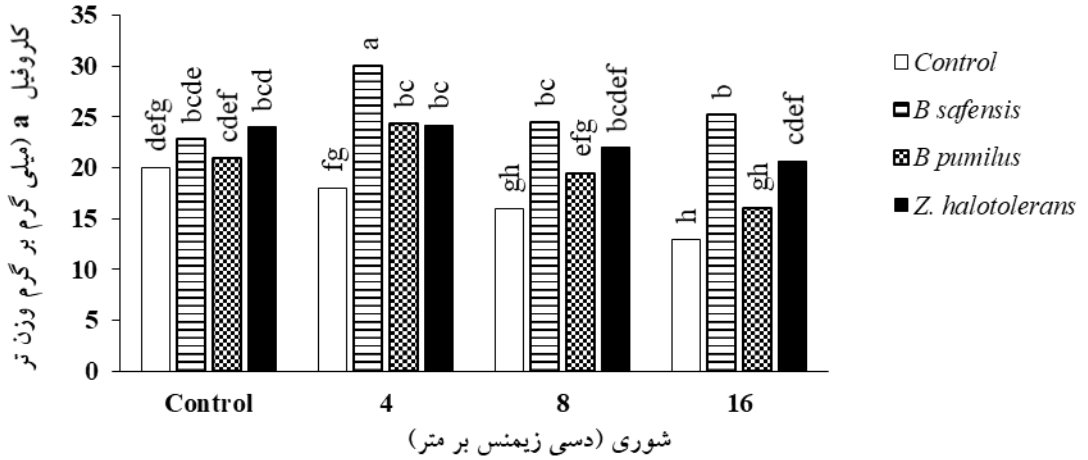
ns، * و ** به ترتیب نشانه غیر معنی‌دار، معنی دار در سطح خطای کوچکتر مساوی ۰/۰۵ و ۰/۰۱

کل و کلروفیل کل مشاهده نشد (جدول ۳).

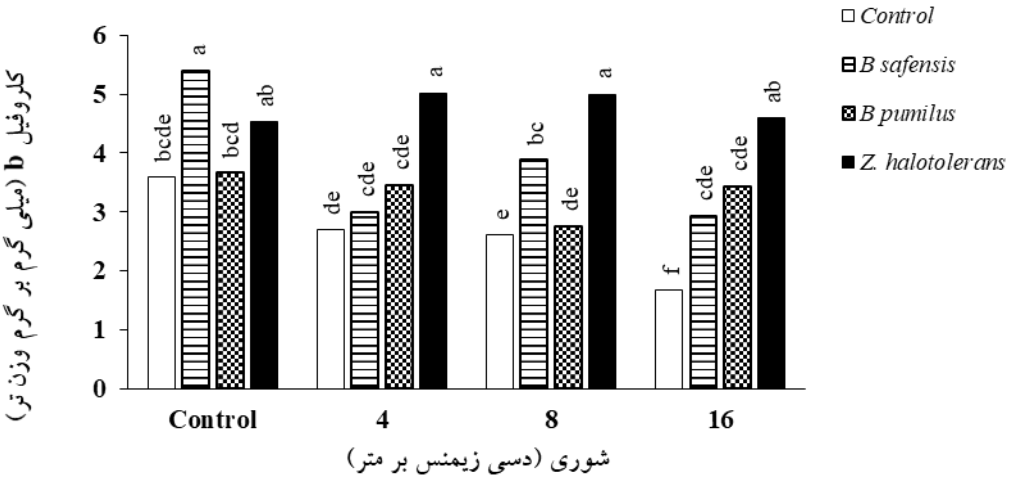
کلروفیل a: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شوری مقدار کلروفیل a کاهش یافت اما این کاهش فقط در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس نسبت به شاهد (۳۵ درصد) معنی‌دار بود. باکتری‌ها در همه تیمارهای شوری باعث افزایش مقدار کلروفیل a شد. در شوری ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر دو باکتری *B. safensis* و *Z. halotolerans* باعث افزایش مقدار کلروفیل a نسبت به تیمار بدون باکتری شدند. باکتری *B. pumilus* فقط در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به تیمار بدون باکتری باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل a شد (شکل ۳).

کلروفیل b: با افزایش شوری، مقدار کلروفیل b نیز کاهش یافت اما این کاهش فقط در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد (۵۳/۶ درصد) معنی‌دار بود. باکتری‌ها باعث افزایش مقدار کلروفیل b در همه تیمارها شدند. باکتری *Z. halotolerans* بجز در شاهد، باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل b در همه تیمارهای شوری شامل ۸۶ درصد در شوری ۴، ۹۲/۳ درصد در شوری ۸ و ۱۷۵/۴ درصد در شوری ۱۶ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد این سطوح شد. باکتری *B. safensis* نیز بجز در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، باعث

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]



شکل ۳- اثر متقابل شوری × باکتری بر مقدار کلروفیل a (میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)



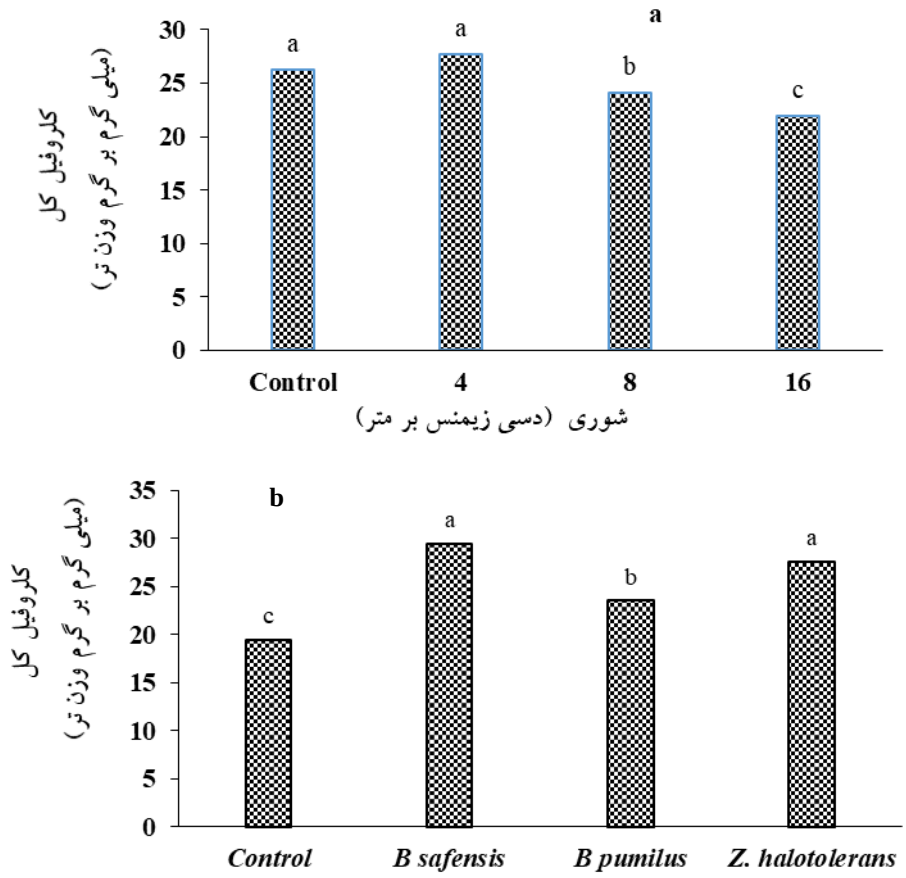
شکل ۴- تاثیر اثرات متقابل شوری × باکتری بر میزان کلروفیل b (در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)

افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل b در همه تیمارها شامل ۵۰ درصد در شاهد، ۴۹ درصد در شوری ۸ و ۷۵/۴ درصد در شوری ۱۶ دسی زیمنس بر متر شد. *B. pumilus* عملکرد ضعیفتری نسبت به دو باکتری دیگر داشت و فقط در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش معنی‌دار (۱۰۴/۷ درصد) کلروفیل b شد (شکل ۴).

کلروفیل کل: با افزایش شوری، مقدار کلروفیل کل کاهش یافت به‌طوریکه مقدار آن در شوری ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۸/۴ و ۱۶/۷ درصد کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد داشت (شکل ۵a). هر سه باکتری تاثیر مثبت و معنی-داری بر مقدار کلروفیل کل داشتند به‌ویژه تاثیر دو باکتری *B. safensis* و *Z . halotolerans* (به ترتیب با ۳۴ و ۲۹ درصد افزایش) نسبت به باکتری *B. pumilis* (۱۷ درصد افزایش) بیشتر بود (شکل ۵b).

پرولین: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شوری، مقدار پرولین (در تیمارهای بدون باکتری) افزایش یافت به-طوریکه مقدار آن در شاهد شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر افزایش معنی‌دار ۵۷/۴، ۸۸/۷ و ۱۰۰ درصدی به‌ترتیب نسبت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]



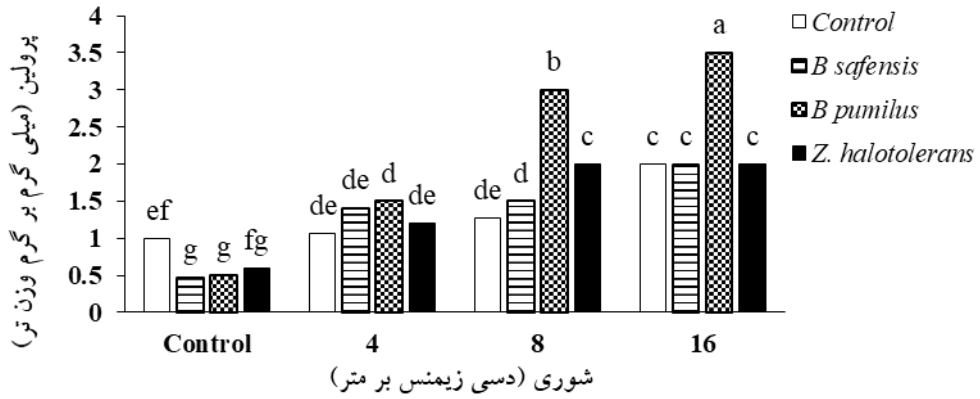
شکل ۵- تاثیر شوری(a) و جدایه باکتری (b) بر کلروفیل کل (در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)

به تیمارهای شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر، ۴ دسی‌زیمنس بر متر و شاهد داشت. باکتری *Z. halotolerans* و *B. pumilus* در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب باعث افزایش معنی‌دار ۵۷/۴ درصدی و ۱۳۶ درصدی نسبت به شاهد شدند، در صورتیکه در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر فقط باکتری *B. pumilus* باعث افزایش معنی‌دار ۷۵ درصدی مقدار پرولین شد. در هیچکدام از تیمارها، باکتری *B. safensis* تغییر معنی‌داری در مقدار پرولین ایجاد نکرد (شکل ۶).

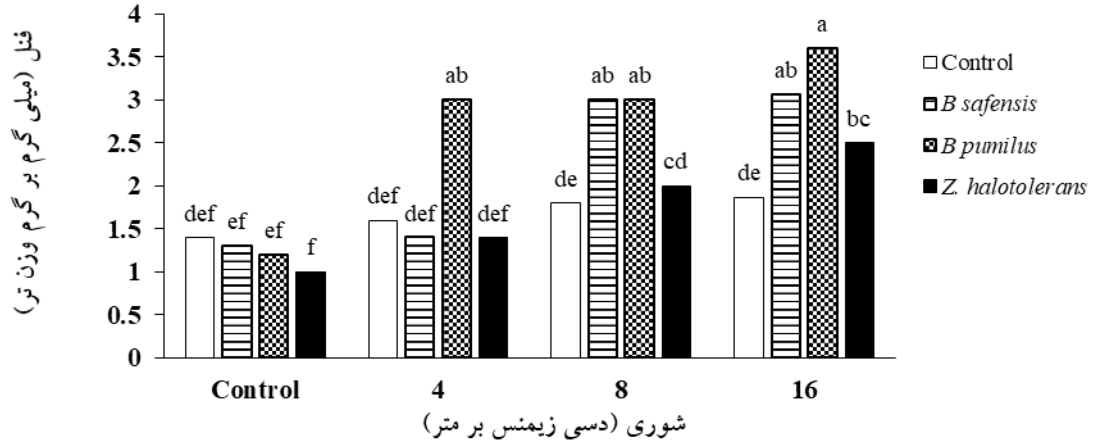
فنل کل: نتایج نشان داد که با افزایش شوری مقدار فنل کل افزایش یافت ولی این افزایش معنی‌دار نبود. باکتری *B. pumilus* در هر سه تیمار شوری باعث افزایش معنی‌دار مقدار فنل کل (۸۷/۵، ۶۶/۷ و ۹۲/۵ درصد به‌ترتیب در شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر) شد، در حالیکه باکتری *B. safensis* در دو تیمار ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب به میزان ۶۶/۷ و ۶۴ درصد و باکتری *Z. halotolerans* فقط در تیمار ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به میزان ۳۳/۷ درصد نسبت به شاهد باعث افزایش فنل کل در گندم رقم نارین شد. از بین باکتری‌ها، *B. pumilus* باعث تاثیر مثبت بیشتری در افزایش مقدار فنل کل در گندم تحت تنش شوری شد (شکل ۷).

درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد: نتایج نشان داد که با افزایش شوری (بدون باکتری)، درصد مهار کنندگی رادیکال-های آزاد گیاه گندم در همه تیمارهای شوری افزایش یافت. دو باکتری *B. pumilus* و *B. safensis* در همه تیمارهای شوری باعث افزایش معنی‌دار (در تیمارهای ۴، ۸ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر به ترتیب ۶۲/۵، ۹۰ و ۳۱/۴ درصد برای *B. pumilus* و ۶۳/۶، ۶۳/۶ و ۲۹/۷ درصد برای *B. safensis*) درصد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]



شکل ۶- اثر متقابل شوری × باکتری بر میزان پرولین (در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)



شکل ۷- تاثیر اثرات متقابل شوری × باکتری بر میزان فنل کل (در هرستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)

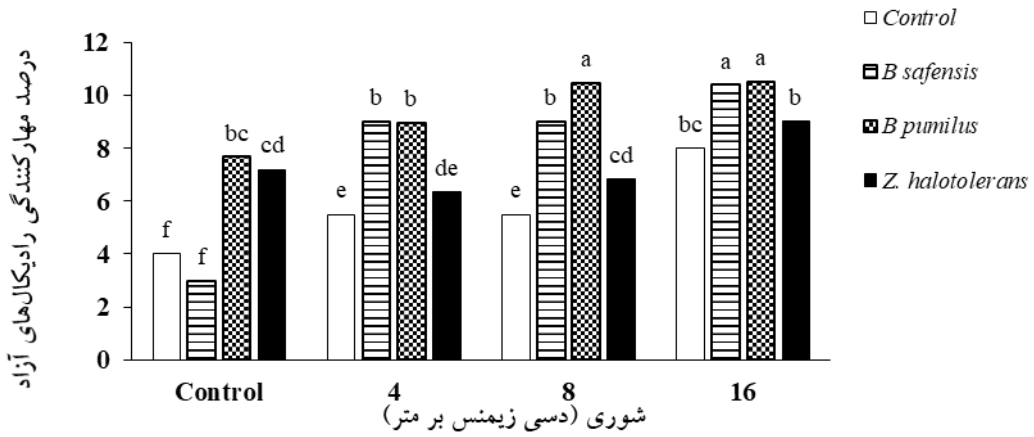
مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در گیاه گندم شد در حالیکه باکتری *Z. halotolerance* فقط در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش معنی دار ۲۳/۶ درصدی درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد شد. در شرایط غیر شور هم دو باکتری . *Z halotolerance* و *B. pumilus* به‌ترتیب ۸۰ و ۹۱/۵ درصد افزایش معنی‌دار درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد در این گیاه را ایجاد نمودند (شکل ۸).

قندهای محلول کل: نتایج نشان داد که با افزایش شوری، مقدار قندهای محلول در برگ گندم در تمام سطوح شوری افزایش معنی‌داری (۱۳/۴، ۲۰ و ۲۶ درصدی به ترتیب در تیمارهای شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر) نسبت به شاهد نشان داد (شکل 9a). دو باکتری *B. pumilus* و *B. safensis* باعث افزایش به ترتیب ۱۲/۳ و ۱۷/۵ درصدی قند های محلول در گندم شد. باکتری *Z. halotolerans* نیز باعث افزایش ۷/۵ درصدی قندهای محلول شد ولی این افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار نبود (شکل b ۹).

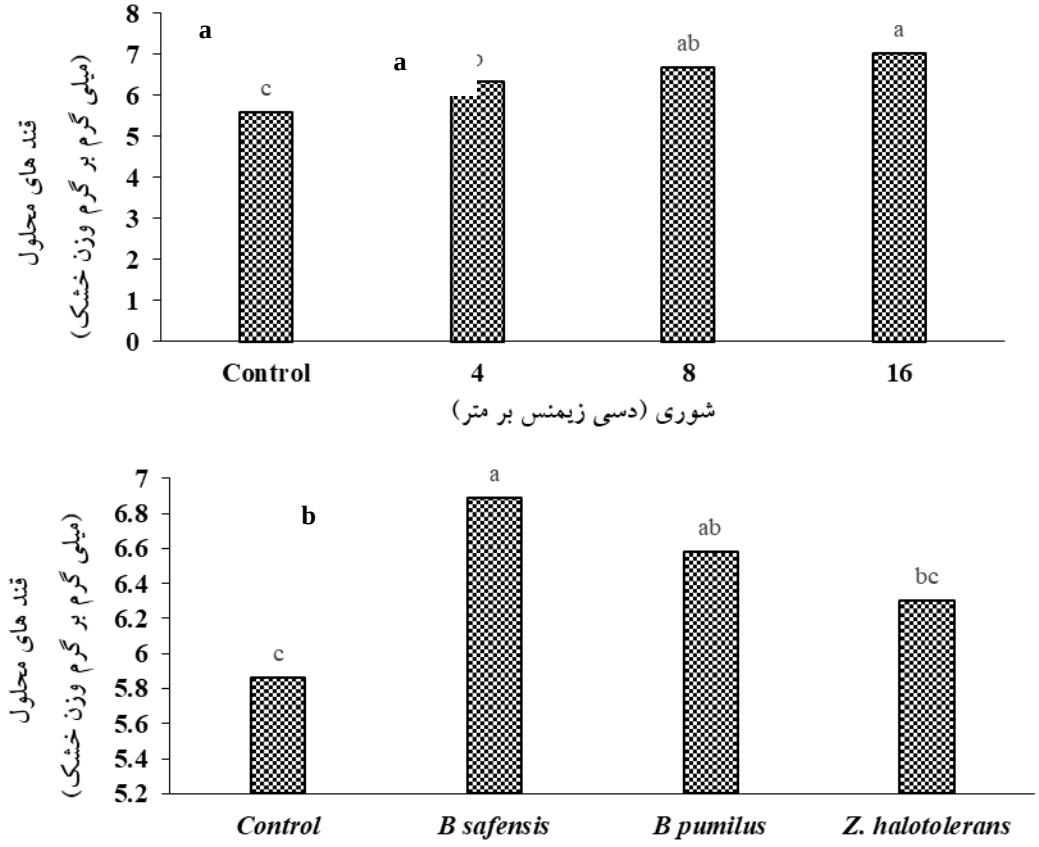
زیست‌توده کل: مقدار زیست‌توده کل با افزایش شوری روند نزولی داشته، به‌طوری‌که در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر ۴۰ درصد کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۱۰). جدایه‌های باکتری در کلیه سطوح تنش شوری باعث

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]



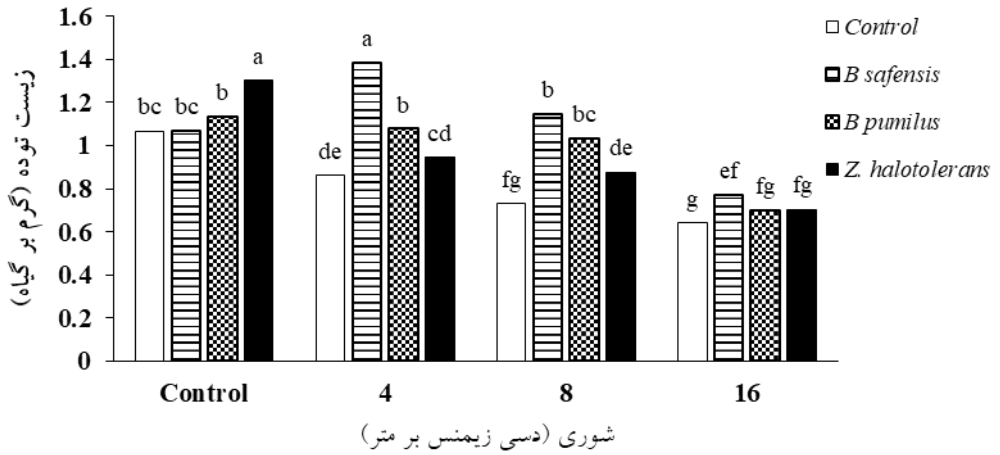
شکل ۸- اثرات متقابل شوری × باکتری بر درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)



شکل ۹- تاثیر سطوح شوری (a) و جدایه باکتری (b) بر میزان قندهای محلول (در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)

افزایش زیست‌توده کل نسبت به شاهد شوری شد که بیشینه دسی‌زیمنس بر متر بود.
آن به میزان ۶۰/۴ درصد مربوط به *B. safensis* در شوری ۴

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]



شکل ۱۰- اثر متقابل شوری × باکتری بر مقدار زیست‌توده (در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند)

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد با افزایش شوری مقدار کلروفیل a، b و کل کاهش یافت. کاهش کلروفیل تحت شرایط شوری می‌تواند به علت کاهش جذب عناصر پتاسیم (Polash *et al*., 2019؛ زمانی، ۱۳۹۰)، کاهش نیتروژن (Ahanger *et al*., 2019)، کاهش جذب منیزیم (Senbayram, et al., 2015) ریز مغذی آهن (Pushnik *et al*., 1984; Rout and Sahoo, 2015; Guo *et al*., 2020) و فسفر (Frydenvang *et al*., 2015) و یا عناصر دیگر باشد. این کاهش همچنین می‌تواند ناشی از افزایش میزان سدیم در برگ بوده که باعث تخریب کلروفیل (Li *et al*., 2015) یا کاهش تجمع ۵ آمینولاولینیک اسید (5-aminolaevulinic acid)(آمینو اسید پیش نیاز ساخت کلروفیل) باشد (Santos, 2004). علاوه بر این کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش شوری ممکن است به‌دلیل اثر فعالیت کلروفیلاز، پراکسیداز، ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (Oraei *et al*., 2009). کاهش محتوای کلروفیل در گندم با افزایش تنش شوری در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است (Nassar *et al*., 2020; Saddiq *et al*., 2020). استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه در این آزمایش باعث افزایش مقدار کلروفیل در گندم رقم نارین شد. افزایش مقدار کلروفیل در گیاه گندم تلقیح شده با باکتری‌ها تحت شرایط شوری ممکن است به‌دلیل برتری قابل توجه تولید سیدروفور در این باکتری‌ها باشد. اکسین نیز نقش قابل توجهی در افزایش محتوای کلروفیل ایفا می‌کند به‌طوریکه طی یک پژوهش، کاربرد ۱۰۰ پی‌پی‌ام ایندول ۳ استیک اسید بر برگ گندم، باعث افزایش ۳۱ درصدی محتوای کلروفیل نسبت به شاهد شد (Hanaa and Safaa., 2019). نتایج نشان داد که باکتری *Z. halotolerans* تاثیر بیشتری در افزایش کلروفیل b داشته که این ممکن است بدلیل قابلیت برتر آن در انحلال فسفر نسبت به دو باکتری دیگر باشد. میزان کلروفیل کل به ترتیب در دو تیمار باکتری *B. safensis* و *Z. halotolerans* بیشتر بوده که می‌تواند گویای برآیند اثر دو صفت محرک رشد تولید سیدرفور و انحلال فسفر در این دو باکتری باشد (جدول ۲). افزایش میزان کلروفیل در گندم تحت تنش شوری تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Emami Ilyas *et al*., 2020; Nawaz *et al*., 2020 ;*et al*., 2019).

نتایج همچنین نشان داد که میزان پرولین با افزایش شوری افزایش یافت. پرولین نقش اساسی در تنظیم اسمزی برای کاهش سمیت سدیم در گیاهان دارد (Yildiztugay *et al*., 2019; Saddiq *et al*., 2020). در شرایط تنش شوری، پرولین نقش چند گانه‌ای شامل محافظت از پروتئین‌ها، تنظیم اسیدیته سیتوسول، کاهش اکسایش لیپیدها و تخریب گونه‌های فعال اکسیژن بازی می‌کند (Wang *et al*., 2016). در این آزمایش،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش مقدار پرولین در گیاه گندم رقم نارین شد. پرولین با متابولیسم نیتروژن ساخته می-شود به این صورت که در گیاه نیترات به نیتریت و سپس به آمونیاک تبدیل و در ادامه با گلوتامین و گلوتامات به آمینواسیدها تبدیل می‌شود (Barraclough *et al.*, 1980). باکتری‌های محرک رشد با تثبیت نیتروژن می‌توانند به این روند کمک کنند و باعث افزایش پرولین در گیاه شوند. کمتر بودن میزان تولید پرولین در تیمارهای باکتری در شاهد ممکن است ناشی از تولید دیگر انواع تنظیم کننده‌های اسمزی در این حالت توسط باکتری‌ها باشد. افزایش محتوای پرولین برگ گندم در شرایط تنش‌های زیستی از جمله شوری در تیمارهای تلقیحی با باکتری محرک رشد در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Emami *et al.*, 2019; Nawaz *et al.*, *et al.*, 2021; Amini Hajiabadi 2020;). به عنوان نمونه، بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری بر رشد و عملکرد گندم و جو در شوری‌های صفر، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر نشان داد بیشترین مقدار تولید پرولین در گندم و جو در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر و به‌ترتیب متعلق به باکتری‌های با توان تولید سیدروفور و باکتری‌های حل کننده فسفات بود. در بین باکتری‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر، بیشترین مقدار پرولین تولید شده در سطوح تنش شوری متعلق به *B. pumilus* بود. اثر حمایتی باکتری مزبور در کاهش تنش‌های زیستی بر گندم از طریق بهبود کارآیی فتوسنتز، تعرق و افزایش تولید پرولین در پژوهش‌های دیگر نیز عنوان شده است چنانکه نتایج بررسی تاثیر باکتری‌های *Exiguobacterium aurantiacum*، *Pseudomonas fluorescence* و *B. pumilus* به‌تنهایی و به صورت ترکیبی بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک دو رقم گندم حساس و مقاوم به شوری، نشانگر برتری *B. pumilus* در افزایش میزان پرولین و پروتئین‌های محلول در ارقام گندم به‌ویژه رقم مقاوم با افزایش شوری بود (Nawaz *et al.*, 2020).

از دیگر نتایج پژوهش حاضر، افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و مقدار فنل کل در گیاه گندم با افزایش سطوح شوری بود. گیاهان تلقیح شده با باکتری تحت شرایط شوری، باعث افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و مقدار فنل کل شد. تنش‌های زیستی از جمله شوری، باعث کاهش دسترسی گیاه به دی اکسید کربن، ممانعت از تثبیت کربن و کاهش پی در پی اکسیژن مولکولی شده که نتیجه آن افزایش بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و صدمه به عملکرد کلروپلاست‌ها و در نهایت اختلال در فرآیند فتوسنتز می‌باشد (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و ترکیبات فنلی با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن (از جمله تبدیل O_2^- به H_2O_2 و سپس H_2O) از اکسیداسیون مولکول‌های زیستی حیاتی سلول جلوگیری کرده و مانع بروز تنش اکسایش و یا تخفیف اثرات آن در سلول‌های گیاه می‌شوند (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در برگ گندم‌های تحت تنش شوری تلقیحی با باکتری‌های محرک رشد در مطالعات متعدد گزارش شده است (Afridi *et al.*, 2019; Ilyas *et al.*, 2020;). به‌عنوان نمونه، میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد گندم در اثر تلقیح با ترکیب یک سویه باسیلوس، یک سویه سودوموناس و دو سویه آزوسپیریلوم در شوری ۱۵۰ میلی‌مول نسبت به شاهد بدون باکتری به میزان ۱۲ درصد افزایش یافت (Ilyas *et al.*, 2020). همچنین تحقیقات نشان داده کاربرد ترکیبات نیتروژن‌دار (Ahanger *et al.*, 2019) باعث افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در گندم تحت تنش شوری (۱۰۰ میلی مول کلرید سدیم) شده است. از آنجایی‌که مطالعات نشان می‌دهند باکتری‌های مورد مطالعه در این تحقیق توان تثبیت نیتروژن را دارند (Alishahi *et al.*, 2020, Masood *et al.*, 2020) لذا بر این اساس، افزایش فعالیت درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد گندم نارین در پژوهش حاضر می‌تواند به تثبیت و جذب نیتروژن توسط باکتری‌ها برای گیاه مرتبط باشد.

نتایج نشان داد که شوری موجب افزایش میزان قندهای محلول در برگ گندم گردید. افزایش قندهای محلول از جمله سازوکارهای گیاه برای تنظیم اسمزی در شرایط تنش شوری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

است، افزایش قندهای محلول در سلول‌های گیاهی، کاهش پتانسیل اسمزی و در نتیجه پتانسیل آبی را سبب می‌شود و جذب آب را به سلول‌ها آسان می‌کند (مصلح آرانی و همکاران، ۱۳۹۶ و ۱۳۸۹). افزایش قندهای محلول در پی افزایش غلظت شوری می‌تواند ناشی از افزایش فتوسنتز یا شکسته شدن قندهای بزرگ (نشاسته) به قندهای کوچک (گلوکز) باشد (Bohnert *et al*., 1995). نتیجه یک بررسی حاکی از تاثیر باکتری‌های محرک رشد در افزایش ۳۰ درصدی قندهای محلول برگ گندم در شوری ۱۵۰ میلی مول نسبت به شاهد بدون باکتری می‌باشد (Ilyas *et al*., 2020). در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل نسبت به شاهد در حضور باکتری‌های محرک رشد می‌تواند حاکی از کارکرد کاملاً موفقیت‌آمیز باکتری‌های مذکور در افزایش فتوسنتز از طریق افزایش مقدار کلروفیل و در نتیجه جلوگیری از تجزیه قندهای مرکب ذخیره در گندم و حفظ عملکرد گیاه در شرایط تنش شوری قلمداد گردد.

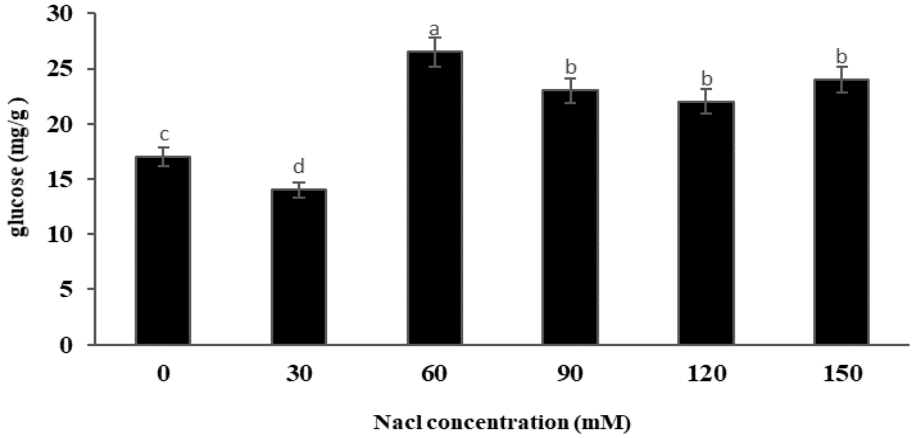
افزایش وزن زیست‌توده در این آزمایش را می‌توان از جمله نتایج عملکرد باکتری‌ها در بهبود رشد گیاه قلمداد نمود. هورمون اکسین (ایندول-۳- استیک اسید) تولیدی توسط باکتریهای مورد بررسی نه تنها با افزایش تعداد و طول ریشه-های فرعی باعث افزایش جذب مواد مغذی از ریزوسفر شده بلکه همچنین بر تقسیم، تمایز و طویل شدن سلول، افزایش جریان شیره خام، تشکیل رنگدانه‌های گیاهی و افزایش عملکرد فتوسنتز تاثیر دارد (Vacheron *et al*., 2013). اکسین نقش قابل توجهی در افزایش محتوای کلروفیل ایفا می‌کند به-طوریکه طی یک پژوهش، کاربرد ۱۰۰ پی‌پی‌ام ایندول-۳- استیک اسید بر برگ گندم، باعث افزایش ۳۱ درصدی محتوای کلروفیل نسبت به شاهد شد (Hanaa and Safaa., 2019). یکی از عوامل کاهش رشد گندم، افزایش میزان هورمون اتیلن و تجمع آن در ریشه در شرایط شوری می‌باشد. در این شرایط، آنزیم ACC دآمیناز نقش کلیدی در تسهیل رشد گیاهی در شرایط تنش ایفا می‌نمایند. بنابراین، باکتری‌های دارای توان تولید مشترک اکسین و ACC دآمیناز از عملکرد بهینه در افزایش رشد گیاهی در شرایط تنش برخوردار هستند (Glick, 2014). باکتری‌های مورد بررسی در این پژوهش با تولید اکسین و ACC دآمیناز باعث افزایش رشد ریشه و به-دنبال آن افزایش جذب مواد مغذی و در نتیجه افزایش ریست-توده و فتوسنتز گردید. بر این اساس، برتری باکتری *B. safensis* در افزایش شاخص زیست توده کل گندم نارین در این پژوهش را می‌توان ناشی از بیشتر بودن توان تولید اکسین آن نسبت به دو باکتری دیگر در کنار داشتن توان تولید ACC دآمیناز دانست.

نتیجه‌گیری

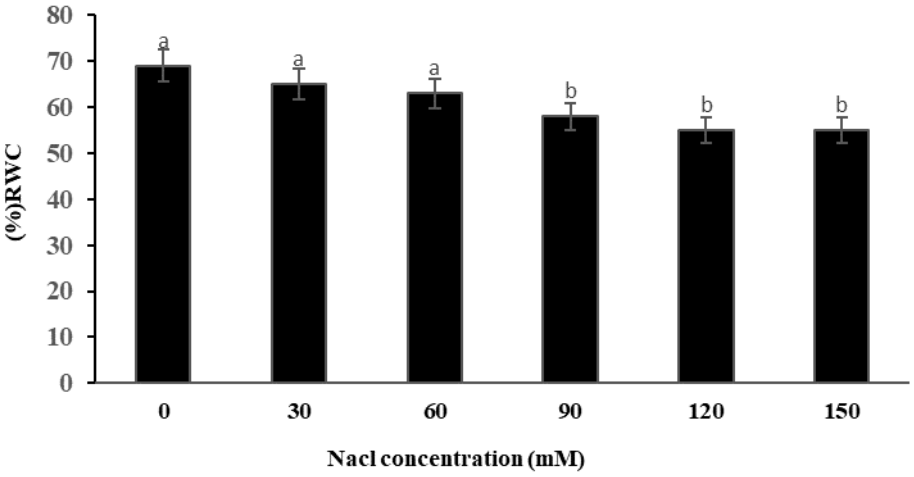
در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری نمود باکتری‌های محرک رشد مورد بررسی با ترکیبی از صفات محرک رشد، باعث بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک گندم رقم نارین تحت تنش شوری شدند. از سوی دیگر، ویژگی‌های متفاوت بین باکتری‌ها که بخشی از آن در تفاوت صفات محرک رشد مورد بررسی مشخص گردید، می‌تواند باعث تفاوت حوزه تاثیر باکتری در بین شاخص‌های فیزیولوژیک گندم شده که نمونه آن در تاثیر بر محتوای کلروفیل به روشنی مشاهده می‌شود. با توجه به مجموع اثرات هر یک از باکتری‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر بر شاخص‌های فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده، تحت شرایط این آزمایش باکتری‌های *B. safensis*، *B. pumilus* و *Z. halotolerans* به ترتیب دارای درجه توان اول تا سوم در افزایش مقاومت گندم رقم نارین به تنش شوری بودند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]



شکل ۵- اثر سطوح مختلف شوری بر محتوای قندها. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.



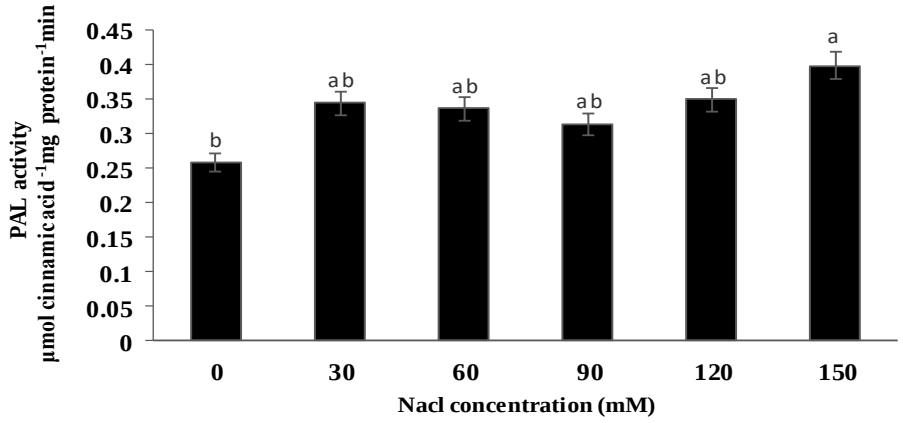
شکل ۶- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر محتوی آب زعفران. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

موجب کاهش محتوای آب نسبی می‌شود (Munns *et al.*, 2006). وضعیت آب عامل اصلی تأثیرگذار در رشد و نمو گیاهان است. کاهش پتانسیل آب خارجی موجب جمع‌شدن خالص املاح در سلول‌ها می‌شود که پتانسیل اسمزی سلول را برای حفظ فشار تورژسانس کاهش می‌دهد (Navarro *et al.*, 2003). در پژوهش حاضر، مشاهده شد که میزان نسبی آب در برگ‌های گیاه زعفران با افزایش شوری به سطوح منفی‌تر تنظیم می‌شود که این یک واکنش معمول به شوری است و مشابه آن برای سایر گونه‌ها گزارش شده است (Navarro *et al.*, 2003; Suarez and Medina, 2008).

کاهش محتوی نسبی آب در برگ‌های تیمار داده‌شده با غلظت‌های مختلف شوری در زعفران می‌تواند ناشی از کاهش پتانسیل آب برگ باشد. در واقع، کاهش نسبی آب برگ‌ها نشان‌دهنده ظرفیت کمتر جذب آب است که این ویژگی به‌دلیل نحوه رشد زعفران است زیرا این گیاه در طول فصل سرد به رشد خود ادامه می‌دهد و به‌منظور جلوگیری از خسارت تنش یخبندان، محتوی نسبی آب خود را در سطح پایینی حفظ می‌کند (Avarseji *et al.*, 2013).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

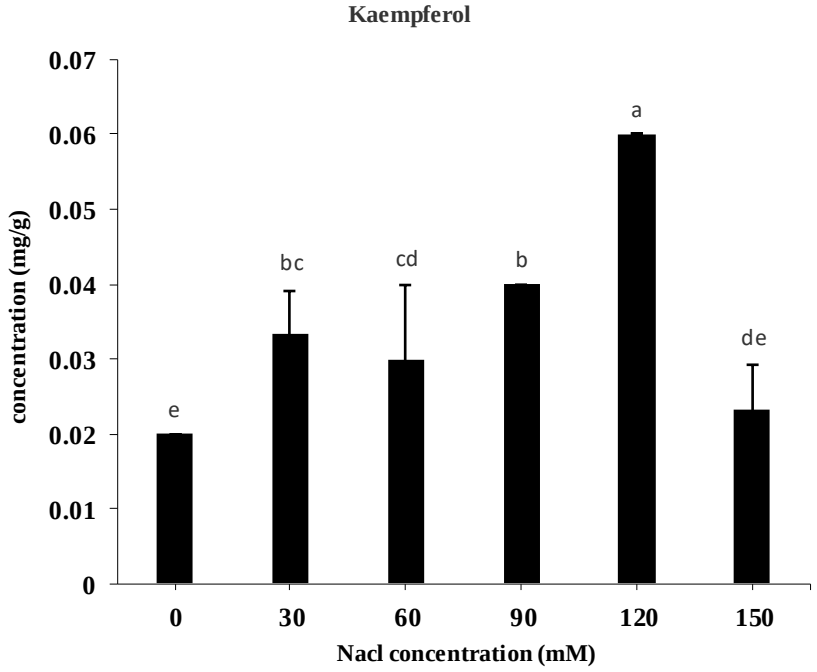


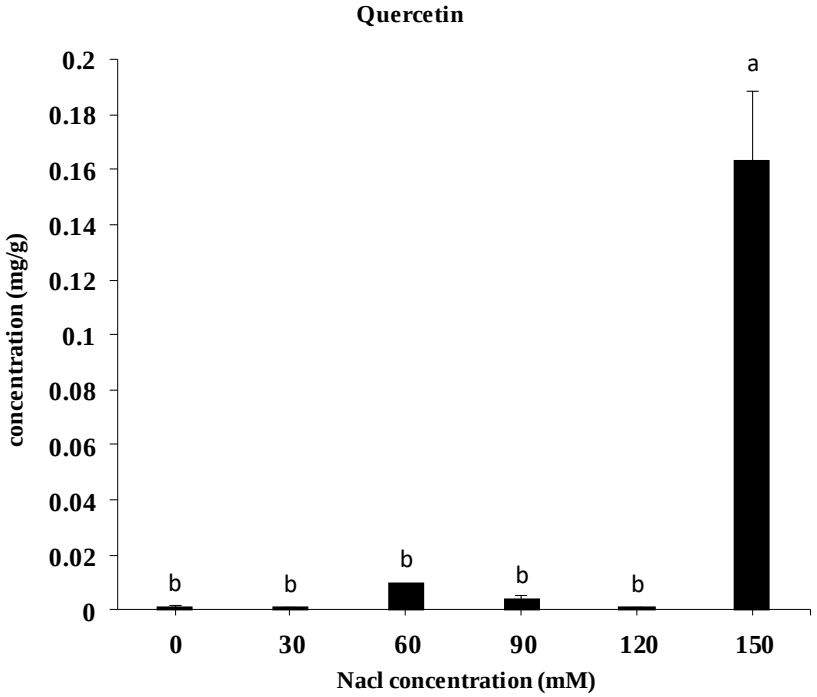
شکل ۷- تأثیر غلظت‌های مختلف شوری بر فعالیت آنزیم PAL در برگ زعفران. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم PAL: غلظت‌های مختلف شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم PAL نسبت به شاهد گردید (شکل ۷)، هر چند این افزایش در بین گروه‌های تیماری در سطح پنج درصد معنی‌دار نبود و فقط تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P\leq0.05$). در آزمایشی مشابه، Gao و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت PAL را در لپه‌ها، محور زیرلپه و ریشه‌چه گیاهان *Jatropha curcas* L.، تحت غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl بررسی کردند که نتایج نشان داد با افزایش غلظت شوری فعالیت PAL به‌تدریج تا غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش می‌یابد و این افزایش در محور زیرلپه نسبت به دو اندام دیگر بیشتر بود و در غلظت ۲۰۰ به حداکثر خود رسید که این افزایش می‌تواند پاسخی به آسیب سلولی ناشی از غلظت‌های بالاتر NaCl باشد؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که در گیاهچه *Jatropha curcas* L.، افزایش فعالیت PAL می‌تواند به پیامد این آنزیم در پاسخ گیاه به تنش شوری مربوط باشد. آن‌ها همچنین نشان دادند فعالیت PAL قویاً وابسته به اندام گیاهان و غلظت NaCl است. افزایش فعالیت PAL ممکن است به‌عنوان پاسخ به آسیب سلولی تحریک‌شده توسط غلظت‌های بالاتر NaCl رخ دهد. ظاهراً در گیاه زعفران، افزایش فعالیت PAL ممکن است در راستای نقش این آنزیم در پاسخ گیاه به تنش نمکی باشد. به‌نظر می‌رسد کنترل فعالیت PAL یکی از عناصر مهم در تنظیم این مسیر باشد. همچنین فعالیت افرایش یافته PAL با تجمع ترکیبات فنیل پروپانوئید در بافت‌های چندین گونه گیاهی در ارتباط است. در پژوهشی دیگر که توسط Valifard و همکاران (۲۰۱۵) بر روی دو گونه گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) صورت گرفت فعالیت آنزیم پس از تیمار شوری افزایش یافت و این افزایش با افزایش تجمع ترکیبات فنلی در این گیاهان همراه بود. در این تحقیق نیز افزایش فعالیت آنزیم PAL با افزایش دو ترکیب فنلی کامفرول و کوئرستین همراه بود. بنابراین، با توجه به اثرات ثابت‌شده ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی این دو ترکیب فنلی در گیاه زعفران، افزایش فعالیت PAL که یک آنزیمی کلیدی در مسیر بیوسنتز این دو ترکیب است، دور از انتظار نیست.

تأثیر تنش شوری بر میزان کامفرول و کوئرستین: غلظت‌های مختلف شوری تأثیر معنی‌داری ($P\leq0.05$) بر میزان کامفرول و کوئرستین داشت (شکل ۸). میزان کوئرستین در تیمارهای ۶۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار به نسبت به شاهد و سایر تیمارها افزایش معنی‌دار نشان داد ($P\leq0.05$). میزان کامفرول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]





شکل ۸- مقایسه میزان کامفرول و کوئرستین در زعفران به روش HPLC. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

نیز به‌غیر از شوری ۱۵۰ میلی¬مولار، در بقیه تیمارها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P\leq0.05$) و بیشترین افزایش در تیمارهای ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار نمک مشاهده شد.

فلاونوئیدها خانواده بزرگی از ترکیبات پلی‌فنلی هستند که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

توسط گیاهان سنتز می‌شوند و از لحاظ ساختاری از ماده فلاونون مشتق می‌شوند. بسیاری از مطالعات نشان داده که فلاونوئیدها مانند روتین، کامفرول، کوئرستین، آپیژنین و غیره به‌دلیل خواص ضدالتهاب، خواص ضدحساسیت، ضدترومبیت، محافظت‌کننده کبدی، ضداسپاسم و ضدسرطان آن بسیار مشهور هستند (Maheshkumar and Kirti, 2012). در مطالعات قبلی گزارش شده بود که فلاونوئیدها ترجیحاً در گیاهانی که تحت شرایط تنش شدید، از جمله تنش نمکی قرار دارند، تجمع می‌یابند تا ROS را از بین ببرند (Agati *et al.*, 2011, 2012) و به همین دلیل بیوسنتز چنین ترکیباتی عموماً در گیاهان در معرض شوری، تحریک می‌شود (Navarro *et al.*, 2006). هر چند تجمع ترکیبات فنلی تحت تنش شوری ممکن است در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت باشد این بدان معنی است که تنش نمک یک روش مؤثر برای تقویت تجمع فلاونوئیدها در گیاهان است که ممکن است کیفیت گیاهان دارویی مانند زعفران را بهبود بخشد. Shao و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که تیمار نمک متوسط (میلی‌مولار ۱۴۳≤) با القای تجمع ترکیبات گیاهی فعال زیستی، کیفیت خواص دارویی گیاه *Andrographis paniculata* را بهبود می‌بخشد. در مطالعه‌ای که توسط Xu و همکاران (۲۰۲۰) صورت گرفت، سطح کامفرول و کوئرستین در نهال‌های *Apocynum venetum* تحت تنش نمک، به‌طور خاص در ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl افزایش پیدا کرد درحالی‌که سطح سایر فلاونوئیدها مانند هیپروزاید، ایزوکوئرستین و دی‌هیدرو کوئرستین همراه با مقدار کل فلاونوئیدها، با تنش نمک کاهش یافت. آن‌ها نتیجه گرفتند که غلظت بالای نمک موجب تحریک تجمع ترکیبات با خواص دارویی می‌شود. این ترکیبات دارویی به‌طور انتخابی تحت تنش نمک انباشته می‌شوند از سوی دیگر Rossi و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند محتوای کامفرول و کوئرستین در برگ‌های زیتون رقم مقاوم (Frantoio) در بالاترین تیمار NaCl (۱۲۰ میلی‌مولار) افزایش یافت. بنابراین نتیجه گرفتند که رقم متحمل به نمک Frantoio از طریق افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های حساس‌تر مانند برگ، با سمیت ناشی از شوری مقابله می‌کند. در تحقیق حاضر نیز در برگ‌های زعفران میزان کامفرول در غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار و میزان کوئرستین در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نمک به‌طور مشابه با غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار نمک در رقم متحمل Frantoio افزایش نشان داد. هر چند تاکنون در گیاه زعفران مانند سایر گیاهان زراعی، آستانه دقیق تحمل به شوری و یا ارقام مقاوم و حساس به شوری شناسایی و معرفی نشده‌اند اما، با توجه به نتایج فوق، می‌توان احتمال داد که زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) یک رقم متحمل به نمک باشد. در واقع، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات فنلی معمولاً در گونه‌هایی که به‌خوبی با محیط‌های شور تطبیق می‌شوند یا گونه‌ها و ژنوتیپ‌هایی که مقاوم به نمک هستند افزایش یافته و یا در غلظت‌های بالا حضور دارند (Jabeen and Ahmad, 2013; Wani *et al.*, 2013; Reginato *et al.*, 2014). همچنین مطرح شده است که تجمع ترکیبات فلاونوئیدی در پاسخ به تیمار نمک علیرغم تغییر در میزان ترکیبات فرعی دیگر، پیش از هر چیز توسط افزایش در سطوح سه ترکیب اصلی: kaempferol-3-o-β-glucopyranoside، Quercetin و Quercetin -3-o-β-glucopyranoside ایجاد می‌شود و افزایش سطوح این سه ترکیب منعکس‌کننده تغییرات در محتوای فنل کل و ترکیبات فلاونوئیدی است (Hassanein *et al.*, 2016). درنهایت اینکه، شواهد در حال افزایش نشان می‌دهد که فلاونوئیدها در گیاهان عالی این پتانسیل را دارند که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در پاسخ به تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری خدمت کنند (Winkel-Shirley, 2002; Babu *et al.*, 2003; Tattini *et al.*, 2006; Agati *et al.*, 2011, 2012). بنابراین افزایش فلاونوئیدها در اثر تنش‌های غیرزیستی موجب افزایش سطوح حفاظتی گیاه در مقابل تنش‌ها می‌گردد (Dixon and Paiva, 1995; Grace and Logan, 2000).

نتیجه‌گیری

با توجه به داده‌های آزمایش و نتایج آن به‌نظر می‌رسد آستانه تحمل گیاه زعفران در محدوده ۶۰ تا ۹۰ میلی‌مولار است و گیاه زعفران برای مقابله با سطوح بالای نمک از مکانیسم‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

تحمل به شوری از جمله تنظیم اسمزی از طریق تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول و نیز افزایش میزان رنگیزه‌های کاروتنوئیدی استفاده می‌کند، از سوی دیگر فعالیت آنزیم PAL و میزان تجمع ترکیبات فنیل پروپانوئیدی مانند کامفرول و کوئرستین در غلظت‌های بالای نمک در گیاه زعفران افزایش می‌یابد. بنابراین می‌توان گفت سطوح عملکردی ترکیباتی مانند کامفرول و کوئرستین به‌طور فعال در تحمل به تنش شوری در گیاهان نقش دارد و افزایش محتوای این ترکیبات در گیاه زعفران زراعی می‌تواند نشان‌دهنده تحمل این گیاه به نمک باشد زیرا بر طبق گزارشات پیشین، افزایش این ترکیبات در پاسخ به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی در گیاهان مقاوم به شوری صورت می‌گیرد.

تقدیر و تشکر

از دانشگاه پیام‌نور تهران و دانشگاه شهید بهشتی تهران بابت حمایت از این تحقیق تقدیر و تشکر داریم.

منابع

امینی سفیداب، ا.، اکبری مقدم، ح.، صابری، م. ح.، طباطبایی، م. ت.، افیونی، د.، راوری، ذ.، محمدی، ع.، افشاری، ف.، ذاکری، ع.، عطا حسینی، م.، اکبری، ع. و حاجی آخوندی میبدی، ه. (۱۳۹۶) نارین، رقم جدید گندم آبی با سازگاری و عملکرد بالا مناسب برای مناطق با تنش شوری خاک وآب در اقلیم معتدل و معتدل گرم کشور، نشریه یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی ۲: ۱۳۵-۱۴۷.

زمانی، م. (۱۳۹۰) اثرات تنش شوری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی *Pinus eldarica* و *Cupressus sempervirens*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

مصلح آرانی، آ.، بخشی خانیکی، غ. ر.، نعمتی، ن. و سلطانی، م. (۱۳۸۹) بررسی اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی و بنیه بذر سه گونه سالسولا (*Salsola abarghuensis, S. yazdiana, S. arbuscula*). دو فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۸: ۲۶۷-۲۷۳.

مصلح آرانی، ا.، رفیعی، آ.، تابنده، آ و عظیم زاده، ح. ر. (۱۳۹۶) بررسی پاسخ مورفولوژیک و فیزیولوژیک اندام هوایی و زیرزمینی گیاه لیلکی (*Gleditschia caspica*) در برابر تنش شوری، مجله زیست شناسی گیاهی ایران ۳۴: ۱۲-۱.

Alexander, D. B. and Zuberer, D. A. (1991) Use of Chrome Azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. Biology and Fertility of Soils 12: 39-45.

Ahanger, M. A., Qin, C., Begum, N., Maodong, Q., Dong, X. X., El-Esawi, M., El-Sheikh M. A., Alatar, A. A. and Zhang, L. (2019) Nitrogen avaibility prevents oxidative effects of salinity on wheat growth and photosynthesis by up-regulating the antioxidants and osmolytes metabolism, and secondary metabolite accumulation. BMC Plant Biology 19:1-12.

Afridi, M. S., Khan, S. and Salam, A. (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.

Alishahi, F., Alikhani, H., Sima, N., Etesami, H. (2020) Mining the roots of various species of the halophyte Suaeda for halotolerant nitrogen–fixing endophytic bacteria with the potential for promoting plant growth. International Microbiology. 19:1-12.

Amini Hajiabadi, A., Mosleh Arani, A., Ghasemi, S., Rad, M. H., Etesami, H., Shabazi Manshadi, S., and Dolati, A. (2021).Mining the rhizosphere of halophytic rangeland plants for halotolerant bacteria to improve growth and yield of salinity-stressed wheat. Plant Physiology and Biochemistry, 163: 139-153.

Ansari, F.A., Ahmad, I. and Pichtel, J. (2019) Growth stimulation and alleviation of salinity stress to wheat by the biofilm forming *Bacillus pumilus* strain FAB10. Applied Soil Ecology 143: 45-54.

Barraclough, P. B., Kuhlmann, H. and Weir, A. H. (1980) The effects of prolonged drought and nitrogen fertilizer on root and shoot growth and water uptake by winter wheat. Journal of Agronomy and Crop Science 163: 352-360.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

Bates L. S., Waldren R. P. and Teare I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Journal of Plant and Soil 39: 205-207.

Bent, E., Tvzun, S., Chanway, C. P. and Enebak, S. (2001). Alterations in plant growth and root hormone levels of lodge pole pines inoculated with rhizobacteria. Canadian Journal of Microbiology 9: 793-800.

Bohnert, H. J., Nelson, D. E. and Jensen, R. G. (1995) Adaptations to environmental stresses. The Plant Cell 7: 1099-1111

Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M. and Perez-Galdona, R. (2004) Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (*tagasaste*), a forage treeshrub legume endemic to the Canary Island. Plant and Soil 266: 261-272.

Emami, T., Mirzaeiheydari, M., Maleki, A. and Bazgir, M. (2019) Effect of native growth promoting bacteria and commercial biofertilizers on growth and yield of wheat (*Triticum aestivum*) and barley (*Hordeum vulgare*) under salinity stress conditions. Cellular and Molecular Biology 6: 22–27.

Etesami, H. and Maheshwari, D. (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.

Ferreira, C. M., Soares, H. M. and Soares, E. V. (2019) Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects. Science Total Environment 682: 779–799.

Frydenvang, J., van Maarschalkerweerd, M., Carstensen, A., Mundus, S., Birkelund Schmidt, S., Pedas, P. R., Holst Laursen, K., Schjoerring, J. K. and Husted, S. (2015). Sensitive detection of phosphorus deficiency in plants using chlorophyll a fluorescence. Plant Physiology 169: 353–361.

Glick, B.R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research. 169: 30-39.

Giraldo, P., Benavente, E., Manzano-Agugliaro, F. and Gimenez, E. (2019) Worldwide research trends on wheat and barley: A Bibliometric Comparative Analysis. Agronomy 9: 339-352.

Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H. and Patra, J. (2018) Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiological Research 206:131-140.

Guo, A., Hu, Y., Shi, M., Wang, H., Wu, Y., and Wang, Y. (2020) Effects of iron deficiency and exogenous sucrose on the intermediates of chlorophyll biosynthesis in *Malus halliana*. PLOS ONE.15:5.232-243. 17.

Hanaa, H., and Safaa, A. (2019). Foliar application of IAA at different growth stages and their influenced on growth and productivity of bread Wheat (*triticum aestivum* l.). Journal of Physics. 1294:9.920-929.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M. and Fotopoulos, V. (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants 9: 681-702.

Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M. and Hamdi, M. (2007) The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry 3:1126-1134.

Honma, M., and Shimomura, T. (1978) Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Agric. Biological Chemistry. 42: 1825–1831.

Jha, B., Gontia, I. and Hartmann, A. (2012) The roots of the halophyte Salicornia brachiata are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. Plant Soil 356:265-277.

Ilyas, N., Mazhar, R., Yasmin, H., Khan, W., Iqbal, S., Enshasy, H. E. and Dailin, D. J. (2020) Rhizobacteria isolated from saline soil induce systemic tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) against salinity stress. Agronomy 10: 989–997.

Jeon, J. S., Lee, S. S., Kim, H. Y., Ahn, T. S. and Song, H. G. (2003) Plant growth promoting in soil by some inoculated microorganism. Journal of Microbiology 4: 271-276.

Kochert, G. (1987) Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. Pp. 205-210. Press Cambridge, Cambridge.

Leontidou, K., Genitsaris, S. and Papadopoulou, A. (2020) Plant growth promoting rhizobacteria isolated from halophytes and drought-tolerant plants: genomic characterisation and exploration of phyto-beneficial traits. Scientific Reports 10: 14857.

Li, J., Hu, L., Zhang, L., Pan, X. and Hu, X. (2015) Exogemous sprmidine is enhancing tomato tolerance to salinity-alkanity stress by regulating chloroplast antioxidant system and chlorophyll metabolism. BMC Plant Biology 15: 303-310.

Liang, W., Xiaoli, M., Peng, W. and Lianyin, L. (2017) Plant salt-tolerance mechanism: A review. Biochemical and Biophysical Research Communications 1: 286-291.

Lichtenthaler, H. K., and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591 - 592.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

Masood, S., Zhao, X.Q. and Shen, R.F. (2020) *Bacillus pumilus* promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. Scientia Horticulturae: 272, 1095581.

Mushtaq, Z., Faizan, S. and Gulzar, B. (2020) Salt stress, its impacts on plants and the strategies plants are employing against it: A review. Journal of Applied Biology and Biotechnology 8: 81–91.

Nassar, R., Kamel, H. A., Ghoniem, A. E., Alarcón, J. J., Sekara, A., Ulrichs, C. and Abdelhamid, M. T. (2020) Physiological and anatomical mechanisms in wheat to cope with salt stress induced by seawater. Plants. 9: 237-247.

Nawaz, A., Shahbaz, M., Asadullah Imran, A., Marghoob, M. U., Imtiaz, M. and Mubeen, F. (2020) Potential of salt tolerant PGPR in growth and yield augmentation of wheat (*Triticum aestivum* L.) under saline conditions. Frontiers in Microbiology 11: 457-475.

Numana, M., Bashir, S., Khan, Y., Mumtaz, R., Shinwari, Z. K., Khan, A. L. and Ahmed, A. H. (2018) Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. Microbiology Research 209: 21-32.

Oraei, M., Tabatabaei, S. J., Fallahi, E. and Imani, A. (2009) The effects of salinity stress and rootstock on the growth, photosynthetic rate, nutrient and sodium concentrations of almond. Journal of Horticulture Science and Biotechnology 23: 131-140.

Polash, M. A., Sakil, M. A. and Hossain, M. A. (2019) Plants responses and their physiological and biochemical defense mechanisms against salinity: A review. Tropical Plant Research 6: 250–274.

Pushnik, J. C., Miller, G. W. and Manwaring, J. H. (1984) The role of iron in higher plant chlorophyll biosynthesis, maintenance and chloroplast biogenesis. Journal of Plant Nutrition 7: 733-758.

Rahahla, R., Khyami-horani, H. and Ayad, J. (2019) Plant Growth Promoting Rhizobacteria: An emerging tool for the enhancement of wheat tolerance against salinity stress (Review). Jordan Journal of Biological Science 12: 525-534.

Razzaghi Komaresofla, B., Alikhani, H.A., Etesami, H. and Khoshkholgh-Sima, N.A. (2019). Improved growth and salinity tolerance of the halophyte Salicornia sp. by co–inoculation with endophytic and rhizosphere bacteria. Applied Soil Ecology 138: 160-170.

Rout, G. R. and Sahoo, S. (2015) Role of iron in plant growth and metabolism. Reviews in Agricultural Science. 3:1-24.

Saddiq, M.S., Afzal, I., Basra, S.M. A., Iqbal, S. and Ashraf., M. (2020) Sodium exclusion affects seed yield and physiological traits of wheat genotypes grown under salt stress. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 20: 1442–1456.

Santos, C. V. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Science Horticulture 103: 93-99.

Senbayram, M., Gransee, A., Wahle, V., Thiel, H. (2015) Role of magnesium fertilizers in agriculture: plant – soil continuum. Crop Pasture Science 66: 1219-1229.

Shilev, S. (2020) Plant-growth-promoting bacteria mitigating soil salinity stress in plants. Review. Applied Science. 10: 732-750.

Sobolewska, M., Wenda-Piesik, A., Jaroszewska, A. and Stankowski, S. (2020) Effect of habitat and foliar fertilization with K, Zn and Mn on winter wheat grain and baking qualities. Agronomy. 10: 276-281.

Satomi, M., La Duc, M.T. and Venkateswaran, K. (2006) *Bacillus safensis* sp. nov., isolated from spacecraft and assembly-facility surfaces. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 56: 1735-1740.

Suhanya, P., Juzaili, B., Azizi, R., Ismail, S., Sasidharan, S. and Mahsufi, M. (2009) Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from Mitragyna Speciosa (*Rubiaceae*) Leaves. Molecules 14: 3964-3974.

Szymańska, S., Płociniczak, T., Piotrowska-Seget, Z. and Hrynkiewicz, K. (2016). Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L. – community structure and metabolic potential. Microbiological Research 192: 37-51.

Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.L., Touraine, B., Moënne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dye, F. and Prigent-Combaret, C., (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. Frontiers in Plant Science. 4: 1-19.

Wang, Q., Dodd, I. C., Belimov, A.A. and Jiang, F. (2016) Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase growth and photosynthesis of pea plants under salt stress by limiting Na^+ accumulation. Functional Plant Biology 43: 161–172.

Ward, M., Jones, R., Brender, J., Kok, T., Weyer, P. and Nolan, B. (2018) Drinking water nitrate and human health: An updated review. International Journal of Environmental Research and Public Health 15: 15-57.

Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A. and Lane, D. J. (1991) 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of Bacteriology 173: 697–703.

Yildiztugay, A., Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E. and Kucukoduk, M. (2019) Biochar triggers systemic tolerance against cobalt stress in wheat leaves through regulation of water status and antioxidant metabolism. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 19: 935–947.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

Zhang, Y.Q., Schumann, L.Y., Liu, H.Y., Zhang, Y.Q., Xu, L.H., Stackebrandt, E., Jiang, C.L. and Li, W.J. (2007) *Zhihengliuella halotolerans* gen. nov., sp. Nov., a novel member of the family Micrococcaceae. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57: 1018-1023.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]

The effects of plant growth promoting bacteria isolated from salt tolerant plants on some physiological responses of *Triticum aestivum* L.

Asghar Mosleh Arani[1*], Alireza Amini Hajiabadi[2], Someh Ghsemi[3], Mohammad Hadi Rad[4]

[1]Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Yazd.University
[2]Faculty of Natural Resources, Yazd University, and Central Office of Natural Resources & Watershed Management. Yazd
[3]Department of Soil Science, Faculty of Natural Resources, Yazd University
[4]Forest and Rangeland Division, Yazd Agricultural and Natural Resource Research and Education Center, Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran
(Received: 1/11/2021, Accepted: 24/04/2021)

Abstract

Salinity is one of the most important abiotic stresses that reduces the growth and development of wheat. Reducing the effects of salinity with the help of plant growth-promoting rhizosphere bacteria has been considered by researchers as an environmentally friendly solution. In the present study, some physiological responses of wheat cultivar of Narin to salinity-resistant growth-promoting bacteria isolated from the rhizosphere of salt-tolerant plants (*Atriplex lentiformis*, *Tamarix ramosissim*, *Seidlitzia rosmarinus*, *Halostachys belangeriana*) were investigated. Wheat seeds after inoculation with the identified bacteria (*Bacillus safensis*, *B. pumilus and Zhihengliuella halotolerans*) were planted in pots and irrigated with saline water of 0.2 (control), 4, 8 and 16 dS/m. The results showed all isolated bacteria had the ability to produce auxin, siderophore, hydrogen cyanide, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase (ACC deaminase) and phosphate solubility.With increasing salinity, chlorophyll content decreased in all treatments compared to the control. The use of bacteria increased 21 to 92.6 to 175 and 21 to 52% of chlorophyll a, b and total chlorophyll content among salinity treatments, respectively. Increased salinity raissed content of proline (136-136%), total phenol (11-92.5%), free radical scavenging capacity (12.5-89%) and total soluble sugars (7.5-1.5%) in salinity treatments inoculated with bacteria compared to the control. The growth-promoting bacteria in this study improved wheat resistance to salinity stress. Improving the physiological conditions of plant under the positive effect of bacteria eventually increased the plant biomass, in which the role of *B. safensis* was more than the other two bacteria. The results of this study showed that the plant growth-promoting bacteria of halophytic rangeland plants can play a role in improving the growth indices of wheat plants in saline conditions.

Keywords: PGPR, Rhizosphere, Salinity, Wheat

Corresponding author, Email: amoleh@yazd.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.7.5]