



نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار

جلد یازدهم، شماره دوم، ۱۴۰۰

۱۲۷-۱۴۲

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

DOI: 10.22069/ejms.2021.18518.1986



(مقاله کامل علمی - پژوهشی)

تأثیر سه باکتری *Bacillus safensis*، *B. pumilus* و *Zhihengliuella halotolerans* جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان شورپسند بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم قدس تحت تنش شوری

اصغر مصلح آرانی^{۱*}، علیرضا امینی حاجی آبادی^۲، سمیه قاسمی^۳ و محمد هادی راد^۴

^۱دانشیار گروه محیط زیست، دانشگاه یزد، دانشجوی دکتری گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشگاه یزد،

^۲دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه یزد، ^۳استادیار گروه جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۸

چکیده

سابقه و هدف: کاهش تولید گندم به دلیل تنش شوری، از مهم‌ترین چالش‌های امنیت غذایی در سراسر جهان است. باکتری‌های ریزوسفری با ساز و کارهایی مانند تعدیل هورمون‌های گیاهی، قابل دسترس نمودن عناصر مغذی برای گیاه و مقابله با عوامل بیماری‌زا باعث کاهش تأثیر تنش شوری بر گیاهان از جمله گندم می‌شوند. این پژوهش با هدف افزایش مقاومت به شوری گندم با استفاده از باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری جداسازی شده از ریزوسفر چند گیاه شورپسند خودروی استان یزد طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: صفات محرک رشد و مقاومت به شوری باکتری‌های جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان آتریپلکس، اشنان، گز و سنبله نمکی بررسی گردید. در ادامه، بذر گندم با باکتری‌های برتر از لحاظ صفات محرک رشد و مقاوم به شوری شامل *Bacillus safensis*، *Bacillus pumilus* و *Zhihengliuella halotolerans* مایه‌زنی شده و پس از کشت گلدانی در گلخانه با آب با شوری‌های ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر آبیاری گردید. در طول دوره رشد، شاخص‌های فیزیولوژیکی از جمله میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، پرولین، آنتی‌اکسیدان‌ها، فنل و قندهای محلول کل در برگ اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: هر سه باکتری مورد بررسی قادر به تولید اکسین 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 در باکتری *Z. halotolerans* با درجه ۵ (بسیار بالا) مشاهده شد. هر سه باکتری قادر به تولید سیدروفور بودند. تولید ACC دامیناز در هر سه باکتری مشاهده شد و بیش‌ترین مقدار آن در باکتری *B. pumilus* به مقدار ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. توانایی انحلال فسفات *Z. halotolerans* بیش‌تر از دو برابر باکتری *B. safensis* بود. نتیجه تجزیه برگ گندم نشان داد در تیمار بدون باکتری با افزایش شوری، محتوای کلروفیل نسبت به سطح شوری شاهد (۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر) کاهش ولی در عوض مقدار پرولین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار فنل و مقدار قندهای محلول افزایش یافت. استفاده از باکتری‌ها، باعث افزایش کلروفیل a،

* مسئول مکاتبه: amoleh@yazd.ac.ir

کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فنل و قندهای محلول کل در گندم تحت شرایط شوری نسبت به تیمار بدون باکتری گردید.

نتیجه‌گیری: باکتری‌های محرک رشد مورد بررسی با دارا بودن مجموعه سازوکارهای محرک رشد باعث بهبود معنی‌دار مقاومت گندم به تنش شوری شد بنابراین برای کاهش اثرات شوری بر گندم در شرایط آبیاری با آب شور می‌توان از باکتری‌های مورد بررسی در این آزمایش استفاده کرد. *B. safensis* در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر بیش از دو باکتری دیگر موجب ارتقاء شاخص‌های فیزیولوژیک مقاومت به شوری گندم شد. از آنجا که این آزمایش در شرایط گلخانه انجام شد، پیشنهاد می‌شود برای تکمیل یافته‌ها این آزمایش در شرایط مزرعه هم انجام گیرد.

واژه‌های کلیدی: باکتری محرک رشد گیاه، ریزوسفر، شوری، گندم

مقدمه

تنش شوری، یکی از تنش‌های اصلی غیرزیستی بوده که تولید پایدار محصولات غذایی در سراسر جهان را تهدید می‌کند. تخمین زده می‌شود حدود ۵۵/۶ میلیون هکتار از اراضی ایران دچار محدودیت درجات مختلف شوری باشند (۴۲). این در حالیست که با روند افزایش جمعیت دنیا، از یک سو تقاضا برای غلات از جمله گندم به‌عنوان منبع غذایی اصلی ۴۰ درصد مردم جهان افزایش یافته (۱۱) و از سوی دیگر عملکرد تولید گندم به‌دلیل تنش شوری و فشار مضاعف تغییرات نامطلوب اقلیمی، با کاهش قابل توجه به‌ویژه در مناطق گرم و خشک جهان روبرو شده که روش‌های زراعی مرسوم و ارقام اصلاح شده به‌تنهایی قادر به تامین افزایش تولید لازم برای آن نخواهند بود (۳۷). در این شرایط، استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به‌عنوان یک راهکار نو، ایمن برای انسان و دارای منافع متنوع برای زیست‌بوم مورد توجه قرار گرفته است (۲۶). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد مقاوم به شوری با ساز و کارهای مختلف مانند تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات‌های معدنی، جذب آهن با ساخت سیدروفور، تعدیل سطح هورمون‌های گیاهی مانند اکسین یا اتیلن

از طریق فعالیت ACC دآمیناز) و مقابله با عوامل بیماری‌زا با ترشح سیانید هیدروژن، باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش شوری می‌شوند (۱۵). در این راستا، مایه‌زنی گندم با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد مقاوم به شوری به‌عنوان راهکاری مؤثر برای افزایش عملکرد گندم در شرایط تنش شوری از سوی محققین معرفی شده است (۴، ۱۴، ۳۳).

گیاهان، سازوکارهای مختلفی برای مقابله با تنش شوری دارند. در ابتدا، گیاهان با ساخت تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین و قندهای محلول به تنش پاسخ می‌دهند تا فشار تورمی سلول را که برای عملکرد صحیح آن لازم است، حفظ کنند. تنظیم‌کننده‌های اسمزی مذکور، ضمن تأثیر در عملکرد اسمزی، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS^1) را نیز تنظیم می‌کنند (۱۹). علاوه بر این، برای تعدیل میزان گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از تنش اکسیداتیو، گیاه اقدام به ساخت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (مانند کاتالاز) و غیر آنزیمی (مانند ترکیبات فنلی) می‌کند. از جمله اثرات تنش شوری، نشت الکتریکی غشاء بوده که اثر منفی بر فرایندهایی مانند فتوسنتز، تنفس و سوخت و ساز پروتئین می‌گذارد. تنش اسمزی هم‌چنین باعث

مواد و روش‌ها

باکتری‌های شورپسند از ریزوسفر چهار گونه شورپسند آتریپلکس (*S. Watson*)، *Atriplex lentiformis* Torr.)، گز (*Tamarix ramosissima* Ledeb.)، اشنان (*Seidlitzia rosmarinus* Ehrenb. ex Bois) و سنبله نمکی (مارونگ) (*Halostachys* (Moq.) Botsch) از رویشگاه این گیاهان در منطقه چاه‌افضل اردکان در ۷۰ کیلومتری شهر یزد در اردیبهشت ماه ۱۳۹۷ جداسازی شد.

نمونه‌برداری خاک ریزوسفری (خاک ۱ تا ۲ میلی‌متری ریشه) از ریشه‌های باریک گونه‌های درختچه‌ای شورزی بیابانی مورد نظر که در عمق حدود یک متری سطح زمین قرار داشتند، صورت گرفت. برای جداسازی باکتری‌ها ۱۰ گرم از خاک ریزوسفری به ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۹۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد) منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه توسط شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند. سپس سری‌های رقت خاک تهیه و یک‌دهم میلی‌لیتر از آن بر روی ظروف پتری‌دیش حاوی محیط کشت آگار مغذی پخش گردید. گونه‌های باکتری مشابه بر اساس خصوصیات فنوتیپی (شکل، تحرک، رنگ، سرعت رشد، مورفولوژی کلنی) و رنگ‌آمیزی گرم گروه‌بندی شدند و در یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس برای مطالعه بیش‌تر ذخیره شدند.

جهت جداسازی باکتری‌های مقاوم به شوری از نمونه‌های خاک ریزوسفری، عصاره‌های خاک روی محیط 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 به‌مدت یک هفته در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سلسیوس

بسته شدن روزنه‌ها (ناشی از کاهش جذب دی‌اکسیدکربن) و در نتیجه عدم توازن در ساخت رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش فتوسنتز می‌گردد (۳۶). بر این اساس، سنجش میزان پرولین، قند، آنتی‌اکسیدان، فنل و کلروفیل، می‌تواند شاخص مناسبی از واکنش گیاه به تنش شوری باشد.

مطالعات زیادی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه روی خصوصیات فیزیولوژیکی گندم را بررسی کرده است. به عنوان مثال، امامی و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری بر رشد و عملکرد گندم و جو در شوری‌های ۰، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر نشان داد، بیش‌ترین مقدار تولید پرولین در گندم و جو در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر و به ترتیب متعلق به باکتری‌های با توان تولید سیدروفور و باکتری‌های حل‌کننده فسفات بود (۱۳). نتیجه یک بررسی دیگر بیانگر تأثیر باکتری‌های محرک رشد در افزایش ۳۰ درصدی قندهای محلول برگ گندم در شوری ۱۵۰ میلی‌مول نسبت به شاهد بدون باکتری می‌باشد (۲۲).

در پژوهش حاضر، سه باکتری جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان شورپسند بومی استان یزد که نسبت به سایر گونه‌های مورد بررسی واجد صفات محرک رشد و مقاومت به شوری بالاتری بودند به بذر گندم مایه‌زنی و پس از تکمیل دوره رشد گیاه، برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی برگ شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین، فنل کل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و قندهای محلول کل اندازه‌گیری گردید. از آنجا که رقم قدس حاصل عملیات به‌نژادی و مناسب کشت در مناطق معتدل کشور (۴۰) بوده ولی به شوری حساس است (۴۳)، بنابراین این پژوهش با هدف تعیین میزان تأثیر باکتری‌های محرک رشد مورد نظر بر افزایش مقاومت به شوری رقم مذکور در قالب سنجه‌های پیش‌گفته، طراحی و اجرا گردید.

بذر گندم رقم قدس از بخش تحقیقات غلات مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد تهیه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با دو عامل شامل گونه باکتری در ۴ سطح (بدون باکتری و ۳ جدایه باکتری متحمل به شوری از گیاهان شورپسند منطقه)، تنش شوری در چهار سطح شوری (آب آبیاری با قابلیت هدایت الکتریکی ۰/۲ (شاهد) ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر از منبع نمکی کلرید سدیم) و در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. بذرها، با گونه‌های باکتری‌های مورد نظر با تراکم جمعیت 3×10^8 در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون، به مدت ۲۴ ساعت مایه‌زنی شد. علاوه بر این، بعد از کشت بذرها در گلدان، به هر بذر ۳ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اضافه شد. ۲ کیلوگرم خاک استریل با بافت شنی لومی (جدول ۱) در گلدان‌های پلاستیکی استریل به ارتفاع ۲۱ و قطر دهانه ۱۶ سانتی‌متر ریخته شده و در هر گلدان ۸ بذر جوانه زده در عمق ۲ سانتی‌متری کاشته شدند. برای جلوگیری از وارد شدن شوک به گیاهان، تیمارهای شوری به صورت تدریجی اعمال شد. هم‌چنین به منظور اطمینان از رسیدن به شوری مورد نظر هر هفته یک بار هدایت الکتریکی زه‌آب گلدان‌ها اندازه‌گیری شده و در صورت افزایش بیش از شوری تیمار، آبشویی با آب شاهد انجام گردید. گیاهچه‌ها در مرحله سه برگی فقط در دو مرحله محلول هوگلند دریافت کردند. بعد از رشد در مرحله رشد کامل بوته‌ها، برخی پارامترهای فیزیولوژیکی اندام هوایی شامل کلروفیل a و b، کلروفیل کل، پرولین، فنل کل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، قندهای محلول کل اندازه‌گیری شد.

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 (۲۳). فقط یک یا دو جدایه باکتری از هر گیاه و در مجموع ۶ جدایه باکتری بر 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 بنابراین 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 باکتری‌ها بر اساس روش ویسبرگ و همکاران (۱۹۹۱) (۴۶)، اندازه‌گیری کمی تولید ایندول استیک اسید طبق روش بنت و همکاران (۲۰۰۱) (۹)، اندازه‌گیری انحلال فسفات معدنی در محیط مایع طبق روش ژین و همکاران (۲۰۰۳) (۲۴)، ارزیابی تولید سیدروفور از روش الکساندر و زوبر (۱۹۹۱) (۵)، توان تولید سیانید هیدروژن از روش دونیت-کوریا و همکاران (۲۰۰۴) (۱۲) و سنجش فعالیت تولید ACC دامیناز از روش هنما و شیمومورا (۲۲) تعیین شد.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای.

Table 1. Selected physical and chemical characteristics of the greenhouse experiment soil.

رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	مس Cu	سدیم Na	منیزیم Mg	درصد اشباع SP	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC
(%)	(%)	(%)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)	(1:2)	(dsm ⁻¹)
8	19	73	0.72	10	204	31	7.24	2.9

ادامه جدول ۱-

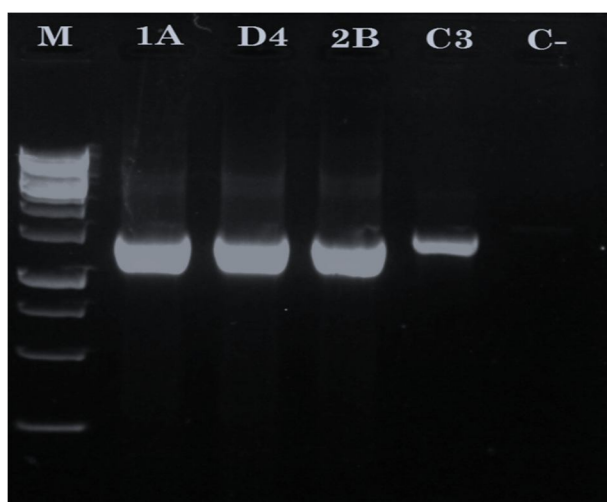
Continue of Table 1.

کلسیم Ca	کربن C	منگنز Mn	آهن Fe	روی Zn	پتاسیم قابل جذب K	فسفر قابل جذب P	نیتروژن N
(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)
312.6	0.42	10.42	8.5	1.04	168	15.8	0.035

نتایج و بحث

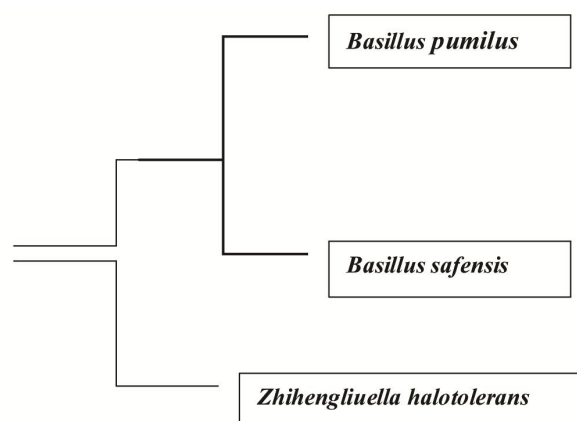
جدایه‌ها و شناسایی مولکولی و صفات محرک رشد گیاه آن‌ها: نتایج شناسایی مولکولی نشان داد که دو گونه برتر باکتری متعلق به جنس باسیلوس بنام‌های *B. safensis* (MW295355) (از ریزوسفر آتریپلکس لتی فورمیس) و *B. pumilus* (MW295357) (از ریزوسفر مارونگ و کوره‌گز) بود. گونه دیگر بنام *Zhihengliuella halotolerans* (MW295355) (از ریزوسفر اشنان) شناسایی گردید. شکل ۱ محصول PCR به همراه کنترل منفی بر روی ژل آگار ۱ درصد را نشان می‌دهد. درخت فیلوژنی حاصل از توالی‌های 16S rRNA سویه‌ها نشان داد که سه باکتری متعلق به سه گونه متفاوت طبقه‌بندی شدند (شکل ۲).

سنجش میزان قندهای محلول کل طبق روش کوچرت (۱۹۸۷) (۲۵)، پرولین طبق روش بتس و همکاران (۱۹۷۳) (۸)، میزان کلروفیل a و b بر اساس روش لیختنتالر (۱۹۸۳) (۲۸)، تعیین میزان فنل کل طبق روش هایونی و همکاران (۲۰۰۷) (۲۱) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی طبق روش پارتاساراتی و همکاران (۲۰۰۹) (۳۵) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد.



شکل ۱- باندهای محصول PCR به همراه کنترل منفی بر روی ژل آگار ۱ درصد.

Figure 1. PCR product bands with negative control on 1% agar gel.



شکل ۲- درخت فیلوژنیک گونه‌ها.

Figure 2. Phylogenetic tree species.

تولید سیدروفور نشان داد هر سه باکتری قادر به تولید سیدروفور بودند. فعالیت آنزیم ACC دامیناز در هر سه باکتری مشاهده شد و بیشترین مقدار آن در باکتری *B. pumilus* به مقدار ۸ میکرومول آلفا-کتوتیرات بر ساعت بر میلی‌گرم پروتئین اندازه‌گیری شد. ارزیابی توانایی انحلال تری کلسیم فسفات در محیط مایع توسط باکتری‌ها نشان داد که هر سه باکتری قادر به انحلال آن بودند. توانایی انحلال فسفات باکتری *Z. halotolerans* ($162 \mu\text{g ml}^{-1}$) بیش‌تر از دو برابر باکتری *B. safensis* بود (جدول ۲).

نتایج نشان داد که هر سه باکتری مورد بررسی قادر به تولید اکسین 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 گونه‌ها ارزیابی شد. نتایج حاصل از بررسی توانایی

جدول ۲- میانگین تولید ایندول ۳ استیک اسید (اکسین)، سیانید هیدروژن، سیدروفور، ACC دامیناز و توان انحلال فسفات باکتری‌های مورد مطالعه.

Table 2. Mean production of Indole 3 Acetic Acid, Hydrogen Cyanide, Siderophore, ACC-deaminase activity and phosphate solubilization ability by studied Bacteria.

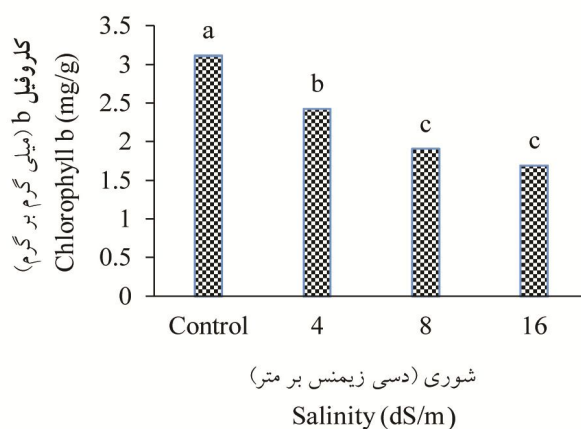
انحلال فسفات Phosphate Solubilization ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	ACC دامیناز ACC deaminase ($\mu\text{mol of } \alpha\text{-ketobutyrate}$ $\text{h}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	سیدروفور Siderophore (halo to colony diameter, cm)	سیانید هیدروژن Hydrogen Cyanide (colour degree)	ایندول ۳ استیک اسید Indole 3 Acetic Acid ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	باکتری‌ها Bacteria
70.33 ^c	6 ^b	1.50 ^a	3 ^b	29.72 ^a	<i>B. safensis</i>
116.33 ^b	8 ^a	0.50 ^b	3 ^b	22.57 ^b	<i>B. pumilus</i>
162.08 ^a	6 ^b	0.14 ^c	5 ^a	26.82 ^a	<i>Z. halotolerans</i>

افزایش معنی‌دار و باکتری *Z. halotolerans* در شوری‌های ۴ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب باعث ۱۲ و ۱۸ درصد افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a نسبت به تیمار بدون باکتری در سطوح شوری متناظر شد (جدول ۴).

نتایج نشان داد که اثر متقابل باکتری × شوری بر کلروفیل b معنی‌دار نبود. با افزایش شوری، مقدار کلروفیل b در شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۲۲، ۳۹ و ۴۵/۵ درصد کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد داشت (شکل ۳). هر سه باکتری تأثیر مثبت و معنی‌داری بر مقدار کلروفیل b نسبت به شاهد داشتند به‌ویژه تأثیر باکتری *Z. halotolerans* (با ۳۹ درصد افزایش) بر مقدار کلروفیل b نسبت به باکتری *B. pumilus* (با ۳۳ درصد افزایش) و *B. safensis* (با ۲۹ درصد افزایش) بیش‌تر بود (شکل ۴).

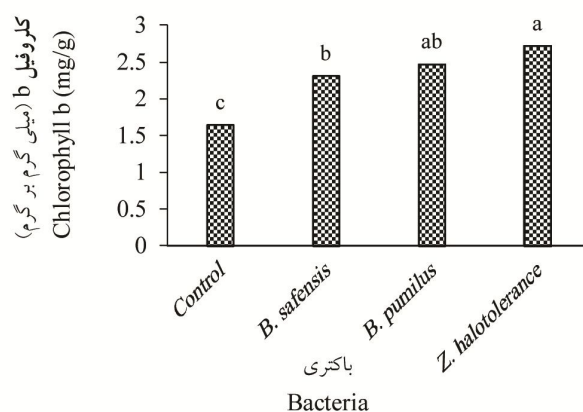
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری بر صفات کلروفیل a و b، کلروفیل کل، پرولین، فنل کل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و قند محلول کل معنی‌دار بود. اثر باکتری نیز بر صفات مذکور به‌جز فنل کل معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل شوری × باکتری بر مقدار همه صفات مورد نظر بغیر از کلروفیل b، معنی‌دار بود (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تیمار بدون باکتری با افزایش شوری، مقدار کلروفیل a نسبت به سطح شوری شاهد (۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر) کاهش معنی‌دار یافت. باکتری *B. safensis* باعث افزایش ۲۶، ۲۷ و ۱۰ درصدی مقدار کلروفیل a نسبت به تیمار بدون باکتری در سطوح شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر شد. باکتری *B. pumilus* در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر به میزان ۲۶ درصد



شکل ۳- تأثیر شوری بر مقدار کلروفیل b در گندم.

Figure 3. The effect of salinity on Chlorophyll b in Wheat.



شکل ۴- تأثیر باکتری‌های جداسازی شده از گیاهان شورپسند بر مقدار کلروفیل b در گندم.

Figure 4. The effect of bacteria isolated from rhizosphere of halophyte plants on Chlorophyll b content in Wheat.

جدول ۳- میانگین مربعات برخی صفات فیزیولوژیکی گندم تیمار شده با گونه‌های مختلف باکتری در سطوح مختلف شوری.

Table 3. Mean square selected physiological traits of wheat treated with different strains of bacteria at different levels of salinity.

محلول کل قند Total Soluble Sugars	آنتی‌اکسیدان کل Total Antioxidanes	فنل کل Total Phenole	پرولین Proline	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	درجه آزادی Degree of freedom	منبع تغییرات Source of variations
4.67**	48.77**	1.88**	8.44**	353.38**	4.80**	279.30**	3	شوری Salinity
3.21**	3.78**	0.05 ^{ns}	1.02**	37.47**	2.53**	29.32**	3	باکتری‌ها Bacteria
6.66**	2.97**	0.14*	0.33**	11.27**	0.17 ^{ns}	9.91**	9	شوری × باکتری‌ها Salinity × Bacteria
0.03	0.55	0.06	0.08	1.35	0.12	1.19	32	خطا Experiment error
2.79	7.45	16.47	16.35	7.20	14.99	7.8		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

**، *، ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد و غیر معنی‌دار.

**، *، ^{ns} Significant at P≤0.01, significant at P≤0.05, non significant respectively.

به ترتیب ۲۷، ۲۸ و ۱۲/۳ درصد نسبت به تیمار بدون باکتری در سطح شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر افزایش داد. *B. pumilus* نیز باعث افزایش معنی‌دار ۲۵/۶، ۲/۷ و ۹ درصدی کلروفیل کل نسبت به تیمار بدون باکتری در سطح شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر شد.

باکتری‌ها باعث افزایش مقدار کلروفیل کل در همه سطوح تنش شوری شدند. باکتری *Z. halotolerans* باعث افزایش مقدار کلروفیل کل به میزان ۱۵/۶ درصد در شوری ۴، ۶/۲ درصد در شوری ۸ و ۲۵/۷ درصد در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر شد. باکتری *B. safensis* نیز، کلروفیل کل را

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثر گونه‌های باکتری بر صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در سطوح مختلف شوری آب آبیاری.

Table 4. Mean comparison of the effect of bacteria on selected physiological traits in leaf of wheat at different salinity levels of irrigation water.

قند محلول کل Total Soluble Sugars (mg kg ⁻¹)	آنتی‌اکسیدان کل Total Antioxidanes (%)	فنل کل Total Phenole (mg g ⁻¹)	پرولین Proline (mg g ⁻¹)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (mg g ⁻¹)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹)	باکتری‌ها Bacteria	شوری Salinity (ds m ⁻¹)
6.58 ^{ef}	5.60 ^f	1.20 ^{cd}	0.70 ^f	19.83 ^{bc}	17.33 ^{bc}	Non-inoculated	
5.60 ⁱ	6.10 ^f	0.94 ^d	0.70 ^f	24.25 ^a	21.23 ^a	<i>B. Safensis</i>	شاهد
5.22 ^j	9.00 ^e	1.00 ^d	0.76 ^f	25.57 ^a	22.00 ^a	<i>B. Pumilus</i>	Control
4.88 ^k	9.00 ^e	1.00 ^d	0.80 ^f	18.73 ^c	15.33 ^{de}	<i>Z. halotolerans</i>	
6.30 ^{fg}	9.00 ^e	1.03 ^d	1.20 ^{ef}	15.86 ^d	14.06 ^{ef}	Non-inoculated	
5.80 ^{hi}	9.50 ^{de}	1.87 ^{ab}	1.60 ^{de}	21.73 ^b	18.94 ^b	<i>B. Safensis</i>	4
9.33 ^a	9.50 ^{de}	1.53 ^{bc}	1.71 ^{de}	21.33 ^b	19.00 ^b	<i>B. Pumilus</i>	
5.95 ^h	10.43 ^{cd}	1.55 ^{bc}	1.60 ^{de}	18.79 ^c	16.00 ^{cd}	<i>Z. halotolerans</i>	
5.22 ^j	10.00 ^{cde}	1.64 ^{abc}	1.22 ^{ef}	10.30 ^f	9.00 ⁱ	Non-inoculated	
8.28 ^c	11.17 ^{bc}	1.49 ^{bc}	2.73 ^{ab}	14.32 ^{de}	12.26 ^{fg}	<i>B. Safensis</i>	8
6.62 ^e	10.00 ^{cde}	1.70 ^{ab}	2.00 ^{cd}	11.00 ^f	9.00 ⁱ	<i>B. Pumilus</i>	
7.24 ^d	10.40 ^{cde}	1.89 ^{ab}	2.80 ^{ab}	10.98 ^f	8.67 ⁱ	<i>Z. halotolerans</i>	
4.83 ^k	12.00 ^{ab}	1.93 ^{ab}	2.30 ^{bc}	10.00 ^f	9.00 ⁱ	Non-inoculated	
7.47 ^d	13.00 ^a	1.94 ^{ab}	2.80 ^{ab}	11.40 ^f	10.00 ^{hi}	<i>B. Safensis</i>	16
6.10 ^{gh}	12.19 ^{ab}	2.06 ^a	2.90 ^a	11.00 ^f	9.00 ⁱ	<i>B. Pumilus</i>	
8.67 ^b	12.00 ^{ab}	1.98 ^{ab}	2.70 ^{ab}	13.45 ^e	11.05 ^{gh}	<i>Z. halotolerans</i>	

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه می‌باشند تفاوت معنی‌دار ندارند (آزمون دانکن در سطح پنج درصد).

Means followed by the same letters in each column are not significantly different (Duncan's multiple range test 5%).

در پژوهش‌های مختلف کاهش جذب عناصر پتاسیم و منیزیم (۳۵)، فسفر (۱۶)، ریز مغذی آهن (۱۷)، افزایش میزان سدیم در برگ که باعث تخریب کلروفیل می‌شود (۲۷) و یا کاهش تجمع 5-aminolaevulinic acid به عنوان آمینو اسید پیش‌نیاز ساخت کلروفیل (۳۹) از دلایل کاهش کلروفیل تحت تنش شوری گزارش شده است. علاوه بر این، کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش شوری ممکن است به دلیل اثر فعالیت کلروفیلاز و پراکسیداز و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (۳۴). کاهش محتوای کلروفیل در گندم با افزایش تنش شوری در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است

(۳۱، ۳۸). استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه در این آزمایش باعث افزایش مقدار کلروفیل در گندم شد. افزایش مقدار کلروفیل در گیاه گندم مایه‌زنی شده با باکتری‌ها تحت شرایط شوری ممکن است به دلیل برتری قابل‌توجه تولید سیدروفور در این باکتری‌ها باشد. اکسین نیز نقش قابل‌توجهی در افزایش محتوای کلروفیل ایفا می‌کند به طوری که طی یک پژوهش، کاربرد ۱۰۰ mg/kg ایندول ۳ استیک اسید بر برگ گندم، باعث افزایش ۳۱ درصدی محتوای کلروفیل نسبت به شاهد شد (۱۸). در پژوهش حاضر، باکتری *B. safensis* بیش‌ترین افزایش در میزان کلروفیل کل را باعث شده که

در پژوهش‌های مختلف کاهش جذب عناصر پتاسیم و منیزیم (۳۵)، فسفر (۱۶)، ریز مغذی آهن (۱۷)، افزایش میزان سدیم در برگ که باعث تخریب کلروفیل می‌شود (۲۷) و یا کاهش تجمع 5-aminolaevulinic acid به عنوان آمینو اسید پیش‌نیاز ساخت کلروفیل (۳۹) از دلایل کاهش کلروفیل تحت تنش شوری گزارش شده است. علاوه بر این، کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش شوری ممکن است به دلیل اثر فعالیت کلروفیلاز و پراکسیداز و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (۳۴). کاهش محتوای کلروفیل در گندم با افزایش تنش شوری در پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده است

می‌کند (۴۵). در این آزمایش، باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش مقدار پرولین در گیاه گندم شد. پرولین با متابولیسم نیتروژن ساخته می‌شود به شکلی که در گیاه نیترات به نیتريت و سپس به آمونیاک تبدیل و در ادامه با گلوتامین و گلوتامات به آمینواسیدها تبدیل می‌شود (۷). بر این اساس، باکتری‌های محرک رشد با تثبیت نیتروژن می‌توانند به این روند کمک کنند و باعث افزایش پرولین در گیاه شوند. مطالعات نشان می‌دهند باکتری‌های مورد مطالعه تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشند، بنابراین افزایش پرولین در گندم را می‌توان به افزایش مقدار نیتروژن توسط باکتری‌ها در گیاه گندم نسبت داد (۱۲). افزایش محتوای پرولین برگ گندم در شرایط تنش‌های زیستی از جمله شوری در تیمارهای مایه‌زنی شده با باکتری محرک رشد در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (۶، ۱۲، ۳۲). در بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد مقاوم به شوری بر رشد و عملکرد گندم و جو در شوری‌های ۰، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر نشان داد شد که بیش‌ترین مقدار تولید پرولین در گندم و جو در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر و به ترتیب متعلق به باکتری‌های با توان تولید سیدروفور و باکتری‌های حل‌کننده فسفات بود (۱۴). در بین باکتری‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر نیز بیش‌ترین مقدار پرولین تولید شده در سطوح تنش شوری متعلق به *B. safensis* بود که طبق جدول ۲ بیش‌ترین مقدار ایندول استیک اسید و نیز سیدروفور را تولید نموده است. هورمون اکسین (ایندول-۳-استیک اسید) تولیدی توسط باکتری‌ها نقش مستقیم در افزایش رشد گیاه، از جمله ریشه دارد. این هورمون، اثرات قوی بر رشد ریشه و ساختار آن به لحاظ گسترش تعداد و طول ریشه‌های فرعی داشته که منجر به افزایش جذب مواد مغذی از جمله نیتروژن شده و نیتروژن هم می‌تواند از طریق متابولیسم نیتروژن به پرولین تبدیل شود (۷).

می‌تواند ناشی از برتری این باکتری نسبت به دو باکتری دیگر در تولید ایندول استیک اسید و سیدروفور (به‌عنوان تامین‌کننده ریزمغذی آهن) باشد (جدول ۲). نتایج نشان داد که باکتری *Z. halotolerans* تأثیر بیش‌تری در افزایش کلروفیل b داشته که این ممکن است به دلیل قابلیت برتر آن در انحلال فسفر نسبت به دو باکتری دیگر باشد. باکتری‌های با توانایی انحلال فسفات با تولید ترکیبات اسیدی نه تنها حلالیت فسفر را افزایش می‌دهند، بلکه باعث افزایش جذب آهن و منیزیم نیز که از عناصر ضروری برای ساخت کلروفیل است، می‌شوند. افزایش میزان کلروفیل در گندم تحت تنش شوری مایه‌زنی شده با باکتری‌های محرک رشد در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (۳، ۲۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد که در تیمار بدون باکتری، با افزایش شوری مقدار پرولین افزایش یافت به طوری که مقدار آن در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر افزایش ۶۹/۶ درصدی نسبت به سطح شوری شاهد (۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر) داشت. باکتری‌های *Z. halotolerans* و *B. safensis* و *B. pumilus* به ترتیب باعث افزایش معنی‌دار ۵۶/۴، ۵۵/۳ و ۳۹ درصدی نسبت به تیمار بدون باکتری در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر شدند در صورتی که در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر فقط باکتری *B. pumilus* باعث افزایش معنی‌دار ۱۴/۸ درصدی مقدار پرولین شده و دو باکتری *B. safensis* و *Z. halotolerans* افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار بدون باکتری در سطح شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر نداشتند.

پرولین نقش اساسی در تنظیم اسمزی برای کاهش سمیت سدیم در گیاهان داشته (۳۸) و در شرایط تنش شوری، نقش چندگانه‌ای شامل محافظت از پروتئین‌ها، تنظیم اسیدیته مایع درون سلول، کاهش تنش اکسیداتیو و تخریب گونه‌های فعال اکسیژن بازی

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 اکسیداتیو و یا تخفیف اثرات آن در سلول‌های گیاه می‌شوند (۱۹). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ گندم مایه‌زنی شده با باکتری‌های محرک رشد تحت تنش شوری در مطالعات متعدد گزارش شده است (۱، ۲۳، ۴۴). به‌عنوان نمونه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گندم در اثر مایه‌زنی 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 (۲۳). کاربرد ترکیبات نیتروژن دار (۲) و نیز گلوکز (۴۱) باعث افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در گندم تحت تنش شوری (۱۰۰ میلی‌مول کلرید سدیم) شده است. بر این اساس، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گندم در پژوهش حاضر می‌تواند به تثبیت و جذب نیتروژن توسط باکتری‌ها برای گیاه و نیز افزایش میزان قندهای محلول توسط آن‌ها مرتبط باشد.

نتایج نشان داد که در تیمار بدون باکتری با افزایش شوری، مقدار قندهای محلول در برگ گندم در تمام تیمارهای شوری کاهش یافت به طوری که میزان آن در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به سطح شوری شاهد (۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر) با کاهش معنی‌دار ۲۶/۶ درصدی همراه بود. از سوی دیگر، مقدار قندهای محلول در تیمارهای باکتری نسبت به تیمار بدون باکتری تحت تنش همه سطوح شوری افزایش یافت. هم‌چنین باکتری‌های *B. safensis* و *Z. halotolerans* باعث افزایش به ترتیب ۲۵، ۲۴ و ۲۳ درصدی میزان قندهای محلول نسبت به تیمار بدون باکتری در مجموع سطوح شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر شدند.

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد که در تیمار بدون باکتری افزایش شوری به سطوح ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر، باعث افزایش معنی‌دار مقدار فنل نسبت به دو سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس و سطح شوری شاهد (۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر) گردید. باکتری *B. pumilus* باعث افزایش مقدار فنل به ترتیب ۳۲/۷، ۳/۶ و ۶/۳ درصد نسبت به تیمار بدون باکتری در سطوح شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر شد. باکتری *Z. halotolerans* نیز به ترتیب ۳۳/۵، ۱۳/۲ و ۲/۵ درصد بر میزان فنل نسبت به تیمار بدون باکتری در سطوح شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر افزود.

نتایج جدول ۴ نشان داد که در تیمار بدون باکتری با افزایش شوری، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه گندم در همه سطوح شوری، افزایش معنی‌دار نسبت به سطح شوری شاهد (۰/۲ دسی‌زیمنس بر متر) داشت. در همه سطوح شوری، باکتری‌ها باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه گردید. *B. safensis*، *B. pumilus* و *Z. halotolerans* باعث متوسط افزایش به ترتیب ۷/۹، ۵/۶ و ۲/۵ درصدی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به تیمارهای بدون باکتری در مجموع سطوح تنش شوری ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر شدند.

مایه‌زنی گندم توسط باکتری‌ها تحت شرایط شوری، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقدار فنل شد. تنش‌های زیستی از جمله شوری، باعث کاهش دسترسی گیاه به دی‌اکسیدکربن، 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 (۲۰). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری نمود باکتری‌های محرک رشد مورد بررسی با ترکیبی از صفات محرک رشد، باعث بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی گندم تحت همه تنش‌های شوری در این پژوهش شدند. از سوی دیگر، ویژگی‌های متفاوت بین باکتری‌ها که بخشی از آن در تفاوت صفات محرک رشد مورد بررسی مشخص گردید می‌تواند موجب تأثیرپذیری هر یک از شاخص‌های فیزیولوژیک مورد بررسی از یک باکتری خاص شده که در پژوهش حاضر به‌وضوح مشاهده می‌شود. اگر شاخص قندهای محلول برگ گندم (به‌عنوان محصول فتوسنتز) را مهم‌ترین شاخص در بین شاخص‌های فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده بدانیم، باکتری *B. pumilus* در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر، باکتری *B. safensis* در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر و باکتری *Z. halotolerans* در سطح شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر بیش‌ترین مقدار قندهای محلول را تولید کردند.

افزایش قندهای محلول از جمله ساز و کارهای گیاه برای تنظیم اسمزی در شرایط تنش شوری است (۲۹). افزایش قندهای محلول در سلول‌های گیاهی، کاهش پتانسیل اسمزی و متعاقباً پتانسیل آبی را سبب می‌شود و جذب آب را به سلول‌ها آسان می‌کند (۳۰). افزایش قندهای محلول در پی افزایش غلظت شوری می‌تواند ناشی از افزایش فتوسنتز یا شکسته شدن قندهای بزرگ (نشاسته) به قندهای کوچک (گلوکز) باشد (۱۰). نتیجه یک بررسی بیانگر تأثیر باکتری‌های محرک رشد در افزایش ۳۰ درصدی قندهای محلول برگ گندم در شوری ۱۵۰ میلی‌مول نسبت به شاهد بدون باکتری می‌باشد (۲۳). در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل نسبت به شاهد در حضور باکتری‌های محرک رشد می‌تواند بیانگر 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 تنظیم اسمزی گیاه در شرایط تنش شوری قلمداد گردد.

منابع

1. 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.
2. 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 availability 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. 1-12.
3. Akbari, A., Gharanjik, S., Koobaz, P., and Sadeghi, A. 2020. Plant growth promoting *Streptomyces* strains are selectively interacting with the wheat cultivars especially in saline conditions. *Heliyon Journal*. 6: 2. 34-45.
4. Albdaiwi, R.N., khyami-Horani, H., and Ayad, Y. 2019. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: An Emerging Tool for the Enhancement of Wheat Tolerance against Salinity Stress (Review). *Jordan Journal of Biological Science*. 12: 5. 525-534.
5. 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.
6. 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.
7. 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: 5. 352-360.
 8. Bathes, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
 9. 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*. 47: 9. 793-800.
 10. Bohnert, H.J., Nelson, D.E., and Jensen, R.G. 1995. Adaptations to Environmental Stresses. *The Plant Cell*. 7: 7. 1099-1111.
 11. Giraldo, P., Benavente, E., Manzano-Agugliaro, F., and Gimenez, E. 2019. Worldwide Research Trends on Wheat and Barley: A Bibliometric Comparative Analysis. *Agronomy*. 9: 7. 352-361.
 12. Donate-Correa, J., Leon-Barrios, M., and Perez-Galdona, R. 2004. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria in *Chamaecytisus proliferus (tagasaste)*, a forage tree shrub legume endemic to the Canary Island. *Plant and Soil*. 266: 1. 261-272.
 13. 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*. 65: 6. 22-27.
 14. 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*. 30: 156. 225-246.
 15. 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.
 16. 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: 1. 353-361.
 17. 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.
 18. 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.
 19. Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Anee, T.I., Parvin, K., Nahar, K., Mahmud J.A., and Fujita, M. 2019. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. *Antioxidants*. 8: 9. 384-390.
 20. 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: 8. 681-692.
 21. 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*. 105: 3. 1126-1134.

22. Honma, M., and Shimomura, T. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural Biological Chemistry*. 42: 1825-1831.
23. 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: 7. 989-1009.
24. 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. *The Journal of Microbiology*. 4: 4. 271-276.
25. Kochert, G. 1987. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. P 95-97, In: J.A. Hellebust, and J.S. Craigie (eds.), *Handbook of phycological methods: physiological and biochemical methods*, Cambridge University Press, New York and London.
26. Kumar, A., Singh, S., Gaurav, A.K., Srivastava, S., and Verma, J.P. 2020. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biological Tools for the Mitigation of Salinity Stress in Plants. *Frontiers in Microbiology*. 11: 1216-1231.
27. Li, J., Hu, L., Zhang, L., Pan, X., and Hu, X. 2015. Exogenous spermidine is enhancing tomato tolerance to salinity-alkalinity stress by regulating chloroplast antioxidant system and chlorophyll metabolism. *BMC Plant Biology*. 15: 1. 303-310.
28. 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: 5. 591-592.
29. Mosleh Arani, A., Rafiei, A., Tabandeh, A., and Azimzadeh, H. 2018. Morphological and physiological responses of root and leaf in *Gleditschia caspica* to salinity stress. *Iranian Journal of Plant Biology*. 9: 4. 1-12. (In Persian)
30. Mosleh Arani, A., Bakhshi Khaniki, G., Nemati, N., and Soltani, M. 2011. Investigation on the effect of salinity stress on seed germination of *Salsola abarghuensis*, *Salsola arbuscula* and *Salsola yazdiana*. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 18: 2. 267-279. (In Persian)
31. 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: 2. 237-246.
32. 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: 201-213.
33. 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.
34. 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: 2. 121-140. (In Persian)
35. Parthasarathy, S., Bin Azizi, J., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S.S.M.I.M., and Mansor, M. 2009. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Aqueous, Methanolic and Alkaloid Extracts from *Mitragyna Speciosa* (Rubiaceae Family) Leaves. *Molecules*. 14: 10. 3964-3974.
36. 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: 2. 250-274.

37. Qadir, M., Quill rou, E., Nangia, V., Murtaza, G., and Singh, M. 2014. Economics of salt-induced land degradation and restoration. *Natural Resources Forum*. 38: 4. 282-295.
38. 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: 3. 1442-1456.
39. Santos, C.V. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Science Horticulture*. 103: 1. 93-99.
40. Seed and Plant Research Improvement Institute. 2016. Crop Cultivars Report (Food Security and Health-1). Agricultural Research, Education and Extension Organization. Press, 231p. (In Persian)
41. Sehar, Z., Masood, A., and Khan, N.A. 2019. Nitric oxide reverses glucose – mediated photosynthetic repression in wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*. 161: 277-289.
42. Shahid, S.A., Zaman, M., and Heng, L. 2018. Soil Salinity: Historical Perspectives and a World Overview of the Problem. P 43-53, In: M. Zaman, S.A. Shahid and L. Heng (eds.), *Guideline for salinity assessment, mitigation and adaptation using nuclear and related techniques*, Springer, Switzerland.
43. Shahidi, A., and Miri, Z. 2018. The effect of salinity on yield and yield components of two wheat cultivars in the plain of Birjand. *Electronic Journal of Crop Production*. 11: 2. 51-61. (In Persian)
44. 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: 1945-1957.
45. 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: 2. 161-172.
46. 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: 2. 697-703.



The effects of *Bacillus safensis*, *B. pumilus* and *Zhihengliuella halotolerans* isolated from rhizosphere of halophyte plants on some physiological characteristics of *Triticum aestivum* (var. Ghods) under salinity

A. Mosleh Arani^{*1}, A. Amini Hajiabadi², S. Ghasemi³ and M. Hadi Rad⁴

¹Associate Prof., Dept. of Environmental Sciences, Yazd University, ²Ph.D. Student, Dept. of Arid Land and Desert Management, Yazd University, ³Associate Prof., Dept of Soil Science, Yazd University,

⁴Assistant Prof., Dept. of Forest and Rangeland, Yazd Agricultural and Natural Resource Research and Education Center

Received: 11.06.2020; Accepted: 04.28.2021

Abstract

Background and Objectives: Reducing wheat production due to salinity stress is one of the most important food security challenges worldwide. Plant rhizosphere bacteria reduce the effect of salinity stress on plants, including wheat, by mechanisms such as modulating plant hormones, making nutrients available to the plant, and combating pathogens. This study was designed and performed with the aim of increasing the salinity resistance of wheat (var. Ghods) using salinity-resistant growth-promoting bacteria isolated from the rhizosphere of several halophyte plants in Yazd province.

Materials and Methods: Growth-promoting traits and salinity resistance of bacteria isolated from rhizosphere of plants *Atriplex lentiformis* (Torr.) S. Watson, *Tamarix ramosissima* Ledeb. *Seidlitzia rosmarinus* Ehrenb. ex Bois and *Halostachys belangeriana* (Moq.) Botsch. were investigated. Wheat seeds were inoculated with superior bacteria in terms of growth-promoting traits and salinity resistance, including *Bacillus safensis*, *Bacillus pumilus* and *Zhihengliuella halotolerans*. During the growth period, physiological parameters of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll, proline, enzymatic activity of antioxidants, phenol and total soluble sugars in the leaves were measured.

Results: All three bacteria were able to produce auxin. The highest amount of auxin production was measured in *B. safensis* (29.72 µg / ml). All three bacteria were able to produce hydrogen cyanide and the highest amount of hydrogen cyanide production was observed in *Z. halotolerans* with grade 5 (very high). All three bacteria were able to produce siderophore. ACC deaminase production was observed in all three bacteria and the highest amount was measured in *B. pumilus* at 8 µg / ml. Ability to dissolve phosphate in *Z. halotolerans* was more than twice that of *B. safensis*. The results of wheat leaf analysis showed that with increasing salinity, (without bacteria inoculation) chlorophyll content in all treatments decreased, instead the amount of proline, antioxidant activity, the amount of phenol and the amount of soluble sugars decreased compared to the control (0.2 ds/m). The use of bacteria increases chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, proline, total phenol, total antioxidants and total soluble sugar compared to without bacteria inoculation treatment.

Conclusion: The growth-promoting bacteria under study with a set of growth-promoting mechanisms significantly improved the resistance of wheat to salinity stress. Therefore, the bacteria studied in this experiment can be used to reduce the effects of salinity on wheat var Qhods under saline irrigation. *B. safensis*, in salinity of 8 ds/m, more than the other two bacteria, improved the physiological indices of salinity resistance of Qods wheat. Since this experiment was performed under greenhouse conditions, it is recommended that this experiment be performed in field conditions to complete the findings.

Keywords: Bacteria, Rhizosphere, Salinity, wheat

* Corresponding Author; Email: amoleh@yazd.ac.ir