



انجمن علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرجا

نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک
جلد بیست و ششم، شماره ششم، ۱۳۹۸
۱۷۹-۱۹۶

<http://jwsc.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jwsc.2019.16079.3133

تأثیر باکتری‌های استافیلوکوکوس جداسازی شده از گیاه سالیکورنیا روی رشد گندم

بهزاد رزاقی کمارسغلی^۱، حسینعلی علیخانی^۲ و حسن اعتصامی^۳

^۱دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، آستاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران،

آستادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۷

چکیده

سابقه و هدف: شوری یکی از گسترده‌ترین فرآیندهای تخریب خاک بوده که باعث محدود شدن افزایش تولید محصولات غذایی می‌باشد. تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد گیاه متحمل به نمک با توان تولید ACC-دآمیناز و ایندول استیک اسید، اغلب اثرات منفی ناشی از غلظت بالای نمک را کاهش داده و موجب بهبود شاخص‌های رشد گیاه می‌شوند. از این‌رو هدف از این پژوهش تعیین تأثیر باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیتی متحمل به نمک جدا شده از خاک ریزوسفری و ریشه‌های گیاه سالیکورنیا بر شاخص‌های رشد گیاه گندم در غلظت‌های مختلف شوری بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل شامل: چهار سطح شوری: صفر، ۴، ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر در عصاره اشباع و چهار سطح باکتری: تیمارهای بدون باکتری (شاهد)، باکتری ریزوسفری، اندوفیتی و تیمار ترکیبی (ریزوسفری و اندوفیتی) در ۳ تکرار طراحی و اجرا شد. پس از برداشت گیاه گندم، ویژگی‌های موفولوژیکی و فیزیولوژیکی آن‌ها اندازه‌گیری شدند. تجزیه تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عملکرد گیاه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شوری قرار گرفت. افزایش شوری از صفر به ۴ دسی‌زیمنس بر متر بر همه شاخص‌های رشد تأثیر منفی نداشت و حتی در برخی موارد موجب بهبود آن‌ها شد. اما با افزایش آن از ۴ به ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، شوری تأثیر منفی بر همه شاخص‌های رشد داشت و بیش‌ترین تأثیر منفی در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌دست آمد. در شرایط عدم تنش شوری حضور باکتری‌ها موجب افزایش عملکرد گیاه شد. در شرایط تنش شوری تلقیح جدایه‌های باکتری تأثیر معنی‌داری بر رشد گیاه داشت و موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی (۲۶/۶۸-۹/۴۹ درصد)، طول ریشه (۲۷/۴۷-۳/۹۴ درصد)، وزن خشک ریشه (۴۷/۳۶-۱۰ درصد)، نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی (۲۰/۶۹-۱۹/۴۱ درصد) و کاهش درصد نسبی آب برگ (۱۱/۷۱-۱/۲ درصد)، فعالیت سوپراکسیددیسموتاز (۱۵/۸-۷/۶۳ درصد) و پرولین (۳۳/۳۳-۱۲/۵ درصد) نسبت به شاهد شدند.

* مسئول مکاتبه: halikhan@ut.ac.ir

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی تلقیح باکتری‌ها، در ۷ مورد از ۱۳ شاخص رشد مورد بررسی موجب بهبود آن‌ها شد. دلیل عدم تأثیر در ۶ مورد دیگر می‌تواند به نمک‌دوست بودن باکتری و نسبتاً مقاوم بودن رقم مورد استفاده گندم نسبت داده شود. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این آزمایش جهت استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه متحمل به نمک جداسازی شده از گیاه *سالیکورنیا* به‌عنوان کود زیستی جهت بهبود شاخص‌های رشد، کاهش اثرات تنش شوری و افزایش عملکرد گیاه گندم نیاز به مطالعات بیشتری (استفاده از سطوح شوری بالا و رقم‌های گندم متفاوت) در سطح گلخانه‌ای و مزرعه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اندوفیتی، باکتری‌های ریزوسفری، *سالیکورنیا*، شوری، گندم

مقدمه

افزایش روزافزون جمعیت و در نتیجه نیاز به غذای بیشتر و کمبود خاک‌های مناسب برای کشاورزی، جوامع امروزی را با مشکل جدی روبرو کرده است. یکی از دلایل مهم و عمده کمبود خاک‌های بارور، میزان بالای شوری آن‌ها می‌باشد که متأسفانه یک رویداد طبیعی و رو به رشد در مناطق خشک و نیمه‌خشک است به‌طوری‌که با استفاده فراگیر از کودهای شیمیایی و مدیریت نامناسب آبیاری هر روز بر وسعت این اراضی اضافه می‌شود (۷). طبق گزارش مانس و تستر (۲۰۰۸)، بیش از ۴۵ میلیون هکتار از زمین‌های تحت کشت آبی (۲۰ درصد از کل اراضی زراعی) جهان در معرض ابتلا به تنش شوری قرار گرفته و هر سال ۱/۵ میلیون هکتار از زمین‌های زراعی به‌دلیل شوری بالا از قابلیت استفاده خارج می‌شوند (۲۷) و انتظار می‌رود افزایش شوری تا اواسط قرن بیست و یکم، موجب از دست رفتن تا ۵۰ درصد از اراضی قابل‌کشت شود (۱۴)؛ بنابراین ضروری است جهت تأمین غذا برای ۲/۳ میلیارد جمعیت اضافه‌شده تا سال ۲۰۵۰ امکان احیا و بهره‌برداری از این اراضی فراهم شود (۱۵). اما شوری به‌شدت عملکرد گیاهان نیمه‌حساس به شوری، مانند گندم و ذرت را از طریق تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، زیستی و متابولیکی تحت‌تأثیر قرار داده و عملکرد آن‌ها را کاهش می‌دهد (۴۱). از این‌رو برای

تولید محصولات کشاورزی در اراضی متأثر از نمک نیاز به توسعه کشت محصولات محصلاتی است که مقاوم به نمک باشند (۲۲). در این راستا روش‌های نوین مهندسی ژنتیک برای ایجاد محصولات مقاوم به شوری موفقیت‌های اندکی داشته‌اند (۹). یک استراتژی جایگزین برای تولید محصولات مقاوم به شوری استفاده از ریزموجودات مقاوم به نمک است که باعث افزایش رشد و عملکرد محصول می‌شوند (۱۳). مطالعات نشان داده است که ریزموجودات متحمل به نمک می‌توانند موجب افزایش رشد بسیاری از گیاهان قرار گرفته در معرض تنش شوری شوند (۳۷ و ۳۸). در میان این ریزموجودات، باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب بهبود و توسعه رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش شوری می‌شوند (۱۱ و ۱۲).

ریزوسفر گیاهان هالوفیت به‌عنوان یک آشیانه اکولوژیک مهم برای انواع مختلف ریزوباکتری‌های مقاوم به املاح عمل می‌کنند که می‌توانند موجب افزایش رشد (۴۳) و عملکرد گیاهان تحت شرایط تنش شوری شوند (۲۱). گیاهان هالوفیت بسیار متحمل به نمک می‌باشند به‌طوری‌که در مناطقی با غلظت املاح بالای ۵ گرم در لیتر می‌توانند رشد کنند (۱۷). یکی از مهم‌ترین گیاهان هالوفیت با بالاترین میزان تحمل به نمک، گیاه *سالیکورنیا*^۱ از خانواده

1- *Salicornia*

بررسی کرده و نشان دادند که تلقیح زاد مایه باکتری متحمل به نمک انتخاب شده به طور معنی داری باعث افزایش رشد، زیست توده و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گندم در شرایط تنش شوری شد (۳). سینگ و جها (۲۰۱۵) با تلقیح باکتری های *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 جدا شده از سورگوم بیکالر^۳ به گیاه گندم تحت تنش شوری نشان دادند که تلقیح این جدایه به طور قابل توجهی موجب افزایش نسبت طول ریشه به طول ساقه، وزن خشک به وزن تر، مقدار کلروفیل، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز شده و سطح پرولین و مالون دی آلدئید را کاهش داد (۳۶)؛ بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر باکتری های جدا شده از خاک ریزوسفری و بافت های درونی ریشه گیاه *سالیکورینا* بر روی گیاه گندم در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش ها

جدایه های باکتری منتخب و ویژگی های آن ها:
نمونه برداری از سه منطقه قم، اراک و اشتهارد (استان البرز) در مرحله گلدهی گیاه *سالیکورینا* صورت گرفته و جداسازی باکتری های ریزوسفری و اندوفیتی با روش پیشنهادی سزیمانسکا و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد (۴۲). پس از خالص سازی، ۲۱۴ جدایه متفاوت بر اساس ویژگی مورفولوژیکی مانند شکل، رنگ، اندازه کلنی و سرعت رشد جهت تعیین میزان تحمل به تنش شوری انتخاب شدند. از ۲۱۴ جدایه مورد بررسی ۹۸/۱۳ درصد در غلظت صفر، ۸۳/۶۴ درصد در غلظت ۵، ۵۲/۳۴ درصد در غلظت ۱۰، ۲۳/۳۶ درصد در غلظت ۱۵، ۷/۰۱ درصد در غلظت ۲۰ و ۳/۲۷ درصد از آن ها در غلظت ۲۵ درصد کلرید سدیم رشد کردند. به منظور ارزیابی میزان تحمل

تاج خروسیان (قبلاً کنوپودیا سه) می باشد (۳۰). باکتری های متحمل به نمک توانایی رشد در غلظت های ۱-۳۳ درصد کلرید سدیم را داشته و با استفاده از مکانیسم های مختلفی مانند تجمع یون های معدنی، تجمع اسمولیت ها، تغییر ترکیب دیواره سلولی، تغییر در ساختار فسفولیپید های غشاء، تغییر در نوع و میزان اسید چرب، تطابق لیپیدها با افزایش شوری، ممانعت از ورود نمک در تنش های شدید اسمزی، پایداری پروتئین ها در محیط های شور و نیز با تطابق آنزیمی در تنش اسمزی بر تنش ناشی از غلظت بالای نمک غلبه می کنند (۲۴). این ریزموجودات از طریق مکانیسم های غیرمستقیم (تولید آنتی بیوتیک های مؤثر بر باکتری های پاتوژن، کاهش یا ممانعت از دسترسی پاتوژن های گیاهی به آهن از طریق تولید سیدروفورها در منطقه ریزوسفر، تولید و ترشح آنزیم های لیزکننده دیواره سلولی قارچ ها) و مستقیمی مانند افزایش فسفر قابل دسترس، تثبیت نیتروژن، تولید هورمون های گیاهی از جمله اکسین ها، سیتوکینین ها، جیبرلین ها و کم کردن سطح اتیلن تنشی^۱ از طریق تولید آنزیم ACC-دآمیناز، باعث افزایش تحمل گیاه به تنش هایی مانند شوری می شوند (۱۹). مطالعات گذشته نیز نشان داده اند که باکتری های جداسازی شده از گیاه *سالیکورینا* دارای توان تولید هورمون ایندول استیک اسید (۳۱)، آنزیم ACC-دآمیناز، تثبیت نیتروژن (۲۵) و توان انحلال فسفات های نامحلول می باشند (۱۶). بارا و همکاران (۲۰۱۶) با جداسازی باکتری های متحمل به شوری و انتخاب سویه های برتر آن ها از گیاه *آو/کادو*^۲ و در ادامه تلقیح به گیاه گندم اثر آن ها بر رشد، زیست توده و فعالیت سوپراکسیددیسموتاز را در شرایط تنش شوری ۰/۲۵ و ۰/۴۵ مولار کلرید سدیم در شرایط گلخانه ای

1- Stress ethylene

2- Avocado

3- *Sorghum bicolor*

سالیکورنیا بر شاخص‌های رشد گیاه گندم آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) به صورت فاکتوریل با چهار سطح شوری (صفر، ۴، ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر)، همراه با تلقیح جدایه باکتری مقاوم به شوری در چهار سطح: بدون باکتری (شاهد)، باکتری ریزوسفری (*Staphylococcus* sp. R11)، باکتری اندوفیتی (*Staphylococcus* sp. E14) و تیمار ترکیبی (ریزوسفری و اندوفیتی) در ۳ تکرار شامل ۴۸ واحد آزمایشی (گلدان) درون اتاقک رشد پژوهشی گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران، طراحی و اجرا شد. جهت کشت گیاه گندم (رقم چمران ۲ (نسبتاً مقاوم به شوری)) ابتدا بذریه‌های (تهیه‌شده از بانک ژن گروه زراعت دانشگاه تهران) ضدعفونی سطحی شده با الکل ۷۰ درصد به مدت ۲۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم (۵ درصد) به مدت ۱۰ دقیقه با زاد مایه باکتری بذر مال (۲۰ عدد بذر در سه تکرار برای هر تیمار به صورت جداگانه به مدت ۴ ساعت در محیط کشت مایع از هر باکتری غوطه‌ور شدند) و روی آب آگار جوانه‌دار شده و سپس ۱۰ عدد جوانه هم‌اندازه به داخل گلدان‌های پلاستیکی فاقد زهکش به ارتفاع و قطر دهانه به ترتیب ۱۹ و ۱۹ سانتی‌متر، حاوی ۳/۵ کیلوگرم خاک دارای قابلیت هدایت الکتریکی (۱/۱ دسی‌زیمنس بر متر)، واکنش خاک (۷/۷۸)، بافت خاک (لوم شنی)، پتاسیم (۳۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، آهن (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، درصد نیتروژن (۰/۰۴۶)، سدیم (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، منیزیم (۴/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، فسفر (۸/۸۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کلسیم (۱۸/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، درصد کربن آلی (۰/۳) و درصد اشباع خاک (۲۶) انتقال داده شدند؛ و هفته بعد از کشت، تعداد بوته‌ها به ۳ بوته در هر گلدان کاهش یافت؛ و در نهایت یک هفته بعد از تلقیح باکتری‌ها بسته به هر

به سطوح مختلف خشکی و ویژگی‌های محرک رشد گیاهی از ۵۰ جدایه اندوفیتی و ریزوسفری که در غلظت ۱۵ درصد کلریدسدیم توان رشد داشتند، ۱۵ جدایه برتر از دامنه‌های مختلف میزان رشد (اندازه کلنی) انتخاب و توان رشد آن‌ها در فشارهای اسمزی ۰، -۵، -۱۰، -۱۵ و -۲۰ بار مورد ارزیابی قرار گرفت. هم‌چنین برای این ۱۵ جدایه، توان انحلال فسفات‌های معدنی نامحلول با استفاده از محیط کشت اسپریر (۴۰)، آزمون توانایی تولید هیدروژن سیانید به روش دونیت کورا و همکاران (۲۰۰۵) (۱۰) و ارزیابی توان تولید ایندول‌استیک‌اسید با استفاده از روش بنت و همکاران (۲۰۰۱) (۶) تعیین شدند. آزمون تولید آنزیم ACC-دآمیناز و درصد جوانه‌زنی در ۵ جدایه R218, E215, E221, R212, R335 و R211 که به‌طورکلی از لحاظ تحمل به تنش کم‌آبی، تولید ایندول‌استیک‌اسید و توانایی حل‌کنندگی فسفات نسبت به بقیه جدایه‌ها برتری داشتند با بهره‌گیری از روش پنروس و گلیک (۲۰۰۳) (۲۸) صورت گرفت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از آزمون ACC-دآمیناز و درصد جوانه‌زنی دو جدایه اندوفیتی E215 و ریزوسفری R212 به‌عنوان جدایه برتر انتخاب و اثر آنتاگونیستی آن‌ها با استفاده از کشت متقابل و بررسی قطر ناحیه بازدارنده رشد موردبررسی قرار گرفت (۳۹). در نهایت با منفی بودن اثر آنتاگونیستی جدایه‌ها، برای این پژوهش دو جدایه R212 و E215 که به ترتیب با نام‌های *Staphylococcus* sp. R11 (شماره ثبت MG865739) و *Staphylococcus* sp. E14 (شماره ثبت MG865740) ثبت شده در سایت NCBI انتخاب و تأثیر آن‌ها بر روی شاخص‌های رشد گیاه موردبررسی قرار گرفت.

طرح و تیمارهای آزمایشی: به‌منظور تعیین تأثیر باکتری‌های ریزوسفری و اندوفیتی متحمل به نمک جداشده از خاک ریزوسفری و ریشه‌های گیاه

اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم از روش هضم خشک و ترکیب با اسیدکلریدریک استفاده شد (۲۰). اندازه‌گیری فعالیت به بر طبق بیوچمپ و فریدوویچ (۱۹۹۱) (۵) و پرولین به بر طبق بیتس و همکاران (۱۹۷۳) (۴) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cary 300 UV-Vis) قرائت و به ترتیب بر حسب واحد در میلی‌گرم برگ و میکرومول در گرم وزن تر برگ محاسبه شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار SAS انجام پذیرفت. هم‌چنین برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار شناخته شد با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

اعمال تنش شوری بر ارتفاع گیاه در سطح یک درصد تأثیر معنی‌دار داشت (جدول ۱) و بیش‌ترین مقدار آن در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر (۵۷/۱۶) سانتی‌متر (۱/۵۱ درصد افزایش نسبت به شاهد)) و کم‌ترین مقدار آن در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر با ۹/۳۶ درصد کاهش نسبت به شاهد حاصل شد؛ اما تأثیر فاکتور باکتری و اثر متقابل باکتری و شوری بر ارتفاع گیاه معنی‌دار نبود (جدول ۱). شوری از طریق تنش اسمزی، سمیت یونی، عدم تعادل تغذیه‌ای و یا ترکیبی از این عوامل اثرات نامطلوب بر رشد گیاهان داشته و عملکرد آن‌ها را کاهش می‌دهد. در این میان باکتری‌های محرک رشد گیاه می‌توانند به‌ویژه از طریق کاهش اتلین تنشی در اثر فعالیت آنزیم ACC-دآمیناز موجب افزایش رشد گیاه تحت تنش شوری شوند (۴۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر همه فاکتورها بر صفت طول ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱) نتایج مقایسات میانگین نشان داد که در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر تلقیح جدایه‌های باکتری بر طول ریشه تأثیر مثبت نداشته و بیش‌ترین مقدار

تیمار آزمایشی هر ۴۸ ساعت یک‌بار، ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl اضافه شد. به‌طوری‌که برای ۲۰۰ میلی‌مولار (دو نوبت آبیاری در طول دو روز)، ۴۰۰ میلی‌مولار (چهار نوبت آبیاری در طول چهار روز) و ۶۰۰ میلی‌مولار (شش نوبت آبیاری در طول شش روز) آبیاری صورت گرفت. رطوبت موجود در داخل گلخانه در حدود ۶۰ درصد و دمای شب و روز به ترتیب ۲۴ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. آبیاری گیاهان با آب مقطر تا رسیدن رطوبت به حدود ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (وزنی - روزانه) انجام شد. هم‌چنین با توجه به آزمون خاک، کمبود عناصر غذایی از طریق محلول هوگلد و همراه با آب آبیاری (آب مقطر) اصلاح گردیدند. طول دوره روشنایی و تاریکی در ۵۰ روز اول به ترتیب ۱۴ و ۱۰ ساعت، شدت نور ۱۴۰۰۰ لوکس و دوره بقیه زمان کشت به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت بود. گیاهان ۱۰۰ روز بعد از کشت برداشت شدند.

به‌منظور تعیین محتوی نسبی آب^۱ (RWC) برگ، با انتخاب جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته، وزن تازه آن‌ها اندازه‌گیری و برای تعیین وزن آماس شده حدود ۲۴ ساعت در دمای اتاق (تقریباً ۲۰ درجه سانتی‌گراد) در آب مقطر قرار داده و بعد از گذشت مدت‌زمان لازم خشک و وزن آن‌ها یادداشت شد. سپس قطعات برگ‌ی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در آن قرار داده شده و بعد از به دست آمدن وزن خشک آن‌ها محتوی نسبی آب برگ محاسبه شد (۱). شاخص کلروفیل (عدد SPAD) با کلروفیل‌متر پرتابل مدل SPAD-502, Minolta تعیین گردید (۲۶). شاخص تحمل به نمک^۲ با استفاده از روش شتی و همکاران (۱۹۹۵) اندازه‌گیری شد (۳۴) که از تقسیم وزن خشک گیاه تحت تنش شوری و تلقیح‌شده با باکتری بر وزن خشک گیاه در شرایط کنترل (بدون تلقیح باکتری و بدون تنش نمک) به دست آمد. جهت

1- Relative Water Content

2- Salt tolerance Index

مشاهده شد و این در حالی بود که شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر با ۳/۸۲ سانتی‌مترمکعب بیش‌ترین مقدار حجم ریشه را به خود اختصاص داد. در شرایط بدون تنش شوری بیش‌ترین مقدار حجم ریشه در تیمار تلقیح‌شده با جدایه اندوفیتی (۴/۰۰۳ سانتی‌مترمکعب) به‌دست آمد.

با افزایش شوری در شرایط بدون تلقیح باکتری، کم‌ترین مقدار وزن خشک ریشه در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۳۶ گرم در گلدان) و بیش‌ترین مقدار آن در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۶۲ گرم در گلدان) به‌دست آمد (جدول ۴). در حضور باکتری نیز افزایش شوری موجب کاهش وزن خشک ریشه در تمامی تیمارها گردید اما بیش‌ترین مقدار وزن خشک ریشه (۰/۵۹ گرم در گلدان) در اثر تلقیح با جدایه ریزوسفری حاصل گردید. با افزایش شوری جدایه ریزوسفری تأثیرگذاری بهتری بر وزن خشک ریشه داشت و در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نیز بیش‌ترین عملکرد (۰/۴ گرم در گلدان) را به خود اختصاص داد (جدول ۴).

طول ریشه در تیمار بدون تلقیح جدایه باکتری (۲۴/۶۷ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۴). با تغییر غلظت شوری از ۴ به ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر جدایه‌ها اثر مثبت خود را نشان داده و بیش‌ترین مقدار طول ریشه به‌ترتیب در تیمارهای تلقیح‌شده با جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی به‌دست آمد (جدول ۴). طویل بودن ریشه در تیمارهای تلقیح‌شده با باکتری در حضور و بدون حضور نمک به‌دلیل تولید ایندول‌استیک‌اسید توسط باکتری می‌باشد. این واقعیت به خوبی شناخته شده است که باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق تولید فیتوهورمون‌های مانند ایندول‌استیک‌اسید موجب گسترش ریشه تحت شرایط تنش شده که در نهایت جذب مواد غذایی توسط گیاه را افزایش می‌دهند (۲۱).

اثر اصلی باکتری و شوری بر مقدار حجم ریشه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود اما برهمکنش آن‌ها بر حجم ریشه تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). با افزایش شوری در همه سطوح حجم ریشه کاهش یافت و بیش‌ترین کاهش آن در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر با ۵۰/۵۲ درصد (نسبت به شاهد)

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش شوری و باکتری بر شاخص‌های رشد گندم.

Table 1. Analysis of variance of salt stress and bacteria effect on growth parameters of wheat.

میانگین مربعات Mean of square				درجه آزادی DF	منبع تغییرات SOV
وزن خشک ریشه Root dry weight	حجم ریشه Root volume	طول ریشه Root length	ارتفاع گیاه Plant height		
0.002 ^{ns}	5.60 ^{**}	13.94 ^{**}	12.52 ^{ns}	3	باکتری Bacteria
0.26 ^{**}	10.97 ^{**}	73.05 ^{**}	88.59 ^{**}	3	شوری Salinity
0.02 ^{**}	0.34 ^{ns}	4.52 [*]	4.43 ^{ns}	9	اثر متقابل Interaction
0.005	0.17	1.7	4.44	32	خطا Error
12.50	13.66	5.67	3.83		CV (%)

^{ns}، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد می‌باشد.

^{ns}, * and ** respectively indicate a no significant, significant at 5% and 1% level.

ریزوسفری و اندوفیتی به ترتیب بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه را به خود اختصاص دادند. این نتایج با نتایج سینگ و جها (۲۰۱۵) و چانگ و همکاران (۲۰۱۴) نیز مطابقت دارد (۸ و ۳۶). حسن اوزمان و همکاران (۲۰۱۳) علت کاهش بیومس خشک گیاهان رشدیافته تحت تنش شوری را به محدود بودن عرضه متابولیت‌ها به بافت‌های در حال رشد به علت کاهش ظرفیت جذب آب سیستم‌های ریشه‌ای و یا افزایش بیش‌ازحد یون‌های سدیم و کلر که ممکن است باعث ایجاد اختلالات معنی‌دار فیزیولوژیکی شود نسبت دادند (۱۸).

در شرایط بدون تنش، تأثیر تلقیح جدایه‌های باکتری بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بود (جدول ۲). در شرایط تنش شوری تلقیح جدایه‌های باکتری تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی داشته و بیش‌ترین مقدار وزن خشک اندام هوایی در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر توسط جدایه اندوفیتی (۵/۸۴ گرم در گلدان)، شوری ۷ دسی‌زیمنس بر متر تیمار بدون باکتری (۴/۹۴ گرم در گلدان) و در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر توسط جدایه ریزوسفری (۴/۴۹ گرم در گلدان) به دست آمد (جدول ۴). جدایه‌های ریزوسفری، اندوفیتی و ترکیب جدایه‌های

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تنش شوری و باکتری بر شاخص‌های رشد گندم.

Table 2. Analysis of variance of salt stress and bacteria effect on growth parameters of wheat.

میانگین مربعات Mean of square				درجه آزادی DF	منبع تغییرات SOV
کلروفیل Chlorophyll	مقدار نسبی آب RWC	وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی Root dry weight to shoot dry weight ratio	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight		
1.23 ^{ns}	88.3 ^{**}	0.000 ^{ns}	0.85 ^{**}	3	باکتری Bacteria
2.68 ^{ns}	26.8 ^{**}	0.002 ^{**}	6.74 ^{**}	3	شوری Salinity
1.01 ^{ns}	15.5 ^{**}	0.001 [*]	0.55 ^{**}	9	اثر متقابل Interaction
0.99	5.07	0.000	0.21	32	خطا Error
2.08	2.5	12.21	9.45		CV (%)

^{ns}, * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد می‌باشد.
^{ns}, * and ** respectively indicate a no significant, significant at 5% and 1% level.

(۰/۱۰۶) بیش‌ترین مقدار نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی را به خود اختصاص دادند (جدول ۵).

تأثیر سطوح مختلف باکتری بر مقدار نسبی آب برگ در شوری صفر دسی‌زیمنس بر متر معنی‌دار بود و بیش‌ترین مقدار آن در تیمار بدون تلقیح باکتری (شاهد) به دست آمد (جدول ۵). در کل مقدار نسبی

تأثیر فاکتورهای شوری و برهمکنش باکتری و شوری بر نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی به ترتیب پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش شوری از صفر به ۴، ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب تیمارهای بدون تلقیح باکتری (۰/۱۳۶)، ترکیب جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی (۰/۱۹۲) و تیمار بدون تلقیح باکتری

می‌دهد. تلقیح باکتری‌های محرک رشد متحمل به شوری موجب کاهش مقدار درصد نسبی آب برگ در شرایط تنش شوری شد و به ترتیب کم‌ترین مقدار درصد نسبی آب برگ در اثر تلقیح ترکیب جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی، جدایه اندوفیتی و ریزوسفری و بیش‌ترین آن در تیمار شاهد حاصل شد. علت کاهش مقدار آب بافت‌ها به دلیل این است که باکتری‌ها باعث کاهش مقدار تجمع سدیم، کاهش نیاز به تجمع آب و یا توسعه ریشه گیاه، شده و به این ترتیب باعث بهبود راندمان آب گیاه می‌شوند (۲).

آب برگ در تیمار بدون تلقیح باکتری با افزایش شوری از صفر به ۴ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافت اما با افزایش آن به ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر دوباره کاهش یافت. در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم تیمارهای تلقیح‌شده با باکتری کم‌ترین مقدار محتوی نسبی آب برگ (ترکیب جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، جدایه ریزوسفری در شوری ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) را به خود اختصاص دادند (جدول ۵). تنش شوری باعث تغییر فشار اسمزی در محیط رشد گیاه شده و قابلیت دسترسی آب برای گیاه را تحت‌تأثیر قرار

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری و باکتری بر برخی مؤلفه‌های اندام هوایی گندم

Table 3- Analysis of variance of salt stress and bacteria effect on some parameters in shoot of wheat

میانگین مربعات Mean of square					درجه آزادی DF	منبع تغییرات SOV
پروлін Proline	سوپر اکسید دیسموتاز SOD	پتاسیم به سدیم K/Na	پتاسیم K	سدیم Na		
0.002 ^{ns}	0.069*	51.97*	0.24*	0.001 ^{ns}	3	باکتری Bacteria
0.09**	9.78**	1014.1**	0.42**	0.02**	3	شوری Salinity
0.002*	0.04*	5.62 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.02 ^{ns}	9	اثر متقابل Interaction
0.027	0.19	14.99	0.06	0.000	32	خطا Error
17.06	5.76	12.81	6.34	12.79		CV (%)

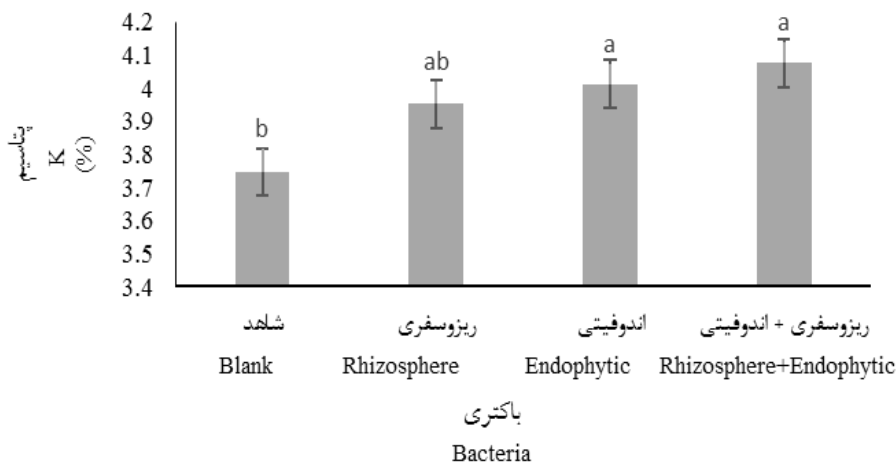
^{ns}، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد می‌باشد.
^{ns}، * and ** respectively indicate a no significant, significant at 5% and 1% level.

درصد بیش‌تر نسبت به شاهد) حاصل شد (شکل ۱). بیش‌ترین مقدار پتاسیم (۴/۰۷ درصد) در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و کم‌ترین مقدار آن در شوری صفر دسی‌زیمنس بر متر (۳/۷۴ درصد) مشاهده شد. تغییرات نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی در غلظت‌های مختلف شوری معنی‌دار بود (جدول ۳) و با افزایش شوری نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی

اثر هیچ‌کدام از فاکتورهای شوری، باکتری و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص کلروفیل معنی‌دار نبود (جدول ۲). اثر اصلی باکتری و شوری بر مقدار پتاسیم اندام هوایی معنی‌دار بود (جدول ۳) و تلقیح جدایه‌های باکتری به‌طور معنی‌داری باعث افزایش پتاسیم اندام هوایی شدند و بیش‌ترین مقدار آن در اثر تلقیح ترکیب جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی (۸/۶۸

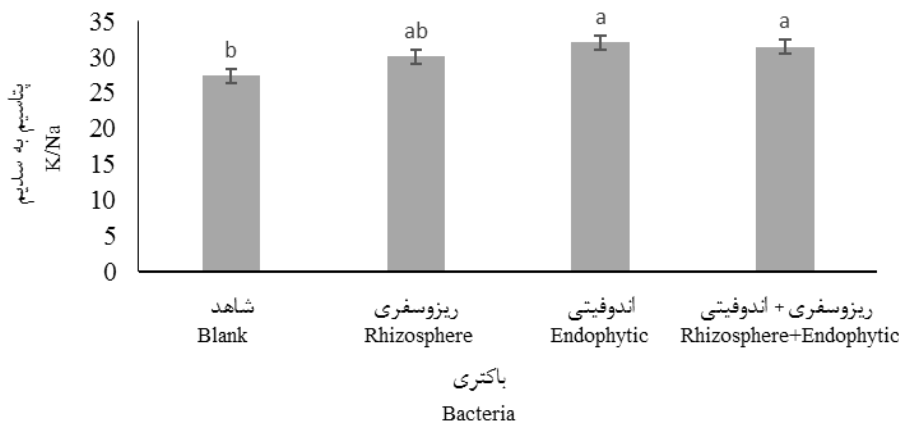
افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در اندام هوایی شده و بیشترین مقدار آن در اثر تلقیح ترکیب جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی حاصل شد (شکل ۲).

کاهش پیدا کرده و بیشترین مقدار کاهش در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر (۴۷/۸۶ درصد نسبت به شاهد) مشاهده شد. تلقیح جدایه‌های باکتری باعث



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف باکتری بر پتاسیم اندام هوایی گیاه گندم.

Figure 1. Effect of different level of bacteria on potassium in shoot of wheat.



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف باکتری بر نسبت پتاسیم به سدیم در اندام هوایی گیاه گندم.

Figure 2. Effect of different level of bacteria on potassium to sodium ration in shoot of wheat.

اولین واکنش صورت گرفته تجمع نمک‌ها در اطراف ریشه و متعاقب آن افزایش فشار اسمزی بیرون ریشه که این کار جذب آب را برای گیاه دچار مشکل می‌کند. دومین اتفاقی که صورت می‌گیرد این است که تجمع یون‌های سمی سدیم و کلر در داخل سیتوپلاسم افزایش می‌یابد. باکتری‌های محرک رشد با

تنش شوری موجب اختلال در توازن یونها در سیتوزول گیاهان می‌شود. در این شرایط واکنش و استراتژی گیاه خروج سدیم و ورود پتاسیم برای کاهش تنش شوری است. بر عکس سدیم افزایش غلظت پتاسیم می‌تواند اثر مضر شوری بر رشد و عملکرد را کاهش دهد (۳۵). با افزایش تنش شوری

افزایش شوری به ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر تأثیر باکتری‌های محرک بیش‌تر شد، به‌طوری‌که در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها ایجاد شده و بیش‌ترین مقدار فعالیت آنزیمی سوپراکسیددیس‌موتاز (۳/۸۱ واحد در میلی‌گرم برگ) در تیمار تلقیح‌شده با ترکیب جدایه‌های اندوفیتی و ریزوسفری به‌دست آمد (جدول ۵). این واقعیت به‌خوبی شناخته شده است که تحت تنش شوری که گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد بنابراین افزایش تنش اکسیداتیو باعث کاهش مقدار پروتئین به‌علت آسیب ناشی از شرایط اکسیداتیو می‌شود. یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز می‌باشد (۳۳).

به‌کارگیری آنتی‌پورترهای Na/H و افزایش فعالیت انتقال‌دهنده‌های K/Na موجب خروج سدیم و افزایش ورود پتاسیم به داخل سلول می‌شوند (۲۹). براساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها فاکتورهای باکتری و اثر متقابل باکتری و شوری در سطح پنج درصد و فاکتور شوری در سطح یک درصد تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز داشتند (جدول ۳). در شرایط بدون تلقیح باکتری با افزایش شوری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیس‌موتاز افزایش یافت. در حضور جدایه‌های باکتری با افزایش غلظت شوری از صفر به ۴ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تلقیح‌شده با باکتری با تیمارهای بدون تلقیح باکتری مشاهده نشد؛ اما با

جدول ۴- تأثیر جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی بر شاخص‌های رشد گیاه گندم در شرایط تنش شوری.

Table 4. Effect of rhizosphere and endophytic isolates on wheat growth parameters under salt stress conditions.

وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	طول ریشه Root length (g)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	شوری (دسی‌زیمنس بر متر) - باکتری Salinity (dS/m)-bacteria
0.57±0.04 ^{cde}	24±1 ^{abcd}	4.82±0.07 ^{bc}	شاهد Blank
0.59±0.04 ^{cd}	26.33±1.15 ^a	5.32±0.31 ^{ab}	ریزوسفری Rhizosphere
0.84±0.16 ^a	26±1 ^{ab}	6.02±0.3 ^a	اندوفیتی Endophytic
0.70±0.18 ^b	23.67±1.15 ^{bcd}	5.93±0.45 ^a	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic
0.62±0.06 ^{bc}	24.67±1.53 ^{abc}	4.61±0.22 ^{bcd}	شاهد Blank
0.56±0.11 ^{cde}	24.33±1.53 ^{abc}	5.36±0.24 ^{ab}	ریزوسفری Rhizosphere
0.58±0.16 ^{cd}	22.67±1.53 ^{cde}	5.84±0.5 ^a	اندوفیتی Endophytic
0.61±0.12 ^{cd}	23±2 ^{cde}	5.33±0.38 ^{ab}	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic

ادامه جدول ۴-

Continue Table 4.

وزن خشک ریشه Root dry weight shoot (g)	طول ریشه Root length (g)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	شوری (دسی‌زیمنس بر متر) - باکتری Salinity (dS/m)-bacteria
0.5±0.13 ^{cde}	21.67±1.15 ^{de}	4.94±0.13 ^{bc}	شاهد Blank
0.59±0.12 ^{cd}	24.33±0.58 ^{abc}	4.68±0.42 ^{bcd}	ریزوسفری Rhizosphere
0.48±0.07 ^{def}	23.33±1.53 ^{cd}	4.58±0.19 ^{bcd}	اندوفیتی Endophytic
0.45±0.13 ^{ef}	23±1 ^{cde}	4.43±0.24 ^{cde}	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic
0.36±0.11 ^{fgh}	17±1 ^f	3.37±0.37 ^f	شاهد Blank
0.4±0.02 ^{fg}	20.67±0.58 ^e	4.49±1.11 ^{b^{cde}}	ریزوسفری Rhizosphere
0.23±0.09 ^h	21.67±1.53 ^{de}	3.69±0.77 ^{ef}	اندوفیتی Endophytic
0.32±0.09 ^{gh}	17.67±1.53 ^f	3.84±0.44 ^{def}	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic

میانگین‌های با حروف یکسان در سطح پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

Means followed by same letters are not significant at 5% level.

جدول ۵- تأثیر جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی بر شاخص‌های رشد گیاه گندم در شرایط تنش شوری.

Table 5. Effect of rhizosphere and endophytic isolate on wheat growth parameters under salt stress condition.

پروлін Proline (µmoles/g FW)	سوپراکسیددیسموتاز SOD (U/mg Leaf)	مقدار آب نسبی RWC (%)	نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی Root dry weight to dry weight shoot ratio	شوری (دسی‌زیمنس بر متر) - باکتری Salinity (dS/m)-bacteria
0.08±0.01 ^{de}	1.57±0.12 ^{ef}	93.38±4.3 ^{abc}	0.116±0.01 ^{cde}	شاهد Blank
0.09±0.02 ^{de}	1.48±0.1 ^f	89.19±2.1 ^{cde}	0.11±0.01 ^{cdef}	ریزوسفری Rhizosphere
0.07±0.01 ^e	1.59±0.08 ^{ef}	90.36±2.3 ^{bcd}	0.14±0.03 ^a	اندوفیتی Endophytic
0.08±0.03 ^{de}	1.61±0.03 ^{def}	89.66±2.3 ^{bcd}	0.12±0.01 ^{bcd}	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic

ادامه جدول ۵-

Continue Table 5.

پروлін Proline ($\mu\text{moles/g FW}$)	سوپراکسیددیسموتاز SOD (U/mg Leaf)	مقدار آب نسبی RWC (%)	نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی Root dry weight to dry weight shoot ratio	شوری (دسی‌زیمنس بر متر) - باکتری Salinity (dS/m)-bacteria
0.12±0.02 ^{cde}	1.82±0.15 ^{de}	96.13±5.2 ^a	0.136±0.02 ^{ab}	شاهد Blank
0.13±0.02 ^{cd}	1.76±0.15 ^{de}	90.75±0.9 ^{bcd}	0.103±0.01 ^{def}	ریزوسفری Rhizosphere
0.12±0.01 ^{cde}	1.8±0.06 ^{de}	93.73±5.3 ^{ab}	0.103±0.04 ^{def}	اندوفیتی Endophytic
0.13±0.04 ^{cd}	1.85±0.05 ^d	84.87±2.9 ^f	0.116±0.02 ^{cde}	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic
0.16±0.03 ^c	2.49±0.18 ^c	93.55±1.8 ^{ab}	0.103±0.03 ^{def}	شاهد Blank
0.16±0.02 ^c	2.64±0.05 ^c	85.64±0.7 ^{efg}	0.123±0.02 ^{abc}	ریزوسفری Rhizosphere
0.17±0.02 ^c	2.68±0.16 ^c	88.23±2.6 ^{defg}	0.103±0.01 ^{def}	اندوفیتی Endophytic
0.17±0.03 ^c	2.68±0.07 ^c	84.23±3.9 ^g	0.1±0.03 ^{efg}	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic
0.36±0.02 ^a	3.29±0.16 ^b	89.61±1.7 ^{bcd}	0.106±0.02 ^{cdef}	شاهد Blank
0.28±0.01 ^b	3.63±0.08 ^a	89.67±3.6 ^{bcd}	0.093±0.03 ^{fg}	ریزوسفری Rhizosphere
0.24±0.03 ^b	3.62±0.16 ^a	90.95±2.9 ^{bcd}	0.073±0.04 ^h	اندوفیتی Endophytic
0.27±0.08 ^b	3.81±0.1 ^a	88.52±4.2 ^{def}	0.083±0.02 ^{gh}	ریزوسفری + اندوفیتی Rhizosphere+ Endophytic

میانگین‌های با حروف یکسان در سطح پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

Means followed by same letters are not significant at 5% level.

دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد؛ اما با افزایش شوری از ۷ به ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر مقدار تجمع پروлін در تیمار شاهد افزایش یافت و کم‌ترین مقدار تجمع پروлін (۰/۲۴ میکرومول در گرم تر برگ) در تیمار تلقیح‌شده با جدایه اندوفیتی حاصل شد (جدول ۵). پروлін و قندهای محلول نشانگرهای بیوشیمیایی بسیار مهم در میزان تحمل گیاهان به تنش شوری می‌باشند. قندهای محلول، اسمولایت‌های کمک‌کننده در تغییرات اسمزی تحت تنش‌های غیرزیستی می‌باشند

اثر فاکتور باکتری بر مقدار پروлін معنی‌دار نبود اما شوری و اثر متقابل باکتری و شوری به ترتیب در سطح یک و پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر روی مقدار پروлін گندم داشتند (جدول ۳). نتایج مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که در شوری صفر دسی‌زیمنس بر متر تغییرات مقدار پروлін در بین تیمارها معنی‌دار نبوده و تیمارهای تلقیح‌شده با باکتری با تیمارهای بدون باکتری از لحاظ تجمع پروлін تفاوتی معنی‌داری نداشتند. با افزایش شوری از صفر به ۴ و ۷ دسی‌زیمنس بر متر همانند شوری صفر

تلقیح شده با جدایه اندوفیتی، ریزوسفری و اندوفیتی حاصل شد (شکل ۳) اما به طور کلی اثر فاکتورهای باکتری و اثر متقابل باکتری و شوری بر شاخص تحمل به نمک^۱ (STI) معنی دار نبود (جدول ۶). شوری در سطح یک درصد تأثیر معنی داری بر آن داشت. بیشترین میزان شاخص تحمل به نمک در شوری ۴ دسی زیمنس بر متر به دست آمد (شکل ۳).

(۳۲). تجمع پرولین تحت تنش شوری نقش بسیار مهمی را در تنظیم اسمزی بازی می کند (۲۳). نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت شوری مقدار تجمع پرولین در گیاه افزایش یافت اما این افزایش در تیمار تلقیح شده با باکتری نسبت به تلقیح نشده کم تر بود و این نشان دهنده این است که در تیمار تلقیح شده با باکتری تنش کمتری وارد شده است. بیشترین مقدار شاخص تحمل به نمک در شوری های ۴، ۷ و ۱۰ به ترتیب در تیمارهای

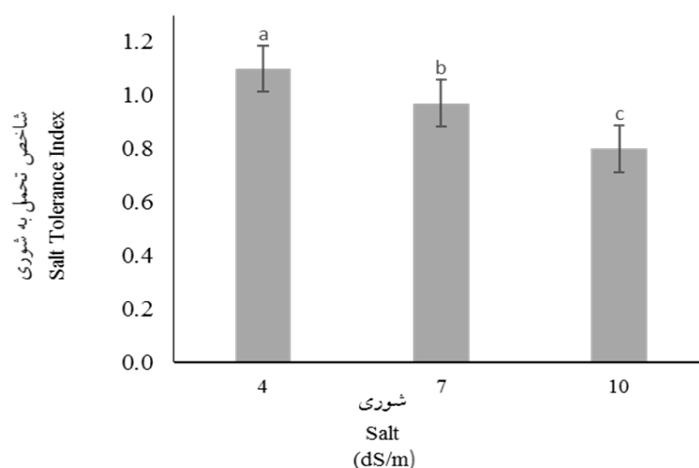
جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری و باکتری بر شاخص تحمل به نمک.

Table 6. Analysis of variance of salt stress and bacteria effect on salt tolerance index.

میانگین مربعات Mean of Square	درجه آزادی DF	منبع تغییرات SOV
شاخص تحمل به نمک Salt Tolerance Index		
200.36 ^{ns}	3	باکتری Bacteria
2697.69 ^{**}	2	شوری Salinity
237.54 ^{ns}	6	اثر متقابل interaction
105.53	24	خطا Error
10.77		CV (%)

^{ns}, * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم معنی داری، معنی داری در سطح پنج و یک درصد می باشد.

^{ns}, * and ** respectively indicate a no significant, significant at 5% and 1% level.



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف شوری بر شاخص تحمل به تنش شوری در گیاه گندم.

Figure 3. Effect of different levels of NaCl on salt tolerance index on wheat plant.

نتیجه‌گیری کلی

ناشی از عدم فعال‌سازی مؤلفه‌های رشد گیاهی در سطوح پایین نمک باشد. معمولاً تلقیح ترکیب جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی به‌تنهایی بیش‌ترین عملکرد را حاصل کرد و ترکیب جدایه‌های ریزوسفری و اندوفیتی برخلاف انتظار بالاترین کارایی را به خود اختصاص نداد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این آزمایش جهت استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه متحمل به شوری جداسازی از گیاه سالیکورنیا به‌عنوان کود زیستی جهت بهبود شاخص‌های رشد گیاه، کاهش اثرات تنش شوری و افزایش عملکرد گندم نیاز به مطالعات بیش‌تری استفاده از سطوح شوری بالا و رقم‌های گندم متفاوت) در سطح گلخانه‌ای است.

نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری‌های محرک رشد گیاه/استافیلوکوکوس می‌توانند در بهبود شاخص‌های رشد گیاه گندم در شرایط شوری نقش داشته باشند. به‌طورکلی عملکرد گیاه گندم در شوری‌های پایین (صفر و ۴ دسی‌زیمنس بر متر) تحت تأثیر تنش شوری قرار نگرفت و در مواردی هم بیش‌ترین عملکرد گیاه در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر به‌دست آمد که یکی از دلایل می‌تواند به مقاومت گونه گندم مورداستفاده به تنش شوری باشد؛ اما در شوری‌های ۷ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری موجب کاهش عملکرد گیاه شد. در بیش‌تر تیمارها در شوری‌های پایین تلقیح جدایه‌های باکتری تأثیر معنی‌داری روی شاخص‌های رشد گندم از خود نشان نداد که دلیل این تغییرات با توجه به هالوفیت بودن باکتری‌ها می‌تواند

منابع

1. Kumar, D.S. 1998. Use of physiological indices as a screening technique for drought tolerance in oilseed *Brassica* species. *Annals of Botany*. 81: 3. 413-420.
2. Ali, S., Charles, T.C., and Glick, B.R. 2014. Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*. 80: 160-167.
3. Barra, P.J., Inostroza, N.G., Acuña, J.J., Mora, M.L., Crowley, D.E., and Jorquera, M.A. 2016. Formulation of bacterial consortia from avocado (*Persea americana* Mill.) and their effect on growth, biomass and superoxide dismutase activity of wheat seedlings under salt stress. *Applied Soil Ecology* 102(Supplement C): 80-91.
4. Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39: 1. 205-207.
5. Beauchamp, C., and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 1. 276-287.
6. Bent, E., Tuzun, S., Chanway, C.P., and Enebak, S. 2001. Alterations in plant growth and in root hormone levels of lodgepole pines inoculated with rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 47: 1. 793-800.
7. Bharti, N., Yadav, D., Barnawal, D., Maji, D., and Kalra, A. 2013. Exiguobacterium oxidotolerans, a halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, improves yield and content of secondary metabolites in *Bacopa monnieri* (L.) Pennell under primary and secondary salt stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 29: 1. 379-387.
8. Chang, P., Gerhardt, K.E., Huang, X.D., Yu, X.M., Glick, B.R., Gerwing, P.D., and Greenberg, B.M. 2014. Plant Growth-Promoting Bacteria Facilitate the Growth of Barley and Oats in Salt-Impacted Soil: Implications for Phytoremediation of Saline Soils. *Inter. J. Phytoreme.* 16: 11. 1133-1147.

9. Dodd, I.C., and Perez-Alfocea, F. 2012. Microbial amelioration of crop salinity stress. *J. Exp. Bot.* 63: 9. 3415-3428.
10. Donate-Correa, J., León-Barrios, M., and Pérez-Galdona, R. 2005. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus* (tagasaste), a forage tree-shrub legume endemic to the Canary Islands. *Plant and Soil.* 266: 1. 261-272.
11. Etesami, H. 2018. Can interaction between silicon and plant growth promoting rhizobacteria benefit in alleviating abiotic and biotic stresses in crop plants? *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 253: 98-112.
12. Etesami, H., and Beattie, G.A. 2017. Plant-Microbe Interactions in Adaptation of Agricultural Crops to Abiotic Stress Conditions. In *Probiotics and Plant Health*, 163-200 (Eds V. Kumar, M. Kumar, S. Sharma and R. Prasad). Singapore: Springer Singapore. Pp: 163-200.
13. FAO. 2016. Food and Agriculture: Key to Achieving the 2030 Agenda for Sustainable Development. FAO: 32.
14. Glick, B.R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research.* 169: 1. 30-39.
15. Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M., and Toulmin, C. 2010. Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* 327(5967): 812.
16. Gontia, I.K., Kumari Schmid, M., Hartmann, A., and Jha, B. 2011. *Brachybacterium saurashtrense* sp. nov., a halotolerant root-associated bacterium with plant growth-promoting potential. *Inter. J. System. Evol. Microbiol.* 61: 12. 2799-2804.
17. Goswami, D., Dhandhukia, P., Patel, P., and Thakker, J.N. 2014. Screening of PGPR from saline desert of Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiol Research.* 169: 1. 66-75.
18. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., and Fujita, M. 2013. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In *ecophysiology and responses of plants under salt stress*, 25-87 (Eds P. Ahmad, M. M. Azooz and M. N. V. Prasad). New York, NY: Springer New York. Pp: 25-87.
19. Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., and Ahmed, I. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. *Annals of Microbiology*, 60: 4. 579-598.
20. Houba, V.J.G. 1988. Soil and plant analysis: a series of syllabi. Wageningen: Wageningen Agricultural University, Department of Soil Science and Plant Nutrition.
21. 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 and Soil.* 356: 1. 265-277.
22. Joshi, R., Mangu, V.R., Bedre, R., Sanchez, L., Pilcher, W., Zandkarimi, H. and Baisakh, N. 2015. Salt adaptation mechanisms of halophytes: Improvement of salt tolerance in crop plants. In *elucidation of abiotic stress signaling in plants: Functional Genomics Perspectives*, 2: 243-279.
23. Kavi Kishor, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P., and Sreenivasulu, N. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science.* 88: 3. 424-438.
24. Larsen, H. 1986. Halophilic and halotolerant microorganisms-an overview and historical perspective. *FEMS Microbiology Letters.* 39: 1-2. 3-7.
25. Mapelli, F., Marasco, R., Rolli, E., Barbato, M., Cherif, H., Guesmi, A., Ouzari, I., Daffonchio, D., and Borin, S. 2013. Potential for plant growth promotion of rhizobacteria associated

- with *Salicornia* growing in Tunisian hypersaline soils. *BioMed Research International*. 2013: 13.
26. Mayak, S., Tirosh, T., and Glick, B.R. 2004. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Science* 166: 1. 525-530.
27. Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 1. 651-681.
28. Penrose, D.M., and Glick, B.R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*. 118: 1. 10-15.
29. Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D., and Bonilla, R. 2012. Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Applied Soil Ecology*. 61: 264-272.
30. Rozema, J., and Schat, H. 2013. Salt tolerance of halophytes, research questions reviewed in the perspective of saline agriculture. *Environmental and Experimental Botany* 92(Supplement C): 83-95.
31. Rueda-Puente, E.O.C.C., Thelma Díaz de León-Álvarez, J.L., Preciado-Rangel, P., and Almaguer-Vargas, G. 2010. Bacterial community of rhizosphere associated to the annual halophyte *Salicornia bigelovii* (Torr.). *Terra Latinoamericana*. 28: 4. 345-353.
32. Sandhya, V., Ali, S.Z., Grover, M., Reddy, G., and Venkateswarlu, B. 2010. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regulation*. 62: 1. 21-30.
33. Sapre, S., Gontia-Mishra, I., and Tiwari, S. 2018. *Klebsiella* sp. confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*). *Microbiological Research* 206(Supplement C): 25-32.
34. Shetty, K.G., Hetrick, B.A.D., and Schwab, A.P. 1995. Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environmental Pollution*. 88: 3. 307-314.
35. Shukla, P.S., Agarwal, P.K., and Jha, B. 2012. Improved salinity tolerance of *Arachis hypogaea* (L.) by the interaction of halotolerant plant-growth-promoting rhizobacteria. *J. Plant Growth Regul.* 31: 2. 195-206.
36. Singh, R.P., Jha, P., and Jha, P.N. 2015. The plant-growth-promoting bacterium *Klebsiella* sp. SBP-8 confers induced systemic tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress. *J. Plant Physiol.* 184(Supplement C): 57-67.
37. Singh, R.P., and Jha, P.N. 2017. The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments resistance against biotic and abiotic stress in wheat plants. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1945.
38. Sobhanian, H., Aghaei, K., and Komatsu, S. 2011. Changes in the plant proteome resulting from salt stress: Toward the creation of salt-tolerant crops? *J. Proteom.* 74: 8. 1323-1337.
39. Sowndhararajan, K., and Chul, S. 2012. In vitro antagonistic potential of *Streptomyces* sp. AM-S1 against plant and human pathogens.
40. Sperber, J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Austr. J. Agric. Res.* 9: 6. 778-781.
41. Szymanska, S., Borruso, L., Brusetti, L., Hulisz, P., Furtado, B., and Hryniewicz, K. 2018. Bacterial microbiome of root-associated endophytes of *Salicornia europaea* in correspondence to different levels of salinity. *Environmental Science and Pollution Research*. 25: 25. 25420-25431.
42. Szymańska, S., Płociniczak, T., Piotrowska-Seget, Z., and Hryniewicz, K. 2016. Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L. – community structure and metabolic potential. *Microbiological Research*. 192(Supplement C): 37-51.

43. Yuan, Z., Druzhinina, I.S., Labbe, J., Redman, R., Qin, Y., Rodriguez, R., Zhang, C., Tuskan, G.A., and Lin, F. 2016. Specialized microbiome of a halophyte and its role in helping non-host plants to withstand salinity. *Sci Rep* 6: 32467.
44. Zahir, Z.A., Ghani, U., Naveed, M., Nadeem, S.M., and Asghar, H.N. 2009. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Archives of Microbiology*. 191: 5. 415-424.



Effect of *Staphylococcus* sp. Bacteria Isolated from *Salicornia* Plant on Wheat Growth

B. Razzaghi Komaresofla¹, *H.A. Alikhani² and H. Etesami³

¹M.Sc Graduate, Dept. of Soil Science and Engineering, University of Tehran,

²Professor, Dept. of Soil Science and Engineering, University of Tehran,

³Assistant Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, University of Tehran

Received: 08.01.2018; Accepted: 06.17.2019

Abstract

Background and Objectives: Salinity is one of the most extensive processes of soil degradation, which limits the increase in the production of food products for more demand. Inoculation of plants with salt tolerant plant growth promoting bacteria with the ability to produce ACC-deaminase and indole-3-acetic acid often decreases the negative effects of high salt concentration and improves plant growth parameters. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of rhizosphere and endophytic salt tolerant bacteria isolated from rhizosphere and roots of the halophyte *Salicornia* on wheat plant growth parameters in different salinity concentrations.

Materials and Methods: This experiment was conducted in greenhouse conditions in a completely randomized design with four levels of salinity: 0, 4, 7 and 10 dS/m in saturation extract and four levels of bacteria: no bacterial strains (control), rhizosphere bacterial strain, endophytic bacterial strain, and combined use of rhizosphere and endophytic bacterial strains in 3 replications. After harvest, the morphological and physiological characteristics of the wheat plant were measured. Data analysis was performed using SAS software.

Results: The results showed that plant yield was significantly affected by salinity. Increased concentration of NaCl from 0 to 4 dS/m did not have any effect on all growth parameters, and in some cases, it improved them. But with increasing salinity level from 4 to 7 and 10 dS/m, salinity had a negative effect on all growth parameters with the highest negative effect in the concentration of 10 dS/m. In the absence of salt stress, the presence of bacteria increased plant yield. In salt stress conditions, inoculation of bacterial strains had a significant effect on plant growth and increased the shoot dry weight (9.49-26.68%), root length (3.94 -27.47%), root dry weight (10-47.36%), root dry weight to shoot dry weight ratio (19.41-20.69%) and reduction of leaf relative water content (1.2-11.71%), superoxide dismutase activity (7.63-15.8%) and proline (12.5-33.33%) compared to control.

Conclusion: In general, the inoculation of bacterial strains resulted in improving wheat plant growth parameters (7 out of 13 measured growth parameters). To be halophytic bacterial strains and salt tolerance of wheat cultivar used in this study can be some of the reasons for not being affected other 6 growth parameters by treatments. According to the results obtained from this study, to improve wheat plant growth parameters and reduce the effects of salinity stress by the salt tolerant growth promoting bacteria isolated from *Salicornia* plant as a bio-fertilizer, it is needed to perform more studies (i.e., use of higher salinity levels and different wheat cultivars) at the field and greenhouse level.

Keywords: Endophyte bacteria, Rhizosphere bacteria, *Salicornia*, Salinity, Wheat

* Corresponding Author; Email: halikhan@ut.ac.ir